



COLEÇÃO

SOCIEDADE, SAÚDE E INOVAÇÃO 5

VOLUME 2

Rodrigo da Silva Santos
(Organizador)

Prof. Dr. Rodrigo da Silva Santos
(Organizador)

SOCIEDADE, SAÚDE E INOVAÇÃO

Catalogação na fonte

Biblioteca Central da Faculdade Alfredo Nasser

Santos, Rodrigo da Silva

S237s Sociedade, saúde e inovação / Rodrigo da Silva Santos (organizador).
- 1. ed. - / Goiânia: Faculdade Alfredo Nasser, 2016. (Coleção: Sociedade, Saúde e
inovação., v. 2)

815 p.

ISBN: 978 – 85 – 68122 – 08 – 2

1. Ciências Sociais – Sociologia. 2. Educação. 3. Ciências Médicas. 4.
Saúde Pública. 5. Ciência e Tecnologia. 6. Faculdade Alfredo Nasser.

CDU: 316:614

FACULDADE ALFREDO NASSER (FAN)

Diretor Geral

Prof. Alcides Ribeiro Filho

Diretor Acadêmico

Prof. Dr. Carlos Alberto Vicchiatti

Diretor de Relações Institucionais

Prof. Luiz Antonio de Faria

Diretor de Desenvolvimento

Prof. Divino Eterno de Paula Gustavo

EXPEDIENTE

Coordenadora de Pesquisa

Prof^a. Dr^a. Sabrina Fonseca Ingênilo Moreira Dantas

Organizador da 2^a edição

Prof. Dr. Rodrigo da Silva Santos

Editora-chefe

Prof^a. Dr^a. Michele Giacomet

Editor-assistente

Prof. M. Sc. Frederico Henrique Galves Coelho da Rocha

Editor de layout e diagramação

Cleyton Nascimento

SUMÁRIO

PREFÁCIO	7
PARTE I SOCIEDADE	8
ROUSSEAU E O CONCEITO DE HOMEM NA EDUCAÇÃO.....	9
A EDUCAÇÃO: DA ANTIGUIDADE À ATUALIDADE.....	27
O PRINCÍPIO DA DIGNIDADE DA PESSOA HUMANA E O TRABALHADOR RURAL – ASPECTOS DA SAÚDE DO LAVRADOR.....	39
A EVOLUÇÃO DA CIÊNCIA CONTÁBIL NO BRASIL: CARACTERÍSTICAS E TENDÊNCIAS.....	50
INCURSÃO EM PISTA: UM RISCO POTENCIAL, ATUAL E CRESCENTE NAS OPERAÇÕES	71
REPRESENTAÇÕES SOCIAIS DO RISCO E PROMOÇÃO DA SAÚDE: ALGUMAS QUESTÕES.....	92
UMA PERSPECTIVA DA EVASÃO ESCOLAR	106
LUDICIDADE COMO DIREITO DE APRENDIZAGEM NA EDUCAÇÃO	129
O NEGRO NA SOCIEDADE BRASILEIRA E A EDUCAÇÃO COMO INCLUSÃO SOCIAL	145
GOIÂNIA, BRASÍLIA E PALMAS: MOLDES E MODELOS URBANOS DO PROJETO DE MODERNIZAÇÃO E URBANIZAÇÃO DO TERRITÓRIO BRASILEIRO	159
CAETÉS, DE GRACILIANO RAMOS: A NARRATIVA EM QUESTÃO.....	184
PARTE II SAÚDE	205
AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DOS RINS DE CÃES NECROPSIADOS NO SETOR DE PATOLOGIA DA EVZ/UFG, BRASIL.	206
USO DO EXTRATO DE <i>PTERODON EMARGINATUS</i> (SUCUPIRA BRANCA) NO CONTROLE DE SARNA SARCÓPTICA EM SUÍNOS.....	220
PERCEPÇÃO DO PROFISSIONAL FARMACÊUTICO SOBRE A POLÍTICA NACIONAL DE MEDICAMENTOS: CONTEÚDO E PROCESSO DE IMPLEMENTAÇÃO.....	234
OS PRINCIPAIS METAIS PESADOS CAUSADORES DE POLUIÇÃO NAS ÁGUAS E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE PÚBLICA.....	248
A POLUIÇÃO HÍDRICA E OS METAIS PESADOS.....	276
SÍNDROMES PARANEÓPLÁSICAS: CLASSIFICAÇÕES E PRINCIPAIS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	293
O PAPEL DA VIGILÂNCIA PARA O VÍRUS INFLUENZA NO ESTADO DE GOIÁS, DENTRE OS ANOS DE 2009 E 2014.	323
A APRENDIZAGEM BASEADA EM PROBLEMAS (PBL) E SUA APLICAÇÃO NO ENSINO DE CIÊNCIAS MÉDICAS	329
ESTUDO COMPARATIVO ENTRE ELETRODO FIXO E ELETRODO MÓVEL (CANETA) NO FORTALECIMENTO PERINEAL.....	349
EFEITOS DA TOXICIDADE AGUDA DO HERBICIDA ROUNDUP [®] SOBRE A MORFOLOGIA HEPÁTICA DO GUARU (<i>POECILIA VIVIPARA</i>)	372
EFEITOS COMPORTAMENTAIS, HISTOPATOLÓGICOS E HISTOQUÍMICOS NAS BRÂNQUIAS DO PEIXE <i>POECILIA VIVIPARA</i> APÓS EXPOSIÇÃO AGUDA AO HERBICIDA ROUNDUP [®]	393
MORFOMETRIA NAS BRÂNQUIAS E NO FÍGADO DO <i>POECILIA VIVIPARA</i> EXPOSTO AO HERBICIDA ROUNDUP [®]	416
ALTERAÇÕES PROLIFERATIVAS E NEOPLÁSICAS EM PRÓSTATA CANINA.....	428
ESTRATÉGIA DIDÁTICA PARA O ENSINO DE BOTÂNICA NO ENSINO FUNDAMENTAL II: CONSTRUÇÃO DE UM JARDIM VERTICAL COM PLANTAS MEDICINAIS.....	449
DOCUMENTÁRIOS COMO RECURSOS DIDÁTICOS NO ENSINO DE BIOLOGIA: UMA ESTRATÉGIA PARA BUSCAR MELHORAR O APRENDIZADO DOS ALUNOS	463
MARSYPIANTHES CHAMAEDRYS (LAMIACEAE), UMA PLANTA MEDICINAL COM ATIVIDADE ANTIOFÍDICA: ANATOMIA FOLIAR E HISTOQUÍMICA	474
ANATOMIA E HISTOQUÍMICA MARSYPIANTHES MONTANA BENTH. (LAMIACEAE) UMA ESPÉCIE DO CERRADO COM POTENCIAL MEDICINAL.....	495

ESTUDO ETNOBOTÂNICO DAS PLANTAS UTILIZADAS COMO MEDICINAIS NA CIDADE DE GOIÂNIA, GO, BRASIL.	517
PERCEPÇÕES ACADÊMICAS SOBRE O ENSINO-APRENDIZAGEM DE ANATOMIA HUMANA NOS CURSOS DA ÁREA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE.	533
MÉTODOS DE DIAGNÓSTICOS EMPREGADOS PARA A DETECÇÃO DE HELICOBACTER PYLORI: UM ENFOQUE MOLECULAR.	541
LEGISLAÇÃO E USO DE SERINGAS E AGULHAS DESCARTÁVEIS.	565
DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)	573
EFEITOS DO NEOPOMPORISMO NA QUALIDADE DE VIDA E SEXUALIDADE DE PACIENTES MASTECTOMIZADAS.	588
PARTE III INOVAÇÃO	613
INOVAÇÕES TECNOLÓGICAS NA APLICAÇÃO DE MICROALGAS	614
METABOLISMO DE COBRE EM FUNGOS: MECANISMOS BIOQUÍMICOS E MOLECULARES.	630
BIOTECNOLOGIA VEGETAL: ASPECTOS BIOMOLECULARES, BIOSSEGURANÇA E LEGISLAÇÃO DE TRANSGÊNICOS.	658
CLONAGEM MOLECULAR, EXPRESSÃO HETERÓLOGA E PRODUÇÃO DE PROTEÍNA RECOMBINANTE. .	673
REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA EM FUNGOS: MECANISMOS BIOQUÍMICOS E MOLECULARES.	689
HEMICELULOSE: PROPRIEDADES, BIODEGRADAÇÃO E APLICAÇÕES.....	725
CARACTERIZAÇÃO TEMPORAL DA COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA DO RIO MEIA PONTE E DO RIBEIRÃO JOÃO LEITE: MANANCIAS DE SUPERFÍCIE UTILIZADOS NO ABASTECIMENTO PÚBLICO DE GOIÂNIA, GOIÁS, BRASIL.	753
ESTRUTURA FÍSICO-QUÍMICA DE DIFERENTES NANOSSISTEMAS CARREADORES DE FÁRMACOS.....	782
DESCRIÇÃO DE PARÂMETROS E INDICADORES DE QUALIDADE DAS ÁGUAS.....	794

PREFÁCIO

A Coleção Sociedade, Saúde e Inovação foi o primeiro projeto idealizado e desenvolvido por esta editora. Nasceram juntas, portanto, a Editora e o primeiro volume da Coleção, nestes momentos curiosos de convergência de cenários, tendências e iniciativas. O estimulante momento de colher depois do tempo de semeadura. A Coleção Sociedade, Saúde e Inovação pretende reunir e publicar, principalmente, as produções dos docentes comprometidos no âmbito da Faculdade Alfredo Nasser (UNIFAN) e em outras instituições, de forma a valorizar a interdisciplinaridade das áreas de formação acadêmica e de atuação profissional destes docentes. Em seu primeiro volume, a Coleção se estruturou em três partes, que se organizam pelos termos presentes em sua denominação. Na primeira parte, intitulada Sociedade são apresentadas produções voltadas ao debate e entendimento das relações sociais, pontuando questões da cultura, do direito, educação e do mercado. Na segunda parte, Saúde, apresentam-se resultados de pesquisas aplicadas à saúde e qualidade de vida. E na terceira, que trata da Inovação, são debatidas iniciativas que se desdobram como inovação na vida social, tecnológica e econômica do mundo contemporâneo.

Profa. Aline Fagner de Carvalho e Costa (organizadora do primeiro volume)

É com muita satisfação que tenho a oportunidade de apresentar o segundo volume do nosso trabalho. Essa edição também se estruturou em três partes (Sociedade, Saúde e Inovação), porém inova em vários aspectos, tanto no âmbito intelectual, quanto científico. Apresentamos uma lista diversificada de trabalhos acadêmicos que vem ao encontro do ensino, da pesquisa e da extensão, e que permitem também refletir sobre o emergir das novas tecnologias da informação e comunicação, que promovem um novo paradigma de sociedade baseada na informação e no conhecimento. A sociedade está num processo de mudança em que as novas tecnologias são as principais responsáveis, assim nunca será obsoleto discutir os assuntos que permeiam os fundamentos da educação, da filosofia e das ferramentas científicas e tecnológicas, que buscam inovar os parâmetros que definem a qualidade de vida e saúde de uma população. Assim, como mencionado pelo economista e ex-secretário do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Luiz Antônio Elias: *“A inovação não se faz sem ciência e ciência não se faz sem educação”*, portanto apresento nas próximas páginas, uma coletânea de capítulos que articulam a teoria, a prática e a experiência de professores e pesquisadores da nossa instituição, e de três grandes instituições tradicionais do nosso país, a Universidade Federal de Goiás (UFG), o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás (IFG) e a Universidade de Brasília (UnB).

Prof. Dr. Rodrigo da Silva Santos (organizador do segundo volume)

PARTE I

SOCIEDADE

ROUSSEAU E O CONCEITO DE HOMEM NA EDUCAÇÃO

*Daniel Sotelo**

JEAN JACQUES ROUSSEAU E OS SEUS INTÉRPRETES

O Homem Rousseau e a filosofia do Homem em Rousseau

Henri Bérghson nega chamar a Rousseau de pré-romântico antes que existisse o próprio romantismo. A obra literária de Rousseau no final do século XVIII e começo do século XIX é uma fortuna literária. Para uns o autor Rousseau é jacobino, outros pensam dele e o denominam de girondino e ainda alguns o apelidarão de aristocrata conservador. Tudo isto depende da visão de cada leitor. Um Rousseau revolucionário, marxista ou um homem que antecede e prepara a Revolução Francesa.

Tudo ilusão! O próprio Bonaparte se iludiu. Fazer identificações retrospectivas nem pensar. A obra de Rousseau não pode ser comparada num espelho da realidade e nem sua obra pode ser narcisista ou uma projeção de qualquer realidade. Pessoas que querem se apropriar ideologicamente de pensamentos de Rousseau ou de rejeitar a sua obra está fadado ao fracasso. Rousseau é um revolucionário não no sentido marxista ou petista. Ele é um revolucionário no sentido de dizer coisas que não eram vistas e ditas.

Bernhard Groethuysen declara que Rousseau é um revolucionário, ou melhor, o seu pensamento é revolucionário. O seu pensamento dá sentido e possibilidade de revolução. Este autor alemão enfatiza que a originalidade e a solidão de Rousseau são muito fortes para o século das luzes. Original aqui é o olhar genebrino sobre a França. O que Rousseau considera a França como se a distância fosse a condição da proximidade. A França na época de Rousseau não se imaginava uma República.

O autor está à frente de seu tempo. Esta ideia de república se exclui totalmente. Rousseau tem um olhar externo e etnográfico. Ele é um teórico e a sua teoria sobre a sociedade e a história tem como fundo a luz da Filosofia das Luzes. A política em Rousseau se desloca do saber para o poder, da razão para a paixão, do *Discurso* para a *Força*. Rousseau fala muito em: vontade, paixão, direitos, economia, a dinâmica que opõe os donos e os oprimidos, os fortes e fracos, dominantes e dominados.

*Formado em Filosofia, Teologia, Mestre e Doutor em Ciências da Religião e Pós-doutor em Educação pela PUCGO.

Para o nosso autor a questão não é o saber e o conhecer, mas, como organizar forças dadas ou como neutralizar o conflito entre as forças humanas, as diferenças sociais entre os homens.

Nas suas obras: *Segundo Discurso, O Contrato Social*, onde o autor mostra a arqueologia da desigualdade entre os homens (Olgária Matos). Na obra “*O Contrato Social*” tem um desenho de uma organização que quer reverter o movimento que levou à criação das instituições políticas. A questão fundamental é que o interesse e os homens são colocados acima da lei. Quando for invertida essa situação e a lei for colocada acima dos interesses tudo vai se resolver: ser servo da lei é não ser servo de ninguém.

Para Rousseau é bem clara a perspectiva que nas sociedades políticas as instituições recobrem, legitimam, obscurecem o império da violência, trata-se de dar poder e força à lei, retirar a lei dos grupos e indivíduos e dar força às estruturas e à natureza da sociedade. Rousseau descreve de forma impiedosa como a sociedade funciona. O pensar do autor abre uma cratera enorme entre o ser e o dever-ser e este sempre aparece como exigência de realização do próprio homem.

Bernhard Groethuysen afirma que: “*os filósofos eram mais evolucionistas, em matéria de política, e revolucionários em matéria de religião. Com Rousseau, se tirarmos as consequências de suas teorias, dá-se o inverso*”. O pensamento de Rousseau era revolucionário, mas ele mesmo não era diz Bernhard Groethuysen. Em *Confissões*, V, 1, Rousseau declara:

“Assim que ocorreu o levante em 1793, estando em Genebra, vi pai e filho saírem armados de uma mesma casa, um para se dirigir ao hotel da Vila, o outro para se dirigir à sua caserna, na certeza de se encontrarem duas horas mais tarde um frente ao outro para se matarem. Esse espetáculo desagradável me causou uma impressão tão forte, que jurei nunca participar de uma guerra civil ou defender a liberdade pelas armas, nem a minha nem a de meu mestre, mesmo que jamais recuperasse meus direitos de cidadão”.

No terceiro diálogo de Rousseau ao juiz de Jean Jacques declara:

“O homem do mundo tem o mais verdadeiro respeito pelas leis, pelas constituições nacionais, e que tem a maior aversão pelas revoluções e pelos militantes de toda espécie”.

Pensamos um pouco de outra forma. Se Rousseau não é um revolucionário, pelo menos ele antecipa a Revolução, e que jamais ele pensou ou refletiu sobre esse assunto. Em *Emílio* ele fala:

“Da ordem atual da sociedade sem suspeitar que esta ordem é sujeita a revoluções que são puramente inevitáveis” (paráfrase minha). “Mas que é impossível prever e evitar o que acontecerá nas gerações futuras” (paráfrase). “O grande torna-se pequeno, o rico pobre, o rei um súdito” (paráfrase). “O que os homens construíram, agora estão destruindo. A natureza não faz príncipes, nem ricos, nem grandes senhores” (Emile Garnier, p. 224,225).

Rousseau não é revolucionário, mas um visionário. Ele anteviu, profetizou a crise e a revolução. Mas isto é apenas uma interpretação, hermenêutico malfeita. Rousseau declara:

“Acredito impossível que as grandes Monarquias da Europa tenham ainda muito tempo de duração: todas brilharam, e tudo que brilha está em seu declínio. Em minha opinião, há pensamentos mais sábios que essa máxima, mas não é o momento de dizê-los, e cada um só vê o que lhe interessa”.

Aqui temos uma ideia, um texto profético, uma pedagogia com a preocupação essencial com o homem. A educação de Emílio é para garantir-lhe a defesa contra a sociedade corrupta à qual ele será devolvido. Adequar a educação ao homem é o caminhar do homem ao homem, do homem à natureza. Ele ensina Emílio a conservar sua vida é torná-lo indiferente à sua sorte social, à riqueza como à pobreza.

Rousseau Intérprete de si mesmo e os Intérpretes de Rousseau como intérpretes de si próprios.

O maior intérprete de Rousseau foi ele mesmo. Em seu escrito Confissões ele próprio enfatiza que:

*“Tudo o que é ousado no **Contrato Social** havia desaparecido previamente no Discurso Sobre a Origem da Desigualdade; tudo que é ousado no Emílio havia aparecido antes em Julia” (Confissões, Livro IX).*

Os críticos de Rousseau têm-se enganado a seu respeito. Outros leram mal a sua obra e o interpretaram conforme a sua autocompreensão. Ou poderíamos ou não levar a sério estas interpretações acerca de Rousseau. Vários críticos procuram e afirmam que encontraram a *essência* de Rousseau. Mas a maioria dos intérpretes deste nosso autor infere que ele era confuso, contraditório e que seus escritos inspiram a divergência e que a maioria de seus intérpretes distorce a sua filosofia.

Os filósofos sofrem com a variação e a discordância de seus pensamentos pelos seus comentadores. Mas o que mais sofreu até hoje através das críticas foi o próprio Rousseau. A questão fundamental na discussão do pensamento deste autor refere-se à integridade de sua obra. Peter Gay e Ernest Cassirer tentam mostrar que a obra de Rousseau tem que ser vista como um todo. Alguém sugeriu que deveria ser criado um método para interpretar a obra dele:

“Ponderar seriamente o significado e o teor dos textos, e levar em consideração mais que o espírito que a letra... não substituir pelo pensamento (do autor) as consequências que dele tem sido deduzida... atribuir as suas ideias a relevância cabível” (Peter Gay).

As doutrinas ou pensamento de Rousseau influenciaram e influencia muitos pensadores. Marcam profundamente espíritos e pensamentos, uns dizem que ele encarna a Idade da Razão ou que ele foi um advogado do individualismo, foi um filósofo da desordem, ou que ele foi um déspota como aquele que ele criticava ou dá o direito de Deus para os reis. Vemos por essas ideias que não há um denominador comum nos próprios críticos ou de seus discípulos.

Os jacobinos montam um império do terror em nome das ideias de Rousseau. Os românticos o saúdam como seu libertador. Schiller o denomina de mártir sábio. *“Como, pelos sofistas foi Sócrates desgraçado. Assim os cristãos torturaram e arruinaram Rousseau. Rousseau, que conclamava os cristãos a serem homens”*, dizia Schiller.

Edmund Burke um dos maiores críticos de Rousseau dizia certa vez: *“Se Rousseau estivesse vivo, e em de seus intervalos de lucidez, ter-se-ia chocado com o efetivo frenesi de seus estudiosos”*. Isso sim nós podemos denominar de *“Conflito de Interpretações”*. Rousseau foi denominado por uns de racionalista e por outros de *irracionalista*. Sua análise da economia de sua época muito tempo depois foi descrita como economia socialista.

A sua teologia era *deísta* para católicos e protestantes. O seu moralismo foi enquadrado como puritano, calvinista, emocional e permissivo. Outros viram em Rousseau um teórico da política, o seu pensamento serve de base para uma filosofia política. Ele foi visto como individualista, coletivista, doutrinas contraditórias entre teoria e a prática. Hölderlin em *Hino à Liberdade* descreve Rousseau como:

“A sua mensagem para o homem é uma revelação que um semideus transmite ao homem”. Outros autores o denominaram de: *“o homem é bom, mas a sociedade o corrompe”*.

Na realidade aqui possuímos interpretações sobre a teoria política de Rousseau. Mas a visão que esses autores têm sobre a crítica sobre o Estado, a Política não são na verdade as interpretações que o próprio autor fazia dessas situações do governo civil, do contrato social e

da economia política. O que os comentadores pensam dele nada mais é do que um anacronismo, fora de época, ou ver em Rousseau um totalitário em política, e isto é um absurdo.

A tentativa que alguns autores fazem é reconciliar o seu pensamento com a época de cada intérprete. As contradições são várias nessas interpretações: de individualista a coletivista, de totalitário a libertário. Então podemos imaginar que fazem de Rousseau e seu pensamento a sua imagem e semelhança. Alguns podem achar que Rousseau é um esquerdista ou direitista, democrata ou republicano. Alguns ainda podem achar em Rousseau um escolástico ou marxista, iluminista ou romântico.

Rousseau confuso? Interpretar Rousseau é uma tarefa ingrata e difícil ou mesmo impossível. Os trabalhos intelectuais de Rousseau têm que ser entendidos como uma jornada, caminhada do individual a coletivo. Ele era um grande teórico político, um grande educador. Os autores que examinam a sua obra não devem olhar as discrepâncias, mas ver e considerar a sua obra como um todo. Não ver as diferenças de sua vida com seus escritos. Há uma unidade de pensamento de Rousseau, diz Ernest Cassirer.

Cassirer o denominou de “*Apóstolo da aflição*”. Assim os leitores o interpretavam erroneamente. Alguém chegou a classificar Rousseau da seguinte maneira: o menino indisciplinado, o andarilho, o homem imperfeito, o maníaco inspirado, o fugitivo cassado. São cinco fases da vida de Rousseau. Outros dizem que ele não conseguiu criar os filhos, que os abandonou num orfanato. Mas temos que ver outro lado da moeda: o grande escritor, o filósofo que viu a realidade do mundo, a realidade da vida e da natureza, o grande educador.

Não é a biografia que o deteriora, mas o pensamento que nos cativa. Os valores éticos, a filosofia da igualdade entre os homens e a natureza. A crença no homem e na natureza, o bom cidadão e a boa sociedade. A vida e a doutrina nada têm a ver com a biografia que querem elaborar de Rousseau. A educação natural, o homem natural são temas centrais de seu pensamento. Eis aqui as coisas positivas sobre educação, filosofia e pensamento de Rousseau.

Rousseau e o Homem

Aprendizes de Homens

*“Nós somos aprendizes de trabalhadores, somos aprendizes de homens, e o aprendizado deste último ofício é mais difícil e mais longo do que o outro”
(Emilio, III, p 259).*

Aprendizes somos todos nós. Em toda a nossa vida. Aprendizes é um termo muito caro para a Educação. Somos aprendizes de tudo. Aprendemos com tudo e com todos. Para Rousseau “*somos aprendizes de trabalhadores*”. O homem primitivo aprendeu a caçar, a buscar o seu alimento. O homem aprendeu a conviver com outros homens. Ele se associou com outros homens para caçar e se alimentar. Trabalhar em conjunto e equipe facilitando a conquista da caça, a luta contra os animais ferozes e inimigos mais fortes de outras tribos.

Aprender a se organizar em grupos de defesa, de busca de alimentação. Antes de ir para um lugar muito longe para caçar, pescar, buscar frutas, domesticou os animais. Ele plantou árvores frutíferas e alimentícias que conhecia, cercou suas posses, criou a propriedade privada. Depois de descobrir tantas coisas, a dominar as coisas começou a desaprender de ser homem.

O texto citado de Rousseau fala que o homem é aprendiz de homem. O homem mudou. Aquele que era o homem natural passou a ser o *homo faber*. Agora que desaprendeu de ser homem, precisa reaprender a ser homem. O homem aprendeu muita coisa em pouco tempo, agora tem que aprender com dificuldade a ser homem de novo. Conforme Rousseau “*ao aprendizado deste último ofício é mais difícil e mais longo do que o outro*”. Aprender a ser homem depois que deixou de ser homem é bem mais complicado. Este aprendizado leva para outras situações: *homo ludens, homo religiosus, homo economicus, homo utópico, homo falível, homo hermenêutico, homo cultural*. Homem aprendiz de homem esta é a questão principal.

A onda é falar de cidadão. O homem como cidadão. Cidadania é viver em sociedade de forma responsável. Aprender a viver feliz. O homem deve se conservar como homem natural, conservar a sua natureza inicial, sua qualidade originária. Isto significa aprender, reaprender a ser homem. O homem feliz é aquele que é íntegro, com sua bondade natural. A boa sociedade é composta de homens cidadãos. E uma boa sociedade é aquela que garante a liberdade e igualdade.

Isto só aconteceu na sociedade grega, na democracia grega, onde a vontade geral, de todo povo era cumprida. A sociedade atual é opressora, dominadora. A pergunta é: como reaprender a viver a aprender a ser homem numa sociedade como essa? Este aprendizado é o mais difícil. Conforme o próprio Rousseau não é possível ocorrer tal coisa. Por isso é muito importante buscar a felicidade. O homem natural é feliz, o homem moderno é opressor e oprimido.

O Homem e a Vida Feliz

“A Natureza fez o homem feliz e bom, mas a sociedade o deprava e o torna miserável”.

A felicidade é um tema forte na Grécia Antiga. Aristóteles fala da vida feliz, de viver a vida intensamente. O grego tem uma terminologia variada para denominar a vida feliz. Aristóteles liga a vida feliz a polis e chama de zoe kalós: viver bem. Isto ocorreu há muito tempo. O homem se associou, fez grupos e isto foi a sua própria perdição. Rousseau critica a ideia do homem ao procurar a felicidade nas coisas, nas propriedades, nos bens de consumo.

Como um bom calvinista ele está preocupado com a felicidade do outro e não de si próprio. Muito se tem escrito sobre a felicidade, mas não como faz Rousseau. A felicidade conforme nosso autor é o homem natural, o homem primitivo. Este homem mudou com o passar do tempo. Criou muitas facilidades como: caçar mais eficaz, plantar, domesticar animais, criar a propriedade privada.

Conforme o próprio Rousseau tudo isto ocorreu pela própria natureza do homem. A história mostra isto e que tudo foi naturalmente. O que ocorreu o que temos hoje, em dia ocorreria. Isto foi um processo natural e o homem se beneficiou com isto. Mas aquilo que foi criado pelo homem para facilitar a sua vida o desumanizou. O que ele criou se voltou contra ele, a criatura se revoltou contra o seu criador. Aquilo que no início era para felicidade geral se transformou num grande problema. Aquilo que era para seu benefício o depravou e o tornou miserável.

Um exemplo disto nós podemos ver nos inventos: o inventor da pólvora, o inventou do revólver. Ele inventou para facilitar a sua vida, mas viu sua invenção ser usada para matar, roubar. Isto mostra que a vida, a natureza fez o homem feliz, mas o homem, a sociedade o fez triste, egoísta, individualista. O que ele fez o depravou, o que ele fez para facilitar a sua vida o deixou miserável. O homem depravado, o homem miserável, eis a situação atual do homem. Estas colocações não nos tornam pessimistas, mas nos mostra a realidade. Realidade esta que Rousseau anteviu, presenciou e profetizou. Realidade esta que se torna patente na atualidade.

Felicidade para Rousseau nada mais é que a característica do ser humano sempre a busca. O amor de si mesmo é uma explicação que Rousseau elabora para explicar o desejo de autopreservação e de automanutenção, esta é a preocupação de todos em serem felizes. A felicidade é mais do que qualquer coisa: bens, dinheiro. A felicidade é a fruição que o homem mais deseja ter, o maior bem que deseja possuir.

O homem social ou civilizado conforme nosso autor quer poder e distinção pessoal, mas o que ele mais deseja é a felicidade. Todo ser que comportar-se conforme a justiça deseja ser feliz, mesmo que tenha que praticar a injustiça para conseguir estas coisas. A satisfação suprema é uma falsidade da consciência humana. O homem jamais será completo em seu desejo de

satisfação. Os maus e os perversos prosperam e os bons e justos se consomem. Com esta frase vemos que Rousseau lia a Bíblia sempre.

Conforme nosso autor tudo isto faz parte do plano providencial de Deus (*Calvino*) que aqueles que são justos e virtuosos também desfrutem a felicidade. Nem que seja na vida além da morte. O bem do indivíduo é promovido, mas é duvidoso que isto produza, de fato, uma coincidência entre justiça e felicidade, porque é mais exigido para a felicidade do que apenas isto. No pensamento de Rousseau há um conflito insuperável entre dever e interesse pessoal.

Deus ordena a natureza humana de tal modo que as exigências da consciência (dever) e as necessidades de bem individual entrarão em harmonias. As exigências da justiça e o próprio bem do homem só são obtidas pelo Estado ideal. Neste Estado o princípio de justiça, de direitos de todos é deste modo que o indivíduo tem o reconhecimento e o respeito como portador da dignidade humana. O bem do indivíduo será promovido, mas é duvidoso que isso seja produzido. Há coincidência entre justiça e felicidade.

Em sua obra “*Emilio*”, Livro V, Rousseau mostra que o amor íntimo e recíproco leva à felicidade. Esta felicidade dá à vida o seu completo valor. Mas Rousseau viu nisto uma complicada situação de vida. Ao contrário ele levou uma vida aos prazeres. Isto fez com que se descobrissem à importância da natureza, as alegrias simples, os jogos e brincadeiras de crianças e dos camponeses. Ai ele contemplou a felicidade, a felicidade está além de nós, e melhor contentar com a que temos: a paz de espírito, a tranquilidade interior e exterior.

O rir, o brincar está entre os melhores meios de encontrarmos a felicidade. O homem tenta adquirir a felicidade. O homem tenta ao tentar adquirir a felicidade, mas o que ocorre é a abertura do caminho para a dor e o desapontamento, o homem se torna pior do que já era. O azedume pessoal leva ao acomodamento, leva à imobilidade interior e a satisfação como pouco (Rousseau. *Devaneios de um Caminhante Solitário*).

A noção de felicidade: teoria e prática não são encontradas nas obras de nosso autor. Mas a ideia de felicidade sim. Felicidade para este autor não é moral nem social como é encontrada nos filósofos utilitaristas. A felicidade de que falamos em Rousseau é a que encontramos em Platão, Sócrates e Aristóteles. Ele não fala das fontes da felicidade, de seu caráter temporal. Ele fala que o homem primitivo/natural era mais feliz que o homem moderno.

A busca dos direitos, da dignidade, igualdade dos indivíduos é a busca pela felicidade. Ele não fala de uma promoção da felicidade geral como a política, economia e a religião pregam, mas da busca da alegria, da brincadeira, do retorno ao estado natural do homem. A sua teoria social se encontra nos direitos e na dignidade humana. Mas o homem que domina outro homem,

não poderá ser feliz. Muito menos o homem que é dominado pelos homens, prazeres, a vida poderá ser feliz.

A felicidade está além de nós, ela é preferível buscar um contentamento, buscar a paz de espírito, a tranquilidade do que lutar contra a natureza, o homem, a sociedade, a propriedade privada. O homem nasce livre, mas em toda parte está o homem preso a certas situações: escravidão social, política, econômica, religiosa. O homem está com grilhões nos pés e nas mãos.

1.1.1 A Liberdade do Homem

“O Homem nasce livre, mas por toda a parte encontra-se a ferros” (Jean Jacques Rousseau. Contrato Social, Presença Lisboa, 1977; CS, I, Cap. 165 e O C, III, 351).

Essa é uma frase lapidar de Rousseau. O conceito de liberdade em Rousseau é fundamental, essencial. A noção de liberdade é central tanto no pensamento social como no pensamento político de nosso autor. A liberdade é mais importante de todo aspecto da vida humana que Rousseau confere como gozo do homem. No *“Contrato Social”* ele declara: “renunciar à liberdade é renunciar à qualidade do homem, aos direitos da humanidade” (CS, Cap. II, 170; O C III, 356).

Rousseau aplica ao termo liberdade vários significados. O primeiro significado é a noção de liberdade que é aplicado aos contextos sociais e políticos. Na Obra *“Discurso sobre a Origem da desigualdade dos Homens”* afirma que os seres humanos têm a capacidade (que o distingue dos animais) de breçar os impulsos ou de praticar a ação deliberada, não impulsiva a um bem futuro:

“O homem tem alguma participação em suas próprias operações, em seu caráter como agente livre. Um (uma besta) a partir de um ato de livre-arbítrio; logo, aberta não pode desviar-se da regra que lhe foi prescrita, mesmo quando lhe seria vantajoso faze-lo” (DD 53, O C III 141).

Para Rousseau o mal (bem) moral é imputável ao homem porque é a fonte de suas próprias ações. O homem “é livre em suas ações e como tal está animado por uma substancia imaterial” (E IV 280-1; O C IV, 587). Mas o mal praticado pelos homens é de sua própria responsabilidade, não se pode atribuir a Deus ou se queixar a Ele. Temos aqui duas noções

iniciais sobre a essência da liberdade do homem e de modo controversos e problemáticos no pensar de Rousseau.

A outra concepção de liberdade em Rousseau refere-se à capacidade do homem e a sua oportunidade de executar atos que podem ser reprimidos por tais obstáculos externos. Existem muitas coisas que limitam a liberdade do homem, o que agrada ou não, o que aumenta ou limita a nossa liberdade. O que o homem faz para eliminar as barreiras, que ampliam recursos, os conhecimentos e qualidade ajudam a ter maior liberdade.

Vários tipos de liberdade: negativa e positiva, que elimina as restrições ou limitações (negações da liberdade) e assim dá ao homem como modo a expressar com sucesso os seus desejos e intenções e suas ações. A perda de liberdade só é notada e deplorada quando o homem não a possui mais. Aí o homem luta por uma liberdade mais ampla. A liberdade humana tem várias dimensões.

Rousseau se preocupava mais em suas obras com os padrões de controle, comando e poder entre as pessoas e assim se preocupam de fato com a liberdade. A sua observação sobre: “o homem nasceu livre e por toda a parte encontra-se a ferros”. Que liberdade e que escravidão Rousseau fala? A liberdade do homem natural. Conforme o nosso autor ninguém nasce numa situação pela qual está obrigado a obedecer à vontade de outro homem. Ninguém quer estar nesta situação, nesta condição humana, seja moral, civil ou qualquer outro tipo de obediência ou de controle que esteja em questão. Só deve obedecer a Deus, mas Deus dá liberdade ao homem. Nenhum homem é Deus e nenhum homem tem a autoridade de Deus para controlar outros homens.

Deste modo Rousseau dramatiza a concepção da liberdade original ou natural e a liberdade do homem social atual. Para este autor cada homem é o seu próprio juiz e único senhor. Para ele não existe nenhum outro juiz ou senhor humano que tenha que prestar contas e submeter-se. Para ele a liberdade natural é a que caracteriza todos os homens sem distinções.

Todos podem desfrutar da perfeita liberdade dessa espécie, mas sofrer ainda de restrições à sua liberdade de ação em consequências de reveses naturais ou dificuldades (caso seja produzida pelo poder ou negligência do homem) em ganhar a vida. As limitações à liberdade desta última espécie as que forçam as pessoas conforme o autor (C S I, Cap. 6, e O C III, 360) a agruparem-se em reuniões, grupos materiais e civis para que a captem forças para superar os obstáculos.

E ao reunirem, criam um problema de soberania, de liberdade natural. Outro tipo de liberdade é a moral. A liberdade moral é uma liberdade diminuída, que leva o indivíduo a tirania e controle dos outros. Mas há uma liberdade alternativa e positiva, que leva o indivíduo a

verdadeira libertação. Rousseau objeta as técnicas de controle social, de imposição da subserviência, como as condições de liberdade. Aqueles que querem reconhecer os direitos humanos de outros representa uma restrição à sua própria liberdade pessoal acham que a própria existência de outras pessoas um estorvo, uma imposição que leva a uma restrição indesejável.

O Homem Natural

“O homem natural não pode escapar à sociedade, mas pode recriá-la para assim recriar-se” (Ernest Cassirer. A questão de Jean Jacques Rousseau, p 22).

“O homem natural é desprovido de todas as características do homem social”

“O Homem é naturalmente bom, o mal é consequência”.

“O homem natural é superior ao animal apenas por sua nulidade, por sua ausência de determinações”.

“O homem natural é perfectível, mas não se transformaria se as circunstâncias não mudassem. Ele não tem em si um principio interno de transformação”.

“O homem está desfigurado. O estado de guerra vai tornar necessária a instituição da sociedade e das leis por um pacto de associação. Mas esse pacto será feito em favor dos riscos”.

“Se o homem selvagem que nos descreveu não é o homem primitivo, ele pode, contudo, ajudar-nos a conhecê-lo, pois está, lógica e cronologicamente, menos distante do que nós”.

“Partindo do homem social, que se tornou escravo, eles não essencial ao homem quanto à sua própria vida. E assim como o indivíduo não pode alienar a sua soberania. O poder político reside no povo, o qual deve exercer sua soberania diretamente”.

O EMÍLIO

Estas frases pensamentos foram retiradas da obra de Rousseau “Emílio”. Começando com a primeira um comentário especial podemos fazer deste pensamento. Uma reflexão sobre “o homem natural não pode escapar à sociedade” mostra que Rousseau sempre esteve preocupado

em mostrar a diferença do homem primitivo, natural com o homem de sua época, o homem moderno já corrompido pela sociedade, economia, política e religioso.

O homem era puro, mas a sociedade o transformou em egoísta, individualista, dominador. Ele fala que isto ocorreria de uma forma ou de outra. Que a sociedade tomaria este rumo de uma forma ou de outra. O homem não poderia escapar a esta realidade. O homem deveria ou teria de recriar a sociedade para recriar-se. O homem tem que se refazer. Assim entrarmos numa forma de pensamento utópico do autor. Ele mesmo não acredita que isto seja possível. Não que Rousseau seja pessimista, mas que o homem mudou com suas transformações. A sociedade se corrompeu juntamente com o homem. Se o homem quiser mudar a sociedade, tem que mudar-se, para recriar a sociedade tem que recriar-se.

Para Rousseau o homem é um animal depravado. Diz ele: “O homem que medita é um animal depravado” (D. D I, 87). O homem é corrupto, não só é o político é corrupto, o homem em geral o é. Basta refletir sobre o homem e a “condição humana” (Hannah Arendt) nós veremos que o homem não tem mais salvação.

O HOMEM

Continuando esta reflexão sobre o homem natural, Rousseau declara de forma veemente que: “O homem natural é desprovido de todas as características do homem social”. Aqui está a diferença entre o homem natural e o homem social. Rousseau fala do homem natural como aquele homem sem mancha, mácula da sociedade. O homem que vivia antes do estabelecimento da sociedade, da polis, do oikós. Este homem que vivia antes do estabelecimento da sociedade em perfeição, o qual o autor o denomina de homem perfectível.

Esta expressão de Rousseau de perfectível mostra que há uma profunda diferença entre o homem em seu início, o homem primitivo, sem ser contaminado com a política, com as reuniões. O homem em estado perfeito, não foi corrompido com as situações sociais. O homem natural é como o homem antes do pecado original. Mesmo que este termo seja teológico, mas serve para explicar este conceito de homem puro, perfectível. Diferentemente o homem social é aquele que se corrompeu. O homem que domina seu semelhante de forma política e economicamente. Este homem social é corrupto. Não por natureza, mas por uma transformação da natureza física, humana e social.

A PUREZA

Para Rousseau o homem é bom. A bondade da pureza da criança. Emílio é bom e puro por que é inocente, porque é criança. Ele ainda não cresceu e não sofreu a interferência social. Este homem bom é o homem primitivo. Para o autor a elaboração deste conceito está ligada ao bom selvagem. Bom selvagem ou simplesmente selvagem é o homem no Estado de Natureza. Este homem é um ser pacífico e inocente e sereno que ocupa o lugar principal em sua imaginação e teoria.

No *Segundo Discurso* este autor sugere que os orangotangos habitantes das florestas deveriam ser considerados como homens selvagens. Em outro lugar ele fala de que esses animais recebam o nome de homens selvagens. É que o ser natural é este homem bom selvagem (D.D 157 e O C III 210, nota 10). Rousseau neste aspecto era um evolucionista. Ele não acreditava na rigidez e fixidez das espécies, mas sustentava que as mudanças na vida produzem não só mudanças em aptidões, mas na aparência e formas corporais. Essas mudanças transformaram em vampiro o homem civilizado (*Origens das línguas*).

Emilio não é um selvagem que deve ser levado ao deserto. *Emilio* é um selvagem para morar em cidades (*Emilio* III, 205 e O C IV 483-4). Assim Rousseau lembra com nostalgia o homem bom e puro antes de se contaminar pelo mal. Quando ele se refere ao homem natural e o bom selvagem, de um paraíso perdido, claro é que ele não está pensando que este estado seria viável para o homem de sua época.

O nosso autor alimentava uma ideia de nostalgia condicional favorável à reversão a algum primitivismo idealizado e que foi dissipado. Há uma dicotomia que não se pode transpor entre o homem natural, pré-social, mau e corrupto. Rousseau imaginava que o bom selvagem pode viver em sociedade e permanecer como ele era na natureza humana.

“O homem natural é superior ao animal apenas por sua nulidade, por sua ausência de determinações”. Para Rousseau há uma bondade natural, “o homem nasce livre e por toda a parte encontra-se a ferros” (CS, I, Cap. 1, 165; O C III, 351). O homem é por natureza seres bons, mas pervertido e corrompido pela sociedade. Por isso ele é um pouco superior ao animal. Os homens nascem, virtuosos, isto se deve ao conhecimento que ele possui do bem e a vontade de praticar o bem. Estes homens são virtuosos, benignos, afetuosos e ternos nos seus sentimentos e disposições inatos. Eles são naturalmente levados a tratar com carinho e magnanimidade.

Por outro lado, agressividade, malícia, rancor, despeito e inveja, são estranhos ao coração humano imaculado que sai de Deus. O homem pode se tornar mau e essa maldade se instalar porque os que o cercam pervertem e destroem a inocência e integridade naturais do indivíduo. Quando o homem pratica todo tipo de mal, ele se torna vítima de suas atitudes da má vontade dos outros, e estes transformam este indivíduo num monstro e depois o expulsam com grande horror.

A inocência primitiva é parte da própria ira, da inveja e da índole vingativa do próprio Rousseau. Ele sempre se achou como vítima ferida, mas bem-intencionada da maldade dos outros. Aqui encontramos uma incoerência. Se o homem é bom como pode a sociedade corrompê-lo? A sociedade é composta de grupos sociais, e estes grupos sociais são formados por pessoas. Dentro dos grupos e pessoas alguém sempre está propenso a praticar o mal. Então quem gera a corrupção?

O próprio homem. Ele acredita que possa existir uma boa sociedade e um estado bom. O seu trabalho *Contrato Social* é uma forma idealizada e uma utopia deste estado. Na obra *Emílio* (E IV 212-3) ele trata das paixões naturais do homem e de suas paixões exóticas. As paixões naturais são aquelas que nascem conosco, ela é parte de nossa herança. A paixão natural é aquela que é instrumento de nossa liberdade, ela nos preserva de muitas coisas. As paixões exóticas nos subjagam e nos destroem; estas são contrárias à nossa natureza e quando nos apossamos dela em detrimento na natureza.

Isto que Rousseau fala já era encontrada no pensamento de Aristóteles antes da era de cristo. Conforme o filósofo grego o homem tende a preservar e manter, promover o bem e buscar a felicidade. A promoção do bem, da vida e do bem-estar são inatas ao próprio homem. Esta é a forma do homem natural e que ocorre ao contrario danifica e destrói a natureza humana. Coisas que eram inatas e naturais desviaram das tendências naturais. O homem pode ter disposições que são inatas e naturais nesse sentido, mas foram desviadas de suas tendências naturais e que acabaram sendo prejudicadas e nocivas para o próprio homem.

O homem que é natural é bom e é superior aos animais. O bom significa que a vida fecunda e autopreservação do próprio homem. O natural são as paixões, ações que conduzem o homem a esse bem. O homem natural e bom é aquele que tem o amor a si mesmo como “a fonte de nossas paixões, a origem e o princípio de todos os outros, o único nascido como homem e que nunca o abandona enquanto ele viver”.

O amor a nós mesmos vem da forma de amar que nos preserva. O homem natural é aquele que ama, é natural no homem amar com o amor “da ama e da governanta”. Da mesma forma que o sentido do que é natural, a nossa afeição que nos ajudam e nos mantém e a nossa gratidão

por sua ajuda também são sentimentos naturais: a *com-paixão*. Tudo isto provê, ajuda e favorece nossa autopreservação e a plenitude de nossa vida.

O amor de si mesmo é a fonte de todas as paixões. As outras paixões são de certa forma mudanças desse amor principal. Tudo isto significa que as paixões perniciosas e extravagantes, escravizadoras são também naturais. Mas as mudanças interferem no modo inicial e chocam com o seu próprio começo. Assim o homem se acha na natureza à margem e está sempre em contradição. Quando uma criança faz birra por não conseguir algo, ou a criança fica irada isto não significa que ela seja má por natureza. Isto significa que ela já luta contra as ameaças e medos, mas não tem o sentido de maldade. Ela ainda não tem o controle de suas paixões e sempre está lutando para dominar à vontade, o querer e o amor de si mesmo.

Rousseau diz que o amor, a gentileza e a beneficência constituem disposições naturais; e a crueldade, o rancor, o ódio, e a cobiça são antinaturais. Não que os homens nasceram santos e que depois de perverteram. Mas porque as primeiras formas harmonizam e conflitam com a busca do bem-estar e a felicidade que as outras são deformadoras, é danosa que acabam com o princípio primordial. No Emilio as paixões têm um peso fundamental. A maldade moral é antinatural e tem origens nas influências externas. As paixões são conforme Descartes um grande problema para o conhecimento. Para Rousseau elas são boas ou más. As boas contribuem para o bem-estar e a felicidade do homem. As más só prejudicam e atrapalham o homem natural. A crueldade, a perversidade é oposta ao bem pessoal.

O PERFECTÍVEL

O homem perfectível é um tema central no pensamento de Rousseau. Ele afirma que o homem em sua condição natural ou primitiva possui duas faculdades que os distinguem definitivamente dos animais. O *livre arbítrio* e o aperfeiçoamento pessoal são estas duas características. A esta última Rousseau denomina de perfectibilidade. Ele é superior aos animais, o comportamento e ação dos animais são limitados e fixos, com o homem não.

Os pássaros ao fazerem seus ninhos se comportam por instintos e não há variações para este comportamento. Os homens têm táticas que os tornam superiores a estes animais. Estas variações que os homens praticam são fundamentais, os homens são mais variados em suas ações; os animais são mais rotineiros e previsíveis: a mesma árvore, mesmo oco de madeira, etc. O homem não é rotineiro, os desejos levam os homens a uma grande variação para se satisfazer.

O homem pode aprender com o meio ambiente e modifica-lo para sua própria vontade e vantagem, o modificar o meio ambiente é para obter mais vantagem. O comportamento do homem leva-o a aprender, adquirir os melhores meios para suprir as suas necessidades e seus gostos. A flexibilidade e a adaptação, a aptidão permite ao homem acumular aprendizado e aplica-lo para obter mais vantagens (lucros). Isto tudo Rousseau denomina de perfectibilidade.

Rousseau no *Segundo Discurso* fala da capacidade que o homem possui: perfectibilidade. Essa capacidade dos seres humanos como benção e como maldição. Os homens são capazes para: a agricultura, construção, ciência, letras, manufaturas e a sociedade. O homem sem a perfectibilidade a sua vida se tornaria menos sustentável, mais difícil.

“Mas a capacidade leva o indivíduo a ter dias tranquilos e inocentes, mas que o leva com o passar do tempo o tirano de si mesmo e da natureza” (DD 54, O C III 142).

O homem pode transformar-se e mudar o seu meio. O homem é capaz de levantar e sustentar as condições sociais que são nocivas para si mesmo. A perfectibilidade do homem é a fonte de todas as suas virtudes como de seus vícios. A perfectibilidade abre caminho para o vício e o erro, mas leva também à virtude e à sabedoria.

CONCLUSÃO

O nosso trabalho é apenas uma reflexão sobre Rousseau e sobre o seu pensamento. A atualidade do pensamento de Rousseau é bem vasta, apesar de se passar vários séculos. O conceito de homem neste autor é fantástico. Não existe um trabalho mais sério sobre a sua antropologia e sobre a religião em Rousseau. Os autores que analisaram a sua obra estão mais preocupados com as contradições de sua vida com sua obra. Mas alguns autores e comentaristas se preocupam com a denúncia econômica, social, política e religiosa que o nosso autor elabora. A preocupação de outros autores refere-se com a Educação. A nossa preocupação é apenas sobre o que ele tem de melhor: o conhecimento, a educação, a crítica social e política que são bem atuais. Rousseau vê o homem diferentemente dos escritores de sua época e de autores de hoje. Ele vê que é possível mudar a ordem social mudando o próprio homem.

REFERÊNCIAS

CASSIRER, Ernest. A questão Jean Jacque Rousseau, São Paulo, UNESP, 1997, 141 p.

DENT, N.J.H. Dicionário Rousseau, Rio de Janeiro, Zahar, 1996, 249 p.

DOZOL, Marlene de Souza. Rousseau, Petrópolis, Vozes, 2006, 102 p.

FORTES, Luís Roberto Salinas. Rousseau, da teoria à prática, São Paulo, Ática, 1976.

FORTES, Luís. Paradoxo do espetáculo, São Paulo, Discurso/USP, 1997.

MATOS, Olgária. Rousseau. São Paulo, MC editores, 1978.

PISSARRA, Maria Constança. Rousseau, São Paulo, Moderna, 2005.

ROUSSEAU, Jean Jacques. Escritos Políticos. Petrópolis, Vozes, 1996.

_____. Emilio ou da educação, São Paulo, DIFEL, 1976.

_____. Emilio ou da educação. São Paulo, Martins Fontes. 1999.

_____. Escritos. São Paulo, abril Cultural, 2 vols, 2006.

ULHOA, Joel Pimentel. Rousseau e a utopia da soberania popular, Goiânia, UFG, 1996.

VIEIRA, Luís Vicente. A Democracia em Rousseau, Porto Alegre, Edipucrs, 1997.

A EDUCAÇÃO: DA ANTIGUIDADE À ATUALIDADE.

*Karina Nonato Mocheuti*¹

*Humberto César Machado*²

INTRODUÇÃO

A educação pode ser compreendida como vital aos seres humanos à medida que é utilizada para a satisfação de todas as suas Necessidades Humanas Básicas, que podem ser traduzidas, como tudo que é necessário aos indivíduos para exercerem suas atividades cotidianas, tanto no campo biológico quanto no campo social e no campo espiritual.

Mesmo apresentando significados diferentes aos diversos autores, frequentemente ao final elucidam o mesmo sentido, especialmente quando colocam o ser humano como agente dos processos e propicia a suas relações com o meio em que vive. Educar tem um valor muito próximo de capacitar, instruir, de permitir que os indivíduos se transformem se adaptem e mantenham relações com as atividades e sua realidade (CALEJJA, 2008).

Este ensaio teve como objetivo conhecer os principais aspectos da educação e suas mudanças ao longo do tempo, a fim de responder aos questionamentos: Quais foram às mudanças ocorridas na educação ao longo da história humana? Qual a relação da educação com o avanço tecnológico?

A pesquisa foi desenvolvida através de um levantamento de revisão bibliográfica de diversas produções publicadas sobre o processo da educação antiga e das práticas da atualidade, sendo relevante a medida que remete ao leitor à um resgate histórico do passado melhorando a sua compreensão do presente e apontando possíveis rumos ao futuro.

¹ Especialista em Metodologia e Didática do Ensino Superior. Graduada em Enfermagem pela Universidade de Marília/ SP, Professora do Departamento de Enfermagem da Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* Francisco Ferreira Mendes.

² Doutor em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2013), Mestre em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2006), Especialista em História pela Universidade Federal de Goiás - UFG (2002), Graduado em Filosofia pela Universidade Federal de Goiás (1996), Elemento Credenciado em Fatores Humanos e Prevenção de Acidentes Aéreos pelo CENIPA (Centro de Investigação e Prevenção de Acidentes Aeronáuticos). Professor da Faculdade Alfredo Nasser - UNIFAN e da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC - GO).

É possível comprovar seus avanços, principalmente através das inúmeras possibilidades tecnológicas da atualidade, mas que ainda se encontra em constante reorganização, a fim de aproximar este grande espaço que separa a construção do conhecimento e as práticas atuais vigentes no sistema educacional.

As políticas educacionais a partir do início do século XXI veem alcançando diversas reestruturações que culminam em inúmeras mudanças na construção do conhecimento, conseqüentemente nos modos de ensino-aprendizagem. Embora ainda moldado pela reforma do Estado capitalista há uma preocupação no perfil dos futuros cidadãos e profissionais, e é neste sentido que as novas práticas pedagógicas e a valorização subjetiva dos seres envolvidos no processo de ensino-aprendizagem veem crescendo cada vez mais e as tecnologias vem sendo inseridas neste processo dinâmico.

Há uma inquietação no que se refere à qualidade de ensino e comprometimento dos alunos durante a sua formação pessoal e intelectual, fatores estes que influenciarão a sua inserção no mundo do trabalho e na sua relação com a sociedade. E no que tange as instituições de ensino, as mesmas preocupam-se com a formação de pessoas e profissionais voltados para um perfil humanista, com objetivo de findar a fragmentação ainda presente nos modelos de trabalho. Um dos seus compromissos é a qualidade do ensino juntamente com a responsabilidade social.

As práticas realizadas pelos professores e vivenciadas durante a vida escolar dos alunos influenciam no desenvolvimento da sua inteligência e se tornam um estímulo ao prazer de estudar e resolver situações. Os educadores devem se apropriar do processo de ensino-aprendizagem, para colaborar verdadeiramente com a construção do conhecimento dos indivíduos, levando em consideração as influencias que este processo sofre (TARDIF, 2002).

REVISÃO DE LITERATURA

Um histórico da Educação

Através dos tempos o homem buscou diversas formas para educar-se, portanto falar do homem é falar de educação. Ao longo desse tempo o desenvolvimento humano, social e científico impuseram mudanças no processo educacional, pois o homem nos seus inúmeros

questionamentos buscava responder seus conflitos com a natureza e com a sociedade (BARBOSA, 2012).

Fazer um olhar sobre a história da educação nos permite conhecer suas mudanças, seu desenvolvimento e compreender, sobretudo sua atual situação, como reflexo desse mutável processo e também possivelmente refletir sobre as suas perspectivas (CASIMIRO, 2007).

A desigualdade de acesso às práticas educacionais é possível observar desde a Antiguidade, portanto a educação se manifestou de forma seleta desde os seus primórdios tendo o ensino caracterizado somente pela repetição e pela memorização (BARBOSA, 2012). Este passado no presente observa-se até os dias de hoje, mas o qual se procura evoluir, compreendendo o processo de ensino- aprendizagem como autônomo e construtivo.

A escrita na história da educação foi desenvolvida no período da Idade Antiga que compreendeu de 4.000 a.C a 3.500 a.C até a queda o império romano do ocidente (476 d.C) e o início da idade moderna, o que possibilitou um outro tipo de comunicação e uma maior fidelidade aos registros das civilizações daquela época, os quais abandonavam sua característica nômade, passando a fixar-se em grupos sociais definidos, traçando assim o perfil de uma nova sociedade (*id*, 2012).

Na região mesopotâmica que compreende atualmente as terras do Iraque e parte da Síria, sua ocupação deu-se já no processo de sedentarização dos nômades, e a educação promoveu o crescimento das cidades e o surgimento da escrita cuneiforme (BARBOSA, 2012).

Sirugi (2006) define escrita cuneiforme como:

A escrita cuneiforme foi criada pelos sumérios, e sua definição pode ser dada como uma escrita que é produzida com o auxílio de objetos em formato de cunha. Utilizavam a argila para escrever, e quando queria que seus registros fossem permanentes, as tabuletas cuneiformes eram colocadas em um forno, ou poderiam ser reaproveitadas quando seus registros não fossem tão importantes que precisariam ser lembrados sempre.

Neste período importantes escolas, códigos jurídicos, princípios matemáticos e processos comerciais foram criados e o desenvolvimento da escrita cuneiforme colaborou com o crescimento e com o status aos escribas que desde jovens frequentavam espaços dedicados a educação e na idade adulta se profissionalizavam (BARBOSA, 2012).

Após a segunda metade do terceiro milênio a.C., houve um aumento significativo no sistema escolar dos sumérios, que povoavam a região sul da mesopotâmia, melhoraram seu sistema escolar preparar e formar escribas para trabalharem nas diversas atividades econômicas e administrativas do reino, assegurando a sua organização.

O frequentar a escola tinha início juntamente ao frequentar dos templos, o que com o passar do tempo tornou-se foco da cultura e do saber e os ensinamentos eram com ênfase em poemas, obras literárias, provérbios e ditos populares (TAIS, 2008).

Quanto à educação do antigo Egito, iniciou-se por volta de 3150 a. C. e terminou 30 a.C. quando o Egito sob dominação de outros povos se transformou numa província do império romano, ela deu-se de forma monótona, repetitiva, baseadas na escrita tinham como base a intenção na formação de sujeitos políticos e era direcionada a arte de falar bem, de transmitir ideias com convicção, típico das classes dominantes e que para não sofrerem castigos a dedicação aos estudos era primordial (MURAT, 2003).

A praticidade era a marca da população egípcia e os estudos começavam cedo, toda ciência era voltada para a resolução dos problemas do dia a dia e a matemática procurava resolver questões como a construção das pirâmides. O regime escolar era de internato ou semi-internato e a maioria das escolas funcionava nos templos e sempre voltada para os saberes divinos (BARBOSA, 2012).

Quanto à Grécia antiga, a mesma compreendia o sul da Itália e França, nessa região foram criados muitos conceitos de cidadania, democracia e filosofia, que utilizamos até hoje, o qual as mulheres até os sete anos eram educadas em companhia da mãe para os afazeres do lar e os rapazes eram ensinados a ginástica e a música.

Ao final do século V a.C. surge o professor de *grammatistés* para ensinar as crianças a lerem e escreverem, tinha como objetivos ensinar as crianças a cantar e recitar poemas de grande conteúdo moral, quando contratados pelas famílias de posse (BARBOSA, 2012).

Foi na Grécia antiga que teve origem o termo pedagogo que deriva de “paidagogos” nome dado aos escravos que levavam as crianças à escola e por promover as primeiras reflexões acerca das ações pedagógicas e que certamente influenciariam a educação por séculos, Sócrates foi um dos precursores da educação na época, a Grécia clássica foi considerada o berço da pedagogia, a mesma através da filosofia promoveu a criticidade e o

aperfeiçoamento da educação (BARBOSA, 2012). A educação grega além de formar o homem tinha o compromisso de formar cidadãos.

Quanto à educação na Roma antiga, a mesma foi influenciada pela cultura grega. Aos poucos a igreja católica se institucionalizou e o clero exerceu o domínio na educação. Neste período as crianças eram fortemente influenciadas pelos pais, fazendo com que a educação familiar fosse decisiva na educação das crianças. As meninas aprendiam sobre os ofícios do lar e os meninos sobre a vida pública (MURAT, 2013).

A escola secundária ajudava no aperfeiçoamento da linguagem e dos estudos dos poetas. O ensino se objetivava na transmissão dos conhecimentos da oratória (BARBOSA, 2012).

Neste período Romano não existia democratização, havia um ideal de direitos e deveres.

No Brasil a educação no período colonial pode ser dividido em três principais fases. O período “Jesuítico” que compreendeu de 1549 a 1754, foi caracterizado pela chegada dos jesuítas ao Brasil e pela intenção de catequizar e instruir os indígenas que povoavam o Brasil. Esse trabalho educativo de convencimento do índio a fé católica não era fácil, pois não sabiam ler (REZENDE *et.al*, 2014).

Chegando ao Brasil os Jesuítas não trouxeram somente a moral mas também alguns costumes europeus e métodos pedagógicos, tendo como objetivos neste período da história ensinar os índios a lerem e a escreverem.

“Mas como perceberam a não adequação do índio para a formação sacerdotal católica, essa percepção não devem ter deixado de exercer influencia na proposição de um ensino profissional e agrícola” (REZENDE *et.al*, 2014,p.24).

Após a expulsão dos jesuítas pelo Marques de Pombal, a educação que tinha uma estrutura passou a ser um caos e quando expulsos os Jesuítas do Brasil, deu-se inicio a segunda principal fase, o período “Pombalino” que compreendeu de 1760 a 1808 e pouca coisa restou de pratica educativa (REZENDE *et.al*, 2014).

Neste período pensou-se em organizar a escola para servir o Estado com seus interesses políticos e econômicos e auxiliar em reerguer Portugal, havia o ensino de latim,

grego e retórica, os professores eram responsáveis por organizar as aulas, a escola, eram mal preparados e já eram mal pagos (REZENDE *et.al*, 2014).

A terceira fase se nomeou de período “Joanino” que compreendeu de 1808 a 1820 e a base da estrutura social do Brasil era de submissão tanto externa em relação à metrópole e interna da maioria negra ou mestiça considerada escrava. É fundada a escola de educação, onde ensinava a língua portuguesa e francesa (REZENDE *et.al*, 2014).

A Educação da Atualidade

Em virtude das inúmeras mudanças ocorridas na sociedade, dentre elas o desenvolvimento tecnológico, a rapidez que esse desenvolvimento ocorre e juntamente com a necessidade de reflexões sobre o saber. Fez-se cada vez mais necessário, ampliar as discussões sobre essas transformações, de forma a beneficiar as ações pedagógicas buscando novas formas didáticas e metodológicas de promoção do processo ensino-aprendizagem e principalmente do desenvolvimento social e intelectual do ser humano.

Calleja (2008, p.112) afirma que,

Podemos propor muitas mudanças, provavelmente já estão acontecendo, porém estas questões devem refletir na forma como conduzimos a aprendizagem dos estudantes, só assim qualquer um modelo pedagógico poderá funcionar.

Pelo fato da educação ter relações estreitas com diversos campos das ciências humanas, como a psicologia, que auxilia os relacionamentos interpessoais e a sociologia que esclarece as formas de aprendizagem (TAIS, 2008).

Há uma grande preocupação por parte dos educadores no desenvolvimento de diversos potenciais nos alunos, principalmente no modo de relacionar-se com a sociedade e refletir sobre ela.

A reflexão e o conhecimento tornaram-se os principais instrumentos para a busca das respostas dos adventos da sociedade atual, na qual o papel da escola é auxiliar e estimular o desenvolvimento da autonomia, da criatividade, do espírito de pesquisa, da cooperação e da

solidariedade nos alunos, mas para que isso seja possível, também se faz necessário que os educadores tenham domínio desses saberes e sejam capazes de exemplificá-los enquanto pessoas, ensiná-los e de estimulá-los ao pensamento crítico e a resolução de problemas.

De acordo com Gadotti (2000, p.07),

Seja qual for à perspectiva que a educação contemporânea tomar, uma educação voltada para o futuro será sempre uma educação contestadora, superadora dos limites impostos pelo Estado e pelo mercado, portanto, uma educação muito mais voltada para a transformação social do que para a transmissão cultural.

O tempo em que ler e escrever eram tudo, já se tornou desatual, a preocupação da educação atual é de possibilitar as pessoas à reflexão sobre a realidade, no preparo para o mundo do trabalho e das relações, pois quem terá destaque em meio a este tempo serão os empreendedores e os que conseguem relacionar-se de forma harmoniosa socialmente.

O modelo de escola atual tem que desafiar o modelo de construir o conhecimento, pois nela deve haver felicidade e prazer (GADOTTI, 2000).

Na sociedade atual a reformulação das práticas pedagógicas é fundamental para que a educação tome um rumo como formadora para o desenvolvimento e fonte da efetivação do conhecimento intelectual dos alunos e não mais esses como meros receptores de informações (BRANQUINHO, 2007).

Gohn (2013, p.25) complementa que “não basta aspirar a algo, é preciso vivenciá-lo. E para isso precisam-se de auto-organização, planos e estratégias de aprendizagem e autoaprendizagem.”

A perspectiva atual é que o professor exerça verdadeiramente a educação, mas educar para a vida, significando ir além da transmissão de informações.

Calleja (2008, p.115) contribui que “Hoje não concebemos professores como simples repetidores de textos aprendidos nos livros, o ensino puramente reprodutivo é obsoleto e prejudica a independência cognitiva e a criatividade dos alunos, impede a sua motivação e não contribui para uma aprendizagem significativa”.

Pode-se dizer que o professor é totalmente responsável o processo de formação dos indivíduos e este tem duração durante toda a sua vida, é permanente e se mistura na dialética entre a teoria e a prática, o ser humano possui a consciência do seu inacabamento e por isso tantos questionamentos e isso se torna importante para que ele se torne autônomo (GENTIL, 2013).

A prática de uma educação de autonomia se dá através de possibilitar condições para que os estudantes “assumam-se”. Isso implica em ser autêntico, em ser o que se é a partir de si mesmo e o educador deve respeitar a autonomia do educando e conseqüentemente a valorização do educador. O educador pode procurar criar condições para que os alunos criem sua própria autonomia (GENTIL, 2013).

As Tecnologias e o Espaço da Educação

A sociedade atual vive numa era tecnológica de vastas possibilidades de aparelhos e recursos de comunicação e apresenta neste momento da história humana um novo modo de receber e transmitir informações. A universalização das informações quase em tempo real foi possibilitada pelo uso das inovações tecnológicas. Atualmente esses recursos e o uso dessas tecnologias são diários na vida das pessoas, com o objetivo de organizar, dinamizar e facilitar as relações de informação na sociedade.

De modo geral a educação é ainda o setor que mais tem ficado distante dessa realidade na sua prática em sala de aula. Os alunos queixam desse vazio e dessa desapplicabilidade, pois é nítido que os professores ainda não se apropriaram destes recursos (ANDRADE, 2015).

Todas essas tecnologias já fazem parte dos diversos setores em diversos lugares do mundo e os professores têm como desafio aproximar-se desta ferramenta, terão que incorporar em suas rotinas passando por um processo de inclusão além de perpassar os conteúdos curriculares, estando aptos ao uso das tecnologias.

Por essa nova perspectiva GOMES (2014, p.133) em relação às tecnologias da informação, afirma que “a educação foi uma dessas instâncias, que tem mobilizado instituições governamentais e iniciativas privadas a investirem em recursos tecnológicos com a promessa de dar novos rumos aos processos de ensino e aprendizagem”.

Para que possa se trabalhar com essas tecnologias em sala de aula, exige uma responsabilidade do professor em aperfeiçoar as compreensões dos alunos sobre o mundo natural e cultural que vivem, a fim de possibilitar a suas relações com a realidade.

Pensando que à medida que os anos passam, as tecnologias se tornam mais necessárias, os professores devem trabalhar a ideologia do uso das tecnologias a seu favor, há uma necessidade de rever seus processos metodológicos, reciclar seus conhecimentos e de se qualificarem para este processo de inclusão das tecnologias na educação (RICARTE, 2014).

Quanto às políticas educacionais e Diretrizes Curriculares Nacionais para a formação do graduado em pedagogia, esta realidade também deve fazer parte desta formação, para não dicotomizarem suas experiências durante a sua formação na graduação e depois enquanto educadores em sala de aula. Essa vivência com as tecnologias devem iniciar desde o primeiro contato com os conteúdos durante a graduação.

METODOLOGIA

A metodologia utilizada nesta pesquisa caracteriza-se pelo seu caráter bibliográfico. No primeiro momento da pesquisa foi realizado a análise bibliográfica, a fim de selecionar as obras de autores da educação com produções sobre a educação na antiguidade e do período contemporâneo. Já o segundo momento da pesquisa foi essencialmente dedicado à parte de uma redação conclusiva segundo a visão da pesquisadora, mas aberta a novos olhares e reflexões.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se observar que ainda vive-se um período de transição nas práticas da educação e na sua compreensão, pois ainda é perceptível vestígios e comportamentos dentro do processo de ensino-aprendizagem das épocas passadas.

A educação teve inúmeras modificações tanto em suas abordagens quanto nos seus modos de exercê-la e suas transformações sempre esteve aliado ao modelo econômico e social vigente. É possível comprovar seus inúmeros avanços, principalmente através das inúmeras

possibilidades tecnológicas da atualidade, mas que ainda se encontra em constante reorganização a fim de aproximar este grande espaço que separa a construção do conhecimento e as práticas atuais vigentes no sistema educacional.

Atualmente a educação encontra-se num período de intensificação dos questionamentos, das discussões e reflexões a cerca de sua perspectiva, das suas práticas educacionais e do seu papel estratégico na preparação dos indivíduos para uma nova organização econômica e social, em meio às mudanças constantes nesses cenários.

Ao finalizar este estudo pode-se considerar que há uma necessidade constante em refletir e discutir sobre o novo processo educativo, ou melhor, a nova proposta da educação, marcada por grandes expectativas e grande influências da realidade social e tecnológica do momento, a fim de contribuir-se com uma sociedade mais ética, solidária, participativa e ativa.

O professor desempenha papel fundamental como um mediador e estimulador para o prazer em construir conhecimento em todos os seus aspectos e não somente o saber de conteúdos.

REFERÊNCIAS

AMADO, Casimiro Manuel Martins. **História da Pedagogia e da Educação – Guião para acompanhamento das aulas**. Univ. de Évora. 2007.

ANDRADE, Ezequias Felix de. **Tecnologias digitais e ensino**. Artefactum Revista de Estudos em Linguagem e Tecnologia, ano VII, jan.2015.

BARBOSA, Robson Gomes. **A história da Educação na antiguidade**.

BRANQUINHO, Livia Alves. **A Prática Pedagógica da Educação Atual**. 2007.

FALCON, Francisco José Calazans. **História cultural e história da educação.** Revista Brasileira de Educação v. 11 n. 32 maio/ago. 2006.

GADOTTI, Moacir. **Perspectivas atuais da educação.** Porto Alegre. Ed: Artes Médicas, 2000.

GOHN, Maria da Glória. **Aprendizagens em Pedagogias Alternativas: Movimentos Sociais. Desigualdade & Diversidade** – Revista de Ciências Sociais da PUC-Rio edição dupla, n.12, p. 13-27, jan/dez. 2013.

GOMES, Bruno. *et al.* **Educação e novas tecnologias da informação e da comunicação: o livro didático digital no Brasil.** Revista Temática, Ano X, n. 0, julho. 2014.

MURAT, Gioacchino. **Um breve passeio pela História da Educação.** 2003.

REZENDE *et.al.* **História da educação no Brasil.** 2014. Revista Gestão & Tecnologia. Ano VI. Ed XXVI Março / Abril 2014.

RICARTE, Maria Cely Marques. **O desafio do educador em sala de aula na aplicação das tecnologias da atualidade.** Paraíba: Monografia, Especialização em Fundamentos da Educação. 2014.

SIRUGI, Fernando. **Educação Cuneiforme.** 2006. Disponível em: <http://www.infoescola.com/civilizacoes-antigas/escrita-cuneiforme/>. Acesso em 04 de março de 2015.

STIGAR, Robson; SCHUCK, Neivor. **Refletindo sobre a história da educação no Brasil.**2007. Disponível em: <http://www.opet.com.br/site/pdf/artigos/EDUCACAO-refletindo-sobre-a-historia-da-educacao-no-Brasil.pdf>. Acesso em 06 de março de 2015.

TAIS, Josimar. **Breve História da Educação e as desiguais realidades educacionais no Brasil**. 2008. Disponível em: <http://professor-josimar.blogspot.com.br/2011/11/breve-historia-da-educacao-e-as.html>. Acesso em 05 de março de 2015.

TARDIF, M. **Saberes docentes e formação profissional**. Rio de Janeiro: Ed.Vozes, 2002.

TOZETTO, Susana Soares; GOMES, Thaís de Sá. **A prática pedagógica na formação docente**. 2009.

GENTIL, Carlos Eduardo. **Educação na Formação da Autonomia do Pensamento**. 2013. Disponível em: <http://www.faccamp.br/wea/antiores/revista2013-2014.pdf#page=43>. Acesso em 12 de março de 2015.

O PRINCÍPIO DA DIGNIDADE DA PESSOA HUMANA E O TRABALHADOR RURAL – ASPECTOS DA SAÚDE DO LAVRADOR

*Cinthya Amaral Santos*¹

*Rael Bispo dos Santos*²

*Humberto César Machado*³

INTRODUÇÃO

O tema em destaque propõe um estudo em relação ao princípio constitucional da dignidade da pessoa humana, como preceito fundamental dos direitos humanos e as condições de trabalho do lavrador e a repercussão em sua saúde física e mental. A pesquisa visa demonstrar as condições de vida desses trabalhadores e a relação conflitante e contraditória em relação ao que normatiza a Constituição Federal Brasileira (BRASIL 1988) no aspecto do respeito à dignidade do ser humano em relação a condições de labor e a sua saúde.

O tema traz como objetivo principal a realização de um apanhado doutrinário e estatístico, com dados provenientes de pesquisas na área, sobre a realidade em que se labora na atividade agrícola no Brasil, bem como os problemas gerados no aspecto da saúde física e mental da pessoa atuante. Será analisado também os tipos de doenças que podem ser gerados pelo uso abusivo de agrotóxicos, bem como os impactos dos mesmos na população rural.

A metodologia utilizada foi à pesquisa bibliográfica com a exposição de opiniões e conceitos de vários autores, bem como de dados estatísticos elaborados em algumas pesquisas já realizadas, referenciadas na bibliografia, bem como coletados pelo Ministério do Meio Ambiente.

As condições de trabalho ainda são precárias e o lavrador ainda labora em condições de trabalho escravo desrespeitando o princípio fundamental da dignidade como um dos objetivos precípuos do ordenamento constitucional da República Federativa do Brasil.

¹ Mestre em Ciências Ambientais, Especialista em Direito Constitucional, Eleitoral e Docência Universitária, Graduada em Direito. Professora do Uni Anhanguera e UNIFAN.

² Bacharelado em Direito pela Faculdade Alfredo Nasser (UNIFAN).

³ Doutor em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2013), Mestre em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2006), Especialista em História pela Universidade Federal de Goiás - UFG (2002), Graduado em Filosofia pela Universidade Federal de Goiás (1996), Elemento Credenciado em Fatores Humanos e Prevenção de Acidentes Aéreos pelo CENIPA (Centro de Investigação e Prevenção de Acidentes Aeronáuticos). Professor da Faculdade Alfredo Nasser - UNIFAN e da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC - GO).

Dos Direitos fundamentais

Os direitos fundamentais são aqueles básicos ao ser humano, que não especifica condições especiais e compõem um núcleo intangível de direitos humanos que estão submetidos a uma determinada ordem constitucional. (CAVALCANTE FILHO, 2009)

Histórico

Os direitos humanos, bem como a positivação dos direitos fundamentais não surgiram de uma só vez, mas através de uma evolução histórica que se adequou às transformações da civilização humana, iniciando com a luta pela limitação do poder político que foi o principal fator de acolhimento para a defesa de direitos ao ser humano (COMPARATO, 2003).

Aristóteles afirmou que o homem na realidade é um animal político e se relaciona em sociedade, inclusive participa do governo da cidade, característica da democracia direta (ARISTOTELES, 2004). Na Grécia antiga surgiu à ideia do direito natural ser superior ao direito positivo e na Roma clássica surge o *Ius gentium* que instituiu alguns direitos aos estrangeiros, mas em quantidade inferior ao dos romanos pátrios (MIRANDA, 2000).

A era medieval foi caracterizada pela existência de vários centros de poder, influenciado pelo feudalismo e pelo cristianismo. Foi dividida em dois estamentos, clero e nobreza, tendo aquele à função de oração e pregação para proteger e vigiar o povo para trabalhar pelo sustento de todos e a nobreza que era sustentada por essa trabalho. Na segunda metade começam a surgir documentos escritos que passam a reconhecer alguns direitos para determinados estamentos, mas que não abrangia a todas as pessoas, só as mais abastadas (FERREIRA FILHO, 1998).

Conforme ensina Alexandre de Moraes:

Este período da história da humanidade ficou marcado pelo Feudalismo, pela rígida separação entre classes e a consequente subordinação entre o suserano e os vassalos. Todavia, em que pese essa situação, surgiram diversos documentos jurídicos reconhecedores da existência de direitos humanos, limitando o poder estatal (2011, p. 13).

Na Inglaterra várias cartas e estatutos foram elaborados assegurando direitos fundamentais. Não são declarações no sentido moderno, mas textos limitados aos estamentos e que

condicionavam a formação de regras consuetudinárias de mais ampla proteção dos direitos fundamentais do homem (SILVA, 1992).

As teorias de Rousseau, Montesquieu e Locke tiveram influência na Declaração do Bom Povo da Virgínia, bem como na Independência Norte Americana e preceituava a base inicial dos direitos do homem resumindo os direitos do homem como seres livres e independentes que o poder derivava do povo que era por esse poder responsável Ricardo Castilho (2013) reforça que a Constituição dos Estados Unidos é à base do constitucionalismo moderno, pois tem presentes elementos essenciais dos direitos do homem como a limitação do poder do Estado e a declaração de direitos voltada para a pessoa humana.

Os direitos fundamentais são definitivamente consagrados em 26 de agosto de 1789, quando a Assembleia Nacional Francesa promulgou a Declaração dos Direitos do Homem e do cidadão. Os direitos por ela declarados eram naturais, abstratos, imprescritíveis, inalienáveis, individuais, mas também universais e essa declaração foi a inspiração concreta para a Declaração dos Direitos do Homem, promulgada em 1948 pela ONU - Organização das Nações Unidas (FERREIRA FILHO, 2010).

Para Dalmo de Abreu Dallari, a Declaração das Nações Unidas consagrou três objetivos fundamentais:

A certeza dos direitos, exigindo que haja uma fixação prévia e clara dos direitos e deveres, para que os indivíduos possam gozar dos direitos ou sofrer imposições; A segurança dos direitos, impondo uma série de normas tendentes a garantir que, em qualquer circunstância, os direitos fundamentais serão respeitados; a possibilidade dos direitos, exigindo que se procure assegurar a todos os indivíduos os meios necessários à fruição dos direitos, não se permanecendo no formalismo cínico e mentiroso da afirmação de igualdade de direitos onde grande parte do povo vive em condições subumanas (1998, p. 179).

Defendeu também a dignidade da pessoa humana, tendo como base a liberdade, a justiça e a paz universal. O ideal de democracia na busca de um progresso econômico, social e cultural e o direito de resistência à qualquer tipo de opressão.

Conceito

Os direitos fundamentais são aqueles reconhecidos dentro da perspectiva do Direito Constitucional de cada Estado, diferenciando-se dos direitos humanos que se referem a posições jurídicas em âmbito nacionais internacionalmente vinculadas ao ser humano. São

direitos compreendidos como princípios que resumem a concepção do mundo e consagram à dignidade da pessoa humana, garante a limitação do poder estatal e visa o pleno desenvolvimento da personalidade do homem no âmbito nacional (MORAES, 2007; SARLET 2009).

Quando se utiliza os adjetivos fundamentais mostra-se a indicação de situações jurídicas as quais as pessoas não se realizam, não convivem, nem mesmo sobrevivem em sociedade (SILVA, 2009). A expressão direitos humanos fundamentais possui o condão de reforçar a unidade essencial entre os direitos humanos e os direitos fundamentais e refere-se a princípios que indicam a concepção do mundo, mostrando também a ideologia que normatiza nosso ordenamento jurídico (BETRAMELLO, 2009).

Norberto Bobbio (1992) diz que os direitos e garantias do homem possuem uma finalidade básica que é respeitar a dignidade protegendo da arbitrariedade do poder estatal e estabelecer condições mínimas de desenvolvimento humano. O que leva a conclusão de que os trabalhadores também devem ser preservados na sua atividade laboral e na sua dignidade como ser pertencente ao Estado.

Da dignidade da pessoa humana

Do latim *dignitas*, que significa virtude, honra e consideração, deriva a palavra dignidade. É uma qualidade moral que quando possuída por uma pessoa é a base do próprio respeito que a mesma tem. Além disso, é o próprio procedimento que direciona a pessoa a ser merecedora do conceito público (PLÁCIDO e SILVA, 1967).

O princípio da dignidade da pessoa humana é, pela Constituição brasileira de 1988, elevado à condição de norma principal em relação aos direitos fundamentais. Tem como principal diretriz proteger as liberdades humanas em todas as suas diretrizes e contra qualquer abuso ou arbitrariedade que venha dos atos do Estado (FALCÃO, 2013).

Seguindo essa premissa, o princípio fundamental normatizado no inciso III, do artigo 1º da Constituição Federal (CF/88), é considerado como um princípio valor e que sustenta a base do estatuto jurídico das pessoas e dão sentido aos direitos fundamentais. Os preceitos fundamentais só ganham sentido quando unidos aos seus atributos e atos no sentido de que cada ser humano é a sua própria dignidade (ANDRADE, 2004).

A dignidade da pessoa humana é fundamento da república e consagra ainda mais fundamento de garantia do Estado na busca de melhores condições para que o ser humano possa ter uma vida digna, sendo um fim e não um meio pelo qual a nossa Constituição atinge

suas finalidades. É necessário ainda dizer da impossibilidade de se mensurar a dignidade, pois se assim fosse esse princípio poderia ser sobrepujado por outras coisas (TAVARES, 2010)

O princípio da dignidade da pessoa humana deve ser compreendido nos dias atuais, como uma premissa que o ser humano tem, como o fim de tudo, para suprir as necessidades mínimas concretas, não podendo assim voltar às concepções tradicionais do passado. A dignidade é da pessoa em sua vida real e cotidiana e não de um ser ideal e abstrato. Em todo homem e em toda mulher estão presentes todas as faculdades e direitos da humanidade (MIRANDA, 1993).

Miguel Reale (1989) especifica bem a posição da pessoa humana como fonte de todos os valores. O homem quando percebido em sua objetividade espiritual, enquanto ser que só realiza no sentido do dever ser é chamado de pessoa, sendo assim, somente ele possui dignidade originária dentro do processo histórico de formação.

Para Kant (2004) as pessoas deveriam respeitar as demais como pessoas, pois o mandamento de sua ética era imperativo e categórico como máxima fundamental e por isso reconhecia na pessoa o seu valor por excelência. Todos os seres considerados racionais são submetidos a leis ordenatórias que delimita comandos no sentido de que haja um tratamento entre as pessoas como fins em si e não simplesmente como meios.

Do Trabalho Rural e os aspectos em relação à saúde do trabalhador

Do trabalho rural

O trabalho rural caracteriza-se por ser uma atividade que é desenvolvida em uma propriedade rural com fins lucrativos, ou também em prédio rústico que tenha destinação específica para a exploração agrícola, pecuária, extrativista ou agroindustrial (NASCIMENTO, 2013).

A lei 5.889/73 em seu artigo 3º normatiza que:

Empregador rural é toda pessoa física ou jurídica, proprietário ou não, que explore atividade agroeconômica em caráter permanente ou temporário, diretamente ou por meio de prepostos e com auxílio de empregados (BRASIL, 1973).

Nesse contexto também se equipara quem executa exploração industrial em estabelecimento agrário que são as atividades que compreendem o primeiro tratamento dos produtos em natura.

O trabalhador rural conforme especifica a Convenção da Organização Internacional do Trabalho – OIT, nº 141, artigo 2º, são todas aquelas pessoas dedicadas ao trabalho nas regiões rurais e a realização de tarefas agrícolas ou artesanais ou a ocupações similares ou conexas. Equiparam-se também as pessoas que trabalhem por conta própria, como arrendatários, parceiros e pequenos proprietários (OIT, 1975).

Das condições do trabalho rural e sua dignidade

A força do trabalhador rural é corroída pelas cargas de trabalho o que atinge de forma direta as capacidades vitais. FACCHINI (1994) explica que cargas de trabalho são as demandas psicobiológicas no processo do trabalho. De 50% a 70% dos trabalhadores rurais estão expostos a fatores ergonômicos, biológicos, físicos, químicos e psicossociais e mais de 60% tem uma carga de trabalho deficiente (OIT, 2002).

Influenciam a rotina de trabalho as condições sociais precárias, a desigualdade e injustiça, bem como a instabilidade econômica (SHUBBERT, 2001). Os trabalhadores rurais estão expostos a agentes causadores de doenças e acidentes, como máquinas, agrotóxicos, animais domésticos e exposição a agentes microbianos (ALMEIDA, 1995).

O Ministério do Meio ambiente mostra, em gráfico representativo das estatísticas, a quantidade de acidentes com produtos químicos (MMA, 2010)

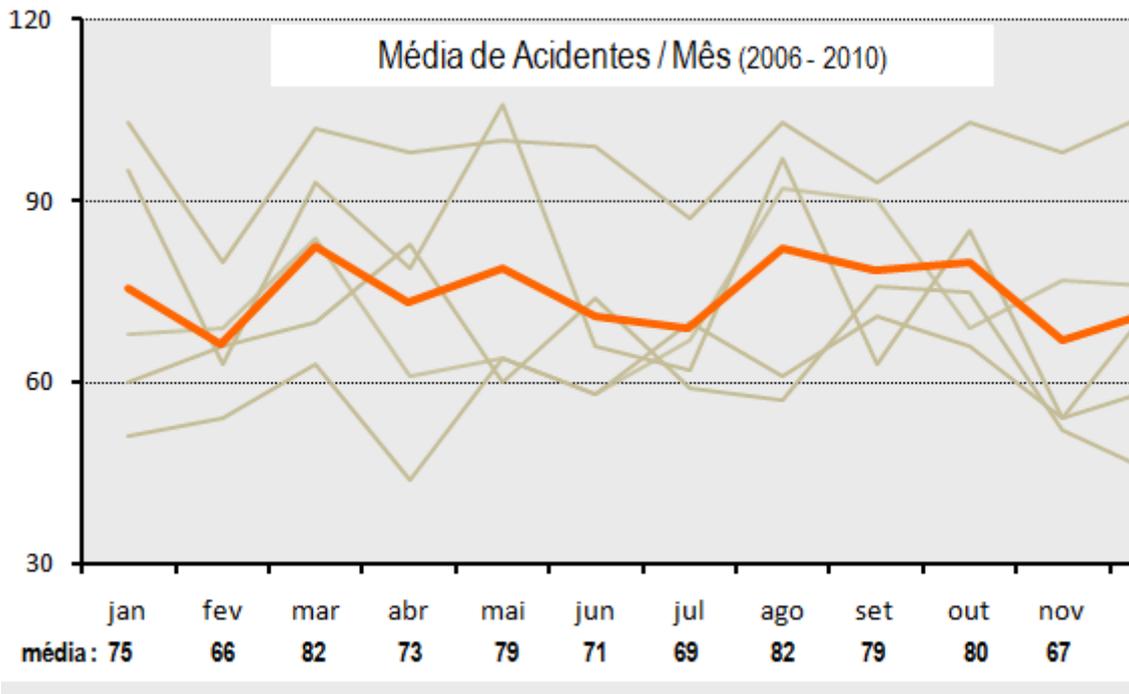


Gráfico 1: Perfil Nacional de Acidentes envolvendo Produtos Químicos Perigosos

Destaca-se como exemplo de indignidade para o com trabalhador rural o cortador de cana quando subordinado a outros trabalhadores e que são responsáveis pelo aliciamento dos mesmos. Alesse e Navarro (1997) destacam que esses capatazes podem usar de maus tratos e outros tipos de violência para com os trabalhadores rurais aliciados. Além disso, os acidentes de trabalho também são muito comuns e recorrentes tendo em vista os instrumentos usados pelo lavrador para cortar a cana.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define como saúde um completo bem estar físico, mental e social, e não somente a ausência de doença ou enfermidade. A OMS ainda traz dados quantitativos que especificam que mais de três milhões de seres humanos no mundo são contaminados por agrotóxicos e o número de morte atinge mais de 20.000 em todo o planeta, sendo que 14.000 mil só nas aéreas do terceiro mundo (LISBOA, SENA & DUTRA, 2007).

Encontram-se estudos pioneiros no campo da Medicina que são ligados à saúde mental do trabalhador rural, relatados na alta ocorrência de suicídios por problemas mentais associados ao uso generalizado de drogas psiquiátricas, nesta população. A doença que vulgarmente é chamada de “doença dos nervos” da população rural provem de uma síndrome, que possui um limite nebuloso entre o normal e o patológico. Rozemberg (1994) especifica que a medicina defronta-se com a existência do doente crônico, em relação ao sofrimento

mental ou com distúrbios psíquicos inespecíficos que são de difícil compreensão na questão do diagnóstico.

A permissividade do uso de agrotóxicos reflete uma verdadeira afronta ao princípio da dignidade humana. Segundo Londres (2011), os agrotóxicos:

[...] são ingredientes ativos com elevado grau de toxicidade aguda comprovada e que causam problemas neurológicos, reprodutivos, de desregulação hormonal e até câncer. Apesar de serem proibidos em vários locais do mundo, como União Europeia e Estados Unidos, há pressões do setor agrícola para manter esses três produtos (endosulfan, metamidofós e acefato) no Brasil mesmo após serem retirados de forma voluntária em outros países

Chega-se a conclusão que os agrotóxicos são um dos mais importantes fatores de riscos para a saúde humana quando utilizados em grande escala por vários setores produtivos e mais intensamente pelo setor agropecuário. Esses produtos têm sido objeto de vários tipos de estudos, tanto pelos danos que provocam à saúde das populações humanas, e dos trabalhadores de modo particular, como pelos danos ao meio ambiente e pelo aparecimento de resistência em organismos-alvo (pragas e vetores) nas empresas onde haja trabalhadores em regime celetista (SILVA, *et al*, 2005).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O princípio da dignidade humana deve ser aplicado de forma normativa, para a fiel interpretação das leis conforme o que normatiza a Constituição Federal Brasileira. Para a realização desse preceito fundamental é indispensável à valorização da saúde do trabalhador frente as condições de labor do lavrador, isso por meio de uma efetiva consolidação de trabalho digno como direito social a ser assegurado a todos.

Os agrotóxicos atravessam conflitivamente à vida do trabalhador rural. De um lado considerados um veneno e de outro, são vistos pela economia e pelos agricultores como essenciais a produção de alimentos para a população. Existe uma falta de alternativa técnica em relação ao trabalho dessas pessoas, que não podem competir no mercado capitalista, sendo assim, as estratégias cotidianas desses sujeitos são lidar coletivamente com o adoecer em prol do trabalho.

O enfoque principal desse artigo foi o de demonstrar que a saúde do trabalhador rural trata-se de um direito humano, conjugado com o princípio da Dignidade da pessoa

humana como fundamento maior de um Estado Democrático de Direito. Também em relação à saúde que deve ser considerado como um bem-estar físico e mental do lavrador.

O aspecto integridade física e mental do lavrador é englobado necessariamente pelo fundamento da Dignidade da pessoa humana e o seu valor é medido através da garantia de condições justas e adequadas a vida para o indivíduo trabalhador, que devem ser transportados e aplicados no meio ambiente do trabalho.

É possível realizar uma adequação entre condições de trabalho, meio ambiente do trabalho e a preservação da saúde do trabalhador. Como mostrado existem normas da OIT que fazem essa ligação entre a saúde, a segurança e a execução do trabalho. O trabalho deve ser visto como uma forma de ganhar a vida e engrandecer o homem. Mas para que esse engrandecimento ocorra faz-se necessário que sejam respeitados os direitos fundamentais do homem acolhidos pela Constituição Federal Brasileira, no sentido de viabilizar uma vida digna para o homem do campo.

REFERÊNCIAS

ALESSI, Neiry Primo and NAVARRO, Vera Lúcia. **Saúde e trabalho rural: o caso dos trabalhadores da cultura canavieira na região de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.** Cad. Saúde Pública. Rio de Janeiro, v. 13, suppl. 2, 1997.

Almeida WF. **Trabalho agrícola e na relação com saúde/doença.** In: Patologia do trabalho (R. Mendes, org.), Editora Atheneu, Rio de Janeiro, p.487-516, 1995.

ANDRADE, José Carlos Vieira de. **Os direitos fundamentais da Constituição Portuguesa de 1976.** 3 ed. Coimbra. Almedina, 2004.

ARISTÓTELES. **A Política.** São Paulo: Nova Cultural, 2004.

BETRAMELLO, Rafael. **Direitos humanos fundamentais – conceito, terminologia e perspectiva histórica.** Disponível em: <http://rafaelbertramello.jusbrasil.com.br/artigos/121943100/direitos-humanos-fundamentais-conceito-terminologia-e-perspectiva-historica>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2015.

BOBBIO, Norberto. **A era dos direitos,** 18. ed., Rio de Janeiro: Campus, 1992

BRASIL, lei 5.889/73. **Lei do trabalho rural.** Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/15889.htm. Acesso em: 11 de março de 2015.

CASTILHO, Ricardo. **Direitos Humanos.** 2ª ed. São Paulo: Saraiva, 2013..

COMPARATO, Fábio Konder. **A Afirmação Histórica dos Direitos Humanos.** 3 ed. São Paulo: Saraiva, 2003.

DALLARI, Dalmo de Abreu. **Direitos humanos e cidadania**. São Paulo: Moderna, 1998.

FACCHINI, L. A. **Uma contribuição da epidemiologia: o modelo de determinação social aplicado à saúde do trabalhador**. In Buschinelli, J. T. P., Rocha, L. E., Rigotto, R. M.(orgs) **Isto é trabalho de gente? Vida, doença e trabalho no Brasil**. Vozes, Petrópolis, pp. 178-186, 1994.

FALCÃO, Valdirene Ribeiro de Souza. **Os direitos fundamentais e o princípio da dignidade da pessoa humana**. Revista Seção Judiciária do Rio de Janeiro (RSRJ), v. 20. n. 38. Rio de Janeiro, 2013.

FERREIRA FILHO, Manoel Gonçalves. **Direitos Humanos Fundamentais**. São Paulo: Saraiva, 1998.

Immanuel, Kant. **Fundamentação da metafísica dos costumes e outros escritos**, tradução de Leopoldo Holzbach, São Paulo: Martin Claret, 2004

KAUARK, Fabiana e MEDEIROS, Carlos Henrique. **Metodologia da pesquisa: guia prático**. Itabuna : Via Litterarum, 2010.

LISBOA, Rosana, SENA Jessé e DUTRA, Tereza. **Uso de agrotóxicos na produção de hortaliças da bacia hidrográfica do natuba, afluente do tapacurá – PB e consequências sobre o meio ambiente e saúde dos agricultores**. II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica. João Pessoa - PB – 2007.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. Rio de Janeiro: **Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa (ASPTA)**, 2011, p. 17-18. Disponível em: <<http://br.boell.org/downloads/Agrotoxicos-no-Brasil-mobile.pdf>>. Acesso em: 21 jan. 2013.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Gráfico de estatísticas de acidente**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/emergencias-ambientais/estatisticas-de-acidentes>. Acesso em: 17 de março de 2015.

MIRANDA, Jorge. **Manual de Direito Constitucional Tomo IV**. 3 ed. Coimbra: Coimbra editora, 2000.

_____, Jorge – **Manual de direito constitucional**, tomo IV, 2. ed. – Coimbra Editora, 1993.

MORAES, Alexandre de.. **Direitos Humanos Fundamentais: teoria geral, comentários aos arts. 1º a 5º da Constituição da Republica Federativa do Brasil, doutrina e jurisprudência**. 8ª ed. São Paulo: Atlas, 2007.

_____. Alexandre de. **Direitos humanos fundamentais**. 9ª ed. São Paulo: Atlas, 2011.

NASCIMENTO, Amauri Mascaro. **Iniciação do direito do trabalho** – 39. ed. – São Paulo: LTr. 2013.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO TRABALHO – OIT. **Convenção 141**. Disponível em: <http://www.oitbrasil.org.br/node/495>. Acesso em: 11 de março de 2015.

REALE, Miguel – **Introdução à filosofia**, 2. ed. – São Paulo: Saraiva, 1989.

Rozemberg, B. **O consumo de calmantes e o “problema de nervos” entre lavradores.** *Revista de Saúde Pública*, 28 (4), 300-308. 1994.

SARLET, Ingo Wolfgang. **A eficácia dos direitos fundamentais: uma teoria geral dos direitos fundamentais na perspectiva constitucional**. 10ª ed. Rev. Atual. E ampl. – Porto Alegre: Livraria do Advogado Editora, 2009a.

SILVA, Plácido e. **Vocabulário Jurídico**. Vol. II; São Paulo: Forense, 1967.

SILVA, José Afonso da. **Curso de Direito Constitucional Positivo**. 32ª ed. Rev. Atual. Até a Emenda Constitucional n. 57, de 18.12.2008. São Paulo: Malheiros Editores, 2009.

Schubert B. **Accidentes del trabajo: América del Sur y Central**. AISS - Simpósio Internacional Global perspective on effective workplace safety strategies. Melbourne, Australia, 15-16 marzo de 2001.

TAVARES, André Ramos. **Curso de Direito Constitucional**. 9ª ed. Editora Saraiva. São Paulo, 2013.

A EVOLUÇÃO DA CIÊNCIA CONTÁBIL NO BRASIL: CARACTERÍSTICAS E TENDÊNCIAS

*Vanderléia Aparecida da Silva*¹

*Maria Eunice Angelino da Silva*²

*Sandro Benedito Sguarezi*³

*Humberto César Machado*⁴

INTRODUÇÃO

Com a evolução da sociedade e a necessidade de controles contábeis para o desenvolvimento das primeiras Alfândegas que surgiram em 1.530, iniciou-se a história da Contabilidade no Brasil no período Colonial influenciado pela metrópole de Portugal. (REIS; SILVA, 2008). Esses acontecimentos confirmam as preocupações iniciais, com o ensino comercial da área contábil, pois no ano de 1.549 foram criados os armazéns alfandegários. Portanto para controle desses armazéns alfandegários Portugal nomeou Gaspar Lanego, sendo o primeiro contador geral das terras brasileiras.

A contabilidade desde os primórdios esteve presente na sociedade e sempre estará com a evolução humana no transcorrer dos séculos. O crescimento da importância da Contabilidade e constituído da evolução histórica da própria sociedade e do sistema capitalista, daí a necessidade do aperfeiçoamento das normas e do investimento para produzir profissionais cada vez mais qualificados e isso passa pela boa formação. E a importância do ensino da contabilidade se verifica quando analisados o aumento da oferta de cursos e número de vagas nas instituições de ensino superior no Brasil dos anos de 1.946 em diante.

¹ Mestranda do Mestrado Profissional em Educação, Faculdade Integrada de Goiás – FIG.

² Mestranda do Mestrado Profissional em Educação, Faculdade Integrada de Goiás – FIG.

³ Doutor, Co-orientador, Professor adjunto do Curso de Administração da UNEMAT – Campus de Tangará da Serra e Professor do Programa de Pós-Graduação em Educação – PPGEduc – nível Mestrado da UNEMAT Campus de Cáceres.

⁴ Doutor em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2013), Mestre em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2006), Especialista em História pela Universidade Federal de Goiás - UFG (2002), Graduado em Filosofia pela Universidade Federal de Goiás (1996), Elemento Credenciado em Fatores Humanos e Prevenção de Acidentes Aéreos pelo CENIPA (Centro de Investigação e Prevenção de Acidentes Aeronáuticos). Professor da Faculdade Alfredo Nasser - UNIFAN e da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO).

O objetivo dessa pesquisa é compreender como se deu esse avanço da contabilidade no Brasil. Para alcançar o campo de estudo recorreu-se a fontes históricas que permitem recuperar a evolução de conceitos, temas e áreas, e a inserção dessa evolução em um quadro referencial que ajude a explicar os fatores determinantes e as implicações das mudanças ocorridas (LUNA, 1997).

Outro ano importante que a história do ensino no Brasil é 1.946, quando teve início o Curso Superior em Ciências Contábeis em Instituições de Ensino Superior de referência a fato se deu na renomada Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade da Universidade de São Paulo (FEAU/SP). E no ano de 1954 na também renomada Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC/SP). Esses fatos marcados definitivamente os rumos do ensino superior na área contábil no Brasil (PAGOUMIAN, 2011). Com o avanço da contabilidade e de suas normas, surgiu à problemática: O ensino da contabilidade está acompanhando os avanços tecnológicos na área contábil?

Na busca de compreender esse processo e de responder a pergunta de partida, a presente pesquisa é caracterizada por um estudo bibliográfico, tendo como objetivo geral evidenciar a evolução da história da contabilidade no Brasil e como a contabilidade tem se apropriado dessas novas tecnologias. Quanto aos objetivos específicos, a pesquisa visa descrever a história da contabilidade e suas evoluções, assim como do curso de Ciências Contábeis no Brasil delineado sua importância para a sociedade, e evidenciado as principais mudanças tecnológicas no decorrer dos anos da contabilidade brasileira.

A Origem e Evolução Histórica da Contabilidade

A contabilidade teve início desde os primórdios e existência da história humana, a mesma vem sofrendo mudança constante para se adequar às necessidades da sociedade que ao acumular bens e riquezas necessitam dos serviços destes profissionais. Segundo Agostini e Carvalho (2011, p. 3) “Os primeiros indícios de atividades comerciais surgiram a 4.500 a.C., onde civilizações, assírios, caldeus e sumérios, da Mesopotâmia se dedicaram à agricultura e fizeram surgir cidades e desenvolver atividades comerciais”.

Devido à ação humana que gera e modifica o patrimônio, concluiu-se que a contabilidade precisava ser tratada como ciência social. O homem primitivo, ao inventariar suas ferramentas utilizadas na caça e pesca, ao contar seus rebanhos, já estava praticando de uma forma simples a contabilidade (COTRIN; SANTOS; ZOTTE JUNIOR, 2012). Como neste período não havia inventado os pergaminhos, todos os registros eram feitos em rochas. Assim evidencia-se que o homem progrediu e a Contabilidade do mesmo modo progrediu e tornou-se uma ferramenta imprescindível para o progresso da humanidade (SCHMIDT, 2000).

Lopes de Sá (1997) considerou aspectos do conhecimento a partir de determinados fenômenos históricos de pontuam a Evolução da Contabilidade, conforme segue:

Quadro 1: Períodos evolutivos da Contabilidade no Brasil.

I	Intuitivo Primitivo:	Refere-se aos períodos da pré-história da Humanidade, com registros rudimentares da arte e da riqueza.
II	Racional-Mnemônico:	Estabelecimento de métodos de organização da informação e disciplina dos registros, ocorrido na Antiguidade – iniciou cerca de 4.000 a.C.
III	Lógico Racional:	Origem da partida dobrada. Período da Idade As comprovações iniciaram a partir da segunda metade do século XI.
IV	Literatura:	Difusão do conhecimento, quando autores preocuparam-se em ensinar, por meio de livros escritos, a forma de realizar os registros e as demonstrações. Tal período deu-se a partir do século XI, no mundo islâmico. E difundiu-se no Ocidente a partir do século XV.
V	Pré-Científico:	Nessa fase, transcendeu a simples informação, quando ocorreu a formação das primeiras teorias, abrindo caminho para a lógica do conhecimento contábil. Deu-se início à disciplina das contas, com intensa busca de raciocínios, definições e conceitos para o registro da riqueza. Este período deu-se a partir do final do século XVI, prolongando-se de forma evolutiva, até o início do século XIX.
VI	Científico:	Estabeleceram-se as bases das escolas do pensamento contábil. Estudou-se, através das primeiras obras científicas, a essência dos fenômenos patrimoniais, o que significavam os fatos informados e relativos ao patrimônio, a partir das primeiras décadas do século XIX - período da História das Doutrinas.
VII	Filosófico-Normativo:	Com a preocupação de normatizar as informações e de penetrar na interpretação conceitual, a partir da década de 50 do século XX, definiu-se bem as áreas da informação dos fenômenos patrimoniais. Tal período

	também é o da atualidade, com suporte no considerável avanço da tecnologia da informação.
--	---

Fonte: Adaptado de CRC/RS apud Lopes de Sá (1997).

Deste modo, fácil perceber, passando pela fase da Antiguidade, por que a Contabilidade teve que florescer e acompanhar as mudanças do mundo moderno. Conforme Sá (2008, p. 21) “Para que se compreenda a Contabilidade, pois, como ramo importante do saber humano que é, necessário se faz remontar a suas profundas origens.” Confirmado Iudicibus (2009, p. 16) “Foi nesse período, obviamente, que o Frei Luca B. de Picioli, escreveu seu famoso *Tractatus de coputis et scripturi*, provavelmente o primeiro a dar uma exposição completa e com muitos detalhes, ainda hoje atual, da Contabilidade.”

Aos poucos os povos primitivos passaram por transformações e cada vez mais civilizados foram criando cidades e com o desenvolvimento econômico, social e cultural e a intensificação do comércio as necessidades contábeis foram crescendo e evoluindo e com isso houve a necessidade de profissionais mais preparados para melhor atender as demandas do início da modernização. No período do renascimento cultural, surge a figura do Frei Luca Bartolomeo de Picioli, considerado um dos mais estudiosos da época, e que se consagrou como uma das maiores mentes de seu tempo, e tornou-se conhecido como “pai da contabilidade” (COTRIN; SANTOS; ZOTTE JUNIOR, 2012).

Com uma sociedade mais evoluída as exigências são maiores, porque o progresso requer profissionais mais qualificados para atenderem as competitividades no mundo dos negócios, sendo assim, há uma necessidade de melhorar a formação destes profissionais. Através da evolução contábil pode-se perceber a evolução cultural e econômica de um determinado país, estado e/ou cidade, porque é através do sistema de contas que uma sociedade se organiza e evolui em todos os aspectos: sociais, culturais e principalmente econômicos. São esses profissionais que vão aperfeiçoando as técnicas contábeis.

A Evolução da Contabilidade no Brasil

A contabilidade no Brasil teve sua origem no período colonial a partir de 1.530 com a expansão da metrópole e a evolução da sociedade. Com a vida da família real ao Brasil e com os gastos públicos e rendas obtidas, houve-se a necessidade de controles

através de relatórios, estes eram escritos pelos contadores da época. No período colonial D. João VI utilizou as escriturações contábeis para registros inerentes a sua administração, mas apenas a partir de 1804 a contabilidade é iniciada no Brasil.

Segundo Reis e Silva, (2008) a contabilidade começou a se desenvolver na era colonial quando influenciado pela metrópole Portugal necessitava de controle para as recentes Alfândegas que aqui surgiram em 1.530 devido à evolução da sociedade aqui presente. Em 1946 foi criado o Conselho fiscalizador de Contabilidade no Brasil, nele regulamentava o perfil do contador e determinava que os mesmos deveriam ser graduados em Ciências Contábeis e o primeiro contador a possuir o registro de CRC foi o Senador João Lyra do Estado do Rio de Janeiro.

Em 1.850 com a Lei nº 556, foi implantado o primeiro Código Comercial Brasileiro. O Brasil não possui uma doutrina verdadeiramente brasileira, seus fundamentos contábeis foram baseados primeiramente nos princípios Italianos, sendo mais tarde transferido para o padrão Norte-Americano o qual persiste até os dias atuais. (SILVA; RODRIGUES, 2013). A informação contábil fundamentada nos princípios italianos durou por duas décadas e era de caráter financeiro consistindo apenas atendimento das obrigações fiscais e legais.

Houve uma época em que esta profissão não era muito valorizada. A primeira regulamentação contábil realizada em território brasileiro ocorreu em 1870, por meio do reconhecimento oficial da Associação dos Guarda-Livros da Corte, pelo Decreto Imperial nº 4. 475. Esse decreto representa um marco, pois distingue o guarda-livros como a primeira profissão liberal regulamentada no Brasil. (COELHO, 2000). Assim os “Guarda-Livros” assumiram a obrigação de fazer a escrituração mercantil, controlar as entradas, saídas de dinheiro, elaborar contratos entre outras atividades.

De acordo Agostini e Carvalho (2011, p. 5) “outro fato importante foi à influência da escola norte-americana de contabilidade que deu início a estudos sobre princípios contábeis e a promulgação da Lei 6.404/76”. A teoria Contábil é recente no Brasil, e até meado do século XX sofreu ampla influências da cultura contábil da Itália, país este, considerado como sendo o berço da Contabilidade e que deu origem ao método das partidas dobradas. (REIS; SILVA, 2008).

Os principais passos da contabilidade no Brasil foram destacados na década de 70, pois as companhias abertas nesta época eram obrigadas a terem suas demonstrações de contabilidades padronizadas, as mesmas deveriam possuir uma estrutura e auditorias por auditores independentes obedecendo às legislações brasileiras.

O Curso de Ciências Contábeis no Brasil

Com o desenvolvimento social e econômico no Brasil, o aumento da produção, o crescimento das indústrias, bem como a circulação da riqueza, houve a necessidade da qualificação de profissionais contábeis para desempenharem trabalhos de escrituração mercantil nos órgãos públicos e estabelecimentos comerciais.

O ensino comercial teve sua implantação no início do século XIX, essa conquista demorou quase 100 anos para alcançar uma estrutura eficaz de torná-los mais bem preparado para atender as necessidades comerciais do país. A primeira escola de contabilidade no Brasil, denominada de escola do comércio, foi a Fundação Escola de Comércio Álvares Penteado (FECAP/SP), que surgiu em 1.902, em São Paulo, como Escola Prática de Comércio. E mais tarde, o Decreto Federal nº 1.339/05 reconheceu oficialmente os diplomas expedidos pela Escola Prática de Comércio, instituindo dois cursos: um que se chamava curso geral (técnico) e outro denominado curso superior (COELHO, 2000).

No Brasil o curso de Ciências Contábeis vem se destacando a cada ano, acompanhado a evolução da área da contabilidade e suas tendências, pois essa ciência esta presente em quase todas as situações cotidianas da sociedade. Mas nem sempre foi assim, porque segundo Iudícibus e Marion (2002) afirmam que o desenvolvimento da Ciência Contábil foi muito devagar ao longo dos tempos. Apesar da profissão do contador ser muito antiga, ela só começou a se desenvolver e popularizar nas últimas décadas com as novas tecnologias e obrigatoriedades para com o país decorrentes da convergência á contabilidade internacional.

Tabela 1: Profissionais ativos nos Conselhos Regionais de Contabilidade no Brasil.

Estado	Profissionais				Organizações Contábeis					
	Contador	Técnico	Total	% Brasil	Sociedade	Empresário	MEI	EIRELI	Total	% Brasil
AC	876	363	1.239	0,24	31	16	4	1	52	0,11
AL	2.503	1.319	3.822	0,75	152	58	64	17	291	0,63
AM	4.550	2.301	6.851	1,35	138	68	3	5	214	0,47
AP	1.003	360	1.363	0,27	23	35	10	1	69	0,15
BA	14.201	7.420	21.621	4,25	1.146	412	81	51	1.690	3,68
CE	7.887	4.740	12.627	2,48	679	394	48	22	1.143	2,49
DF	9.849	5.289	15.138	2,98	955	264	118	69	1.406	3,06
ES	7.113	3.059	10.172	2	753	266	48	36	1.103	2,4
GO	7.878	4.276	12.154	2,39	636	203	91	54	984	2,14
MA	4.112	2.333	6.445	1,27	190	116	40	6	352	0,77
MG	29.794	26.127	55.921	11	3.626	781	447	193	5.047	11
MS	4.474	2.729	7.203	1,42	430	357	87	31	905	1,97
MT	7.735	2.223	9.958	1,96	394	207	31	13	645	1,41
PA	8.368	2.314	10.682	2,1	251	194	24	24	493	1,07
PB	4.064	2.047	6.111	1,2	214	104	88	11	417	0,91
PE	7.579	6.555	14.134	2,78	635	155	92	29	911	1,99
PI	4.062	1.367	5.429	1,07	155	103	38	5	301	0,66
PR	22.586	9.731	32.317	6,36	2.772	670	161	144	3.747	8,17
RJ	34.156	21.081	55.237	10,87	3.248	322	134	171	3.875	8,45
RN	4.778	1.327	6.105	1,2	245	163	9	5	422	0,92
RO	3.357	1.307	4.664	0,92	191	52	7	11	261	0,57
RR	983	242	1.225	0,24	29	14	1	0	44	0,1
RS	23.164	15.165	38.329	7,54	2.475	599	94	90	3.258	7,1
SC	15.307	5.161	20.468	4,03	2.168	545	321	153	3.187	6,95

SE	2.259	1.334	3.593	0,71	170	109	59	16	354	0,77
SP	81.620	60.127	141.747	27,89	10.964	2.361	632	504	14.461	31,52
TO	2.838	755	3.593	0,71	140	82	5	17	244	0,53
Total	317.096	191.052	508.148	100	32.810	8.650	2.737	1.679	45.876	100

Fonte: CFC - Conselho Federal de Contabilidade/2015.

Na tabela 1 demonstrar a grande quantidade de profissionais e empresários ativos no Brasil, passando de 508.148 milhões de pessoas. Esse número expressivo de profissionais atuantes justifica pela amplitude da área contábil, podendo atuar nos setores privados, públicos ou na área de ensino. O profissional contábil é necessário em qualquer ramo de atividade como nas áreas comerciais, industriais, hospitalar, hotelaria, agronegócio, setor público, mobiliária, seguradoras, cooperativas de créditos entre outras áreas de atuação.

Segundo Perez (1997), para ingressar na área contábil nos dias atuais, o profissional necessita estar atento às modificações, ou seja, com a globalização, essas transformações acontecem de forma contínua e em curto espaço de tempo. E a cada dia essa demanda aumenta devido ao aperfeiçoamento da legislação em constantes atualizações, o que exige desse profissional um compromisso cada vez maior com a qualidade no processo de formação desses futuros contabilistas.

Tabela 2: Profissionais e organizações ativos nos Conselhos Regionais de Contabilidade.

POSIÇÃO ANUAL EM 31 DEZEMBRO									
ANO	CONTADOR		TÉCNICO EM CONTABILIDADE		TOTAL GERAL	ORGANIZAÇÃO			TOTAL GERAL
	MASCULINO	FEMININO	MASCULINO	FEMININO		INDIVIDUAL (1)	EMPRESÁRIO INDIVIDUAL	SOCIEDADE (2)	
2004	104.978	61.692	131.846	60.503	359.019	46.835	0	21.172	68.007
2005	115.512	74.291	134.847	65.679	390.329	43.528	0	21.620	65.148
2006	119.846	79.825	129.975	64.942	394.588	44.194	0	21.421	65.615
2007	123.173	82.551	129.026	64.588	399.338	44.746	0	22.275	67.021
2008	127.594	85.433	128.292	64.234	405.553	46.039	0	23.341	69.380
2009	130.239	88.797	127.268	64.307	410.611	47.095	0	26.156	73.251
2010	161.850	130.540	129.877	73.317	495.584	46.972	1.759	27.552	76.283
2011	161.064	129.144	126.403	71.116	487.727	45.326	4.043	29.601	78.970
2012	162.928	129.758	123.718	69.094	485.498	43.829	6.250	31.020	81.099
2013	168.573	135.669	121.640	68.070	493.952	41.747	6.926	33.970	82.643

Fonte: Adaptado CFC - Conselho Federal de Contabilidade, 2015.

Pode-se evidenciar na tabela 2 que a quantidade de contadores está aumentando a cada ano, ao contrário dos técnicos em contabilidade, que está diminuindo devido às instituições não oferecerem mais esse curso. Esse crescimento remete a uma constante reflexão sobre a busca da qualidade a ser exigida nesses cursos para que os futuros contadores consigam atender a demanda e a expectativa da sociedade e do mercado. Já as organizações também tiveram um crescimento notável de 82.643 no ano 2013, o que mostra uma tendência de maior especialização das diferentes áreas contábeis.

A Contabilidade e a Globalização

Provavelmente os primórdios da Globalização com o intenso comércio entre Genova e Veneza e desde o início da História da Humanidade, a contabilidade já existia, e no decorrer dos anos, vem sofrendo alterações no sentido econômico, político, social, cultural e científico. O desenvolvimento da contabilidade foi contínuo à medida que o homem buscava novas ferramentas para aprimorar seus conhecimentos (AUGOSTINI; CARVALHO, 2011), e as empresas capitalistas ampliar seus controles, bem como o Estado procurava ampliar formas de cobrar mais impostos.

Assim como outros países, o Brasil também vive um processo de intensificação do processo de globalização, em que suas empresas têm grande potencial nacional e estão buscando se expandir para outros lugares do mundo dos negócios. Conforme Iudícibus, Marion e Faria (2009, p. 262), afirmam que a globalização dos mercados exige que os profissionais, pesquisadores, e professores de contabilidade se adaptem às novas mudanças e tendências em termos normatizadores e práticos, quanto aos seus conceitos e objetivos.

Esse novo cenário, muitas empresas passaram a investir em empresas em outros países, fusões, cisão, incorporação, e outras formas de parceria estratégica. Por essa razão, exigido do mercado dos negócios garantias de controles e normas assegurando a esses investidores segurança no mundo dos negócios em suas transações comerciais. Observando a importância do crescente momento da globalização para a economia Brasileira, conforme Castro e Moraes (2013) “a evolução das transações e relações comerciais internacionais incitou a idéia de harmonização das normas contábeis.” Diante do exposto, o desenvolvimento do mercado demandou conseqüentemente, a questão da contabilidade. Haja vista, que por se tratar de uma ciência social e aplicada os métodos utilizados pela contabilidade seria trajado em diversos países.

Neste contexto, a contabilidade brasileira vem avançar pela conquista do mundo dos negócios, buscando seguir os segmentos comerciais em diversos locais do mundo. Segundo Castro e Moraes (2013 p. 7) “apresentando [...], o procedimento de convergência das Normas Brasileiras de Contabilidade as normas internacionais vem sendo um dos mais admiráveis acontecimentos para a Contabilidade Brasileira no decorrer dos últimos tempos”.

Visando a convergência contábil brasileira com os outros países, nota-se organismos internacionais como o *International Accounting Standards Board* (IASB) é uma organização internacional sem fins lucrativos, sua responsabilidade é publicar e atualizar as normas *International Financial Reporting Standards* (IFRS) em língua inglesa. Evidenciando a necessidade da harmonização entre as normas, com emissão de pronunciamentos sobre vários assuntos, sempre como objetivo de promover de forma mundial a aceitação e o cumprimento dessas novas regras publicadas e atualizadas. Sendo assim a harmonização é primordial para a diminuição das divergências contábeis entre os países e respeitando as peculiaridades de cada região a ser conquistada no mercado dos negócios.

De acordo com Weffort (2005, p. 21) o objetivo deste processo não é extinguir as divergências, mas apenas acomodá-las, pois a contabilidade deve ser direcionada em atendimento das penúrias específicas de todos os países envolvidos neste processo de harmonização. Segundo Madeira (2004, p. 82) as normas objetivam internacionalizar as informações contábeis, conciliando maior comparabilidade e confiabilidade, oferecendo maior exatidão na análise das demonstrações contábeis das organizações nacionais com suas matrizes ou filiais no exterior.

A adoção de tais práticas se justifica por utilizar uma linguagem exclusiva para medir e relatar o desempenho das organizações, ou seja, mensurações alcançadas com normas não harmônicas provocam insegurança no mercado dos negócios, o que pode até mesmo retirar de um país emergente a possibilidade de atrair novos investimentos. Nessa circunstância, Carvalho, Lemes e Costa (2006, p. 15) evidenciam que, “a contabilidade surgiu para minorar as agruras de quem quer investir fora do país e até hoje tinha que manusear balanços em dezenas de normas contábeis distintas, tentando compatibilizá-las para comparar”. Sem nenhuma dúvida, esse é o papel da contabilidade internacional.

Dentre essas convergências as normas internacionais a contabilidade brasileira sofreu grande influência de algumas Leis, como a Lei nº 11.638/07 foi promulgada no

Congresso Nacional em 28 de dezembro no ano de 2007, da medida provisória nº 449/08 que se converteu na Lei nº 11.941/09, com a criação do Comitê de Pronunciamentos Contábeis (CPC) em 2005. Produzindo, durante o ano de 2008 e 2009, enorme conjunto de novas normas, aprovadas pela Comissão de valores Mobiliários (CVM) e pelo Conselho Federal de Contabilidade (CFC) e outros órgãos reguladores da classe contábil, agora com a convergência completa das normas internacionais de contabilidade (IASB). Essas novas leis estão alinhadas com o mercado contábil internacional, e está percorrendo para um processo de transparência empenhando as empresas em divulgarem suas informações para seus investidores e a sociedade interessada.

Vale ressaltar que a Lei nº 11.638/07, sofreu algumas alterações na Lei nº 6.404/76 que é a Lei das Sociedades Anônimas (S/A), tendo como objetivo principal moldar a contabilidade brasileira à contabilidade mundial. A finalidade da promulgação desta Lei, é produzir demonstrações financeiras favoráveis aos investidores e aos usuários externo, sendo inseridas na contabilidade brasileira. (PICETTI; CARRARO, 2011). Portanto trazendo grandes avanços à contabilidade buscando a convergência à contabilidade internacional.

Essas novas regulamentações e normas aumentam a responsabilidade dos profissionais, sejam eles os administradores, contadores ou auditores. Este conjunto de normas aplicáveis na celebração e regulação de negócios traz consigo uma mudança na conduta das empresas, tanto pela responsabilização dos envolvidos, quanto pela implantação e novas práticas de controle. (ARAÚJO, et al., 2008). De acordo com a padronização internacional de normas influenciada pela globalização, a contabilidade brasileira moderna, esta inserida em um mundo cheio de novas tecnologias e tendências, que estão em constante atualização.

A Contabilidade Tecnológica

O processo de globalizado tornou o mundo muito mais informatizado, o que também é utilizado no campo da Contabilidade aliada à tecnologia da informação, ou seja, saindo da fase papel transposto para fase transmissão digital dos dados contábeis. Desta forma permitindo maior velocidade de envio da informação, compartilhamento, confiabilidade, segurança, graças às várias facilidades existentes nos dias atuais, como as certificações digitais.

A certificação digital serve para dar acesso ao sitio da Receita Federal e entre outros órgãos, é utilizado pela empresa ou pelo contador, essa autorização digital serve para fazer consultas e para transmissão de dados para os receptivos órgãos de interesse. De acordo com Serasa Experian (2015) o certificado digital é uma assinatura com validade jurídica que garante proteção a todas as transações online e outros serviços via internet, sendo utilizados no envio de declarações, dados, documentos, processos etc. Permitido que pessoas físicas e jurídicas se identifiquem e assine digitalmente de qualquer lugar do planeta essas informações, trazendo segurança, privacidade, autenticidade e agilidade no processo de informação para fisco.

Segundo Serasa Experian (2015), os benefícios da Certificação Digital são: “Validade jurídica nos documentos eletrônicos; Desburocratização de processos, [...]; Economia tempo, [...], por exemplo, consultar o imposto de renda, assinar contratos digitalmente, entre outros”. De acordo com Oliveira (1997, p.12), "o sucesso da profissão, na atual conjuntura, depende de alguns fatores importantes, como: capacidade de interpretar corretamente legislação, principalmente a societária e a tributária, senso de organização e controle, domínio da informática e visão gerencial".

No ano de 2005, iniciou-se no Brasil o desenvolvimento do Projeto Nota Fiscal Eletrônica (NF-e). Este projeto foi elaborado, de forma agregada, pelas Secretarias de Fazenda dos Estados e Receita Federal do Brasil - RFB. O Projeto da Nota Fiscal Eletrônica (NF-e) surgiu a partir da assinatura do Protocolo ENAT 03/2005, de 27/08/2005, que atribui ao Encontro Nacional de Coordenadores e Administradores Tributários Estaduais (ENCAT) a coordenação e a responsabilidade pelo desenvolvimento e implantação do Projeto NF-e, em todo território brasileiro (RFB, 2015).

A Nota Fiscal Eletrônica (NF-e) e a Nota Fiscal de Serviços Eletrônica (NFS-e) foi o primeiro dos projetos de integração tributária do Brasil. Segundo Azevedo e Mariano (2009) são documentos de existência simplesmente digital, emitido e armazenado eletronicamente, com o objetivo de documentar uma operação de circulação de mercadorias ou prestação de serviços dentro de cada estado brasileiro, cuja validade jurídica é garantida pela assinatura digital do emitente e a autorização de uso é fornecida pela administração da Secretarias de Fazenda dos Estados brasileiros.

A Nota Fiscal Eletrônica pode ser consultada no site da Receita Federal do Brasil através da chave de acesso que é emitida em papel comum através da DANFE (Documento Auxiliar da Nota Fiscal Eletrônica), que é a representação gráfica da NF-e.

A DANFE serve acompanhar a mercadoria vendida até seu trânsito final cuja validade está toda vinculada á NF-e emitida e autorizada pelo órgão competente. Assim a DANFE serve como instrumento auxiliar para consulta da NF-e, o que permite conferir todos os dados contidos, confirmar a efetiva existência e qual o status da NF-e confirmado seu status cancelada ou autorizada site da Secretaria de Fazenda do estado emissor e/ou no Portal da Nota Fiscal Eletrônica da Receita Federal.

Toda DANFE possui um código de barras unidimensional que representa a chave de acesso da nota fiscal eletrônica e permite o uso de leitor de código de barras para consultar a NF-e no portal da Fazenda em âmbito nacional e nos sistemas de controle do contribuinte de cada Estado. (RFB, 2015). Após o desenvolvimento do Projeto Nota Fiscal Eletrônica (NF-e), surgiu mais uma inovação tecnológica que é o Sistema Público de Escrituração Digital (SPED) torna-se mais uma adequação por parte do profissional contábil. Sendo na contabilidade uma nova ferramenta digital, mas aumentando a preocupação em torno do assunto dos contabilistas, pois toda informação da empresa será gerada em tempo real.

Para Nasajon e Santos (2010, p.5) “O SPED é um avanço tecnológico que pouco a pouco atingirá quase todas as empresas do país e cujas exigências e procedimentos afetam significativamente a operação dessas organizações.” Essencialmente o SPED é uma solução tecnológica provida pela Secretária da Receita Federal que oficializa os arquivos digitais gerados pelas escriturações fiscais e contábeis das empresas dentro de um formato específico e padronizado por essa secretária. O SPED foi instituído pelo Decreto nº 6.022, de 22 de janeiro de 2007, esse sistema faz parte do Programa de Aceleração do Crescimento do Governo Federal (PAC 2007-2010) constitui-se num avanço na informatização da relação entre o fisco e os contribuintes (BRASIL, 2015).

A empresa gera o arquivo a partir de sua base de dados, a empresa deverá gerar um arquivo digital de acordo com leiaute estabelecido em Ato COTEPE, informando todos os documentos fiscais e outras informações de interesse dos fiscos federal e estadual, referentes ao período de apuração dos impostos ICMS e IPI. Este arquivo deverá ser submetido à importação e validação pelo Programa Validador e Assinador (PVA) este programa permite extração, gerenciamento, assinatura digital, registro na junta comercial, transmissão e armazenagem dos arquivos a serem enviados ao SPED (RFB, 2015).

O SPED é formado pelos seguintes subprojetos: 1) Escrituração Contábil Digital – ECD: visa substituir a impressão dos Livros Razão e Diário por arquivos e registros

digitais; 2) Escrituração Fiscal Digital – EFD: tende a substituir a impressão de livros fiscais, Registros de Entradas, Saídas, Apuração do ICMS, Apuração do IPI e Inventário por arquivos e Registros digitais; 3) Nota Fiscal Eletrônica – NF-e: substitui a emissão de documentos fiscais por documentos eletrônicos modelo 1 e A1; 4) Nota Fiscal de Serviços Eletrônica – NFS-e: substitui a emissão de documentos fiscais por documentos eletrônicos serie única; 5) Conhecimento de Transporte Eletrônico – CT-e: visa substituir os documentos fiscais de papel, Nota Fiscal de Serviço de Transporte e Transporte Ferroviário de Cargas, Conhecimento de Transporte Rodoviário, Aquaviário e Ferroviário de Cargas, Conhecimento Aéreo; 6) E-Lalur: visa eliminar a redundância de informações existentes na escrituração contábil, no LALUR e na DIPJ; 7) Central de Balanços: pretende reunir os demonstrativos contábeis e informações econômico-financeiras públicas e disponibilizá-los em meio magnético. (SASSO; ROSA; 2011).

A Escrituração Contábil Digital - ECD, também chamado de SPED - Contábil, é a substituição da escrituração em papel, enviado à Receita Federal. Trata-se da obrigação de transmitir em versão digital os seguintes livros: I - Livro Diário e seus auxiliares, se houver; II – Livro Razão e seus auxiliares, se houver; III - Livros Balancetes e Balanços, com os lançamentos dos registros transcritos. (RFB, 2015). Em seu blog, Alexandra Sá, (2008) afirma que “no Brasil, existem mais de 170 obrigações acessórias que variam segundo o ramo de atividade da empresa/organização, os tributos que ela recolhe e o estado onde ela se estabelece”. Segundo a Instrução Normativa RFB nº 787/07, estão obrigadas a adotar a ECD:

I - em relação aos fatos contábeis ocorridos a partir de 1º de janeiro de 2008, as sociedades empresárias sujeitas a acompanhamento econômico-tributário diferenciado, nos termos da Portaria RFB nº 11.211, de 7 de novembro de 2007, e sujeitas à tributação do Imposto de Renda com base no Lucro Real.

II - em relação aos fatos contábeis ocorridos a partir de 1º de janeiro de 2009, as demais sociedades empresárias sujeitas à tributação do Imposto de Renda com base no Lucro Real.

Portanto, a partir do ano-calendário 2009, estão obrigadas ao Sped Contábil todas as sociedades empresárias tributadas pelo lucro real. (RFB, 2015).

Conforme disciplina a Instrução Normativa RFB nº 949/09, O FCONT é uma escrituração, das contas patrimoniais e de resultado, em partidas dobradas, que

considera os métodos e critérios contábeis vigentes em 31.12.2007. Em relação a estes mesmos lançamentos contábeis, a empresa deverá efetuar os lançamentos utilizando os métodos e critérios contábeis aplicáveis à legislação tributária. (RFB, 2015).

As diferenças apuradas entre as duas metodologias comporão ajuste específico a ser efetuado no Livro de Apuração do Lucro Real (LALUR). Para estas operações, a empresa apresentará arquivo digital em leiaute semelhante da Escrituração Contábil Digital (ECD). Este arquivo constituirá parte da entrada de dados da escrituração de controle fiscal contábil de transição - FCONT. A outra parte é a própria escrituração comercial da empresa. (RFB, 2015).

Com a chegada da Lei nº 12.546/2011, arts. 7º e 8º, o profissional passou a ter mais uma obrigação a EFD-Contribuições que contempla a escrituração digital (ECD) da Contribuição Previdenciária sobre a Receita Bruta, incidente nos setores de serviços e indústrias, no auferimento de receitas referentes aos serviços e produtos nela relacionados. A EFD-Contribuições trata de arquivo digital instituído no Sistema Público de Escrituração Digital (SPED), a ser utilizado pelas pessoas jurídicas de direito privado na escrituração da Contribuição para o PIS/Pasep e da Cofins, nos regimes de apuração não-cumulativo e/ou cumulativo. Portanto, com base no anexo de documentos e operações representativos das receitas auferidas, bem como das despesas, custos, encargos e aquisições geradores de créditos da não-cumulatividade. (RFB, 2015)

Nesse sentido, Faria e Nogueira (2007) destaca-se a importância dos profissionais da área contábil de avançar junto com a tecnologia, solucionando problemas, interpretando relatórios gerenciais, de não ser mais um ‘mero guardião de números e valores’, e sim um parceiro eficiente, altamente preparado, ou seja, um prestador de informações precisas e atualizadas, contribuindo com os gestores na tomada de decisão.

Diante de todas essas mudanças tecnológicas na área contábil, é exigido ainda desse profissional depois da sua formação superior, a submeter a uma avaliação para aprovação no Exame de Suficiência. Sendo o órgão responsável que é o Conselho Federal de Contabilidade juntamente com os Conselhos Regionais de Contabilidade de cada estado. Assim elaborado e aplicado este exame a esses profissionais que querem ter seu registro como contador ativo perante o Conselho Regional de Contabilidade de cada jurisdição.

METODOLOGIA

O presente estudo, quanto ao seu objetivo, pode caracteriza-se por sua natureza descritiva e explicativa. Segundo Gil (2007), uma pesquisa explicativa pode ser a extensão de outra descritiva, posto que a identificação de fatores que causam um fenômeno exige que este esteja satisfatoriamente descrito e delineado. Quanto á natureza, é uma pesquisa aplicada ou tecnológica, porque o objetivo é originar conhecimentos para a aplicação prática para a solução de problemas específicos. (SILVA; MENEZES, 2001).

Quanto aos objetivos em geral, é descritiva, pois segundo Silva (2010), tem como objetivo principal estabelecer as relações entre variáveis e descrevendo as principais características de determinada população ou fenômeno. Quanto aos procedimentos adotados, é uma pesquisa bibliográfica, buscando em livros especializados, artigos publicados, e utilizado os materiais disponíveis na internet em sites institucionais. (SILVA; MENEZES, 2001).

A delimitação da pesquisa consiste na investigação das principais características da Evolução da Contabilidade no Brasil, restringindo-se aos eventos que apresentam importância para o estudo pesquisado. Desta forma, abordando os primeiros sinais de registros contábeis e o curso de Contabilidade no Brasil, até a era da tecnologia da informação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A contabilidade é uma importante ferramenta de informações dentro de uma empresa/organização e trabalha integrada com todas suas áreas. Estas informações, atualmente, são transmitidas de forma online ao fisco, portanto é imprescindível que elas estejam corretas e adequadas dentro das normas brasileira do sistema de tributação. Pelo resultado da pesquisa fica evidente que o profissional de contabilidade é elemento chave no controle do processo de implantação do SPED, pois possui a principal ferramenta que é o conhecimento contábil e fiscal.

Enfim, essas novas tecnologias mostram vantagens para os contabilistas, empresários, e principalmente para o governo Federal, Estadual e Municipal, pois ao produzir informações contábeis reais e corretas, o sistema fornece embasamento para uma redução da sonegação e conseqüente ampliação na arrecadação o que pode

propiciar para a sociedade brasileira maiores recursos a serem aplicados em saúde, educação, segurança, transportes, infra-estrutura, entre outros benefícios a sociedade brasileira.

Diante do exposto o objetivo desta pesquisa foi atingindo, pois foi evidenciada a evolução da ciência contábil no período primitivo até tecnologia da informação utilizada pela contabilidade brasileira nos dias atuais. A Ciência Contábil evolui e se espalhou mundialmente por todos os países. Não existe empresas/organizações que não utilize a contabilidade em seus registros como ferramenta de gestão e tomadas de decisões. Com as grandes transformações no cenário mundial devido à globalização e harmonização das normas internacionais, as transações e informações são transmitidas rapidamente, ou seja, a Contabilidade deve seguir estes avanços tecnológicos.

No século XXI, o profissional contábil deve possuir amplo conhecimento de legislação fiscal, normatizações contábeis, aspecto tributário brasileiro e internacional e também, vasto conhecimento sobre tecnologia da informação. Para tanto, é necessário a este profissional se qualificar constantemente.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI, Carla; CARVALHO, Joziane Teresinha de. **A Evolução da Contabilidade: Seus Avanços no Brasil e a Harmonização com as Normas Internacionais**. 2011.

AZEVEDO, Osmar Reis; MARIANO, Paulo Antonio. **SPED Sistema Público de Escrituração Digital**. São Paulo: IOB, 2009.

ARAÚJO, I. P. S.; ARRUDA, D. G.; BARRETO, P. H. T. **Auditoria Contábil: Enfoque teórico normativo e prático**. São Paulo: Saraiva, 2008.

BRASIL. RECEITA FEDERAL. Sistema Público de Escrituração Digital (SPED). Disponível em: <<http://www1.receita.fazenda.gov.br/sistemas/sped-fiscal/default.htm>>. Acesso em: 12 mar. 2015.

BRASIL. RECEITA FEDERAL. Sped - NF-e - Ambiente Nacional. Disponível em: <<http://www1.receita.fazenda.gov.br/sistemas/nfe/default.htm>>. Acesso em: 12 mar. 2015.

BRASIL. **Decreto nº 6.022**, de 22 de janeiro de 2007. Institui o Sistema Público de Escrituração Digital - Sped. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2007/Decreto/D6022.htm>. Acesso em: 12 mar. 2015.

BRASIL. Lei nº 11.638, de 28 de novembro de 2007. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/111638.htm>. Acesso em: 08 mar. 2015.

_____. Lei nº 6.404, de 15 de dezembro de 1976. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/16404consol.htm>. Acesso em: 08 mar. 2015.

_____. Lei nº 11.941, de 27 de maio de 2009. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/lei/111941.htm>. Acesso em: 08 mar. 2015.

CARVALHO, Luiz Nelson Guedes; LEMES, Sirlei; COSTA, Fábio Moraes. **Contabilidade Internacional Aplicação das IFRS 2005**. São Paulo: Atlas, 2006.

CASTRO, Larissa Alves; MORAES, Luciana Silva. **Contabilidade Internacional: o Brasil e o processo de harmonização das normas internacionais contábeis**. Trabalho de Conclusão do Curso de Ciências Contábeis. Faculdade São Francisco de Barreiras – FASB, 2013. Disponível em: <http://semanaacademica.org.br/system/files/artigos/artigo_30.pdf>. Acesso em: 07 mar. 2015.

CFC. Conselho Federal de Contabilidade. Processos de Convergência. Disponível em: <http://www.portalcfc.org.br/coordenadorias/camara_tecnica/processos_de_convergencia/comite_de_convergencia/>. Acesso em: 08 mar. 2015.

COELHO, Claudio Ulysses F. **O Técnico em Contabilidade e o Mercado de Trabalho: contexto histórico, situação atual e perspectivas**. 2000. Disponível em: <<http://www.senac.br/informativo/BTS/263/boltec263d.htm>>. Acesso em: 05 mar. 2015.

COMITÊ DE PRONCIAMENTOS CONTÁBEIS. Disponível em: <<http://www.cpc.org.br/CPC/Documentos-Emitidos/Pronunciamentos>>. Acesso em: 08 mar. 2015.

COTRIN, Anderson Meira; SANTOS, Aroldo Luiz dos; ZOTTE JUNIOR, Laerte. A evolução da contabilidade e mercado de trabalho para o contabilista. **Revista Conteúdo**, v.2, n.1, jan./jul. 2012 – ISSN 1807-9539. Disponível em: <<http://www.conteudo.org.br/index.php/conteudo/article/viewFile/70/63>>. Acesso em: 08 mar. 2015.

FARIA, M. A.; NOGUEIRA, V. **Perfil do Profissional Contábil: Relações entre Formação e Atuação no Mercado de Trabalho.** Perspectiva Contemporânea, v. 2, n.1, jan./jan.2007. Disponível em: <<http://www.revista.grupointegrado.br/perspectivascontemporaneas/v...php?>> Acesso em : 14 de fevereiro de 2015.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa.** 4. ed. São Paulo: Atlas, 2007.

IUDÍCIBUS, Sergio de. MARION, José Carlos. FARIA, Ana Cristina de. **Introdução á Teoria da Contabilidade.** São Paulo: Atlas, 2009.

IUDÍCIBUS, Sérgio de; MARION, José Carlos. **Introdução à teoria da contabilidade.** 3. ed. São Paulo: Atlas, 2002.

LOPES DE SÁ, Antonio. **História Geral e das Doutrinas da Contabilidade.** São Paulo: Atlas, 1997.

LUNA, S. V. **Planejamento de pesquisa: uma introdução.** São Paulo: EDUC, 1997. Disponível em: < <http://www.marcoareliossc.com.br/19LUNA.pdf> >. Acesso em: 05 mar. 2015.

MADEIRA, Geová José. Harmonização de Normas Contábeis: um Estudo sobre as Divergências entre Normas Contábeis Internacionais e seus Reflexões na Contabilidade Brasileira. **Revista de Contabilidade.** Novembro/dezembro/2004.

NASAJON, Cláudio; SANTOS, Eunice. **Cartilha SPED e NF-e: Vem cá, que a gente explica.** 2010. Disponível em: <<https://pt.scribd.com/doc/84542877/Cartilha-SPED>>. Acesso em: 12 mar. 2015.

OLIVEIRA, Edson. **Contabilidade Informatizada: Teoria e Prática**. São Paulo: Atlas, 1997.

PAGOUMIAN, Tony Serop Uhrovci. Aspectos gerais da evolução do ensino contábil no Brasil. Artigo, 2011. **In: Iniciação Científica – PUC/SP**. Disponível em: <http://www.pucsp.br/iniciacaocientifica/22encontro/artigos-premiados-21ed/TONY-SEROP-UHROVCIK-PAGOUMIAN.pdf>. Acesso em: 05 mar. 2015.

PEREZ, A. C. A profissão contábil e o futuro. **Revista Brasileira de Contabilidade**. Brasília. Ano 26, nº 103. Jan/Fev 1997.

PICETTI, Fabiano Manfroi; CARRARO, Wendy Haddad. **Análise das Mudanças na Contabilidade Brasileira**. Trabalho de Conclusão do Curso de Ciências Contábeis. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. 2011. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/34875/000784651.pdf?...1>>. Acesso em: 05 mar. 2015.

REIS, Aline de Jesus; SILVA, Selma Leal da. A história da contabilidade no Brasil. **Seminário Estudantil de Produção Acadêmica**, v. 11, n. 1. 2008. Disponível em: <<http://www.revistas.unifacs.br/index.php/sepa/article/view/299/247>>. Acesso em: 05 mar. 2015.

SÁ, Antonio Lopes. **Teoria da Contabilidade**. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2008.

SÁ, Alexandra. **Tsunami Fiscal e o Choque de Gestão**. 2008. Disponível em: <<http://www.spedbrasil.net/profiles/blogs/2159846:BlogPost:4227>>. Acesso em: 12 mai 2015.

SASSO, Alexandra; ROSA, Ivana Carla da. **O Sped e Seus Reflexos na Profissão Contábil**. Trabalho de Conclusão do Curso de Ciências Contábeis. Faculdade Estadual de Ciências e Letras de Campo Mourão – FECILCAM. 2011. Disponível em: <http://www.fecilcam.br/nupem/anais_vi_epct/PDF/ciencias_sociais/03_Soc_Aplic_Completo.pdf> Acesso em: 11 mar. 2013.

SERASA EXPERIAN. Certificado Digital. Disponível em: <<https://serasa.certificadodigital.com.br/o-que-e/>>. Acesso em: 11 mar. 2015.

SILVA, Antonio C. R.. **Métodos da pesquisa aplicada à contabilidade**: orientações de estudo, projetos artigos, relatórios, monografias, dissertações e teses. 3 ed. São Paulo: Atlas, 2010.

SILVA, Raiana Simões da; RODRIGUES, José Carlos. O Ensino de Contabilidade no Brasil: Características e Tendências. In: Encontro Científico Sul Mineiro de Administração, Contabilidade e Economia, v. 05, Itajubá. **Anais**. Itajubá, ECOSUL, 2013.

SILVA, E. L. da; MENEZES, E.M.. **Metodologia da pesquisa e elaboração de dissertações**. Florianópolis. Laboratório de Ensino à Distância da Universidade Federal de Santa Catarina. Brasil, 2001. Disponível em:<<http://cursos.unipampa.edu.br/cursos/ppgcb/files/2011/03/Metodologia-da-Pesquisa-3a-edicao.pdf>> Acesso em: 05 mar. 2015.

SCHMIDT, Paulo. **História do pensamento contábil**. Porto Alegre: Bookman, 2000.

WEFFORT, Elionor Farah Jreige. **O Brasil e a harmonização contábil internacional**. São Paulo: Atlas, 2005.

INCURSÃO EM PISTA: UM RISCO POTENCIAL, ATUAL E CRESCENTE NAS OPERAÇÕES.

*Wilber Campos Fonseca*¹

*Humberto César Machado*²

INTRODUÇÃO

Com a grande e crescente demanda das atividades aéreas, em um curto espaço de tempo, a frota de aeronaves vem aumentando significativamente. Como consequência, os aeroportos se tornam cada vez mais movimentados com o passar de cada ano e a preocupação com as operações de pouso e decolagem também se intensificam. Por isso, é preciso dar total atenção para as ocorrências de incursão em pista e lembrar que o trabalho em equipe é de fundamental importância, pois ele mostra um mesmo problema visto de outro ângulo.

Nesse sentido, vale lembrar que o maior acidente aéreo da história mundial da aviação, uma incursão em pista entre duas aeronaves, ocorreu no Aeroporto de Los Rodeos, na Ilha de Tenerife, em 27 de março de 1977, no qual morreram 583 passageiros e tripulantes. Feitas as investigações a respeito das causas desse acidente, por cerca de 70 investigadores de diversos países, conclui-se que um significativo número de falhas latentes e ativas provocou a sua ocorrência; esse fato ficou conhecido como o maior e mais terrível acidente do século. Contudo, segundo Ivan Sant'anna (2011), a causa da colisão entre as aeronaves foi o início inesperado da decolagem do KLM (empresa aérea), sem autorização concedida pela torre de controle, enquanto o Pan Am (outra empresa aérea) ainda estava na pista taxiando.

¹Bacharelado do 7º período do curso de Ciências Aeronáuticas, da PUC-GO; Autor premiado pela apresentação do projeto “Compreendendo um Veículo Lançador de Satélites” na Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC), em evento realizado na Unicamp-SP; Autor premiado em 1º lugar pela apresentação do artigo “Incursão em pista: um problema atual e crescente”, na categoria Fórum de Pesquisa, da Semana de Ciência e Tecnologia da PUC-GO.

²Doutor e Mestre em Psicologia pela PUC-GO (2013, 2006); Especialista em História pela UFG (2002); Graduado em Filosofia pela mesma universidade (1996); Elemento Credenciado em Fatores Humanos e Prevenção de Acidentes Aéreos pelo Centro de Investigação e Prevenção de Acidentes Aeronáuticos (CENIPA); Professor da UNIFAN e da PUC - GO.

Após o acidente de Tenerife, várias alterações no sistema aeronáutico foram feitas, como mudanças de hierarquia nos procedimentos de cabine, que são tomadas só depois de um acidente. Decisões críticas de voo devem ser tomadas com a concordância de todos os membros da tripulação técnica; esta não é mais uma soberania apenas dos pilotos em comando. A análise feita de acidentes e incidentes revelam que falhas no controle de tráfego aéreo, deficiência no gerenciamento da cabine de comando e falta de infraestrutura aeroportuária são os principais fatores contribuintes para a sua consumação. É importante ressaltar que nunca um acidente aeronáutico ocorre por apenas um motivo isolado, há sempre a junção de vários fatores que resultam em uma tragédia.

A automação nas atuais aeronaves é de fundamental importância para elas, pois gera economia, agilidade nas interpretações de dados, além de ser precisa. Com o seu elevado grau de tecnologia, cria-se um novo perfil para os aviadores: atenção, rápida interpretação, treinamento e intenso monitoramento da elevada quantidade de dados disponíveis na cabine de uma aeronave.

O atual perfil dos pilotos é complexo e exige uma boa formação, com uma fácil adaptação a novas tecnologias, agilidade, conhecimento e preparo para enfrentar uma situação de emergência. Dessa forma, as escolas de treinamento procuram se adaptar à constante mudança de tecnologias, buscando passar para os futuros pilotos o conhecimento necessário para a sua formação, através de treinamento para tomada de decisões, uso de computadores e simuladores, enfim, com o uso da tecnologia necessária, ainda que não seja possível o treinamento prático em universidades.

Com base no exposto, faz-se necessário saber como o Brasil está tratando dessa complicação. Isto é, com a adoção de programas para mitigar problemas relacionados à aviação, à consciência situacional e ao homem como principal meio de prevenção das incursões em pista. O posicionamento das autoridades aeronáuticas também é de fundamental importância para entender, discutir, divulgar e buscar soluções para um problema que, se não for atenuado, trará graves consequências futuras, dado o aumento da aviação mundial.

INCURSÃO EM PISTA, UMA CORRENTE ASCENDENTE E DE PRAZO INDETERMINADO

Atualmente, constata-se uma situação intrigante nos aeroportos, nem sempre fácil de ser controlada. Isso porque aeronaves, veículos e pessoas precisam se relacionar de uma forma muito harmônica para que os objetivos próprios de cada um sejam alcançados. Somam-se a isso os pousos e decolagens na mesma pista em que profissionais da área precisam ingressar, para fazer manutenção, ou vistoria, por exemplo. Essas questões, vale reafirmar, se devem ao significativo aumento da atividade aérea, que, além de elevar o número de aeronaves com melhor desempenho, e de elas serem maiores para acomodar uma maior quantidade de pessoas a bordo, provocou também o surgimento de novos problemas que até então eram desconhecidos e não apresentavam um risco de nível tão elevado quanto no seu início. Assim, como estes problemas podem acontecer em todos os países e em todos os aeroportos, é necessário mostrar as ferramentas úteis para reduzir as probabilidades de sua futura ocorrência.

Apesar da constante evolução da tecnologia, o homem ainda é um ser limitável, que, mesmo com o passar do tempo, pode cometer os mesmos erros; no entanto, pode-se destacar que em parte absoluta das incursões em pista, dentre os seus fatores contribuintes, um deles está entre o *sidestick* (controle de dirigibilidade) e a poltrona. Incursão em pista é uma peculiaridade da aviação, que necessita cada dia mais conhecer os diversos pontos de vista do sistema aeronáutico. Para todos os profissionais envolvidos na aviação, é preciso treinamento e estudos detalhados constantes sobre prevenção de incursão em pista.

Conceito de incursão em pista

A Organização Internacional de Aviação Civil (ICAO), em 25 de novembro de 2004, por meio da publicação de uma ementa ao PANS – ATM (Gestão do Tráfego Aéreo), documento 4444, passou a definir o termo *incursão em pista* como “qualquer ocorrência em um aeródromo envolvendo a presença incorreta de uma aeronave, de um veículo ou de uma pessoa na zona protegida (considera-se como zona protegida, a própria pista ou a parte nivelada de uma faixa de pista, a zona livre de obstáculos na

área de manobra, principalmente nos pontos de espera e nas vias destinadas aos veículos terrestres) de uma superfície designada para pousos ou decolagens de aeronaves” (ICAO, 2007); caso um deles ingressar na pista, além das consequências, será considerada uma incursão em pista.

Classificação

No cenário internacional, segundo a Federação Americana de Aviação (FAA, 2003), em geral, os casos de incursão em pista são classificados com base nestes três parâmetros: gravidade, frequência, tipo de ocorrência. Tais classificações serão descritas resumidamente abaixo.

Gravidade

Quanto à gravidade, as ocorrências são classificadas em quatro categorias distintas, de acordo com o seu risco potencial: 1) categoria A: incidente grave no qual é necessária manobra evasiva para evitar a colisão, sendo evitada com grande risco de ter ocorrido; 2) categoria B: incidente em que a separação horizontal está abaixo dos mínimos e há risco potencial de colisão, que pode resultar em situação crítica quanto ao tempo de resposta necessário para evitar uma colisão; 3) categoria C: incidente em que o intervalo de tempo da ação e/ou a distância disponível são suficientes para que uma colisão seja evitada; por exemplo, alguém quase cruzou o ponto de espera, mas não chegou a cruzá-lo inteiramente; e 4) categoria D: incidente que se encaixa no conceito de incursão em pista, mas que não apresenta consequências imediatas à segurança de voo, entretanto, merecem atenção segundo orientações do Sistema de Investigação de Acidentes Aeronáuticos (SIPAER, 2010).

Frequência

Quanto à frequência, a FAA (2008), em cada aeroporto dotado de serviços de Controle de Tráfego Aéreo (ATC), registra a quantidade de incursões em pistas ocorridas ali, estabelecendo uma comparação entre o somatório das operações de decolagens e pousos e a quantidade total de incursões em pista no mesmo período de tempo. Esses índices fornecem informações importantes, já que, assim, é possível realizar várias análises como, por exemplo, se o número de incursões em pista vem crescendo numa razão maior que o aumento da atividade aérea ou não. No mais, permitem também que sejam feitas comparações entre os aeroportos mais eficazes em se tratando de prevenção de incursão em pista.

Tipo

Com base no *Runway Safety Report* (Relatório de Segurança – Pista), as incursões em pista apresentam três tipos de erros e sua classificação é assim descrita:

1. Erro do piloto: este tipo de erro ocorre quando o piloto não respeita alguma regra de tráfego aéreo que possa causar uma incursão em pista. Por exemplo, no táxi para a decolagem, a aeronave cruza a pista em uso sem a devida autorização da torre de controle.
2. Erros operacionais: estes são aqueles em que a ação errada de um controlador de voo resulta em separação menor que a requerida entre duas ou mais aeronaves, ou entre aeronaves e veículos, ou pessoas nas pistas de pouso e decolagem.
3. Erros de pedestres ou veículos: são os erros relacionados a interferências desses elementos nas operações aéreas pela entrada, sem autorização, nas áreas de pouso ou decolagem. Nesse grupo, encontram-se as incursões resultantes do taxiamento e tratoramento de aeronaves para serviços de manutenção ou reposicionamento no pátio de manobras.

FATORES CONTRIBUINTES PARA UMA INCURSÃO EM PISTA

Segundo a Organização Europeia para a Segurança da Navegação Aérea (Eurocontrol, 2006), quando um estudo rigorosamente detalhado sobre o tema é realizado, podem ser identificados mais de 400 fatores que contribuem com uma incursão em pista. Esse tipo de análise tem proporcionado às autoridades de segurança operacional o conhecimento de fatores persistentes no acidente ou incidente, que se agrupam em três campos: a cabine de comando da aeronave, a infraestrutura aeroportuária e, por último, o controle de tráfego aéreo.

Cabine de comando da aeronave

Todos os elementos dentro da cabine de comando de uma aeronave, que desencadeiam uma incursão em pista, estão ligados ao fator humano (HUDSON, 2005). Por exemplo, a comunicação entre o controlador de voo ou empresa e o piloto, durante um táxi ou decolagem, é um motivo para a falta de conscientização com o ambiente externo da aeronave, que leva o piloto a desconcentrar-se e não perceber pequenos obstáculos durante as operações. Vale destacar que a configuração da aeronave deve ser feita antes do seu deslocamento. Quando necessário, o piloto deve pedir progressivamente instruções de táxi. Além disso, o ingresso na pista de táxi, decolagem ou no pátio, sem a observação completa do ambiente externo, em virtude da elevada quantidade de informações dentro da cabine, e conversas desnecessárias, em uma situação que requer total atenção da tripulação, são outros fatores preocupantes relacionados à cabine de comando durante uma operação (CARDOSI, 2001).

Um planejamento deficiente do voo, em que o piloto deixa de consultar todas as informações inerentes à operação que vai realizar, pode ocasionar o ingresso em pistas erradas, principalmente se o local estiver com más condições de visibilidade ou com congestionamento. A baixa quantidade de tráfego e a familiaridade com aeródromos que não possuem serviço de controle de tráfego aéreo levam alguns pilotos a não utilizar a fonia para informar sua posição ou fazem isso na frequência errada. A pouca experiência de pilotos novos os deixa intimidados em questionar os órgãos de controle e o comandante da aeronave quanto a orientações recebidas – se a posição está correta, para qual lado deve ser a curva – mesmo quando estão inseguros com relação a qual caminho seguir. Todo cotejamento requer uma confirmação do órgão de controle.

Além disso, os pilotos, nas autorizações de cruzamento, pouso e decolagem, devem incluir o indicativo da pista em seus cotejamentos.

Nesse sentido, o piloto deve estar seguro quanto às orientações de procedimentos necessários durante a execução de seu trabalho; saber sempre onde está, para onde vai e por onde; estabelecer uma sequência mental das atividades do aeroporto; ter sempre certeza de que toda a comunicação foi bem entendida; ficar atento quando houver outra aeronave com código de chamada semelhante; ter muita atenção, caso seja autorizado a “alinhar e manter”, ao movimento das aeronaves na aproximação; se a espera ultrapassar 90 segundos, é preciso questionar o controle sobre a estimada de espera (atitude que não pode ser esquecida de forma nenhuma); ficar atento à fraseologia em inglês e às suas peculiaridades quando estiver operando sob regras de voo FAA ou ICAO; conhecer e seguir os procedimentos corretos para o caso de falha de comunicação; utilizar sempre o diagrama do aeródromo quando estiver operando em localidades desconhecidas; e ler atentamente o NOTAM (Aviso aos aeronavegantes) dos aeroportos de saída, destino e alternativa. Nunca é demais lembrar que a elaboração de programas educacionais voltados à conscientização dos pilotos para a comunicação correta de sua posição, quando em aeródromos não controlados, é de suma importância para garantir a segurança das operações de voo.

Infraestrutura aeroportuária

A expansão dos aeroportos para atender à elevada demanda do tráfego aéreo, se comparado com antes, tornou-o muito mais complexo. Se a complexidade do aeródromo provocou o aumento do nível de risco para incursões em pista, podem-se adotar novos padrões, que não são previstos, não são vedados. As autorizações são necessárias para o ingresso e o movimento nas áreas dos aeroportos. De acordo com uma recomendação do Eurocontrol (2006), é necessário que o número de motoristas autorizados a dirigir na área operacional se restrinja ao mínimo possível, para assim, evitar conflito com as aeronaves. No Brasil, segundo a ICA 3-2 – Programa de Prevenção de Acidentes Aeronáuticos da Aviação Civil Brasileira –, emitida pelo Centro de Investigação e Prevenção de Acidentes Aeronáuticos (CENIPA), as incursões em pistas causadas por pedestres são as que mais se destacam (CENIPA, 2010).

A falta de sinalização (ou a sinalização deficiente), em áreas de maior índice de perigo, pode levar o piloto tanto a não tomar cuidados simples e necessários para a

segurança quanto conduzi-lo a uma execução contrária ao previsto. Sinalizações progressivas próximas a pontos críticos do aeroporto, de maiores índices de ocorrências de incidentes, favorecem um despertar maior da atenção dentro da cabine de comando. A familiarização com o aeroporto também é um fator crucial, pois pode criar uma zona de conforto que, por consequência, provoca a falta de comunicação e o descumprimento de regras básicas em uma operação de solo. O déficit na interpretação de cartas de aeródromos, a meteorologia, as cartas de subida, entre outras questões, também deixam a desejar quanto à adequada segurança.

Além disso, o uso de múltiplos pontos de entrada na pista principal aumenta sobremaneira o risco de incursões, pois haverá mais locais de conflito, assim como o aumento da carga de trabalho dos controladores, que é um desafio para a consciência dos pilotos. A dificuldade da administração aeroportuária, em manter sua cerca patrimonial, é outro fator que tem gerado elevado número de ocorrências, em razão da entrada de pessoas na área operacional. Assim, é necessária uma fiscalização mais rigorosa em volta dos aeroportos. Para um maior grau de consciência dos pilotos, as placas de sinalização das pistas de táxi, em ambos os lados, são necessárias, visto que proporcionam uma maior clareza e chamam mais a atenção da tripulação para saber em qual *taxiway* está ingressando.

Controle de tráfego aéreo

As reduções da qualidade e da precisão da comunicação entre o controle de tráfego aéreo e os outros atores do cenário operacional de um aeroporto determinam um potencial considerável de risco nas operações. O esquecimento do controlador de voo em uma determinada autorização; a falta de atenção dos controladores ao correto cotejamento emitido pelos pilotos; o uso deficitário da fraseologia-padrão tanto dos controladores quanto dos pilotos; as semelhanças entre os prefixos das aeronaves; a abreviação no cotejamento e as informações úteis e importantes; o grande volume no controle de aeronaves por controladores; a falta de humildade de ambas as partes, solicitando um novo cotejamento, entre outros aspectos, são os principais fatores que influenciam a qualidade do tráfego aéreo e que podem levar a uma catástrofe na aviação (DECEA, 2009).

Um estudo dirigido pela *Flight Safety Foundation* (2004) revela que há uma incidência maior de incursões em pista nos primeiros cinco minutos após um

controlador assumir a posição ocupada por outro. Esse fato ocorre porque o segundo controlador ainda está com um baixo nível de consciência situacional e não recebeu todas as informações relevantes. De acordo com o Eurocontrol (2006), a atitude de um controlador, ao falar rápido, buscando economia de tempo e achando que está mostrando eficiência, dobra as chances de erros de cotejamento. Com essa preocupação, emitiu-se a recomendação de que é aconselhável que o controlador mantenha um ritmo que não exceda 100 palavras por minuto. Com relação à fraseologia, verifica-se que problemas relativos à proficiência no uso da língua inglesa têm acarretado casos de incursão, em virtude de entendimentos errôneos na comunicação entre pilotos e controladores.

O controlador deve evitar a autorização para “alinhar e manter”, em condições de baixa visibilidade ou em operações noturnas; desconsiderar, sempre que possível, autorizações para decolagens de interseções; conhecer e adotar as estratégias existentes na ICA 63-21 – Programa para Prevenção de Ocorrências de Incursões em Pista no ATS, emitida pelo Departamento de Controle do Espaço Aéreo. Outra fonte de erros, segundo o *Runway Safety Guidance*, é a emissão de instruções de táxi imediatamente após o pouso da aeronave, uma situação na qual a carga de trabalho dos pilotos ainda é elevada. O decréscimo do nível de consciência situacional, quando há diminuição da visibilidade ou aumento do volume de tráfego aéreo, torna-se mais fácil, havendo tendência ao aumento da fadiga e, conseqüentemente, à desatenção no gerenciamento dos tráfegos.

Controladores olham para as aeronaves quando emitem as autorizações de decolagem, pouso ou táxi sem fazer a varredura visual da pista. Para evitar incidentes, eles devem ser treinados para observar cuidadosamente as pistas, assegurando que estejam livres de obstruções, antes de autorizar o cruzamento, o pouso ou a decolagem (DECEA, 2009). Os veículos que necessitem transitar pela área de manobras estarão sujeitos à autorização de uma posição operacional da torre de controle do aeródromo. Quando o controlador perceber que há pouca familiarização com os termos utilizados ou que há o descumprimento das autorizações emitidas para o trânsito de um veículo na área de manobras, imediatamente deve comunicar o fato ao setor responsável pela Segurança Operacional do aeródromo, para que sejam tomadas as providências decorrentes; deve também efetuar o registro do evento. Ainda, deve haver um treinamento dos operadores, enfatizando a utilização da fraseologia aeronáutica prevista nas normas vigentes.

AUTOMAÇÃO E SEGURANÇA DE VOO

Automação é um processo presente nos dias atuais nos mais diversos campos, que vem sendo aprimorado rápida e constantemente. Trata-se de um processo capaz de realizar serviços de forma precisa, rápida e econômica. Contudo, apesar de apresentar grandes vantagens e de substituir tarefas antes realizadas somente por seres humanos, pode apresentar falhas; por isso, necessita de um gerenciamento operacional.

O automatismo causa impactos tanto positivos quanto negativos. A sua velocidade de análise de uma considerável quantidade de dados é uma raiz positiva, em contrapartida, toda solução para um problema gera outro problema. Hoje muitas tarefas executadas dentro da cabine não poderiam ser realizadas se não por meio da automação (BUCKINGHAM, 1961). Ela está presente em grande peso na aviação, desde nas aeronaves de pequeno porte até nos jatos comerciais; surgiu e evoluiu de maneira rápida, substituindo o voo através do “pé e mão” por gerenciadores de sistemas automatizados. Esse novo método de operação entre os tripulantes da cabine e as mais modernas tecnologias torna-se cada vez mais preocupante, pois a evolução do homem se dá de forma diferente da evolução da máquina.

Apesar de a automação estar relacionada diretamente com a segurança de voo, à medida que ela traz precisão na operação de vários sistemas, gerando economia e segurança, existe a possibilidade de falhas, que, dependendo da intensidade, podem causar catastróficos acidentes. O automatismo só funciona de maneira correta se for programado pelos pilotos em comando de maneira correta e detalhada. Nesse contexto, entra-se o piloto cognitivo, o qual deve gerenciar os conhecimentos e saber interferir de acordo com as necessidades do sistema.

O *cockpit* (cabine de comando) cheio de telas e o Sistema de Posicionamento Global (GPS) são alguns dos exemplos que podem causar uma distração fatal durante um pouso, táxi ou decolagem. Como a cabine de um avião é agradável, a automação diminui a carga de trabalho do piloto, o ambiente proporcionado é ergonômico, estes são os principais fatores contribuintes para a distração e a perda de consciência situacional dentro da cabine de uma moderna aeronave.

O adequado processo de gerenciamento na cabine de comando – o pleno conhecimento dos instrumentos e computadores a bordo – faz com que o piloto saiba

administrar, de maneira rápida (em segundos), uma situação de emergência. Em outros termos, ao observar todos os dados disponíveis nessa situação, sua atitude de decisão deve ser atenciosa e rápida.

TECNOLOGIA E INCURSÃO EM PISTA

A evolução tecnológica na aviação nos mostra que o homem é constantemente “bombardeado” por uma infinidade de novas tecnologias. É de fundamental importância, para ele, conhecê-las, por apresentar novos recursos e conceitos na aviação mundial; além disso, como podem ter um elevadíssimo grau de complexidade e informações, se não forem enfatizados no novo homem da aviação, podem vir a causar grandes problemas (MCLUHAN, 1964).

O novo perfil dos aviadores não exige apenas os preceitos do passado, mas o compartilhamento do conhecimento; a constante atualização, por meio do estudo das novas tecnologias; o trabalho em equipe; e o bom gerenciamento de processos, por exemplo. Nesse sentido, é bom lembrar que, muitas vezes, o ensinamento passado, e talvez defasado, exerce influência de forma expressiva na facilidade ou não de adaptação às novas tecnologias, desenvolvidas com muita rapidez.

Para o iniciante na aviação, no atual contexto, há várias formas de qualificação profissional, que ampliam o seu campo de entendimento e atuação. Hoje a comunidade aeronáutica pode contar com os cursos de Ciências Aeronáuticas, por exemplo, que visam formar não apenas um mero operador de aeronaves (cada vez mais modernas), mas sim, um profissional com mais conhecimento e ampla visão de mundo. Entretanto, infelizmente nas universidades ainda não há a formação prática para os pilotos, essa função é deixada para aeroclubes e companhias. Se, por um lado, as tão avançadas e novas tecnologias facilitam e tornam mais seguros os sistemas das aeronaves e sua operação, por outro, exigem dos pilotos um ainda que básico conhecimento de Ciência da Computação, para que tenham sempre mais informações.

O processo de formação dos futuros profissionais tornou-se mais complexo e longo, exigindo o emprego das mais novas e diversas tecnologias para o treinamento dos pilotos, o que, conseqüentemente, gera maiores custos. Simuladores, computadores, estudos físicos e salas especiais criam um universo mais dinâmico, são meios

importantes de aprimoramento para a aviação mundial; portanto, as universidades passam a fazer parte integrante e única nesse novo caminho e cenário tecnológico.

MEIOS ALTERNATIVOS DE PREVENÇÃO DE ACIDENTES

Com a análise dos principais fatores contribuintes para uma incursão em pista, foram feitos diversos estudos sobre o tema com o intuito de padronizar e aperfeiçoar os procedimentos de cabine juntamente com os procedimentos de tráfego de aeronaves. Assim, medidas preventivas foram tomadas, como 1) aumentar a separação do ponto de espera, para que haja uma maior margem de segurança para as aeronaves que arremetem e que estão no planeio vindo para pouso; 2) criar o alerta sonoro e visual para os controladores, quando as aeronaves estiverem se aproximando do ponto de espera ou próximas de ultrapassá-lo; 3) proibir o uso do celular na cabine ou as conversas sobre assuntos que não se referem ao voo – meios de segurança na decolagem e no pouso; e 4) evitar autorizações condicionais. Além dessas medidas, tem-se como objetivo geral desenvolver novas tecnologias que possam elevar o grau da consciência situacional dos pilotos, motoristas e controladores de voo, bem como alertá-los, visto que são eles que desfrutam do sistema.

Estas são medidas simples, de baixo custo e criativas, quando pensamos em marcações e sinalizações de pistas, que são de total contribuição para mitigar as incidências de incursões. Vale ressaltar que, com a implementação desses meios, as ocorrências de incursões em pista mais severas (categorias A e B), resultantes de uma aeronave que cruzou a pista durante a decolagem de outra, sofreram uma queda de mais de 20% (FAA, 2008). Também podem ser citadas, como formas preventivas de imprevistos, o *checklist* para operadores de carros e viaturas, e a sua inspeção, antes do seu acionamento e do conhecimento da carta do aeroporto.

Deve-se criar um hábito preventivo, mas não se pode esquecer de que mudar costumes passados também é necessário. Há, ainda, a necessidade de reportar todas as ocorrências, mesmo que não tenham causado danos, pois favorecem a criação de um banco de dados acerca desses fatos. As maiores incursões em pista ocorrem durante o dia, com boas condições meteorológicas visuais: céu claro, boa visibilidade; isso nos mostra que, durante as más condições de tempo, o piloto se torna mais atento e que, durante ótimas condições de operação, ele deixa a desejar, possibilitando assim o erro.

Também merecem destaque os equipamentos utilizados para a prevenção de acidentes. O *Enhanced Flight Vision System* – Sistema de Realce de Visão em Voo (EFVS) – é um equipamento tecnológico que possibilita aos pilotos, em comando, melhor visualização da pista em condições de escuridão e baixa visibilidade. Baseado em imagens de sensores infravermelhos transmitidas a *head-up* ou *head-down* (dispositivo que permite a vigilância do meio externo, pois contém todas as informações referentes ao voo), os *displays* foram criados como auxílio para o pouso; entretanto, com o seu desenvolvimento percebeu-se sua importância para a segurança de voo como ferramenta de alerta situacional no solo e no ar (FAA, 2008).

O *Final Approach Runway Occupancy Signal* – Sinal de Pista Ocupada durante a Aproximação Final (FAROS) – foi criado para alertar de forma direta a tripulação quanto à possibilidade de ocorrer uma colisão da aeronave por uma incursão em pista. O FAROS utiliza o *Precision Approach Path Indicator* (PAPI) para avisar aos pilotos, através da emissão de *flashes*, que há algum tipo de interferência na pista autorizada para pouso. Ele foi resultado do esforço da FAA para atender às recomendações de segurança impostas pela Segurança dos Transportes Nacionais (NTSB) (FAA, 2009b).

O *Runway Status Lights* (RWSL) consiste basicamente em um conjunto de luzes vermelhas instaladas na pista principal do aeroporto e suas interseções, controladas automaticamente por intermédio dos dados de um radar de superfície. Esse sistema é usado com o intuito de proporcionar alerta situacional das condições da pista, informando pilotos e motoristas quando ela está segura ou não para a decolagem, o cruzamento ou o ingresso (FAA, 2009a).

Por fim, o *Airport Movement Area Safety System* (AMASS), um sistema que fornece, ao controle de tráfego, alertas sonoros e visuais dos perigos de uma possível incursão em pista, por meio do processamento dos dados de vigilância do ASDE, do radar de vigilância do aeródromo e de um sistema automatizado de terminal. O sistema trabalha com dados de posição, velocidade e aceleração das aeronaves em procedimento de pouso e decolagem, e com os dados de aeronaves e veículos no solo, emitindo sinal quando o deslocamento dos alvos indica que haverá comprometimento da segurança operacional no aeroporto (GAO, 2008).

SMS COMO UM MEIO EFICAZ DE PREVENÇÃO

Sabe-se que as principais causas de uma ocorrência de incursão em pista estão diretamente relacionadas às falhas ou aos erros dos pilotos, condutores de veículos, pedestres e controladores de voos. Tais situações de perigo ocorrem em virtude da falta de cumprimento e abreviação das regras que devem ser cumpridas. Por exemplo, a manutenção de última hora no pátio do aeroporto, sem aviso prévio aos controladores, é uma situação que pode implicar um grave perigo para as aeronaves que ali trafegam.

Com a elevada demanda no tráfego aéreo, o crescimento constante do número de operações nos aeroportos e a falta de divulgação sobre as incursões em pista, o *Safety Management System* – Sistema de Gerenciamento da Segurança (SMS) vem se tornando um dos principais meios para a prevenção de ocorrências de incursões em pista. Trata-se de um sistema que tem como objetivo identificar os fatores de riscos presentes em um aeroporto antes que um acidente venha a se consolidar; busca, com isso, a antecipação das medidas corretivas que vão ter total importância na prevenção.

De acordo com dados analisados para este estudo, os acidentes ocorridos na aviação, em sua maioria, provocam, na população aeronáutica, uma preocupação em cumprir as normas preestabelecidas com mais rigidez e com maior atenção nas operações. Isto é, só depois de ocorrida uma tragédia, os aviadores e as empresas procuram cumprir as regras; o tempo passa e, infelizmente, a tendência é que a mesma situação de displicência volte a ocorrer, fazendo com que muitas operações continuem inseguras.

Assim, o uso do SMS exige a permanente supervisão dos fatores contribuintes e o acompanhamento constante do nível de segurança alcançado. Com ele, o ganho de informações sobre os causadores, as soluções e a divulgação vai ser ampliado e isso é muito positivo. O atual cenário revela que é necessário contemplar esse elemento para, assim, haver a diminuição dessas infelizes ocorrências que podem gerar catástrofes inesperadas.

COMO ESTÃO SENDO TRATADAS AS INCURSÕES EM PISTA NO BRASIL

Segundo dados divulgados pelo CENIPA (2006), houve cerca de 1.100 incursões em pista nos aeródromos brasileiros, somente nos últimos cinco anos. Esse

número deve ser divulgado e, acima de tudo, deve servir de alerta às autoridades aeronáuticas para a necessidade de tomar providências cabíveis com o objetivo de mitigar tais ocorrências. Com o crescimento surpreendente da aviação no Brasil, o movimento de aeronaves nos aeroportos brasileiros terá um elevado aumento, exigindo mais segurança, divulgação, treinamento e cooperação.

As incursões em pista influenciam diretamente a segurança de voo e, com um aumento significativo nas atividades aéreas, como é previsto, haverá também uma expansão significativa nas ocorrências envolvendo incursões em pista. Pesquisas realizadas pelo Comitê Nacional de Segurança da Aviação Civil, do Canadá (*Transport Canada*), indicam que o aumento de 20% no número de pousos e decolagens em um aeroporto pode representar um crescimento de até 140% de probabilidade de riscos de colisões por incursão em pista (CENIPA, 2006).

Além desses dados, vale enfatizar que sinalização ou marcações inadequadas; projetos de aeroportos complicados; alterações de última hora transmitidas pela torre de controle para uma aeronave em táxi ou decolagem; distração; carga de trabalho elevada; fadiga; falta de treinamento, em geral, para melhorar a qualidade do trabalho realizado por todos os profissionais; déficit na interpretação das condições meteorológicas; falta de familiarização com um aeródromo; e ausência das cartas de aeródromos em mãos também são alguns dos diversos motivos que podem causar um acidente ou incidente com incursão em pista.

Diante dessa situação, a utilização do SMS e de outros recursos da tecnologia, o bom treinamento e a colaboração de pilotos, controladores de tráfego aéreo e motoristas são os principais meios de prevenção de uma calamidade. Estas são atitudes simples, baratas e de grande utilidade para promover a segurança da aviação no Brasil. Também algumas que envolvem mais gastos, como o aumento da consciência de segurança entre todos os usuários do transporte aéreo através de palestras, congressos, minicursos, fóruns de discussão colaborativa para as melhorias sugeridas; o adicionamento de sinalização avançada em uma determinada área do aeroporto que apresente um maior risco à segurança; a coleta de dados, as análises e campanhas de segurança são fundamentais.

Todas essas questões revelam que as incursões em pista, por constituírem um problema grave no atual panorama da aviação brasileira, devem ser mais discutidas

pelas autoridades aeronáuticas. A exigência do cumprimento das medidas de prevenção já existentes e a implantação de outras mais eficazes, bem como a sua fiscalização, são necessárias, visto que esse tema não está sendo enfatizado da maneira como deveria e os acidentes vêm se agravando com a maior frota de aeronaves.

Cabe à população aeronáutica divulgar os fatos e cobrar das autoridades aeronáuticas essas providências. Caso as medidas não sejam tomadas de imediato no Brasil, o número de ocorrências envolvendo incursão em pista vai continuar aumentando em níveis devastadores e vão se acentuar os acidentes fatais. Em meio a tanta omissão, é necessário ainda fazer um levantamento de dados, criar um banco de dados e desenvolver uma cultura de segurança para que, assim, os números se tornem menos apavorantes.

O HOMEM COMO PRINCIPAL MEIO DE PREVENÇÃO DAS INCURSÕES EM PISTA

A quantidade de tecnologia empregada nas operações aéreas é de grande valor, porém o seu sucesso depende primeiramente do homem. Dessa forma, os pilotos precisam estar cientes destes procedimentos: conhecer bem todo o material disponível que vai ser utilizado no aeroporto onde forem operar; estudar as cartas e telas a fim de obter um fácil e rápido acesso, se for preciso; não efetuar um táxi em alta velocidade; fazer o *briefing* (controle de ações pré/pós-voo) com atenção; estabelecer contato de forma clara. A tripulação deve ficar atenta quanto a marcações em pista, barra de parada e luzes; se por acaso for confundida a pista, os pilotos deverão parar imediatamente e estabelecer contato com a torre de controle. Quando em táxi, é importante que estejam atentos e focados não somente no interior da cabine, mas também do lado de fora dela. Os pilotos devem verificar o NOTAM do local sempre antes de seu voo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Incursão em pista é um problema atual e, apesar dos muitos equipamentos que já estão sendo utilizados, acredita-se que ela pode ser mitigada, ou até mesmo eliminada

da aviação, através do emprego de mais tecnologias aplicadas a esse setor. Atualmente, em aeródromos de grande movimento, já estão sendo usados vários equipamentos tecnológicos, como alarmes e luzes de aviso para alertar pilotos e controladores de tráfego aéreo quanto às ameaças provocadas por ações operacionais inadequadas, que possam provocar uma incursão em pista. Nesse sentido, são necessários a consciência situacional e o trabalho em equipe, não se pode promover o individualismo e o egoísmo em meio a uma questão tão grave e crescente mundialmente.

Nenhum tipo de condição de risco, que possa levar à ocorrência de incursões em pista, deve ser ignorado, já que a crescente demanda do tráfego aéreo certamente implicará a ocorrência de acidentes mais graves. Portanto, deve-se auxiliar a comunidade aeronáutica, em geral, a lidar de forma mais eficiente e segura com os acidentes e incidentes envolvendo incursão em pista. Todo usuário do cenário da aviação deve ter em mente suas responsabilidades, obrigações, e cumpri-las bem, pois acidentes acontecem em pequenos e grandes aeroportos, sem data e hora marcadas; uma simples falha o consolida.

Com o decorrer do tempo, com os acidentes já ocorridos e, de acordo com estudos feitos, constata-se que o principal protagonista das incursões em pista é próprio homem, sem a boa qualificação de seu trabalho, por exemplo, não adiantam investimentos milionários no sistema de aviação. Todo o movimento de aeronaves, veículos e pessoas, e todos querendo alcançar seus objetivos, em um mesmo aeroporto, são alguns dos motivos para que se tenha um detalhado conhecimento sobre incursão em pista. Entender corretamente as instruções do controle, responder bem a elas e observar o que acontece no local de trabalho são atitudes fundamentais para uma boa consciência situacional.

Também o uso do SMS e de outros equipamentos é fundamental para coletar, analisar e investigar as principais causas de uma incursão em pista. Assim, aprender a reportar os incidentes, por mais simples que sejam, é uma arte. Um bom treinamento para futuros profissionais da aviação, por meio de simuladores e de uma didática adaptada às novas tecnologias, em razão de seu surgimento de forma contínua, bem como o esforço pessoal de aprimoramento nas escolas de formação, devem ser incentivados cada vez mais. Tudo isso com uma finalidade em comum: mais preparo e

segurança para lidar com aeronaves cada vez mais avançadas em tecnologia e, conseqüentemente, complexas.

Um aeroporto novo e complexo para os pilotos, a cabine de uma aeronave cheia de telas e o GPS podem causar distração e agravar uma situação. Espera-se que a dificuldade de adaptação às novas tecnologias e a aceitação delas, a consciência situacional, a coleta de dados, o estudo contínuo e as medidas de prevenção sejam de interesse de todos os profissionais da aviação.

Cabe enfatizar que os esforços em melhorar ou resolver os problemas apontados só terão realmente validade, só serão satisfatórios, se o homem perceber que ele é o primeiro e principal meio de prevenção da segurança de voo e das operações no solo de um aeroporto. Os fatores contribuintes para incursões em pista e para sua prevenção estão sendo espalhados pelo mundo. As autoridades aeronáuticas já têm conhecimento da seriedade de tamanho problema; assim, que as práticas recomendadas e necessárias para mitigá-lo sejam utilizadas o mais rápido possível.

REFERÊNCIAS

ALPAI. Air Line Pilots Association International. *White paper-runway incursion: a call for action*. 2007. Disponível em: <<http://www.alpa.org/portals/alpa/runwaysafety/RunwayIncursionwhitepaper.pdf>>. Acesso em: 02 dez. 2014.

ATSB. Australian Transport Safety Bureau. *Analysing runway incursions*. (Última atualização 07 de abril de 2014). Disponível em: <<http://www.atsb.gov.au/publications/2009/analysing-runway-incursions.aspx>>. Acesso em: 8 fev. 2015.

BRASIL. Comando da Aeronáutica. *ICA 63-16: Programa de Prevenção de Acidentes Aeronáuticos do Departamento de Controle do Espaço Aéreo para 2014*. Brasília-DF, 2014.

BUCKINGHAM, W. *Automation*. New York: Mentor, 1961.

CARDOSI, K. *Runway safety: it's everybody's business*. Washington, EUA: Federal Aviation Administration, Department of Transportation, 2001.

CENIPA. Centro de Prevenção e Investigação de Acidentes Aeronáuticos. In: XIV CURSO DE PREVENÇÃO DE ACIDENTES: FATOR HUMANO. Brasília-DF, 2006.

_____. *ICA 3-2: Programa para Prevenção de Acidentes Aeronáuticos da Aviação Civil Brasileira para 2010*. Brasília-DF: Ministério da Defesa do Comando da Aeronáutica, 2010.

CLARKE, B. *Runway incursions: controlling pilot error*. New York, EUA: McGraw-Hill, 2002.

DECEA. Departamento de Controle do Espaço Aéreo. *ICA 63-21: Programa para Prevenção de Ocorrências de Incursão em Pista no ATS*. Brasília-DF, 2009.

EUROCONTROL. Organização Europeia para a Segurança da Navegação Aérea. *European action plan for the prevention of runway incursions*. Bruxelas, Bélgica: 2006.

_____. *International plan for the prevention of runway incursions*. Estados Unidos: 2012. Disponível em: <<http://www.eurocontrol.int/press-releases/european-action-plan-prevention-runway-incursions>>. Acesso em: 08 abr. 2015.

FAA. Federal Aviation Administration. *Advisory Circular AC 120-74A: flightcrew procedures during taxi operations*. Washington, 2003. Disponível em: <[http://rgl.faa.gov/regulatory_and_guidance_library/rgadvisorycircular.nsf/0/331ca20530e3d4b086256dc000565d82/\\$FILE/AC120-74A.pdf](http://rgl.faa.gov/regulatory_and_guidance_library/rgadvisorycircular.nsf/0/331ca20530e3d4b086256dc000565d82/$FILE/AC120-74A.pdf)>. Acesso em: 27 ago. 2014.

_____. *Enhanced Flight Visual System (EFVS)*. Washington, 2008.

_____. *Runway Status Lights (RWSL): operational, evaluation and experience*. Washington, 2009a.

_____. *Operational Evaluation of FAROS: Final Approach Runway Occupancy Signal*.

Washington, 2009b. Disponível em: <http://rwsll.mit.edu/pdf/FAROS_DFW_Pilots_Training_OpEval.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2014.

GAO. Government Accountability Office. *Progress on reducing runway incursions impeded by leadership, technology, and other challenges*. Washington, 2008. Disponível em: <<http://www.gao.gov/new.items/d08481t.pdf>>. Acesso em: 02 jan. 2015.

HUDSON, P. *Human factors in runway incursion incidents*. In: ICAO, RUNWAY SAFETY SEMINAR. Centre for Safety Studies, University of Leiden, Moscow, set., 2005. Disponível em: <http://www.icao.int/EURNAT/Other%20Meetings%20Seminars%20and%20Workshops/SAFE/RASMS1/runway_moscow_20051212_pres4.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2015.

ICAO. International Civil Aviation Organization. *Manual on the prevention of runway incursions*. Montreal, Canadá, 2007. Disponível em: <http://www.icao.int/fsix/_Library%5CRunway%20Incursion%20Manualfinal_full_fsi_x.pdf> Acesso em: 11 dez. 2009.

JETSITE. *Acidente de Tenerife*. Brasil, 2008. Disponível em: <http://www.jetsite.com.br/2008_v35/AcidenteBlackbox.aspx>. Acesso em: 02 set. 2014.

MCLUHAN, M. *Os meios de comunicação como extensões do homem (understanding media)*. São Paulo-SP: Cultrix, 1964.

SANT'ANNA, I. *Perda total*. 1. ed. Rio de Janeiro: Objetiva, 2011.

SIMÃO, A. C. Incursão em pista: conceito, classificações, fatores contribuintes e medidas preventivas – uma revisão da literatura. *Revista Conexão SIPAER*, v. 1, n. 2, 2010.

_____. *Risc calculator e aria*: ferramentas analíticas na prevenção de incursões em pista. *Revista Conexão SIPAER*, v. 3, n. 1, 2011.

_____. Reporte de incursão em pista e seus fatores contribuintes: desenvolvendo um REALPREV em conformidade com o DOC ICAO 4444. *Revista Conexão SIPAER*, v. 3, n. 2, 2012. Disponível em: <<http://inseer.ibict.br/sipaer/index.php/sipaer/article/view/147/172>>. Acesso em: 20 out. 2014.

SIPAER. Sistema de Investigação de Acidentes Aeronáuticos. *Classificação das incursões em pista*: gravidade. 2010.

WILLIAMS, P. *Runway incursion*: a review based on transport accident investigation Commission Report 07-005. In: Australia & New Zealand societies of air safety investigators annual seminar. Adelaide, Austrália, 1 June 2008. Disponível em: <<http://asasi.org/papers/2008/Runway.pdf>>. Acesso em: 5 nov. 2014.

REPRESENTAÇÕES SOCIAIS DO RISCO E PROMOÇÃO DA SAÚDE: ALGUMAS QUESTÕES

*Pedro Humberto Faria Campos*¹

*Maria Eliane Liégio Matão*²

*Humberto César Machado*³

INTRODUÇÃO

No contexto das sociedades capitalistas contemporâneas, a saúde, a partir das duas últimas décadas, vem articulando-se em torno da ideia de promoção da saúde a qual, combinando apoios educacionais e ambientais, enfatiza a transformação das condições de vida e de trabalho que conformam a estrutura subjacente aos problemas de saúde. A noção de “promoção” da saúde se baseia na medicina social que emerge ao final do século XIX, que “redescobriu” as relações entre doenças, bem-estar e condições de vida (CZERSNIA, 1999).

As propostas de promoção de saúde são elaboradas a partir de ações baseadas nos princípios de participação, intersetorialidade, igualdade e capacitação, focando mudanças socioculturais determinantes e a qualidade de vida para indivíduos e comunidades. Para Bodstein (2007), os programas são complexos, com abordagem multifocal, interdisciplinar e intersetorial, sustentados em ações reflexivas que estimulem a discussão e a participação social. Segundo ele, as intervenções devem gerar mudanças e efeitos a curto, médio e longo

¹ Bolsista de produtividade do CNPq, Nível 2. Graduado em Psicologia pela Universidade Católica de Goiás (1988), Mestrado em Psicologia Social (DEA) - Université de Provence (1995), Mestrado em Educação pela Universidade Federal de Goiás (1994) e Doutorado em Psicologia Social pela Université de Provence (1998). Atualmente é docente permanente no Programa de Pós-graduação em Educação da UNESA - RJ e colaborador do Programa de pós-graduação em Psicologia da PUC-Goiás.

² Graduada em Enfermagem pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (1988), em Direito pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (1995), Especialista em Saúde Perinatal, Educação e Desenvolvimento Bebê pela Universidade de Brasília (2001), em Enfermagem Obstétrica pela Universidade de Brasília (2001), em Direito Administrativo pela Academia de Polícia de Goiás (1996), em Direito Constitucional pela Academia de Polícia Civil (1996), em Saúde Pública pelo Instituto de Aperfeiçoamento Profissional e Assessoramento (1989), em Habilitação em Saúde Pública pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (1988), em Ativação de Processos em Mudança, Formação Profissional pela Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz (2006), Mestrado em Enfermagem pela Universidade Federal de Minas Gerais (2004), Doutorado em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2012).

³ Doutor em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2013), Mestre em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2006), Especialista em História pela Universidade Federal de Goiás - UFG (2002), Graduado em Filosofia pela Universidade Federal de Goiás (1996), Elemento Credenciado em Fatores Humanos e Prevenção de Acidentes Aéreos pelo CENIPA (Centro de Investigação e Prevenção de Acidentes Aeronáuticos). Professor da Faculdade Alfredo Nasser - UNIFAN e da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC - GO).

prazo com estratégias locais de desenvolvimento. Para tanto, é necessário um desenvolvimento social sustentável, através do envolvimento, da mobilização, da participação e da capacitação dos atores e sujeitos comunitários para ganhar maior controle sobre sua saúde. Assim, as práticas de promoção da saúde sustentam-se, nos espaços sociais, em tecnologias de poder que imprimem, ao modo de viver, a norma correta de estilo e de hábito de vida (SILVA, 2009).

Um dos limites mais arraigados de qualquer política pública de promoção em saúde é o da capacidade (dos cientistas, das autoridades e dos sistemas de saúde) em avaliar o risco e *fomentar mudanças culturais*, na medida exata dos julgamentos e decisões que fundam a vida cotidiana. Ou seja, uma das dificuldades maiores é desenvolver uma compreensão orgânica da cultura como dimensão que não é contrária às certezas do conhecimento acadêmico. A oposição entre senso comum e conhecimento científico é uma visão equivocada acerca da relação entre cultura e promoção da saúde.

Já faz parte do *senso-comum* da promoção, pensar que incentivar novas formas de pensar a saúde e o corpo pode abrir um caminho para mudanças maiores, para produzir formas do pensar mais saudáveis. Segundo Nahas (2006), a atitude de transformar fatores que hoje atuam como negativos, em atitudes e ações positivas depende de uma mudança comportamental impulsionada pela motivação e pela definição de novas prioridades e valores de vida. Alguns fatores que podem influenciar os comportamentos são difíceis de remover ou reverter, como a hereditariedade, a escolaridade e o nível socioeconômico. Em compensação, outros fatores como novos hábitos saudáveis, condutas preventivas, atenção ao bem-estar subjetivo, educação e civilidade nas relações sociais são modificáveis através de informações, de experiências agradáveis, do desenvolvimento de habilidades para tais comportamentos e pela redução de barreiras que dificultam ou impedem essas mudanças (NAHAS, 2006).

Mudanças de comportamentos relacionados à saúde não dependem apenas intenções comportamentais individuais. O planejamento de ações e de planejamento de enfrentamento são duas estratégias de autoregulação que podem ajudar a diminuir a distância entre intenções e comportamento. O planejamento de ações compreende quando, onde e como será implementado um comportamento. Lidar com planejamento envolve a antecipação de barreiras e de formas de superá-los. A principal questão é que tipo de planejamento seria benéfico para o início de comportamento e para a sua manutenção (SCHOLZ *et al.*, 2008).

O sistema de saúde vigente no Brasil deixa à sua margem grande parte da população brasileira. O processo de universalização das ações e dos serviços promovido pelo Sistema Único de Saúde (SUS) tem sido caracterizado como excludente. Embora tenha sido

acompanhado de um processo de racionalização do financiamento e da inclusão de todas as camadas sociais na atenção pública à saúde, as filas em busca de atendimento médico, principalmente do de alta complexidade, é notícia diária na mídia.

Muitos avanços foram conseguidos ao longo da história do SUS, transformando-o num sólido sistema de saúde que presta serviços à população brasileira. Existem ainda muitos desafios a superar nas três esferas de governo: no municipal, no estadual e no federal, dentre eles, a organização da atenção e da assistência à saúde e a ampliação do acesso dos cidadãos aos serviços para garantir a inclusão assistencial de um grande contingente populacional, somado ao fato de que os níveis de assistência secundária e terciária são onerosos ao Estado.

O Risco Como “Fenômeno de Representação Social”

A noção de risco ganhou importância tanto acadêmica como social, nas últimas décadas do século XX. Três campos contribuíram de modo decisivo para seu enraizamento, sua teorização e a busca de modelos de intervenção. O campo do *URBANO*, com sua inesgotável discussão sobre o estresse e sobre a violência, com seu correlato, a insegurança. A percepção de risco e o sentimento de insegurança são dois os fenômenos que são discutidos na construção da noção de risco. O segundo campo é o da relação com o *AMBIENTE*, particularmente colocada em questão nos episódios históricos de catástrofes ambientais, sendo o acidente nuclear de Tchernobyl um “paradigma”, ou divisor de águas, o exemplo mais contundente; e mais recentemente o conjunto de alterações climáticas com tempestades, tsunamis, vulcões, ondas de calor etc. O terceiro campo foi o da *saúde*, a partir da chamada “nova concepção de saúde” como bem-estar e não mais como ausência de doença.

É claro que o desenvolvimento do uso da estatística nas ciências humanas aplicadas (geografia, epidemiologia, economia como exemplos fortes) ajudou a crescer uma visão probabilística dos fenômenos naturais, depois dos fenômenos urbanos e, em seguida, do corpo e da mente. Neste ambiente do pensamento científico a noção de “perigo”, vai se tornar objeto de investigação.

A noção de risco, como exposição ao perigo, é tomada como um objeto importante na sociologia. Nos anos oitenta, Beck (2001) cunha a expressão “sociedade do risco” pouco depois da catástrofe nuclear de Tchernobyl. Sua análise central se constrói em termos de considerar que a sociedade moderna criou potentes meios de causar dano à si mesma, tornando-se sensível aos riscos industriais, ambientais e nucleares. Ele aponta a importância de se compreender teoricamente estes riscos, criando modelos teóricos de explicação que

considerem o valor da informação e da mídia na sua gestão. O autor defende a ideia segundo a qual a ciência deve ser compreendida como um “órgão da percepção” uma vez que frequentemente os riscos não são visíveis, nem tangíveis. As pessoas, em geral, não sabem que estão expostos a eles!

Para Giddens (1991) a ideia de uma “sociedade do risco” pode ser exagerada, contudo, ele considera que a dimensão do risco uma grande importância nas sociedades da modernidade tardia. Segundo seu pensamento, a modernidade instalou e operou processos contínuos de *desencaixe* das relações tempo-espço, ou seja, promoveu o deslocamento sem cessar das pessoas afastando-as das suas referências de locais e tempo de vida. Estes desencaixes foram necessários para quebrar o antigo vínculo social comunitário pré-moderno. E sua consequência foi o afastamento do indivíduo de suas âncoras tradicionais da identidade. Isto também foi feito para que as pessoas confiassem nos sistemas abstratos ou “sistemas peritos” de organização do mundo social, gerados e regulados pelas instituições modernas. Estes sistemas abstratos solicitam que os indivíduos não confiem mais nos seus próximos (uma vez que se encontram *desencaixados*, portanto, longe dos próximos...) ou em pessoas. Assim, a *confiança* foi deslocada de um modo de vida amparado na mutualidade e na intimidade para as instituições modernas, “a confiança em sistemas abstratos é a condição do distanciamento tempo-espço e das grandes áreas de segurança da vida cotidiana que as instituições modernas oferecem em comparação com o mundo tradicional” (GIDDENS, 1991, p.116).

Morin (2004) analisa que, ao final dos anos 80, a questão da gestão do risco já se encontrava na ordem do dia da sociologia, da economia, da antropologia e da psicologia da saúde, disciplina ainda emergente no período. Dois traços fundamentais são identificados: segundo o primeiro, a heterogeneidade desigual da exposição ao perigo e a globalização progressiva dos riscos. Beck (2001) aponta, sem a menor dúvida, a associação entre a produção social das riquezas e a produção social dos riscos; O segundo o papel da ciência, chamada a produzir indicadores objetivos, positivos, visíveis que permitiriam a construção ativa de uma percepção inequívoca do risco.

No campo da saúde, a noção de risco tem uma longa história. Depois da Segunda Grande Guerra, a OMS começa a promover a concepção de “saúde positiva” e a necessidade de se mensurar a doença e a saúde (GOLDENBERG *et al.*, 1975). Assim, a natalidade, a morbidade e a qualidade de vida são construtos que fornecem indicadores objetivos sobre o “estado de saúde” de uma população. Goldenberg (1982) emprega a noção de *contínuo saúde-doença*. Na psicologia da saúde, logo em seguida, se forjará o *contínio* mal-estar/bem-estar.

A necessidade de mensuração produzirá, nas décadas imediatamente após a Segunda Guerra, um conjunto considerável de informações que, por sua vez, vão apontando para uma incômoda vinculação: variáveis sócio-demográficas e sociais parecem, em muitos casos, estar correlacionadas ao fluxo das doenças. Neste sentido se torna inequívoca a relação entre classe social e “saúde” (HERTZMAN, 1996). A bem da verdade, o que se passou a identificar foi a determinação social de várias patologias (BERKMAN, 2000; MORIN, 2004). Mais tarde se verá que algumas síndromes (como a aids, a obesidade ou a esquizofrenia) têm uma determinação social, porém não se restringem a variáveis clássicas como gênero, classe social, faixa etária ou etnia.

Sem dúvida, o olhar para as variáveis sociais que participam ao processo de produção, difusão ou manutenção das doenças levou a uma “comportamentalização” da saúde. Neste movimento de mudança cultural com relação à saúde nasce a noção de “comportamentos nocivos à saúde”, promotores do mal-estar e seus correspondentes, do outro lado do *contínuo*, os “comportamentos de proteção” (BECK, 2001; CAMPOS, 2003).

Dois aspectos deste processo devem ser interrogados e analisados. Primeiramente, o debate sobre o risco, amparado na crise da vida urbana estressante e violenta, dizem os teóricos defensores da noção de risco e as catástrofes ambientais, criam uma imagem paranóica da sociedade e também da saúde. O corpo humano antes representado como máquina naturalmente eficiente ou *máquina perfeita*, á imagem e semelhança do divino, agora é visto como frágil, sensível, suscetível, enfim, *vulnerável*. A idéia de “sociedade do risco” promove um clima de sociedade decadente, promove o sentimento de insegurança generalizado que funciona como uma mitologia.

Um segundo aspecto é que a aplicação de medidas e cálculos às manifestações patológicas, associada ao crescente uso dos conhecimentos epidemiológicos nas políticas públicas de saúde não causaram o impacto de redução que se poderia esperar (Morin, 2004). O comportamento humano para a saúde parecia ainda resistir aos avanços da ciência moderna sobre o corpo. Neste contexto surgem os modelos explicativos:

A importância dos elementos teóricos e práticos associados ao conhecimento e controle destes comportamentos (hábitos nocivos e comportamentos de proteção) foi e ainda é uma base essencial de modificação de recursos de diferentes ramos e orientações da psicologia à serviço das finalidades da saúde pública e da otimização dos cuidados. Esta mobilização se traduz hoje em um repertório considerável de ‘modelos’ que foram tomados emprestados das correntes teóricas dominantes na psicologia (teorias cognitivas, teorias do reforçamento) e nesses últimos anos, mais particularmente, da orientação sócio-cognitiva (MORIN, 2004, p.34).

Um dos primeiros modelos a obter grande impacto no campo da saúde foi a “Teoria da Motivação para se proteger” (ROGERS, 2000) fundada no *Health Belief Model* (ROSENSTOCK, 1974). Ela decompõe a percepção do perigo em duas variáveis cognitivas que podem ser mensuradas, a vulnerabilidade percebida e a gravidade percebida da doença. Este modelo se inscreve na linha de investigação das relações entre as dimensões motivacionais e cognitivas, que procura induzir o medo através de comunicações persuasivas, para produzir novos comportamentos centrado na noção de “motivação à se proteger”.

O conjunto de modelos de inspiração cognitiva se funda na tomada da *intenção*, como uma resultante de outros componentes cognitivos, todos podendo ser tomados separadamente como variáveis, ou seja, passíveis de mensuração. Um subconjunto é formado de variáveis de avaliação (gravidade percebida, vulnerabilidade percebida, capacidade percebida de ação ou de controle). Outro subconjunto é composto de crenças acerca do indivíduo, do corpo, da situação, do apoio social ou médico que podem ser recebidos etc; sendo que estas crenças influenciam as primeiras. O eixo epistêmico é a noção de disponibilidade interna.

Neste contexto se destacam as “teorias da ação antecipada” ou “teorias do comportamento planejado” (PEDRO, 2003), que colocam no centro do modelo explicativo um “conceito” interessante de “normas subjetivas”, associadas à atitude para com as ações “planejadas” ou intencionadas e a capacidade percebida de controle. A norma subjetiva é definida como a percepção de uma pressão social incitando a realizar ou não um dado comportamento. No quadro aqui desenhado, a realizar ou não um comportamento de prevenção. Estes modelos foram duramente criticados por serem individualizantes e lineares (como se os processos cognitivos seguissem sem hesitação um encadeamento linear).

Para Schwartz (1995) estes modelos pecavam no aspecto dinâmico e temporal, neles o papel da percepção do risco é superestimado: na realidade o valor do sentimento de vulnerabilidade produzido pela percepção de um perigo é alterado no tempo, solicitando uma “operação cognitiva” de monitoramento, um processo cognitivamente determinado de controle da ação.

As práticas relativas à saúde passam a ser compreendidas como pertencentes também a um universo cognitivo. Em vários campos estes modelos trazem alguma contribuição, contudo, esbarram naqueles comportamentos chamados genericamente de *culturais*. É relativamente recente o desenvolvimento e aplicação de modelos sócio-cognitivos (Morin, 2004) que integram a “cultura” ou conjuntos de crenças mais complexos e organizados, determinados na história das culturas e partilhados pelos grupos. A aplicação da *Teoria da*

Representações Sociais ao campo da saúde começa em 1969 com o estudo de Herzlich (1986).

As Representações Sociais como “Sistemas de Crenças”

Em 1976, Moscovici define as representações sociais como um conhecimento com três componentes: o campo do objeto, a atitude e as práticas comunicativas. Já em 2003 (Moscovici, 2003a), ele acrescenta algo de novo, sem causar ruptura com as afirmações anteriores, ele acrescenta que as “representações são *prescritivas*, isto é elas se impõem sobre nós com uma força irresistível. Essa força é uma combinação de uma estrutura que está presente antes mesmo que nós comecemos a pensar e de uma tradição que decreta o que deve ser pensado” (p.36). Se na definição de 1976 pode-se identificar o caráter de uma representação como conjunto de informações (de conteúdos), de “conteúdo” que é elaborado na direção da atitude e através da comunicação; Naquela de 2003 o enfoque é outro. Ele apresenta as Representações Sociais como um conjunto organizado de crenças. O que vem em primeiro plano, neste momento é seu caráter de prescrição, ou seja, de normas, enfim, caráter de regulação das condutas. Podemos então começar a falar das representações como um sistema de crenças prescritivas, voltadas e ancoradas na ação.

No estado atual da teoria das Representações Sociais, é plenamente aceito que uma representação seja um sistema cognitivo que age ao mesmo tempo sobre os indivíduos que o elaboram como sobre a situação social na qual ela se insere. Este sistema age sobre os indivíduos através de relações de significado. Uma representação dá significado a uma dada situação social, bem como aos comportamentos e condutas observados. O estudo das representações permite então aos pesquisadores compreender qual o significado atribuído, por um determinado grupo social, tanto à situação propriamente dita, quanto aos comportamentos.

Uma crença se refere a uma ideia ou a uma hipótese sustentada por um grupo cultural como base para um julgamento que carrega uma aceitação de algo como verdadeiro mesmo na ausência de prova. As crenças são as “convicções mentais” que se tem sobre os seres humanos, suas relações com as suas sociedades, assim como os objetos sociais ou fenômenos que são reificados coletivamente. As crenças são construções sociais, aceitas como verdade, não baseadas em evidências objetivas, mas, em vez disso, adquiridas por meio de acordos sociais. A distinção entre crença e conhecimento se situa precisamente no fato de que elas não podem ser necessariamente demonstradas por evidência empírica. Elas desempenham um papel crucial na medida em que dão significado ao descrever algum aspecto da nossa

realidade social (PHILOGÈNE, 2002; MERTON, 1968; GILOVICH, 1991). Crenças estruturam nossa experiência cotidiana, filtrando cognitivamente as informações de modo que os dados obtidos façam sentido. Neste sentido, uma representação funciona como um “conjunto organizado de crenças”.

Em outra perspectiva, pode-se conceber o risco, a vulnerabilidade ou, simplesmente, a “saúde”, não como “objetos”, mas como situações sociais. Toda situação social implica em um elevado grau de complexidade de interação entre os diferentes atores sociais, exigindo “meta-sistemas de crenças”, ou seja, por exemplo, um sistema de representações. Nas situações reais, os sujeitos raramente se deparam com um objeto isolado e raramente se ancoram em uma única representação para identificar a situação, avaliar as condutas possíveis e agir. Moscovici (2003b) lembra como as Representações Sociais se combinam entre si, formando novas Representações Sociais, representações de segundo nível e que, estas por sua vez, se transformam sim, mas observam certa organização. Todo sujeito constrói também em seu sistema cognitivo um conjunto organizado de “crenças” que operam como uma “teoria ingênua e cotidiana” sobre “*como funciona o a saúde e o risco à saúde*”, ou seja para explicar esta realidade e poder agir sobre ela. Este sistema cognitivo contém muitos elementos essenciais que são compartilhados com outros sujeitos que têm, com relação à prevenção, as mesmas ações, as mesmas *práticas sociais*. Este conjunto de crenças é uma Representação Social e é subdividido em “crenças centrais” e “crenças periféricas”.

Com base na ideia que as representações são conjuntos de elementos organizados e estruturados, Abric (1994 a, 1994) e Flament (1987, 1989, 1994a, 1994b) desenvolveram a chamada *Teoria do Núcleo Central*. Neste quadro teórico, dizer que uma representação é conhecida corresponde a dizer que seu *núcleo central* e seu *sistema periférico* são conhecidos. É importante salientar que se trata de uma teoria que já demonstrou seu valor heurístico e sua validade em numerosas pesquisas. De acordo com ela, as representações são regidas por um duplo sistema: o sistema central, que é vinculado às condições históricas, sociológicas e ideológicas, sendo também ligado às normas e valores sociais, e define a organização e o significado da representação; e o sistema periférico que é ligado ao contexto imediato, à história pessoal do indivíduo e que permite a adaptação da representação às mudanças conjunturais.

Neste ponto, parece necessário detalhar dois princípios. O primeiro consiste em definir as representações como conjuntos «estruturados, organizados e hierarquizados». Esta concepção leva a conceber as representações como uma construção sócio-cognitiva, quer dizer, uma construção submetida à uma dupla lógica cognitiva e social, submetida à influência

do contexto discursivo e do contexto social. No que se refere ao segundo princípio, enquanto estrutura, a representação pode ser estudada por métodos quantitativos, a partir dos quais se pode triar, de modo mais exato, elementos e relações entre estes mesmos elementos. Somente o conhecimento da estrutura permite o estudo comparativo entre representações e a compreensão dos processos de transformação que podem atingir as representações.

O conceito de *núcleo central* faz referência a um subconjunto de elementos em torno do qual as representações sociais são organizadas. O núcleo central é responsável pela determinação do significado e pela determinação da organização do conjunto. Segundo Moliner (1996), a noção de núcleo central, apresentada por Abric (1989, 1994b, 1998), faz avançar a noção moscoviciana de *núcleo figurativo* naquilo que ela ultrapassa o quadro puramente genético e trata da estrutura de uma representação constituída. De acordo com Abric, a ideia fundamental desta teoria é que, dentro do conjunto das cognições presentes dentro do campo de um objeto de representação, alguns elementos têm um papel diferente dos demais. O núcleo central apresenta duas funções essenciais para a elaboração e a manutenção da representação: uma função *genética*, a partir da qual o significado dos elementos é criado ou transformado; e uma função *organizadora*, que rege os elos existentes entre os elementos presentes dentro do campo da representação, a fim de assegurar a unidade e a estabilidade deste mesmo campo. A importância do núcleo para o conjunto é tal que ele próprio se constitui o elemento mais estável da representação e assegura sua perenidade.

O sistema central é ativado de maneira diferenciada segundo a natureza do objeto social visado, a natureza das relações do grupo social com este mesmo objeto e a finalidade da situação. A análise da lógica deste duplo sistema, nos leva a considerar que as representações funcionam como “guias” de leitura da realidade. Segundo a natureza do objeto e a finalidade da situação, os elementos da representação podem ser diferentemente ativados para determinar quais aspectos serão levados em consideração. Estas duas condições (natureza e finalidade), têm um papel fundamental na ativação das dimensões normativa e funcional de uma representação. Entretanto, por sua organização e sua composição mais flexíveis, o sistema periférico torna a representação mais “reagente” como será visto em seguida.

Foi necessário esperar os trabalhos de Flament (1987, 1989, 1994 a, 1994b) para a compreensão da importância deste sistema no funcionamento da representação. Este autor, dentro do contexto das Representações Sociais, reforça o postulado segundo o qual um corpus cognitivo, tomado em sua totalidade, é obrigatoriamente coerente, sob a forma de uma estrutura coerente. Esta afirmação revela todo o seu sentido, quando constata-se que toda representação é estudada pelo viés do discurso, entretanto, no nível da superfície dos discursos,

as representações apresentam elementos que parecem ser diferentes, divergentes ou mesmo contraditórios. Para resolver esta aparente antinomia, Flament (1987, 1989, 2002) propõe de considerar os elementos periféricos como esquemas organizados em torno do núcleo, que por sua vez é responsável pela estruturação e estabilidade, gerando o significado que atravessa a representação inteira.

De acordo com Abric (1994), o sistema periférico responde por três funções essenciais: primeiro a *concretização*, função na qual os elementos oriundos do processo de ancoragem permitem o entendimento da representação em termos bem concretos; Segundo a *regulação*, na qual os esquemas permitam a adaptação dos conteúdos e processos coletivos às mudanças do contexto externo; E terceiro a *defesa*, na qual o sistema parece desempenhar o papel de um para-choque, modificando e neutralizando importantes modificações no meio, de modo a evitar ao máximo as transformações bruscas do núcleo e evitar o ataque aos elementos centrais por parte da realidade, quando esta sofre uma mudança intensa. Estas três funções tornam o sistema periférico mais apto à reagir frente às diferentes situações, ou mais exatamente às particularidades de cada situação.

Segundo a expressão de Flament (1994a) é dentro da periferia que se vive uma representação social no cotidiano. A originalidade da escola *aixoise* quanto às representações sociais, reside nas formulações que explicam como as representações são, ao mesmo tempo, «estáveis e movediças; rígidas e flexíveis.

Dentro do quadro da Teoria do Núcleo Central é mais exato afirmar que se deve “tomar as representações como uma condição das práticas e as práticas como um agente de transformação das representações” (ROUQUETTE, 1998, p. 43). Considerando a *situação de vulnerabilidade* como uma situação social complexa, parece-nos legítimo tratar as representações associadas a esta situação como condição das práticas e, portanto, como elementos necessários a compreensão da adesão ou não às práticas preventivas.

Os objetos passíveis de serem *objeto de representação social*, como fenômenos sociais, podem ser inscritos na categoria de *fatos* chamados de “fatos nomeados”. Ou seja, aqueles sustentados (estabelecidos, instituídos, pode-se assim dizer) por e para os especialistas (da ciência, da religião, da arte etc), através de teorias, elas também “especializadas”. Esta última categoria é constituída pelos fatos que são objetivados pelas instituições que os encarnam e impregnados de uma linguagem, também própria. Isto significa de um lado que as representações são impregandas, ao mesmo tempo de *normas* grupais e de normas institucionais (CAMPOS, 2003).

Moliner (2001) insiste taxativamente sobre o caráter polimorfo destes objetos. Assim, trata-se bem das situações reais, concretas e coletivas (para não redundar no adjetivo “social”) onde convém distinguir claramente os “fatos objetivos” e os “fatos sociais”, ou, em outra linguagem, distinguir os fatos “objetivos”, dos fatos “representados”. A descrição empírica neutra (se ela fosse possível) não permite a compreensão destes fenômenos; o fato requer então, uma *nomeação*, uma atribuição, requer teorias prévias, sejam elas científicas, sejam elas ingênuas.

Em síntese, pode-se afirmar que o “risco” não é um fenômeno natural ou consequência de fenômenos naturais, ele é uma *leitura* da realidade, feita por sujeitos inscritos em uma rede de relações sociais e dotados de um sistema cultura que ajuda a avaliar, julgar os fatos, tomar decisões e realizar atos. A base coletiva deste sistema cultural são as Representações Sociais que cada indivíduo encontra nos grupos sociais aos quais participa.

A Teoria das Representações Sociais, Gestão do Risco e Promoção em Saúde

Em síntese, pode-se dizer que Ajzen & Fishbein (1980) não estavam errados em colocar a percepção do controle da situação como variável importante no modelo explicativo. Porém eles parecem *esquecer* que esta percepção é vinculada a um fator sócio-cognitivo que é a influência das instituições nesta percepção. Na Teoria do Núcleo Central, esta variável é tratada como autonomia, ou melhor, a percepção do grau de autonomia na situação. Autonomia em relação com as injunções institucionais.

O grande embaraço provém do fato que pesquisas aplicadas, com a manipulação de tais fatores, demonstram a ineficácia dos programas e ações educacionais para consolidação das condutas almeçadas no campo da saúde. Em uma revisão da literatura sobre a baixa observância das condutas de prevenção, Pittet (2000) e Larson (*et al.*, 1997) afirmam que falham as intervenções planejadas sobre um só fator percebido como obstáculo à adesão. Os autores postulam a aplicação de modelo multimodal e também consideram que a falha de modelos anteriores poderia ser explicado por estarem focados em um único fator.

Larson (*et al.*, 1997) criticam os modelos anteriores por estarem centrados no aspecto disposicional ou na predisposição dos indivíduos para executar ou não comportamento almejado. Avaliando a ineficiência dos modelos explicativos anteriores, apontando que, equivocadamente, a não observação foi discutida com ênfase na irresponsabilidade. Larson (1997) realiza um inventário dos modelos teóricos aplicados a prevenção das infecções hospitalares. Os autores afirmam que o fracasso das intervenções baseadas nos cinco

modelos avaliados (Modelo das Crenças e Saúde, *HBM*; Teoria da Ação Raciocinada, *TRA*; Teoria de Comportamento Planejado, *TPB*; Teoria de Eficiência do Self, *Self-Efficacing Theory*; e Modelo Transteórico) pode ser compreendido pelo fato de serem centrados no aspecto disposicional, tomando crenças e atitudes individuais, como suficientes para manutenção da mudança de comportamento a longo prazo. Vários autores convergem em afirmar a necessidade do uso de modelos mais completos, multicausais e não focados no comportamento individual (Pittet, 2000; Larson, 1997). Alguns estudos demonstram a existência de raciocínios complexos que justificam, em sujeitos aderentes à norma subjetiva de realizar a higienização das mãos, a não observação desta mesma norma.

O modelo fundado na Teoria da Representação Social parece contribuir para explicações entre intenção-ação, em uma perspectiva do cuidado individual, ligada ao campo da saúde e reabilitação de agravos. É quando o sujeito reconhece a legitimidade do risco e o que seria apropriado em relação a novos comportamentos, concebendo uma ação específica para a saúde, característica das intervenções clínicas. Entretanto, para a saúde pública, são importantes estratégias de transformação do saber instituído em comportamentos e práticas condizentes com a saúde, traduzindo percepções, valores, representações simbólicas, crenças e sentimentos tanto na dimensão representacional da experiência individual quanto na experiência coletiva dos sujeitos.

Nos programas de intervenção de promoção da saúde que objetivam a mudança do comportamento face ao risco, é importante entender opiniões, informações, atitudes e crenças organizadas em torno da sua significação central. Para tanto, o estudo das Representações Sociais torna-se importante para compreender como se formam e como funcionam os sistemas de referência que se utiliza para classificar pessoas e grupos e para interpretar os acontecimentos da realidade cotidiana, possuindo elementos essenciais à análise dos mecanismos que interferem na eficácia do processo de formação profissional.

REFERÊNCIAS

ABRIC, J-C. **A Abordagem estrutural das representações sociais**. Em Moreira, A. S. P & Oliveira, D. C. (Orgs.). Estudos interdisciplinares de representação social (pp. 27-46). Goiânia, AB Editora; 1998.

ABRIC (Ed) *Pratiques sociales et représentations*. Paris : PUF; 1994a.

BECK, Ulrich. *La société du risque*. Paris, Aubier, 2001.

- BODSTEIN, R. C. A. *The complexity of the discussion on effectiveness and evidence in health promotion*. Promotion & Education, London, Supplement 1, p.16-1, January 2007.
- CAMPOS, P.H.F.; LOUREIRO, M.C.S. (Org.) **Representações sociais e práticas educativas**. Goiânia: UCG, 2003.
- CAMPOS, P. H. F. *Rapports entre pratiques et représentations: apports théoriques et empiriques pour un modèle d'étude*. *Psychologie et Société*, 6, 3(2), 132-162; 2003.
- CAMPOS, P. H. O estudo das relações entre práticas sociais e representações. Revista estudos. Goiânia: UCG; 2005.
- CZERSNIA D. **O Conceito de saúde e a diferença entre prevenção e promoção**. Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.15, n.4, p.701-710, Out 1999.
- FLAMENT, C. *Pratiques et représentations sociales*. In. J.-L. Beauvois, R. Joule, J.-M; 1987. Monteil (Éds.) *Perspectives cognitives et conduites sociales*. Cousset, De Val, p. 143-150; 1987.
- FLAMENT, C. *Structure et dynamique des représentations sociales*. In. D. Jodelet (Ed.) *Les représentations sociales*. Paris: PUF, P. 204-219; 1989.
- FLAMENT, C. *Aspects périphériques des représentations sociales*. In: Guimelli, C. (Éd.) *Structures et transformations des représentations sociales*. Lausanne: Délauchaux et Niestlé, p. 85-118; 1994b.
- FLAMENT, C. *Approche structurale et aspects normatifs des représentations sociales*. *Psychologie et Société*, 4 (2), 57-80; 2002.
- FLAMENT, C. & ROUQUETTE, M.-L. (2003) *Anatomie des idées ordinaires*. Paris : Armand Colin.
- GILOVICH, T. *How We Know What Isn't So: The Fallibility of Human Reason in Everyday Life*. Universidade de Michigan; 1991.
- GOLDBERG, M., MELCHIOR, M., LECLERC, A., LERT, F. *Les déterminants sociaux de la santé: apports récents de l'épidémiologie sociale*. *Sciences Sociales et santé*, n.20, v.4, p.75-128; 1975.
- GOLDBERG, M. *Cet obscur objet de l'épidémiologie*. *Sciences Sociales et Santé*, n.xx, v.1, p.55-107; 1982.
- HERZLICH, Claudine. *Représentations sociales de la santé et de la maladie et leur dynamique dans le champs social*. In. W. DOISE (Ed.) *L'étude des représentations sociales*.(p.157-170). Neuchatel, Délauchaux & Niéstlé, 1986.
- HERTZMAN, C., FRANK, J., EVANS, R.G. *L'hétérogénéité de l'état de santé ET lés déterminants de La santé dès populations*. In. R.G. EVANS, M.L. BARER et al. *Etre ou ne pas être en bonne santé. Biologie et déterminants sociaux de la maladie mentale*. (PP.77-101). Montreal, Johnhibby Eurotext, 1996.

- HERZLICH, C. *Représentations sociales de la santé et de la maladie et leur dynamique dans le champs social*. In. W. DOISE (Ed.) *L'étude des représentations sociales* (p.157-170). Neuchatel, Delachaux & Niestlé; 1986.
- LARSON S. F, BUTLER W. R, CURRIE W. B. *Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows*. J Dairy Sci. 80:1288-95; 1997.
- MOLINER, P. *La représentation sociale comme grille de lecture*. Aix-en-Provence, Presses de l'Université de Provence; 1992a.
- MOLINER, P. *Images et représentations sociales*. Grenoble, Presses Universitaires de Grenoble; 1996.
- MORIN, M. *Parcours de santé*. Paris, Armand Colin; 2004.
- MOLINER, P. *La dynamique des représentations sociales*. Grenoble : PUG; 2001.
- MOSCOVICI, S. *La psychanalyse, son image et son public*. Paris: PUF; 1976.
- MOSCOVICI, S. *Representações Sociais*. Petrópolis: VOZES; 2003a.
- MOSCOVICI, S. *Por que estudar representações sociais em psicologia? Vida e Saúde*, 30 (1), 11-30; 2003b.
- NAHAS, M. V. *Atividade física, saúde e qualidade de vida: conceitos e sugestões para um estilo de vida ativo*. 4. ed. Londrina: Midiograf, 2006.
- PITTET, D. *Improving compliance with hand hygiene in hospitals*. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 21:381-386; 2000.
- ROGERS, R. W. *A meta-analysis of research on protection motivation theory*. *Journal of Applied Social Psychology*. n. 30, v.2, p.407-429; 2000.
- ROSENSTOCK, I.M. *The health belief model and preventive health behavior*. *Health Education Monograph*, n.xx, v.14, 35-86; 1974.
- ROUQUETTE, M-L. *Representações e práticas sociais: alguns elementos teóricos*. In: A.S.P. Moreira & D.C. de Oliveira (Orgs) *Estudos interdisciplinares de representação social*, Goiânia: AB Editora, 39:46; 1998.
- SCHARTZER, R. *A window of the self reconstructing processes to understand human action*. *Psychology and Health*, n.10, v.4, p. 285-289; 1995.

UMA PERSPECTIVA DA EVASÃO ESCOLAR

*Luiz Alfredo Pacheco*¹

*Marina Leite da Cunha*²

*Humberto Cesar Machado*³

INTRODUÇÃO

Este estudo pretende demonstrar a relevância da evasão escolar e os entraves que este processo causa para os cidadãos e para a sociedade como um todo, propondo alternativas que aproximem a realidade vivida pelo educando ao ensino ministrado nas escolas proporcionando, assim, a redução da evasão escolar. Para atingir o objetivo geral estabelecido para este trabalho serão utilizados objetivos específicos pautados nos conceitos acadêmicos e normativos de planejamento, execução e controle do sistema educacional, sua aplicação e resultados práticos observados no meio social.

Definida na Constituição de 1988 como direito de todos e dever do Estado a educação será promovida e incentivada com a colaboração da sociedade, visando ao pleno desenvolvimento da pessoa, seu preparo para o exercício da cidadania e sua qualificação para o trabalho. Entre os princípios norteadores da educação nacional está o pressuposto fundamental de que o ensino será ministrado em igualdade de condições para o acesso e permanência na escola.

A Lei de Diretrizes Básicas da Educação Nacional – Lei nº 9.394, de 20 de dezembro de 1996, reforça o ditame constitucional e eleva a igualdade de condições para o acesso e permanência escolar à categoria de princípio.

¹ Professor efetivo do Curso de Administração da Universidade do Estado de Mato Grosso - *Campus de Tangará da Serra* – MT.

² Professora efetiva lotada no CEJA - Escola Estadual Licínio Monteiro, em Várzea Grande – MT.

³ Doutor em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2013), Mestre em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (2006), Especialista em História pela Universidade Federal de Goiás - UFG (2002), Graduado em Filosofia pela Universidade Federal de Goiás (1996), Elemento Credenciado em Fatores Humanos e Prevenção de Acidentes Aéreos pelo CENIPA (Centro de Investigação e Prevenção de Acidentes Aeronáuticos). Professor da Faculdade Alfredo Nasser - UNIFAN e da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO).

O Plano Nacional de Educação – Lei do PNE instituído pela Lei nº 10.172, de 9 de janeiro de 2011, tem, em síntese, como objetivos: a elevação global do nível de escolaridade da população; a melhoria da qualidade do ensino em todos os níveis; a redução das desigualdades sociais e regionais no tocante ao acesso e a permanência, com sucesso, na educação pública.

Segundo o caderno “Legislação Brasileira sobre Educação” 2ª edição, publicado pela Câmara dos Deputados em 2013, disponibilizado no site, a evasão escolar é um grande desafio para as escolas, pais e para o sistema educacional, e segundo dados do Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Anísio Teixeira (INEP), de 100 alunos que ingressam na escola na 1ª série, 05 não concluem o ensino fundamental, ou seja, 95 terminam a 8ª série (IBGE, 2007).

Em 2007, 4,8% dos alunos matriculados no Ensino Fundamental (1ª a 8ª séries/1º ao 9º ano) abandonaram a escola. Embora o índice pareça pequeno, corresponde a quase um milhão e meio de alunos. No mesmo ano, 13,2% dos alunos que cursavam o Ensino Médio abandonaram a escola, o que corresponde a pouco mais de um milhão de alunos. Muitos desses alunos retornarão à escola, mas em uma incômoda condição de defasagem idade/série, o que pode causar conflitos e possivelmente nova evasão (IBGE, 2007).

De acordo com dados da Pnad/IBGE de 2011, o Brasil tinha uma população de 56,2 milhões de pessoas maiores de 18 anos, e que não frequentavam a escola e também não tinham o ensino fundamental completo (INEP, 2013), ou seja, quase 40% da população maior de 18 anos. As causas da evasão escolar são variadas. Condições socioeconômicas, culturais, geográficas ou mesmo questões referentes aos encaminhamentos didáticos – pedagógicos e a baixa qualidade do ensino das escolas podem ser apontadas como causas possíveis para a evasão escolar no Brasil.

De acordo com Melo (2012), os motivos mais alegados pelos pais ou pelos responsáveis para a evasão dos seus filhos, e que são mais frequentes nos primeiros anos do ensino fundamental (1ª a 4ª séries e 1º ao 9º ano) são os seguintes: Escola distante de casa, dificuldade ou falta de transporte escolar, não ter um adulto que leve até a escola, falta de interesse e ainda doenças e dificuldades dos alunos. Ainda segundo a autora, ajudar os pais no trabalho ou em casa, doenças, necessidade de trabalho, a proibição dos pais de ir à escola e até mesmo a falta de interesse dos próprios alunos são

os motivos mais frequentes alegados tanto pelos próprios alunos no Ensino Médio, como pelos pais dos alunos dos anos finais do ensino fundamental (5ª a 8ª séries).

E, ainda segundo a autora, cabe destacar que, segundo a legislação brasileira, o ensino fundamental é obrigatório para as crianças e adolescentes de 06 a 14 anos, sendo responsabilidade das famílias e do Estado garantir a eles uma educação integral.

De acordo com a Lei de Diretrizes e Bases da Educação (L.D.B. 9394/96) e o Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA), um grande número de faltas sem justificativa e a evasão escolar atingem diretamente os direitos das crianças e dos adolescentes. Nesse sentido, cabe à escola se fazer valer de todos os recursos que disponha para garantir a permanência dos alunos na escola. A legislação ainda prevê que depois de esgotados os recursos da escola, a mesma deve comunicar ao Conselho Tutelar do Município sobre os casos de faltas em excesso e não justificadas e de evasão escolar, para que o Conselho Tutelar tome as medidas necessárias.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Para um melhor entendimento do estudo e como parte do método de pesquisa, buscou-se uma fundamentação teórica embasada em lógica temática para um melhor entendimento do leitor, sobre a questão da evasão escolar, de forma a elevar uma compreensão do todo, de acordo com autores de livros, artigos, e outras obras que buscam tratar o assunto de forma racional e crítica.

Evasão Escolar: um Resultado do Fracasso Escolar

Segundo Fernandes (2005), a evasão escolar está diretamente ligada ao fracasso escolar, por ser um acontecimento visto por diferentes concepções.

Perante a concepção das políticas educacionais, tal acontecimento tem sido associado às inúmeras reprovações e evasões nas escolas de ensino fundamental no Brasil. Quanto à prática pedagógica e os projetos políticos-pedagógicos das secretarias de educação e das escolas, o fracasso escolar está intimamente relacionado às diferenças de classes sociais, beneficiando os que possuem sua cultura fundamentada com os currículos escolares.

De modo geral, os estudos procuram analisar o fracasso escolar a partir de duas abordagens distintas, as que buscam explicações em fatores externos e as que buscam em fatores internos à escola. Entre os fatores internos se encontra a própria escola, a linguagem e o professor. Inicialmente, os estudos indicam, principalmente, os aspectos sociais como os principais motivos da evasão escolar, ou seja: a desestruturação familiar, a desnutrição, o desemprego, as políticas de governo, a criança e a própria escola (FORNARI, 2010).

De maneira geral, os estudos analisam o fracasso escolar a partir de duas abordagens diferentes, as que buscam explicações em fatores externos à escola e outras em fatores internos à escola. Dentre os fatores internos encontra-se a própria escola, o professor e a linguagem. Conquanto, os estudos apontam, principalmente, os aspectos sociais como determinantes da evasão escolar, os quais são: desestruturação familiar, as políticas de governo, a desnutrição, o desemprego, a escola e a própria criança (FORNARI, 2010).

Há compreensões que indicam como determinantes da evasão escolar a família: seja pelas condições de vida, seja por não acompanhar o aluno em suas atividades escolares; a má-alimentação, que mesmo moderada prejudica o desempenho escolar e desenvolvimento mental; e a necessidade de trabalhar, o que faz sobrecarregar o aluno levando-o a um baixo desempenho escolar (FORNARI, 2010).

Algumas teorias (ALVES, 2009; FORGIARINI e SILVA, 2007) tentaram explicar as principais causas do fracasso escolar. Podemos citar a teoria dos dons que se sustenta nas capacidades cognitivas hereditárias do aluno, ela explica que as desigualdades escolares se justificam nas diferenças individuais do patrimônio genético; ou seja, a hereditariedade, a teoria da deficiência cultural que atribuía o déficit cultural dos alunos menos favorecidos para o insucesso escolar e, portanto, os alunos deveriam chegar à escola com bagagens culturais; e também a teoria das diferenças culturais que justificaria o fracasso escolar pelas diferenças existentes entre a cultura das classes dominantes e a cultura das classes economicamente desfavorecidas.

Estudos trouxeram muitas críticas a essas teorias, seja por excluir a participação da escola ou por imputar ao indivíduo a culpa pelo fracasso escolar, seja pelo desinteresse, pela falta de esforço, pela falta de aptidão, pela desnutrição e até mesmo pela pobreza.

Essa imputabilidade da criança é perceptiva naquelas teorias que esclarecem a ideologia da aptidão e a ideologia da escassez cultural. Tais ideologias retiram da escola a culpa pelo fracasso escolar do aluno, por não possuir condições básicas para aprendizagem, e também pelo fato de sua condição de vida, por pertencer a uma classe social desfavorecida, e deste modo, por carregar consigo desvantagens culturais ou de déficits socioculturais. Contudo esta responsabilização da criança pelo fracasso na escola possui embasamento no pensamento educacional da doutrina liberal que busca em sua alegação legitimar a sociedade de classe (FORNARI, 2010).

Observa-se então que não existe uma única explicação, mas um fenômeno multicausal, determinado por uma conjunção de fatores interdependentes. Tentam explorar a partir de causas políticas, econômicas, sociais, institucionais, relacionais, pedagógicas, entre outras. E todos os fatores vivenciais, que vão da escola, família, aluno, sociedade que interagem para o sucesso ou insucesso escolar.

Estudos analisam a evasão escolar e o fracasso escolar como consequência social e não como condição individual. Fornari (2010), afirma que não se pode compreender o fracasso escolar apenas por aspectos específicos, não depende apenas da capacidade ou vontade do aluno ou da família do aluno, mas também, é necessário entender que a condição econômica e social condiciona a vida e reproduz a lógica existente na sociedade. Para que o sistema educacional mude é necessário que ocorram rupturas com as relações sociais que estão sob o domínio do sistema do capital.

De acordo com Nery (2009), o fracasso escolar é um fenômeno social complexo que vai muito além das explicações psicológicas dos comportamentos individuais.

Foi a partir de 1960, que se começa a analisar a escola em sua relação com os aspectos internos – professores, alunos, currículo, avaliações, famílias, materialidade – levando-se em consideração a sociedade na qual ela está inserida e suas relações de poder, e com o passar do tempo, questões como cultura, gênero, raça e etnia são analisadas nas suas relações com os resultados do processo ensino-aprendizagem.

Para Nery (2009, p.71) “o fracasso escolar vai se tornando complexo, amplo, multidimensional, integrando aspectos sociais, econômicos, políticos, pedagógicos e culturais”.

Segundo Fernandes (2013), a busca da superação do fracasso escolar se articula a processos mais amplos do que a dinâmica intra-escolar sem negligenciar, nesse percurso, a real importância do papel da escola nos processos de desenvolvimento e aprendizagem dos estudantes. Isto quer dizer que existe um conjunto de variáveis, intra e extra-escolares, que intervêm no processo de produção do fracasso escolar indo desde as condições econômicas (desigualdades sociais, concentração de rendas, etc), culturais dos alunos e seu (des) compasso com a lógica de organização, cultura e gestão da escola (perspectiva institucional) até as dinâmicas e práticas pedagógicas utilizadas, em que se estruturam os processos ensino-aprendizagem propriamente ditos cujo balizamento encontra forte expressão na relação professor e aluno” (BRASIL, 2005, p. 02).

Diante disso, para entender as causas da evasão escolar como efeito do fracasso escolar é preciso compreender o contexto social e cultural ao qual o aluno ou a própria escola está inserida.

Torna-se cada vez mais necessário enxergar os alunos como sujeitos históricos, sociais e culturais que tecem cotidianamente inúmeras relações interpessoais, com o saber, com a instituição numa cultura própria e que se movimentam ora em experiências de sucesso, ora de insucesso, que apresentam dificuldades, mas também inúmeras capacidades, enfim, é necessário reconhecê-los num processo educativo de múltiplas dimensões (NERY, 2009, p. 83-84).

De acordo com Pereira (2005), a partir de 1980, houve intensa crítica ao entendimento de que a escola apenas reproduz a estrutura social e a ideologia da classe dominante, e instaura-se uma nova perspectiva, em que a escola passa a ser vista como um espaço sociocultural capaz de contribuir tanto para a manutenção, como para as mudanças sociais, econômicas, políticas e culturais.

Nesse contexto, a questão do fracasso escolar, assim como também o abandono, a repetência e a distorção idade-série, é um importante parâmetro para se discutir a evasão escolar. Buscar as causas da evasão escolar é tentar entender a quais condições sociais e históricas a escola e os alunos estão sujeitos. A partir desse entendimento é possível aplicar estratégias que alcancem o sucesso escolar e o direito de acesso, permanência e ensino de qualidade.

É preciso lembrar que muitos jovens assumem desde cedo muitas responsabilidades e, além disso, as baixas condições financeiras os levam a trabalhar, mas se afastam dos estudos porque há dificuldades em conciliar o tempo de trabalho com o tempo de estudo. A principal consequência da evasão escolar é a exclusão do direito à educação, ao desenvolvimento humano e à qualidade de vida. É importante lembrar que a educação desempenha um papel primordial na transformação da sociedade e no progresso do país.

Os Números da Evasão Escolar no Brasil

Em consulta ao censo escolar de 1996, pode-se verificar que mais de 46% dos alunos do ensino fundamental tem idade superior a faixa etária correspondente a cada série. Já no Nordeste essa situação é ainda mais dramática, chegando a 64% o índice de distorção. Esses índices nos dão a exata dimensão do grau de ineficiência do sistema educacional do Brasil: os alunos levam em média 10,4 anos para completar as oito séries do ensino fundamental.

Verificando apenas as crianças de 14 anos, observamos que, no ano de 1998, dos 3,5 milhões de adolescentes nessa faixa etária, apenas aproximadamente 622 mil frequentavam a 8ª série do ensino fundamental.

Além de indicar atraso no percurso escolar dos alunos, o que tem sido um dos principais fatores de evasão, a situação de distorção idade-série provoca custos adicionais aos sistemas de ensino, mantendo as crianças por período excessivamente longo no ensino fundamental.

Tendo em vista este conjunto de dados e a extensão das matrículas no ensino fundamental, é surpreendente e inaceitável que ainda haja crianças fora da escola. O problema da exclusão ainda é grande no Brasil.

Segundo a contagem da população realizada pelo IBGE em julho/96, são aproximadamente 2,7 milhões de crianças de 7 a 14 anos fora da escola, parte das quais nela já esteve e a abandonou. Uma parcela dessa população pode retornar à escola regular, mas outra precisa ser atingida pelos programas de educação de jovens e adultos.

Ações e Diretrizes Governamentais Direcionadas à Redução da Evasão Escolar

O Plano Nacional de Educação – Lei do PNE instituído pela Lei nº 10.172, de 9 de janeiro de 2011, destaca que a exclusão da escola de crianças na idade própria, seja por incúria do poder público, seja por omissão da família e da sociedade, é a forma mais perversa e irremediável de exclusão social, pois nega o direito elementar de cidadania, reproduzindo o círculo da pobreza e da marginalidade e alienando milhões de brasileiros de qualquer perspectiva de futuro.

A existência de crianças fora da escola e as taxas de analfabetismo estão estreitamente associadas. Trata-se, em ambos os casos, de problemas localizados, concentrando-se em bolsões de pobreza existentes nas periferias urbanas e nas áreas rurais. Às vezes, o fato de ainda terem crianças fora da escola não tem como causa principal a deficiência de vagas, mas sim, está relacionado com a baixa qualidade do ensino, e as condições de marginalidade social e exclusão em que vivem determinados nichos da população brasileira. Portanto, não basta apenas abrir vagas. Deve-se criar opções de assistência a famílias, quesito fundamental para o acesso e a permanência na escola da população muito pobre, que depende muitas vezes, para sua subsistência, infelizmente, do trabalho infantil.

De acordo com o Diário Oficial da União de 10/01/2001, linkado no site do JusBrasil, a desigualdade regional é grave, tanto em termos de cobertura como de sucesso escolar. As regiões Norte e Nordeste continuam apresentando as piores taxas de escolarização do país.

O Fundo Nacional de Manutenção e Desenvolvimento do Ensino Fundamental e de Valorização do Magistério assim como o Projeto Nordeste/Fundescola devem garantir os recursos para a correção dessas desigualdades. É preciso que a União continue atenta a este problema, priorizando o auxílio técnico e financeiro para as regiões que apresentam maiores deficiências.

O direito ao ensino fundamental não se refere apenas a matrícula, mas ao ensino de qualidade, até a conclusão. O atraso no percurso escolar resultante da repetência e da evasão sinaliza para a necessidade de políticas educacionais destinadas a correção das distorções idade-série.

A expressiva presença de jovens com mais de 14 anos no ensino fundamental demanda a criação de condições próprias para a aprendizagem dessa faixa etária, adequadas a sua maneira de usar o espaço, a atualidade do currículo, valorizando um paradigma curricular que possibilite a interdisciplinaridade, abrindo novas perspectivas no desenvolvimento de habilidades para dominar esse novo mundo que se desenha. As novas concepções pedagógicas, embasadas na ciência da educação, sinalizaram a reforma curricular expressa nos Parâmetros Curriculares Nacionais, que surgiram como importante proposta e eficiente orientação para os professores.

Além do currículo composto pelas disciplinas tradicionais, o Plano Nacional de Educação propõe a inserção de temas transversais como: ética, meio ambiente, pluralidade cultural, trabalho e consumo, entre outros. Esta estrutura curricular deverá estar sempre em consonância com as diretrizes emanadas do Conselho Nacional de Educação e dos conselhos de Educação dos Estados e municípios.

Deve-se assegurar a melhoria da infraestrutura física das escolas, generalizando inclusive as condições para a utilização das tecnologias educacionais em multimídia, contemplando-se desde a construção física, com adaptações adequadas aos portadores de necessidades especiais, até os espaços especializados de atividades artístico-culturais, esportivas, recreativas e a adequação de equipamentos. É preciso avançar mais nos programas de formação e de qualificação de professores. A oferta de cursos para a habilitação de todos os profissionais do magistério deverá ser compromisso efetivo das instituições de educação superior e dos sistemas de ensino.

No que se refere à renovação do ensino universitário brasileiro, é preciso urgentemente reestruturar o rígido sistema dos controles burocráticos. A efetiva autonomia das universidades, a ampliação da margem de liberdade das instituições não universitárias e a permanente avaliação dos currículos constituem medidas tão necessárias quanto urgentes, para que a educação superior possa enfrentar as rápidas transformações por que passa a sociedade brasileira e constituir um polo formulador de caminhos para o desenvolvimento humano em nosso país.

Ações Coordenadas e Integradas

De acordo com as informações obtidas no site do MEC: “As instituições, apesar do crescimento das matrículas, apresentam um déficit muito grande que constitui um desafio imenso para os sistemas de ensino, por esta razão, diversas ações devem ser realizadas ao mesmo tempo.

Entre elas, destacam-se a sensibilização dos alunos e da comunidade em geral para a integração e efetivação das adaptações curriculares, a qualificação dos professores com novas técnicas e abordagens para o atendimento nas escolas regulares e a especialização dos professores para o atendimento nas escolas especiais, produção de livros e materiais pedagógicos adequados para as diferentes necessidades, adaptação das escolas para que os alunos especiais possam nelas transitar, oferta de transporte escolar adaptado, etc.

Mas, o grande avanço que se poderia verificar na educação seria a construção de uma escola inclusiva, que garanta o atendimento a diversidade humana”.

Brasil (2005, p. 16) ressalta que “pensar alternativas para a superação do fracasso escolar implica no estabelecimento de políticas sociais articuladas que se direcionem para a melhoria das condições de vida da população”.

Fernandes (2005) afirma que, é urgente a superação da atribuição do fracasso ora aos alunos e suas famílias, ora à escola e professores, segundo ele:

[...] a solução está associada a uma ação coordenada em diferentes âmbitos: sociais, culturais, educacionais, econômicos, políticos. No entanto, considerando que o ensino fundamental é direito de todos os alunos e dever da família e do Estado, torna-se premente propor respostas ao problema. Portanto, é responsabilidade do campo educacional e de seus profissionais apontar soluções em nível macro, no sentido mais amplo das formulações de políticas e ações, como também apresentar saídas do ponto de vista das práticas de ensino, envolvendo o planejamento das ações dos professores quanto à didática, à avaliação, ao currículo, e quanto às relações no interior da escola, seja a relação professor/aluno, professor/professor, professor/diretor, diretor/supervisor, escola/famílias, funcionário/aluno, professor/funcionário, enfim é preciso cuidar da relação gente/gente, humano/humano (FERNANDES, 2005, p. 08 e 09).

Prossegue Fernandes (2005, p 09) afirmando que: “A integração da família a vida escolar do aluno pode evitar a evasão escolar”. A escola precisa desenvolver planos estratégicos que aproximem a relação com a família procurando saber as dificuldades do

aluno em permanecer na escola. Em muitos casos, a própria família não vê alternativa a não ser a interrupção dos estudos. Com diálogo e ações políticas, a escola pode contribuir para buscar soluções.

Dubet (1997), em entrevista à Revista Brasileira de Educação (Site Espaço Aberto), faz algumas ponderações importantes a respeito da dinâmica escolar que podem ajudar a compreender a evasão e reprovação escolar. São apresentadas reflexões no sentido de desconstruir as ideias preponderantes de que os problemas escolares são fruto apenas de como os alunos se comportam ou de qual concepção de escola eles trazem de casa. Para este autor, o sistema rígido de controle escolar é um fracasso pedagógico e moral, embora possa parecer ter eficiência rápida para controle de uma relação pouco regulada, acaba por afastar ainda mais o aluno da escola.

O que de fato se faz necessário é um trabalho no sentido de transformação das crianças e adolescentes em alunos quando estes não têm vontade de se tornar alunos. Os professores, segundo o autor, devem se conscientizar de que trabalham com alunos diferentes em termos de desempenho escolar.

Por isso, os programas de ensino não devem ser feitos para um aluno que não existe. Em geral, estes programas são feitos para um aluno extremamente inteligente, pressupondo, inclusive, que seus pais assim sejam também para ajudá-los nas tarefas escolares. Com efeito, não é possível acreditar, diz o autor, em uma pedagogia milagrosa.

É preciso, portanto, rever a oferta escolar. Seria preciso rever os programas e as ambições de modo que os alunos não sejam colocados de início em situações de fracasso. É preferível ensinar menos coisas, mas que de fato elas sejam aprendidas (DUBET, 1997, p. 12).

Barros, Henriques e Mendonça (2000) mostram como evoluiu, no Brasil, a desigualdade social. De acordo com a análise dos autores, o Brasil não é um país pobre, mas um país com muitos pobres.

Eles demonstram que, por si só, o crescimento econômico não amenizou a extrema desigualdade, nem diminuiu a quantidade de pobres: segundo o Programa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD), entre os anos de 1977 e 1998 a

proporção de pobres passou de 39% para 33%, mas com o crescimento populacional o número absoluto aumentou de 40 milhões para 50 milhões.

Para os autores citados, a pobreza, entre nós, deve-se mais à desigualdade na distribuição de recursos que à escassez de recursos. Desigualdade que, em suas palavras, “surpreende tanto por sua intensidade como, sobretudo, por sua estabilidade” ao longo do tempo (p. 141).

A concepção de exclusão envolve questões mais complexas, difíceis de quantificar. A exclusão é mais abrangente que a situação de exploração ou marginalização, e não necessariamente coincide com a condição de pobreza. O sentido da exclusão é tensionado pelo contraste com a inclusão social (SPOSATI, 1997, p. 21).

Traz consigo significados simbólicos de perda de identidade, de não pertinência ou desfiliação, de negação de acesso. Tratar dos excluídos fora desse quadro mais amplo seria, como apontam Fitoussi e Rosanvallon (1997), retornar a uma visão simplificada e arcaica da sociedade.

De fato é de extrema importância analisar com mais rigor a questão da exclusão, especialmente porque esse processo apresenta um significado marcante no caso da educação. O processo é permeado por aspectos simbólicos, notadamente vinculados ao próprio *modus operandi* da sociedade que, por si só, são fatores determinantes para as situações de exclusão.

Além disso, a forma como cada indivíduo experimenta a sua escolaridade e as condições de acesso não garantem nem proporcionam a inclusão social. Fatores como a qualidade de aprendizagem e a adaptação ao ambiente escolar podem tanto contribuir para a inclusão, como para a exclusão do educando, dependendo do nível de vivência de experiências de rejeição ou de aceitação decorrente das oportunidades alcançadas ou negadas a cada um deles.

Neste esteio, é indispensável que o aprendizado escolar tenha sentido para os educandos, o papel da escola deve ser estabelecido pelos professores, que estes tenham um olhar diferente para o mundo e, por conseguinte mudem seus métodos de ensino.

Os professores devem abandonar a ideia de que os fundamentos escolares partam das famílias, como muitos entendem ser, ao contrário, a própria escola deve ser o alicerce que proporcionará o acolhimento e a inclusão do educando.

Dubet (2003), examina alguns dos mecanismos de exclusão que são específicos da escola e os tipos de reação que podem provocar nos alunos. Ao mesmo tempo em que a escola de massa afirma a igualdade de todos, ela é meritocrática, reforçando a crença no sujeito da modernidade como “o autor de si mesmo”.

Métodos de Avaliação

Existem inúmeros métodos e sistemas de avaliação utilizados pelas esferas governamentais para acompanhar e mensurar os resultados do Plano Nacional de Educação, no entanto, numa análise conjuntural, verifica-se que a diversidade de pesquisas é realizada de forma pouco concatenada, significando uma enormidade de informações dispersas, que não necessariamente, estão estruturadas de modo a proporcionar metas consistentes, nem tampouco indicadores confiáveis que possam fornecer elementos fundamentais para uma ação eficiente e coordenada para a obtenção de resultados efetivos em nível nacional.

Entre as diversas estatísticas e acompanhamentos setoriais efetuados pelos órgãos governamentais, como divulgado nos sítios oficiais do Governo Federal, o Plano Nacional de Educação é avaliado constantemente por meio dos dados e análises qualitativas e quantitativas fornecidos pelo sistema de avaliação operado pelo Ministério da Educação, nos diferentes níveis, como os do Sistema de Avaliação do Ensino Básico (Saeb); do Exame Nacional do Ensino Médio (Enem); do Sistema de Avaliação do Ensino Superior (Comissão de Especialistas, Exame Nacional de Cursos, Comissão de Autorização e Reconhecimento), avaliação conduzida pela Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

O Sistema Nacional de Avaliação da Educação Superior (SINAES) surge em meio à polêmica em torno da avaliação como uma proposta encabeçada pela Comissão Especial de Avaliação (CEA), que tinha como principal objetivo melhorar a qualidade acadêmica e a gestão institucional.

A CEA, a partir de um amplo estudo e debate com a sociedade, ouvindo entidades representativas de diversos setores, estudiosos da área de educação e membros de comunidade acadêmica que participaram da construção e implementação de ações de avaliação utilizadas até então e contando com o apoio logístico e político do MEC,

apresentou o documento “Diretrizes do SINAES” (SINAES, 2004), que, submetido à votação pelo Congresso, tornou-se lei (Lei 10.861/2004), ultrapassando os limites do MEC e do governo, passando a constituir-se em uma Política de Estado.

De acordo com o MEC, a proposta do SINAES contempla duas ideias centrais: a de integração; e a de participação. A ideia de integração relaciona-se com a utilização de múltiplos instrumentos e dimensões e a combinação de diversas metodologias para a formação de um conceito global. A ideia da participação ocorreria por meio do envolvimento de toda a comunidade acadêmica com o processo avaliativo, de modo a assegurar o comprometimento com as mudanças e a criar uma cultura de avaliação nas IES.

Na proposta de criação do Sistema – SINAES, os órgãos governamentais enfatizam três pontos de destaque que caracterizam e diferenciam a proposta do SINAES como inovadora:

- a) consideração da diversidade institucional existente no País;
- b) necessidade do respeito à identidade das instituições, e;
- c) análise global e integrada da avaliação, construída por dois momentos distintos, próprios de uma avaliação educativa: aquele que busca conhecer a realidade e aquele que busca interpretá-la, buscando sentido.

Estes três pontos foram bem definidos no art. 2º da Lei 10.861/2004, que instituiu o SINAES: “O reconhecimento da diversidade das IES no Brasil, cada uma com sua história, e o entendimento da necessidade de colaboração para que esta diversidade seja respeitada são destacados no documento “Diretrizes do SINAES”:

A diversificação institucional, bem como a crise de identidade da educação superior, por uma parte, explica-se pela necessidade de criar instituições com diferentes formas e concepções e, por outro lado, pela dificuldade de atender satisfatoriamente a todas essas exigências e aos múltiplos desafios gestados neste período histórico.

A regulação da educação e a avaliação educativa devem ter em conta que a uma instituição em particular é praticamente impossível oferecer respostas qualificadas a todas essas demandas, mas é importante que o conjunto das instituições, solidariamente,

seja capaz de atender, ao menos, às demandas prioritárias para amplos e diferentes setores da sociedade.

A avaliação da educação superior deve ter uma concepção tal que atenda ao critério da diversidade institucional; deve contribuir para a construção de uma política e de uma ética de educação superior em que sejam respeitados o pluralismo, a alteridade, as diferenças institucionais, mas também o espírito de solidariedade e de cooperação.

A consolidação e o aperfeiçoamento do censo escolar, assim como do Sistema Nacional de Avaliação da Educação Básica (SAEB), e a criação de sistemas complementares nos estados e municípios permitirão um permanente acompanhamento da situação escolar do país, podendo dimensionar as necessidades e perspectivas do ensino médio e superior.

Os dados do Censo Escolar 2012, reforçam a tendência de adequação na distribuição, por modalidades e etapas de ensino, das matrículas da educação básica que vêm sendo observadas desde 2007, refletindo o amadurecimento das ações e políticas públicas implementadas nos últimos anos.

Ainda, conforme o resultado do Censo Escolar 2012, o decréscimo observado no quantitativo de matrículas da educação básica, em torno de 1% e equivalente a 427.569 matrículas, decorre, principalmente, da acomodação do sistema educacional, em especial na modalidade regular do ensino fundamental, com histórico de retenção e conseqüentemente, alto índice de distorção idade-série. Além disso, as matrículas na educação de jovens e adultos (EJA) mantiveram a tendência dos últimos anos e apresentaram queda de 3,4%, representando menos 139 mil matrículas no período 2011-2012.

Ao mesmo tempo, o Censo Escolar 2012 destaca a ampliação da oferta da educação infantil, em especial nas creches, voltada para o atendimento de crianças com até 03 anos de idade, que apresentou crescimento da ordem de 10,5

Outro destaque percebido no Censo Escolar 2012 foi a confirmação da trajetória de expansão da matrícula na educação profissional, que em 2007 era de 780.162 e atingiu, em 2012, 1.362.200 matrículas – crescimento de 74,6% no período. Esse comportamento está em sintonia com as políticas e ações do MEC, no sentido do

fomento ao fortalecimento, à expansão e à melhoria da qualidade da educação profissional no País.

Não se pode, entretanto, considerar que o aumento de matrículas verificado no Censo Escolar de 2012, signifique que o contingente atendido pelo sistema educacional esteja adequado a cada etapa de escolarização. Uma distorção visível que pode ter causado forte influência nas estatísticas foi a ampliação do ensino fundamental para 09 anos, que levou parte do contingente de alunos de 6 anos, que antes era atendido na educação infantil, a ser matriculado no ensino fundamental, aparentando uma estabilidade na matrícula na pré-escolar, o que, de fato, não corresponde a realidade.

Outro fator que tem influência significativa na distribuição e no contingente de alunos na educação básica é a aprovação e promoção para séries subsequentes, ou seja, o comportamento dos indicadores de rendimento escolar, como, por exemplo, a aprovação automática aplicada em muitos Estados da Federação, leva a falsa ideia que o número de habilitados a ingressar nas próximas etapas de escolarização está em ascensão. O sistema educacional brasileiro, historicamente, foi pouco eficiente em sua capacidade de formar alunos adequadamente e quase sempre o movimento do fluxo escolar gerou concluintes na idade incorreta.

Esta situação está se revertendo nos últimos anos quando verificado que há um aumento no número de alunos que conseguem ultrapassar os anos iniciais do ensino fundamental, porém, esta tendência mensurada nos anos iniciais não se confirma quando constatado que, nos anos finais desta etapa de ensino, vez que a oferta de vagas nesta etapa é maior do que a demanda, demonstrando que o número de concluintes do ensino fundamental ainda é discreto.

Essa movimentação está levando a matrícula do ensino fundamental ao patamar equivalente ao da população na faixa etária de 06 a 14 anos, que, segundo a Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (Pnad/2011), do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), corresponde a 29.264.015 crianças.

Atualmente, essa matrícula ainda é 1,5% superior à da população na faixa etária adequada a essa etapa de ensino. No entanto, é um percentual bem menor e muito melhor que os 20% observados no início dos anos 2000, considerando, naquela época, a população de 07 a 14 anos para um ensino fundamental de 8ª séries.

O comportamento da matrícula no ensino fundamental regular, na ótica do sincronismo descrito acima, é um indicador positivo, desde que ocorra até o limite do tamanho da população de 06 a 14 anos e em consonância com o aumento da proporção de alunos na idade correta em cada série. Isso precisa acontecer sem prejuízo dos indicadores medidos pelas avaliações em larga escala, como preconiza o IDEB. Essa dinâmica precisa ser monitorada e acelerada para que haja ampliação da demanda para o ensino médio.

Um ponto crítico computado pelos resultados do Censo Escolar 2012 com relação a modalidade EJA do ensino fundamental, mostrou que o perfil etário dos alunos dos anos iniciais está superior ao daqueles dos anos finais. Esses resultados indicam que a transição entre essas duas etapas não está ocorrendo de forma contígua.

Uma das hipóteses é que os anos finais de EJA estejam recebendo alunos provenientes do ensino regular. Esta situação reafirma a evasão escolar como processo recorrente no sistema nacional de ensino, pois os alunos que não completaram seus estudos na idade correta, posteriormente, buscam o EJA como socorro para as deficiências enfrentadas ao longo da vida escolar.

O aluno potencial do ensino médio é o concluinte do ensino fundamental. No caso do ensino médio regular, mantido o raciocínio acima, a estimativa é que a situação de equilíbrio da matrícula esteja em torno de 10,6 milhões de alunos, que corresponde à população na faixa etária de 15 a 17 anos, contra os atuais 8,4 milhões de matriculados, de acordo com os dados obtidos no Censo Escolar 2012.

Cabe salientar, ainda, que parte desse comportamento da matrícula da educação básica se justifica pela maior qualidade da informação prestada ao Censo Escolar devida aos avanços tecnológicos e aperfeiçoamentos metodológicos de coleta de dados, que, a partir da implantação de mecanismos de controle de qualidade mais rigorosos no cadastro de alunos, fizeram com que o quantitativo de matrículas refletisse melhor a realidade educacional, com mais precisão e qualidade, permitindo que o diagnóstico e a distribuição de recursos destinados à educação fossem otimizados.

Em 2010, o INEP, em articulação com as Secretarias de Educação, exigiu a comprovação documental da matrícula e da frequência do aluno com mais de um

vínculo escolar (matrícula em mais de uma escola) para o seu registro no Censo Escolar, como forma de evitar a dupla contagem de matrícula.

A correção de parâmetros das pesquisas promovida pelos órgãos de controle, como no exemplo acima citado: dupla contagem de matrícula, demonstra que a avaliação do sistema ainda é realizada de forma frágil, passível de distorções capazes de prejudicar a implementação de uma política nacional consistente e efetiva que venha a produzir resultados eficazes em nível nacional.

Nos 192.676 estabelecimentos de educação básica do País, estão matriculados 50.545.050 alunos, sendo 42.222.831 (83,5%) em escolas públicas e 8.322.219 (16,5%) em escolas da rede privada.

As redes municipais são responsáveis por quase metade das matrículas (45,9%), o equivalente a 23.224.479 alunos, seguida pela rede estadual, que atende 37% do total, 18.721.916 alunos. A rede federal, com 276.436 matrículas, participa com 0,5% do total.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após pesquisas e estudos sobre a Evasão Escolar com objetivo de identificar as causas mais relevantes e as consequências mais significativas resultantes da evasão escolar em nível nacional e as possibilidades de condução das políticas públicas centradas na educação e na sua aplicação efetiva por busca de resultados mensuráveis que possibilitem a efetiva redução da evasão e dos entraves que este processo causa para os cidadãos e para a sociedade como um todo, propondo alternativas que aproximem a realidade vivida pelo educando ao ensino ministrado nas escolas, proporcionando, assim, a redução da evasão escolar.

Nessa perspectiva é necessário conhecer o que diz a Constituição de 1988, como direito de todos e dever do Estado à educação será promovida e incentivada com a colaboração da sociedade, visando ao pleno desenvolvimento da pessoa, seu preparo para o exercício da cidadania e sua qualificação para o trabalho. A Lei de Diretrizes de Bases da Educação reforça o ditame constitucional e eleva a igualdade de condições para o acesso e permanência escolar à categoria de princípio.

Ainda o Plano Nacional de Educação – Lei do PNE instituído pela Lei nº 10.172, de 09 de janeiro de 2011 tem como objetivo: a elevação global do nível de escolaridade da população; a melhoria da qualidade do ensino em todos os níveis; a redução das desigualdades sociais e regionais no tocante ao acesso e a permanência, com sucesso, na educação pública.

Entretanto a evasão escolar é um grande desafio para as escolas, pais e para o sistema educacional, pois pesquisas realizadas, dados da Pnad/IBGE 2011 revelam que o Brasil, tem uma população de 56,2 milhões de pessoas com mais de 18 anos que não frequentam a escola e não têm o ensino fundamental completo (INEP, 2013), ou seja, cerca de 40% da população acima de 18 anos, porém as causas da evasão escolar são variadas. Condições socioeconômicas, culturais, geográficas ou mesmo questões referentes aos encaminhamentos didáticos – pedagógicos e a baixa qualidade do ensino das escolas podem ser apontadas como causas possíveis para a evasão escolar no Brasil.

Segundo Fernandes (2013, p. 01), A evasão escolar está intimamente associada ao fracasso escolar, e este pode ser entendido a partir de diferentes perspectivas: das políticas educacionais relacionadas aos altos índices de reprovação e evasão nas escolas de ensino fundamental; à prática pedagógica e aos projetos político-pedagógicos das secretarias de educação e das escolas; e das práticas avaliativas.

Segundo Nery (2009, p 71) o fracasso escolar é compreendido como fenômeno social complexo que vai além das explicações psicológicas dos comportamentos individuais, “o fracasso escolar vai se tornando complexo, amplo, multidimensional, integrando aspectos sociais, econômicos, políticos, pedagógicos e culturais”.

Nesse contexto, buscar as causas de evasão escolar é tentar entender quais condições sociais e históricas a escola e os alunos estão submetidos. A partir desse entendimento é possível aplicar estratégias que alcancem o sucesso escolar e o direito de acesso, permanência e ensino de qualidade. Esse direito não se refere apenas à matrícula, mas ao ensino de qualidade, até a conclusão.

Para mudar esse cenário é necessário: assegurar a melhoria da infraestrutura física das escolas, generalizando inclusive as condições para a utilização das tecnologias educacionais em multimídia, contemplando-se desde a construção física, com adaptações adequadas aos portadores de necessidades especiais, até os espaços

especializados de atividades artístico-culturais, esportivas, recreativas e a adequação de equipamentos, avançar mais nos programas de formação e de qualificação de professores, reformular o rígido sistema atual dos controles burocráticos, produção de livros e materiais pedagógicos adequados para as diferentes necessidades, construir uma escola inclusiva, que garanta o atendimento a diversidade humana.

Fernandes (2013) afirma que, é urgente a superação do movimento pendular de atribuição pelo fracasso ora aos alunos e suas famílias, ora à escola e professores.

[...] a solução está associada a uma ação coordenada em diferentes âmbitos: sociais, culturais, educacionais, econômicos, políticos.

REFERÊNCIAS

ALVES, M. **Do insucesso ao sucesso escolar: a ação do professor**. Dissertação de Mestrado. Instituto Universitário de Lisboa. 2009.

BARROS, R. P. de, HENRIQUES, R., MENDONÇA, R., **Desigualdade e pobreza no Brasil**: retrato de uma estabilidade inaceitável. Revista Brasileira de Ciências Sociais, v. 15, nº 42, p. 123-142, 2000.

BRASIL. **Acesso, permanência, aprendizagem e conclusão da Educação Básica na idade certa** – Direito de todas e de cada uma das crianças e dos adolescentes /Fundo das Nações Unidas para a Infância. - Brasília: UNICEF, 2012b. Disponível em: <<http://www.uis.unesco.org/Education/Documents/OOSCI%20Reports/brazil-oosci-report-2012-pr.pdf>> Acesso em 11/03/15.

BRASIL. [Constituição (1988)]. **Constituição da República Federativa do Brasil**: texto constitucional promulgado em 5 de outubro de 1988, com as alterações adotadas pelas Emendas Constitucionais nos 1/1992 a 68/2011, pelo Decreto Legislativo nº 186/2008 e pelas Emendas Constitucionais de Revisão nos 1 a 6/1994. – 35. ed. – Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, 2012a. Disponível em: <http://bd.camara.gov.br/bd/bitstream/handle/bdcamara/1366/constituicao_federal_35ed.pdf?sequence=26> Acesso em 12/03/15.

BRASIL, Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Anísio Teixeira. **Sinopse Estatística da Educação Básica 2007**. Disponível em: <http://www.inep.gov.br/> Acesso em 11/03/15.

BRASIL. **Legislação Brasileira Sobre Educação** [recurso eletrônico]. – 2. ed. – Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, 2013. 358 p. – (Serie legislação; n. 94) Atualizada em 3/4/2013 ISBN 978-85-402-0018-0 1. Educação, legislação, coletânea, Brasil. I. Serie. CDU 37(81)(094). Disponível em: <http://bd.camara.gov.br/bd/bitstream/handle/bdcamara/2388/legislacao_brasileira_educacao_2ed.pdf?sequence=1> Acesso em 12/03/15.

BRASIL. [Lei Darcy Ribeiro (1996)]. **LDB: Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional**: lei nº 9.394, de 20 de dezembro de 1996, que estabelece as diretrizes e bases da educação nacional. –5. ed. – Brasília: Câmara dos Deputados, Coordenação Edições Câmara, 2010. Disponível em: <http://bd.camara.gov.br/bd/bitstream/handle/bdcamara/2762/ldb_5ed.pdf> Acesso em 12/03/15.

BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Infantil e Fundamental. Departamento de Políticas Educacionais. **Elaboração de políticas e estratégias para a prevenção do fracasso escolar – Documento Regional Brasil**: Fracasso escolar no Brasil: Políticas, programas e estratégias de prevenção ao fracasso escolar. Brasília: MEC. 2005.

BRASIL, **O Estatuto da Criança e do Adolescente**. Lei nº. 8069, de 13 de julho de 1990.

DUBET, François, **A escola e a exclusão**. Cadernos de Pesquisa, nº 119, p. 29-45, jul/2003

ESPAÇO ABERTO **Quando o sociólogo quer saber o que é ser professor**, Entrevista com François Dubet, disponível em http://www.uff.br/observatoriojovem/sites/default/files/documentos/rbde05_6_19_angelina_e_marilia.pdf, acessado em 13/03/15.

FERNANDES, R. F., **Causas de Evasão Escolar da Educação Básica na Percepção de Alunos da Educação de Jovens e Adultos**, Trabalho de Conclusão de Curso Faculdade UnB Planaltina, 2013. Disponível em: http://bdm.unb.br/bitstream/10483/6885/1/2013_RoseaneFreitasFernandes.pdf. Acessado em 11/03/15.

FITOUSSI, Jean-Paul, ROSANVALLON, Pierre, **La nueva era de las desigualdades**. Buenos Aires: Manantial, 1997.

FORGIARINI, S. A. B; SILVA, J.C. **Escola pública: fracasso escolar numa perspectiva histórica**. Simpósio de Educação – XIX Semana de Educação. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 2007.

FORNARI, L. T. **Reflexões acerca da reprovação e evasão escolar e os determinantes do capital**. REP - Revista Espaço Pedagógico, v. 17, n. 1, Passo Fundo, p. 112-124, jan./jun. 2010. Disponível em: <<http://www.upf.br/seer/index.php/rep/article/view/2027>> Acesso em 11/03/15.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTUDOS E PESQUISAS EDUCACIONAIS ANÍSIO TEIXEIRA (INEP). **Censo da educação básica: 2012 – resumo técnico**. – Brasília: Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira, 2013. Disponível em: <http://download.inep.gov.br/educacao_basica/censo_escolar/resumos_tecnicos/resumo_tecnico_censo_educacao_basica_2012.pdf> Acesso em 12/03/15.

_____, **Diretrizes para a Avaliação das Instituições de Educação Superior**, 2004.

JUSBRASIL **Diário Oficial da União** <http://www.jusbrasil.com.br/diarios/430675/pg-182-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-10-01-2001>, acesso em 12/03/15.

MELO, A. S., **O Processo de Planejar: Uma Práxis Transformadora**, Produção Didático-Pedagógica apresentada ao Programa de Desenvolvimento Educacional (PDE). NRE - Apucarana. Orientadora: Dra. Sandra Aparecida Pires Franco, 2012. Disponível em http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/cadernospde/pdebusca//2012/2012_uel_ped_pdp_adreana_simoes_de_melo.pdf Acessado em 13/03/15.

MINISTÉRIO DE EDUCAÇÃO E CULTURA (MEC) **Lei nº 10.172, de 9 de janeiro de 2001** – Publicada no D.O.U. de 11/01/01. Aprova o Plano Nacional de Educação (PNE) e dá outras providências. Disponível em: portal.mec.gov.br/index.php?option=com_docman&task=que trata do PNE_-_Lei_10172-_09-01-01, acessado em 12/03/15.

NERY, P. G. **O fracasso escolar e as práticas educativas de qualidade: um estudo etnográfico**. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Educação. 2009. Disponível em: < www.curriculo-uerj.pro.br/imagens/pdfTeses/O_fracasso_25.pdf> Acesso em: 11/03/15.

PEREIRA, A. S. A. **Sucesso escolar de alunos dos meios populares: mobilização pessoal e estratégias familiares**. Belo Horizonte. 2005. Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação em Educação. Disponível em: http://www.biblioteca.pucminas.br/teses/Educacao_PereiraAS_1.pdf> Acesso em 12/03/15.

SPOSATI, Aldaíza. **Mínimos sociais e seguridade: uma revolução da consciência da cidadania**. Revista Serviço Social e Sociedade, São Paulo, Ano XVIII, n.º 55, p. 9- 38, novembro de 1997.

LUDICIDADE COMO DIREITO DE APRENDIZAGEM NA EDUCAÇÃO

*Luciane Christine De Oliveira Broggi*¹

*Lilian De Castro Carvalho*²

*Humberto César Machado*³

INTRODUÇÃO

A docência na educação infantil foi o que mais me encantou durante o curso, as fases pelas quais as crianças atravessam seu processo de aprendizagem, um mundo imenso de possibilidades que se pode explorar para um desenvolvimento intelectual, emocional, físico, social da criança.

O tema: Ludicidade como um direito de aprendizagem na Educação vem de encontro com a formação adquirida, buscar novas formas de passar o conhecimento aos alunos, porém dentro da perspectiva de seus direitos de gozar de uma infância prazerosa, e por que não utilizar o lúdico para alcançar essa meta. Como professores mediadores desse aprendizado deveram estar abertos a novas concepções de ensino.

Os estudos de vários autores sobre os benefícios de trabalhar o lúdico trazem ao aluno e aos educadores responsabilidades na transmissão desses conhecimentos com satisfação e alegria aos alunos e que através da ludicidade possam adquirir aprendizagem. Como as instituições estão se adequando a essa nova realidade, se estão preparadas para atender esses alunos saindo do assistencialismo que era o foco principal antigamente das creches, onde hoje a Constituição Federal (1988) garante o direito á educação infantil as crianças de zero a cinco anos e se isso ocorre realmente nos dias atuais. Sendo a educação infantil uma das fases mais conflitante para as crianças, onde saem do aconchego de seus lares, do convívio familiar, para adentrar num mundo novo, ambiente estranho, com pessoas diferentes, tudo muda em relação aquilo que a criança tinha em seu cotidiano.

¹ Graduando em Licenciatura em Pedagogia – UNOPAR e em Licenciatura em Geografia – PARFOR/UFMT, especialista em Coordenação Pedagógica - UFMT.

² Graduando em Licenciatura em Biologia – UNIVAG.

³ Graduado em Filosofia pela Universidade Federal de Goiás. Especialista em História pela Universidade Federal de Goiás – UFG. Mestre em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás e Doutor em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

O artigo vai destacar a importância da ludicidade na vida das crianças, que é um direito da criança adquirido por lei. É importante que os profissionais novos e veteranos assimilem essas novas concepções de ensino, que vejam as brincadeiras não somente como um meio de passar o tempo, mas sim a oportunidade de proporcionar conhecimentos, para que ocorra a formação de um cidadão crítico que queremos formar. Vygotsky em seu trabalho há séculos realizado já sinalizava para a importância do brinquedo na vida das crianças para a aquisição de conhecimentos.

Nas fases do desenvolvimento infantil, esses conhecimentos auxiliam na mediação de transmissão de aprendizagem sabendo em qual fase a criança se encontra e procurando trabalhar de forma interdisciplinar o conteúdo. A ludicidade como direito de aprendizagem na educação infantil deve proporcionar um entrosamento entre educar e brincar, favorecendo o aprender e o desenvolver, para isso é necessário amparo, recreação e instrução para que o aprendizado aconteça.

É necessário para que isso ocorra que os profissionais estejam em busca de aperfeiçoamento, que saiam da linha de assistencialismo ainda presente na educação infantil; para cuidar-lo e o educar. Procurar capacitar-se para melhor atender os alunos, proporcionando assim uma educação de qualidade. O brincar com intencionalidade para que essa aprendizagem realmente ocorra, sendo mediador desses processos.

A educação infantil caminha em direção ao reconhecimento da importância de integrar o Cuidar ao Educar e ao Brincar. Justifica-se a temática escolhida do encontro com os conhecimentos adquiridos e aplicados na escola, onde ocorre o trabalho de construção de conhecimento sobre o mundo, sobre si, o ambiente e o lúdico.

Verificar a preocupação com a parte lúdica nas creches através do Projeto Político Pedagógico, porém a falta de interesse de alguns profissionais em procurar meios que contemplem a aplicação do mesmo é grande. As crianças desde cedo se comunicam por meio de sons, gestos e mais tarde representando determinados papéis nas brincadeiras de faz-de-conta dessa forma estão desenvolvendo o seu potencial de imaginação. Trabalhando com a ludicidade as crianças podem desenvolver algumas capacidades intelectuais, cognitivas, emocionais importantes; como atenção, imitação, memória, e a imaginação entre outras.

Baseado nas pesquisas a problematização do tema vem da resistência dos profissionais em aderir às mudanças, seja por comodidade, tradicionalismo presente nas escolas, à insatisfação salarial faz com que muitos profissionais se desencantem com a profissão, deixando assim de cumprir com o seu papel de educador.

O planejamento se faz necessário para que haja sim uma intencionalidade no brincar, o Referencial Curricular vem nos orientando sobre o que trabalhar e como mediar essas aquisições de conhecimento. É preciso ter creches que cuidam apenas das crianças, porém há outras com objetivos educacionais, com propostas pedagógicas, com profissionais qualificados e comprometidos com o ensino.

Porém é necessário observar que poucos são os profissionais que planejam suas intervenções juntas às crianças com antecedência, normalmente decidem na hora o que vão fazer, ainda possuem a mentalidade assistencialista se negam a mudança que proporcionará um desenvolvimento mais amplo a essas crianças. Cursos de capacitação são ofertados a esses profissionais, porém como frisei anteriormente a insatisfação da categoria faz com que muitos deixem de cumprir com o seu papel que é promover o desenvolvimento integral dessas crianças para que se tornem verdadeiros cidadãos cientes dos seus direitos e cumpridores de seus deveres.

A maior barreira encontrada é a resistência dos profissionais da área, os educadores citam dificuldades para se trabalhar com o lúdico; por falta de materiais pedagógicos, inquietações que surgem para se estagnar no tempo, romper com o tradicionalismo também não será tarefa fácil.

É possível confeccionar esses materiais com criatividade, sucata e grande dose de boa vontade. São ofertados cursos de formação para esses profissionais, porém o foco maior deles é o certificado e não o aprendizado em si não pode deixar de citar também que não são todos os profissionais que agem dessa maneira, profissionais comprometidos com o ensino existem poucos, mas desempenha de forma maravilhosa o seu trabalho, duas profissionais da creche me chamaram a atenção por aplicar intervenções de forma interdisciplinar com seus alunos proporcionando um ensino amplo de linguagem, matemática, ciências trabalhando uma música em sala de aula, levando o aparelho de som para incrementar, despertar o interesse das crianças promovendo um ensino de qualidade que faça a diferença na vida das crianças.

As instituições também não possuem condições ideais, faltando uma estrutura adequada, salas pequenas com grande número de criança para o atendimento, há falta de ambientes apropriados causam desânimo nos profissionais, os diretores estão sempre lutando para que haja melhorias, porém sabemos que o processo é lento, as coisas não se resolvem rapidamente como gostaríamos.

A creche precisa ser mais que do um lugar agradável, onde se brinca; deve sim ser um ambiente estimulante, educativo, seguro, afetivo com educadores preparados

para acompanhar a criança nesse processo intenso e diário de descobertas e aprendizado, onde as crianças falam de sua realidade e identificam objetos que estão ao seu redor, e mediar esses conhecimentos utilizando o lúdico será um ganho tanto para a criança quanto para o educador.

Como objetivos fundamentais para o tema em discussão almejamos promover a formação de cidadãos críticos, conscientes, participantes e democráticos não agentes passivos que tudo aceitem e de por verdade sem questionar, e que os educadores comecem a ver o lúdico com outros olhos, o de aquisição de aprendizagem e sejam mediadores dessas aquisições de conhecimento.

Também os professores devem desenvolver a socialização, a criatividade, a oralidade e raciocínio, oportunizar que as crianças tenham contato com a escrita através de textos (livros, revistas, histórias em quadrinhos...), Brincar, experimentar e utilizar os recursos de que dispõem para satisfação de suas necessidades essenciais, expressando seus sentimentos e agindo com progressiva autonomia e Relacionar-se progressivamente com mais crianças, com professores e demais profissionais da instituição, demonstrando suas necessidades e interesses.

Os recursos são diversos, desde aqueles que pode comprar e aqueles que se pode ser confeccionado usando materiais recicláveis e sucata. Pode se confeccionar materiais: maleta musical, história em cartaz, fantoches, jogos de memória, além de livros didáticos, jogos pedagógicos, bonecas, jogos de encaixe, cd de musicas, filmes; entre outros.

Não há um tempo específico para se trabalhar com o lúdico em sala de aula, visto que a criança brinca quase que o tempo todo, é um trabalho diário e constante de observação realizado com as crianças.

É interessante observar que as crianças se apropriam dos jogos de exercício de forma diferente, obedecendo a uma gama de comportamentos geralmente relacionado á faixa etária, enquanto os bebês se entretêm com a exploração de texturas, formas, cheiros e cores, crianças de dois e três anos já conseguem conceber novas funções para os objetos por meio da experimentação, por exemplo, montam torres para ver aonde chegam sem cair, depois as desmontam e as reconstroem. Para potencializar a atividade, devem-se escolher brinquedos que estimulem os sentidos e o movimento, quanto mais variados as cores, texturas, materiais e os estímulos que eles permitirem, melhor. Assim como as instituições deve estar atenta a aquisição de

brinquedos adequados, os pais também têm a responsabilidade de escolher os brinquedos com bom senso.

A PESQUISA NO TEMPO E ESPAÇO

No Brasil, o surgimento das creches foi um pouco diferente do restante do mundo. Enquanto nos demais países a creche servia para as mulheres terem condições de trabalhar nas indústrias, no Brasil, as creches populares serviam para atender não somente os filhos das mães que trabalhavam na indústria, mas também os filhos das empregadas domésticas.

Somente nos anos 80, com a criação da Constituição Federal, pela primeira vez, estabeleceu-se que a Educação Infantil Brasileira é um direito das crianças de 0 a 6 anos, uma opção da família e um dever do Estado.

A partir LDBEN passa a compor a educação básica, não sendo mais facultada à família. Ao definir que “o dever do Estado com a educação será efetivado mediante a garantia de vagas para as crianças” (art. 208), entre outros “o atendimento em creche e pré-escola às crianças de 0 a 6 anos de idade (inciso IV), a Constituição estabelece um compromisso do Sistema Educacional com as crianças”.

No anseio de chegar à formação docente específica para as crianças pequenas, que até este instante contavam com atendimento meramente assistencialista e necessitavam de maior atenção da sociedade, já que a partir de estudos de cunho científico, notou-se que a capacidade de desenvolvimento cognitivo, social, motor e afetivo neste período deveriam ser estimulados e mensurados. Muitas medidas legais foram necessárias, dentre elas, a formação docente para atendimento específico para a educação de crianças pequenas e muito pequenas.

REFERENCIAL TEORICO

Por diversos fatores, a educação infantil vem crescendo de forma considerável e tem demonstrado efetivas contribuições em caráter educacional para as crianças pequenas e muito pequenas, 0 a 3 anos e 4 a 6 anos, respectivamente e com isso é possível traçar o perfil do professor que estará diretamente em contato com as crianças.

Com o reconhecimento do direito da criança na Constituição da República de 1988, a criança passou a ser vista como cidadã, provida de direitos, atribuindo ao Estado à obrigatoriedade e gratuidade na oferta de formação intelectual, facultando até então a família o dever do ingresso escolar nos primeiros anos de vida em sociedade, de receber formação educacional em resposta ao caráter assistencialista mantido até então.

No intuito de sanar ou auxiliar nas questões peculiares a faixa etária de 0 a 5 anos, em 1998, foi instituído o Referencial Curricular para a Educação Infantil (RCNEI) como documento regulador que estabelece os meios pedagógicos para se chegar ao ensino de qualidade para as crianças em pleno desenvolvimento, ficando seu caráter administrativo financeiro sob-responsabilidade legitimada na Lei nº 11.494/ 97.

Art 8º § I - na educação infantil oferecida em creches para crianças de até 3 (três) anos; Conforme a Lei nº 12.695/ 12 em seu § 3º será admitido, até 31 de dezembro de 2016, o cômputo das matrículas das pré-escolas, comunitárias, confessionais ou filantrópicas, sem fins lucrativos, conveniadas com o poder público e que atendam às crianças de 4 (quatro) e 5 (cinco) anos, observadas as condições previstas nos incisos I a V do § 2º, efetivadas, conforme o censo escolar mais atualizado até a data de publicação desta Lei. (BRASIL, 2007).

O RCNEI estabelece metas para a efetivação diante das políticas que fundamentam a etapa e os programas de Educação Infantil existentes no país, buscam socializar informações, entre os diversos profissionais envolvidos na formação da criança e contribuir com as políticas públicas para educação infantil.

Com a admissão da LDBEN, quanto à formação docente em nível médio na modalidade normal para atuar nas creches e pré-escolares brasileiras, (art. 62) e da pesquisa “Proposta Pedagógica e Currículo em Educação Infantil: um diagnóstico e a construção de uma metodologia de análise” resultaram na construção do RCNEI (BRASIL, 1996). Contou com a participação de pais, professores, técnicos, funcionários e consultores em sua elaboração. A necessidade surgiu já na década de 70 e se estendeu por vários anos. Buscou-se diagnosticar as reais necessidades educacionais da educação infantil e, a partir das conclusões, estabelecer ou ampliar as possibilidades de estruturação, implementação e avaliação do processo pedagógico adotado, já que inicialmente o objetivo era estritamente assistencialista.

Colaboraram com a pesquisa os Estados do Norte; Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins, já do Nordeste Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe. Na região centro-

oeste; Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. Estados da região Sudeste; Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo e para finalizar a região Sul; Paraná e Santa Catarina (BRASIL, 1996). Após a conclusão, chegou-se a formulação do RCNEI instituído em 1998 e na ânsia de potencializar as diversas dimensões do desenvolvimento humano ao longo dos primeiros cinco anos de vida.

A compreensão do professor sobre as fases que sucedem o desenvolvimento infantil é fundamental para compreender as manifestações motrizes e sociais das diversas crianças envolvidas em um mesmo ambiente de aprendizagem, mas com necessidades diferenciadas, o que exige do professor oportunizar e criar atividades favoráveis o ambiente educativo, conseqüentemente, possibilitando a aprendizagem corporal, social e cultural desejada.

Com diversas metas a serem alcançadas diariamente nos espaços educativos infantis, o tempo é variável importante nesta organização, já que, a partir dos movimentos, diversas ações serão propostas. Nesta perspectiva, o docente necessita de informações concretas e sólidas para contribuir efetivamente com o desenvolvimento da criança, neste espaço rico de informações. É nesta busca de entender a atuação docente na educação infantil que exporemos o próximo tópico.

Os estudiosos do desenvolvimento infantil e aspectos cognitivos da criança como: Jean Piaget, Vygotsky, Wallon dentre outros concebem atividade lúdica como fonte de aprendizagem, dessa forma o brincar constitui-se enquanto um direito, oportunizando o exercício do seu direito de ser criança, contribuindo para o seu desenvolvimento físico, emocional, cognitivo, linguístico e social, a brincadeira faz parte das nossas vidas desde a antiguidade, razão pela qual levou os estudiosos a aprofundar o conhecimento sobre a importância do Lúdico, não apenas como ato de entretenimento ou lazer, mas como desencadeador de aprendizagem. Em 1988, de acordo com a Constituição Federal, a educação infantil passou a ser um direito da criança: todas as crianças passam a ter direito assegurado por lei ao acesso na educação infantil. Em meados dos anos 90, ela passa a ser considerada a primeira etapa da Educação Básica Brasileira, onde toda criança de 0 a 5 anos e 11 meses, tem direito a educação infantil gratuita e de qualidade que configura em uma política específica para essa área, com espaços e recursos adequados, bem como profissionais qualificados.

No contexto do projeto apresentado cujo tema: Ludicidade como Direito de Aprendizagem na Educação Infantil está baseado em estudos desde o histórico da educação infantil, pesquisas e vivência na prática de sala de aula onde

pudermos observar a aquisição de conhecimentos pelas crianças através do lúdico presente em seu dia-a-dia. A utilização do lúdico para desenvolver a aprendizagem nas crianças.

Segundo Kishimoto (1998), o uso do lúdico na escola pode representar um imenso passo para o processo de desenvolvimento da aprendizagem, e ele estimula a criança ao aprendizado de maneira libertadora e autônoma.

As atividades lúdicas estão representadas nos PCN'S como alternativas favoráveis ao processo de aprendizagem do aluno, a realidade em que elas vivem, oferecem oportunidades de desenvolver novas atividades na escola, neste caso brincadeiras de roda, faz-de-conta, podem ser desenvolvidas na escola visando o desenvolvimento das crianças.

O Estatuto da Criança e do Adolescente (EC A) é uma lei de nº 8069, criada em 1990, onde são tratados os direitos e deveres de todas as crianças e adolescente do país, nascido no campo ou nas cidades, pobres ou ricos.

O ECA foi criado pela vontade e mobilização de um grupo de pessoas e movimentos que até hoje lutam para que todas as crianças e adolescentes do Brasil tenham garantidos o seu desenvolvimento e crescimento de forma protegida e com cidadania.

Outro documento que embasa a importância da utilização do lúdico para o desenvolvimento nas crianças de 0 a 3 anos é o Referencial Curricular para a Educação Infantil (RCNEI), que foi elaborado em um momento em que creches e pré-escolas buscavam interligar cuidados à educação, e ainda as brincadeiras, o trabalho com o lúdico, e utilizando-o como instrumento de reflexão, orientando os objetivos, conteúdos e trazendo orientações didáticas para a melhor organização do trabalho docente.

O Referencial Curricular Nacional para a Educação Infantil (RCNEI) integra uma série de documentos dos Parâmetros Curriculares Nacionais que norteiam os conteúdos, trazendo orientações didáticas para a melhor organização do trabalho docente. O documento se organiza em três volumes: o primeiro deles apresenta uma reflexão sobre creches e pré-escolas no Brasil têm como objetivos gerais da educação infantil e se organiza por eixos: Formação pessoal e social e conhecimento de mundo. Outro volume contém um eixo: os processos de construção da Identidade e autonomia das crianças. O terceiro volume está relacionado ao conhecimento de mundo contém os seguintes eixos de trabalho: movimento, música, artes visuais, linguagem oral e escrita.

De acordo com o RCNEI (Brasil, 1998c, p. 171) á medida que a criança desenvolve e sistematizam conhecimentos relativos á cultura, ela constrói e reconstrói noções que favoreçam mudanças no seu modo de compreender o mundo. Gradativamente a criança vai construindo suas hipóteses e formulam suas próprias indagações.

PRINCIPAIS PENSADORES

Friedrich Froebel

O educador das crianças pequenas, o criador dos jardins de infância defendia uma educação sem obrigações para as crianças, que para ele, aprendiam conforme seus interesses e por meio da prática.

O alemão Friedrich Froebel (1782-1852) foi um dos primeiros educadores a considerar o início da infância como uma fase de importância decisiva na formação das pessoas, ideia consagrada nos dias atuais pela psicologia, ciência da qual foi precursor. Froebel viveu em uma época de mudanças de concepções e esteve á frente desse processo na área pedagógica, como fundador dos jardins de infância, para menores de 8 anos.

O nome reflete um princípio que Froebel compartilhava com outros pensadores de seu tempo: o de que a criança é como uma planta em sua fase de formação, que exige cuidados periódicos para que cresça de modo saudável. Ele procurava na infância o elo que igualaria todos os homens, sua essência boa e divina ainda não corrompida pelo convívio, social. As técnicas utilizadas até hoje em educação infantil devem muito a Froebel.

Para ele as brincadeiras são os primeiros recursos no caminho rumo á aprendizagem, não somente diversão, mas um modo de criar representações do mundo concreto com a finalidade de entendê-lo. Com base na observação das atividades das crianças com jogos e brinquedos, Froebel foi um dos primeiros pedagogos a falar em autoeducação, um conceito que só se difundiria no início do século 20, graças ao movimento da Escola Nova, de Maria Montessori (1870-1952) e Celestin Freinet (1896-1966), entre outros.

Maria Montessori

O método Montessori ou pedagogia Montessoriana relaciona-se à normatização que consiste em harmonizar a interação de forças corporais e espirituais, corpo, inteligência e vontade, método criado por Maria Montessori. Os principais fundamentos são: a atividade, a individualidade e a liberdade, enfatizando os aspectos biológicos, consideram a vida desenvolvimento e que a função da educação é favorecer esse desenvolvimento.

Os estímulos externos formam o espírito da criança, desse modo apresentava jogos e outros materiais, sendo a criança livre para agir sobre os objetos. A pedagogia de Montessori insere-se no movimento das Escolas Novas que se opõem aos métodos tradicionais que não respeitem as necessidades e os mecanismos evolutivos do desenvolvimento das crianças. Ocupa um papel de destaque neste movimento pelas novas técnicas que apresentou para os jardins de infância e para as primeiras séries do ensino formal.

Henri Wallon

Nasceu na França formou-se em filosofia e medicina cuja tese de doutorado foi observando centenas de crianças com transtornos psicopatológicos e psicomotores. A partir daí o tema da infância o acompanhará por toda sua obra.

Sua teoria é que a criança expressa por meio de movimentos, as suas emoções, socializando ao seu mundo interior e se comunica com os adultos que cuidarão dela, integrando-os ao mundo humano.

Lev Semynovich Vygotsky

Lev Semynovich Vygotsky (1896-1934), de origem soviética e judaica, formou-se em Direito, professor pesquisador no campo da literatura.

Lev Vygotsky e seus companheiros defendem a “nova Psicologia” que integra numa mesma perspectiva o homem enquanto ser biológico, posto que membro da espécie humana, e sócio, histórico e cultural. A cultura sendo um sistema dinâmico de negociações simbólicas, cujo sujeito tem papel ativo na criação e recriação de conceitos e significados, onde internalizando a cultura não de forma passiva, mas de

transmissão e síntese. Vygotsky postula que o processo de desenvolvimento ocorre com a integração em grupos sociais e acontece “de fora para dentro”, parte do social e enfoca o meio, o cultural a estimulação pelo aprendizado, afirmando que o sujeito se desenvolve porque aprende. Os códigos do sujeito e do grupo passam a ser compartilhados de maneira objetiva e subjetiva.

O russo, Lev Seminovitch Vygotsky, educador, advogado e filósofo, iniciou seu trabalho como psicólogo após a Revolução Russa de 1917, morreu em 1934. Depois de sua morte, por vinte anos, suas obras foram proibidas, porém seus discípulos propagaram sua teoria após esta fase de repressão. A teoria do autor chega ao Brasil nos anos 80, sob influência norte-americana. Resultados anteriores referenciam os primeiros enunciados sobre o autor em um trabalho acadêmico vinculado a química em 1986. Dedicou seus estudos à evolução psicológica do homem e creditava à ciência o fato de justificar questionamentos não perceptíveis somente com base empirismo. Vygotsky compreendia a teoria de Piaget e colaborava com Wallon, já que também compreendia o homem como ser social- cultural e biológico.

Várias obras foram publicadas no intuito de resgatar o que Vygotsky nos deixou ao longo de seus poucos anos de vida; descreveu sobre estudos de evolução psicológica, denominada de funções psicológicas superiores. “O homem tem a capacidade de pensar em algo ausente ou imaginar, planejar, construir mentalmente ou até mesmo em algo que ainda não aconteceu” (OLIVEIRA, 1993, p. 26). Em sua teoria havia diferenciações significativas entre ações elementares e ações superiores; ações elementares são ações que ocorre involuntariamente e alguns casos precisam ser ensinados. Uma criança quando nasce não é necessário ensiná-la a fazer a sucção no seio de sua mãe, pois devido às descargas elétricas, sinapses, ou seja, a comunicação entre os neurônios, a partir das informações do sistema nervoso central, a possibilidade realizar tal ação, conhecidas como ações reflexas. Agora, em se tratando de ações que são ensinadas, como resgatar uma bola na boca do cachorro, é necessário adestramento e caso seja necessário fazer o gol durante uma partida de futebol, o animal não tem a capacidade de executar tal ação. O autor faz referência à mediação que nada mais é que a intervenção de um intermediador na relação, a relação deixa de ser direta e passa a ser mediada por esse elemento. Ao longo da vida de pessoas, as relações passam a ser frequentemente mediadas e as relações diretas são substituídas. Ocorrem duas divisões importantes para se compreender o contexto teórico. Os elementos correspondentes aos instrumentos e aos signos. Os instrumentos são características da evolução do homem.

O instrumento constituído ou buscado para um objetivo, bastante simples, carrega consigo a função para a qual foi criado, para o trabalho. Este instrumento pode ser utilizado de diversas formas. Diferentemente dos animais que não conseguem utilizar para diversos fins o que algumas espécies são capazes de produzir, por exemplo, uma vasilha com água. Os instrumentos são produzidos com fins específicos. Já os signos atuam como instrumento da atividade psicológica de maneira semelhante ao papel do instrumento no trabalho.

A noção Vygostskyana possibilita diversos debates acerca do tema, já que o autor afirma que a criança é um ser com potencialidade dinâmica de desenvolvimento e também dialética.

Jean Piaget

Jean William Fritz Piaget, psicólogo suíço, desde menino encantou-se pela ciência e pelo seu rigor. Dedicou-se à pesquisa da embriologia da inteligência humana. Mesmo não tendo se dedicado à pesquisa de cunho educacional, sua teoria contribuiu para a época e nos tempos atuais continua colaborando. Para Piaget, toda psicologia contemporânea nos ensina que a inteligência procede da ação. E completa dizendo que somente a educação pode salvar as nossas sociedades de uma possível dissolução, violenta ou gradual. (PIAGET, 1934, p.31 apud Coleção Educadores, 2010). Piaget defende que não é possível aprender sem a experimentação do ato. Não se aprende simplesmente vendo a experimentação do professor, ou dedicando a atividades já organizadas. A participação na construção precisa ser ativa e o tempo para execução precisa o quão necessário for, o aluno precisa de liberdade para aprender a experimentar a ação.

Jean Piaget compartilha quanto ao fato da criança ser um indivíduo em pleno desenvolvimento, porém defende a teoria do construtivismo genético e que a cultura é construída ao longo do desenvolvimento, progressivamente. Suíço da cidade de Neuchâtel é atualmente considerado um dos maiores expoentes da história da psicologia. Com sua formação científica, disciplina e uma obstinada curiosidade intelectual dedicou toda a sua vida à elaboração de uma teoria geral do desenvolvimento da inteligência lógica. O objeto de estudos piagetiano é, portanto a construção do conhecimento a partir de sua gênese no sujeito do conhecimento que receberá o título de epistemologia genética.

Enfocando o sujeito epistêmico, definido como aquele que constrói conhecimento científico do mundo, ele não centrou seus estudos na afetividade muito embora faça menções ao desenvolvimento afetivo das crianças e afirme que exista um paralelismo estreito entre o desenvolvimento afetivo e o desenvolvimento das funções intelectuais.

A obra de Piaget discute o desenvolvimento da inteligência e a construção do pensamento, a concepção de caráter escolar costuma ser muito usual. O “inteligente” é aquele aluno que vai bem à escola, tirando boas notas; enquanto outras crianças que trabalham em feiras de rua, por exemplo, veem-se todo o tempo expostas a operações matemáticas de toda ordem, pesam na balança um quilo e meio de bananas, dão o preço a partir da divisão do quilo na sua metade e da soma da metade com o inteiro, fazem o troco por subtração do dinheiro recebido pelo freguês, no entanto essas mesmas crianças na escola apresentam um resultado medíocre nas avaliações, a escola não aproveita o conhecimento de mundo do sujeito, levando-o ao fracasso pela imposição de uma maneira rígida de pensar.

O importante para que a criança obtenha sucesso nos estudos seria difícil sustentar o conceito de inteligência pelos critérios de desempenho escolar, para Piaget a inteligência é uma questão de adaptação.

O desenvolvimento da inteligência se dá na passagem de um conhecimento menor para um conhecimento maior, Piaget diz que esses processos se dão a partir de saltos e rupturas da cadeia lógica de pensamento, onde surgem os estágios de desenvolvimento cognitivo proposto por Jean Piaget.

Pensava ser importante relacionar psicologia com educação, dizia ser uma relação necessária. Dedicou-se a educação da primeira infância, buscava compreender o desenvolvimento da inteligência, quanto aos fatores verbais e práticos ou como ficou conhecida como sensorio motora. Como defendia a genética, deixava claro que fatores de desenvolvimento intelectual são herdados, porém ela pode ser potencializada a partir de adaptação ou funcionamento de funções biológicas mais gerais, sendo de organização e adaptação. Há a assimilação da capacidade de uma criança desenvolver uma ação que para ela é experiência já existente, ou seja, é possível solucionar uma ação a partir da estrutura cognitiva que já possui naquele momento. A capacidade de adaptação é modificada a partir das oportunidades ou das estimulações do meio. Já a acomodação pode ser entendida como a capacidade que organismo tem a partir da interação com o objeto a capacidade de modificação da estrutura cognitiva para dar

lugar a outro conhecimento, ou ampliar as possibilidades do conhecimento já existe. Wallon (2007, p. 33) se espanta quando descobre que “se o poder assimilador de Piaget é capaz de fazer superar as diferenças de domínio sensório-motores, então, é porque também esse poder está dotado de uma estrutura cujos níveis tanto condicionam a experiência como dela resultam”. Se chamarmos acomodação ao resultado das pressões exercidas pelo meio, podemos então assim dizer que a adaptação é um equilíbrio entre a assimilação a acomodação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas definições das concepções, diz que “toda criança produz cultura, que deve ser reconhecida desde que nasce como sujeito de direito e que os primeiros anos de vida são os mais importantes para as crianças”; quanto aos princípios, “entender e respeitar o papel da cultura na constituição da criança, ter educação é direito independente de a mãe trabalhar ou não, a educação deve ser assumida por professores com habilitação mínima prevista na LDB”; finaliza com as metas, criar situações de aprendizagens, articulando com a realidade sócia histórica e cultural, garantir a matrícula e permanência da criança com qualidade, garantir progressivamente que a educação seja responsabilidade de profissionais habilitados.

A educação infantil tinha na sua origem, um caráter assistencial em função da classe social a qual se destinava, isto é, as classes populares, desde o descobrimento do Brasil até 1874, pouco se fazia no Brasil pela infância. Os adultos que lidavam com as crianças não eram exigidos nenhuma preparação, tal atendimento contava com as chamadas criadoras, amas de leite, pajem etc.

Nos dias atuais vimos que muita coisa mudou que a educação infantil passou a ser um direito da criança, e a ser considerada a primeira etapa da Educação Básica Brasileira. O lúdico desponta como tema investigativo de vários estudiosos numa expectativa de compreender aspectos da prática cotidiana dos profissionais dessa modalidade.

O trabalho com a ludicidade na educação infantil tem ganhado cada vez mais espaço nas escolas é o papel do educador neste novo contexto e ter uma nova postura para conseguir intermediar os conhecimentos de forma lúdica, sabendo desencadear a curiosidade da turma e ao mesmo tempo passar o ensinamento brincando, resgatando o direito á infância assegurada pela Constituição, porém promovendo a

aquisição de conhecimentos de forma lúdica, apesar da resistência de alguns profissionais tradicionalistas os avanços estão ocorrendo, e profissionais estão se capacitando para ser o mediador dessa aprendizagem com essa nova roupagem, o brincar visto de outra óptica, o de proporcionar conhecimento de forma lúdica.

A reflexão que fazemos é que a intencionalidade das leis pode não ser atendida em sua plenitude nas escolas infantis, já que hoje o tempo de brincar é cada vez menos dentro e fora da escola. E o cuidar e o educar viraram prioridades maiores, deixando de lado o aspecto lúdico e por vezes o cuidar é o maior anseio das famílias. Os meios de comunicação e as tecnologias quando mal utilizadas, sem supervisão enclausuram nossas crianças, diminuindo o tempo de brincar, impedindo o desenvolvimento de certos aspectos do desenvolvimento infantil especialmente aqueles que requerem a liberdade de espaço, como: andar de bicicleta, pular amarelinha, pular corda, brincadeiras que aos poucos estão deixando de fazer parte da infância da criança.

A preocupação das instituições é o resgate de nossas raízes, brincadeiras que a criança se desenvolva em seu tempo, sendo criança e por meio da ludicidade adquira conhecimentos de forma divertida e prazerosa, tornando-os cidadãos melhores, conscientes de seus direitos e cumpridores de seus deveres. A concepção de infância e as atividades lúdicas revestem-se de extrema relevância ao processo e desenvolvimento da criança, onde os brinquedos e as brincadeiras representam muito mais do que simplesmente brincar é nessa ocasião que as crianças correlacionam o seu mundo real, assimilando o de conhecimento significativo, o qual se estenderá por toda a vida.

A não apropriação do lúdico, a afetividade, a compreensão da mudança que pode ocorrer ao longo da educação infantil seja creche ou pré-escola, o aprendizado gerado pelo cursista, as crianças ao longo do curso, o cuidar e educar no decorrer dos anos, a intencionalidade lúdica e a compreensão dos períodos já descritos por Piaget, Vygotsky e Wallon, podem ter escapado aos olhares dos cursistas devido este fato.

Aqui no Brasil, a concepção de infância ainda precisa ser aprimorada, visto que este período é essencial para a construção do conhecimento e de pessoa. Para que o Brasil tenha uma educação infantil de qualidade, é preciso que os governantes destinem recursos financeiros e discutam políticas públicas para essa modalidade de ensino.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Paulo Nunes de. **“Educação lúdica: técnicas e jogos pedagógicos”**. 5ª Ed. São Paulo: Loyola, 1994.

BRASIL. Constituição da República Federativa do Brasil de 1988. ZAZZO.

CUNHA, Nylse Helena. **“Brinquedoteca: um mergulho no brincar”**. São Paulo: Matese, 1994.

Ministério da Educação e do Desporto. **Referencial Curricular Nacional para a Educação Infantil**. Brasília, DF: MEC, 1998. V.1, V.2, V.3.

NEGRINE, Airton. **Aprendizagem e desenvolvimento infantil**. Porto Alegre: 1994.

OLIVEIRA, Zilma de Moraes Ramos de (org). 2000. **Educação infantil: muitos olhares**. 4. ed. São Paulo: Cortez.

PIAGET. **A psicologia da criança**. Ed Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 1998.

POURTOIS & DESMET. **A educação pós-moderna**. Loyola, 1999.

VYGOTSKY, L. 1989. **A formação social da mente**. São Paulo: Martins Fontes.

WAJSKOP, Gisela. 1995. **O brincar na educação infantil**. Caderno de Pesquisa, São Paulo, n.92, p. 62-69, fev. 1999. Brincar na pré-escola. 3. Ed. São Paulo: Cortez

KRAMER, Sonia. **Currículo de Educação Infantil e a Formação dos Profissionais de Creche e Pré-escola: questões teóricas e polêmicas**. In: MEC/SEF/COEDI. Por uma política de formação do profissional de Educação Infantil. Brasília-DF. 1994^a.

LINS, Maria Judith Sucupira da Costa. 1999. **O direito de brincar: desenvolvimento cognitivo e a imaginação da criança na perspectiva de Vygotsky**. In: XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE EDUCAÇÃO INFANTIL DA OMEP. Paraíba. Anais do XIII Congresso Brasileiro de Educação Infantil da OMEP. p. 41-47.

O NEGRO NA SOCIEDADE BRASILEIRA E A EDUCAÇÃO COMO INCLUSÃO SOCIAL

*Claudir Zmuda*¹

*Oscarino Santana*²

*Humberto César Machado*³

INTRODUÇÃO

O povo negro na sociedade brasileira sempre sofreu com a exclusão social, os mesmos foram trazidos à força do continente africano para trabalhar como escravo no Brasil no início da colonização até a abolição da escravidão que ocorreu em 13 de maio de 1888, mesmo após a abolição da escravidão o povo negro nunca conseguiu as mesmas oportunidades de ascensão social que outros grupos étnicos. Porém estes sempre lutaram contra a exclusão social que sofreram, na época da escravidão se organizavam em quilombos, que eram comunidades situadas longe dos centros urbanos e de difícil acesso, formadas geralmente por escravos que fugiam dos seus senhores para terem uma vida livre e praticarem sua cultura original.

Segundo Guimarães (1999) censos e pesquisas amostrais por domicílios têm demonstrado que não há diferenças entre os grupos não brancos entre si, ou seja, pardos e pretos em matéria de renda, educação, residência etc. A grande diferença ocorre entre brancos e não brancos. Logo, se os cientistas sociais quiserem afirmar os interesses e valores do povo negro brasileiro é preciso dar vida nova ao conceito de raça, tal como é usado no senso comum.

¹ Licenciado em Geografia pela UNIJUI, Especialista em Ecologia do Cerrado pela UNEMAT.

² Licenciado em Pedagogia pela Instituição Tangaraense de Ensino e Cultura-ITEC; Licenciado em Geografia pela UNEMAT.

³ Doutor e Mestre em Psicologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Especialista em História pela UFG, Elemento Credenciado em Fatores Humanos e Prevenção de Acidentes Aéreos pelo CENIPA, Bacharel e Licenciado em Filosofia pela UFG.

O conceito de raça existe porque existe o racismo, este é um conceito perverso criado por antigas teorias científicas bárbaras onde atualmente não tem mais o respaldo científico, pois todos os homens pertencem a mesma espécie *Homo sapiens* e subespécie *Homo sapiens sapiens*. Conforme Moura (2005) do ponto de vista científico não existem raças humanas; há apenas uma raça humana. No entanto, do ponto de vista social e político é possível e necessário reconhecer a existência do racismo enquanto atitude. Assim, só há sentido usar o termo “raça” numa sociedade racializada, marcada pelo racismo.

Todavia muitos críticos argumentam que para combater o racismo no País, o Estado não deve adotar qualquer política que seja necessário classificar as pessoas por raças e, por conseguinte fazer tratamento diferenciado das pessoas de acordo com a raça que o indivíduo seja classificado, pois se faz necessário superar o conceito de “raça”, porque segundo Munanga (1999) o conceito de raça foi uma criação nociva com o objetivo de classificar as pessoas pelas suas diferenças físicas e, por conseguinte adotar a ideologia de supremacia racial da população branca.

Um importante questionamento que precisa ser analisado é: seria possível recriar o mesmo conceito de raça que fora introduzido com requintes de perversidade onde pregava a superioridade da raça branca sobre as demais, utilizando o argumento que o objetivo seria benéfico ou combater-se o racismo pela desconstrução do conceito de raças?

A abolição da escravidão no Brasil ocorreu no ano de 1888, no entanto a discriminação e o preconceito sempre fizeram parte do cotidiano na vida dos afrodescendentes. A abolição não representou um ponto final na desigualdade social e de oportunidades entre negros e brancos. Haja vista que mais de cem anos após a abolição da escravidão, sendo a população brasileira de aproximadamente 50% de afrodescendentes apenas uma pequena parte consegue ingressar nas universidades.

Segundo Cunha (1999), Os povos negros sempre se organizaram politicamente para conquistar seus direitos, assim no início do século XX na cidade de São Paulo vários grupos procuraram criar suas próprias escolas, as explicações possíveis para que o povo negro criassem suas próprias escolas era o racismo sofrido, bem como tinha escola que simplesmente negava ou dificultava a matrícula de alunos negros. Todavia muitas dessas escolas criadas por eles não conseguiram sucesso, diversas formas de organização não passavam de mais de dez anos de existência o seu fracasso se dava principalmente pela falta de apoio financeiro.

Aos poucos essas organizações foram ganhando experiência e amadurecendo, o que resultou na criação da Fundação Negra Brasileira em meados dos anos de 1930, uma das principais associações dos negros que tinha como principal departamento o de instrução, pois a educação era vista como principal arma contra o preconceito, muitos acreditavam que à medida que se avançava na educação seriam mais respeitados, assim se a abolição da escravidão não resolveu os problemas sociais ao menos permitiu que o povo negro se organizasse para procurar melhorar suas condições de vida e buscar a igualdade social.

A trajetória educacional do povo negro no Brasil

A educação tem merecido atenção especial das entidades negras ao longo da sua trajetória. Ela é compreendida pelo movimento negro como um direito paulatinamente conquistado por aqueles que lutam pela democracia, como uma possibilidade a mais de ascensão social, como aposta na produção de conhecimentos que valorizem o diálogo entre os diferentes sujeitos sociais e suas culturas e como espaço de formação de cidadãos que se posicionem contra toda e qualquer forma de discriminação.

Domingues (2008), ao tematizar as ações desencadeadas pelo movimento negro, afirma que a Abolição da Escravatura e a Proclamação da República foram acontecimentos marcantes para o futuro dos negros brasileiros. Deixar de ser um “ex-escravo” ou liberto para ser cidadão, ter direitos iguais, não ser visto como inferior e vivenciar a cidadania plena era o sonho perseguido pela população negra da época, sobretudo os setores mais organizados. Entre as suas reivindicações, a educação se tornou prioritária, pois o analfabetismo e a lenta inserção nas escolas oficiais se constituíam em um dos principais problemas dessa população para a inserção no mundo do trabalho.

A atuação do movimento negro na educação também se deu nos fóruns decisivos da política educacional reivindicada pelas organizações negras desde o início do século XX, a inclusão dos negros na escola pública aparecia como recurso argumentativo nos debates educacionais dos anos de 1940 e 1960. Dias (2005) analisa a presença da discussão sobre a raça no processo de tramitação da Lei e Diretrizes e Bases (Lei n. 4024/61). Segundo a autora, o termo chegou até mesmo a constar de forma genérica no texto legal.

No entanto, apesar de ter feito parte das polêmicas e debates em torno da aprovação da referida Lei, a raça operou mais como recurso discursivo na defesa dos ideais universalistas de uma educação para todos vigente na época. Uma análise mais detida dos diferentes documentos sobre a tramitação do texto legal permite inferir que, naquele momento, a dimensão da raça era considerada, juntamente com a classe, um fator de diferenciação no processo de escolaridade. Segundo Dias (2005) não se falava de forma explícita se a população negra seria ou não a principal destinatária da escola pública e gratuita.

Com o fim do sistema escravista entram em cena os ex-escravizados negros como uma nova categoria de cidadãos e um ideário de nação a enquadrar-se no modelo civilizatório em voga no final do século XIX e que formataria novas identidades coletivas. No entender de Hasenbalg (1979), surgiram novas fontes de discriminação que contribuíram para a permanência da falta de mobilidade social na sociedade brasileira. Henriques (2001) indica que os dados do Pnad (Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios), referentes à década de 1990, revelam a intensa desigualdade a que está submetida à população negra no Brasil e destaca que os níveis de escolaridade encontram-se entre os piores indicadores, demarcam a diferença entre brancos e negros e diminuem as possibilidades de mobilidade desses últimos.

Mas quem era o cidadão que a República deveria educar? Analisando as políticas públicas da época, percebe-se que não era o ex-escravo, o povo afrodescendente, e tal política produziu gerações de negros sem escolarização. A noção positivista de cidadania e o não exercício pleno dos direitos civis e políticos configuram esse período como definidor de políticas públicas que legitimaram a exclusão e o controle em detrimento das garantias de acesso aos direitos que, uma vez não universalizados, continuaram a aprofundar desigualdades.

Desde a Primeira República, os intelectuais discutem a questão da mestiçagem, para Munanga (1999), os pensadores brasileiros do século XIX se alimentaram, de um lado, de Voltaire, que negava a unidade da espécie humana e, de outro, de Buffone Diderot, que confirmavam e explicavam essa hipótese, além de Kant, que afirmava que os produtos bastardos degradaram a boa raça, sem melhorar a raça ruim. Os pensadores brasileiros consideravam a pluralidade racial uma ameaça para a nação, que se pensava branca, e essas alternativas teóricas foram assumindo aspectos políticos.

Munanga (1999), diz que a abordagem raciologista se interessa pela mestiçagem entre as “grandes raças” e não pode ser vista apenas em seu conteúdo biológico,

centrada na análise do fluxo de genes entre populações originalmente diferentes, mas pela manipulação do biológico pelo ideológico está na incapacidade de natureza discursiva, organizacional ou outra. Está sim nos fundamentos da ideologia racial elaborada a partir do fim do século XIX a meados do século XX pela elite brasileira. Essa ideologia, caracterizada pelo ideário do branqueamento, roubou dos movimentos negros o ditado “a união faz a força” ao dividir negros e mestiços, ao alienar o processo de identidade de ambos.

Menezes (2007) realizou estudos sobre a exclusão do negro no período que se seguiu à Abolição e constatou que este fora conseguindo muito lentamente o acesso à escola. Entre 1890 e 1940, as taxas de alfabetização dos negros e mestiços são muito pequenas. Em 1890, apenas 10% dos negros eram alfabetizados no Brasil. Na prática, o processo de inclusão dos ex-escravos à cidadania brasileira foi entregue às iniciativas das famílias em enviar e manter seus filhos na escola.

Os movimentos negros há muito tempo preocupam-se com a preservação do passado dos povos africanos não traduzidos pela história que se fez oficial, como um elemento de construção identitária e de valorização da autoimagem do povo negro. Assim, a defesa do aniversário da morte de Zumbi dos Palmares como Dia Nacional da Consciência Negra, a celebração e o resgate da imagem dos heróis do povo negro, a divulgação dos elementos da cultura negra presentes no cotidiano, estão em pauta nas reivindicações e conquistas em termos de políticas públicas.

O ano de 2003 trouxe uma importante novidade para a legislação educacional brasileira, a Lei n. 10.639/03, que institui a obrigatoriedade do ensino de História da África e da Cultura Afro-brasileira em todo o currículo do Ensino Básico, na forma do artigo 26 - Acrescido à Lei n. 9.394/96 - Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional (LDB). Dentro das políticas públicas de reparação e ação afirmativa, trata-se de um marco na história das leis educacionais no Brasil e dá tratamento no campo curricular a uma demanda histórica do movimento negro.

Em junho de 2004, a lei foi regulamentada pelo Conselho Nacional de Educação (CNE), que estabeleceu as Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação das Relações Étnico-raciais e Ensino de História e Cultura Afro-brasileira e Africana. Essas diretrizes foram fundamentadas a partir do Parecer do Conselho Pleno do CNE, aprovado por unanimidade em março de 2004.

A implementação desta Lei que estabelece a obrigatoriedade do ensino da História da África e dos Africanos, da Luta dos Negros no Brasil e da Cultura Negra

Brasileira no Ensino Básico, e mais recentemente, com a inclusão da história e cultura dos povos indígenas, abre uma nova demanda no campo educacional brasileiro. Mais do que propor um reconhecimento da história da África, da releitura da história do Brasil, das relações raciais e do seu ensino, ela mobiliza uma dimensão delicada, ou seja, o reconhecimento da diferença afrodescendente e indígena com o claro propósito de reinterpretar e ressignificar a história e as relações étnico-raciais no Brasil por meio dos currículos da educação básica.

A Lei não é de fácil aplicação, a questão curricular se desdobra também na necessidade de uma nova política educacional de formação inicial e continuada, para reverter positivamente às novas gerações, uma nova interpretação da história e uma nova abordagem da construção de saberes. Por fim, a aprendizagem que pode-se tirar dessas experiências com crianças negras e brancas é a necessidade de mobilizar constante e cotidianamente essas discussões, desconstruir paradigmas e enfrentar inevitáveis conflitos na sala de aula para articular e promover uma perspectiva intercultural, baseada em negociações culturais, favorecendo um projeto comum, em que as diferenças sejam patrimônios comuns da humanidade.

As desigualdades históricas produzidas em termos de acesso à educação, ao sistema de saúde, à moradia têm sido uma causa profunda das disparidades socioeconômicas que afetam as populações negras. Ao longo do século passado, os movimentos negros defenderam o direito à educação com um fator determinante na promoção, disseminação e proteção dos valores democráticos de justiça e de igualdade, elementos essenciais de prevenção e chave para a mudança de atitudes e comportamentos baseados no racismo e na discriminação racial.

A implementação de políticas de discriminação positiva como ação reparadora por séculos marcados pela desigualdade social, caracterizados pela violação dos direitos e interdição do povo negro no acesso à educação, traz para a temática da cidadania e das políticas públicas atuais de inclusão da população afrodescendente a questão do acesso e da permanência dessa população nas instituições educacionais em todos os níveis.

Para Romão (1999), a Lei n. 10.639/2003 é uma iniciativa de política pública e a possibilidade de diálogo e rompimento com a ideia de subordinação racial no campo das ideias e das práticas educacionais, pois propõem reconceituar pela escola o negro, seus valores e as relações raciais na educação brasileira. Mesmo antes desta lei, já sentia-se necessidade de discutir, com os alunos a questão não só da chegada dos portugueses ao Brasil e dos indígenas como “verdadeiros donos da terra”, mas, também, sobre a vinda

dos africanos escravizados e todo o papel que eles desempenharam e ainda desempenham, dando assim, maior visibilidade às culturas afro-brasileiras

Os avanços e limites a Lei 10.639/03 e suas Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação das Relações Étnico-Raciais e para o Ensino da História Afro Brasileira e Africana (BRASIL, 2004) possibilitaram uma reflexão na educação brasileira, resultando uma modalidade de política até então pouco adotada pelo Estado brasileiro e pelo próprio Ministério da Educação e Cultura- MEC. São políticas de ação afirmativa voltadas para a valorização da identidade, da memória e da cultura negras reivindicadas pelo Movimento Negro e demais movimentos sociais partícipes da luta antirracistas.

Apesar da lei propor políticas públicas voltadas para a valorização da identidade negra, conforme Costa e Oliveira (2007) a escola continua servindo de mediação aos ideais racistas que imperaram no pensamento social brasileiro entre as últimas décadas do século XIX e grande parte do século XX, seja por práticas docentes que desconsideram os efeitos da discriminação racial na sociedade brasileira, ou por intermédio dos materiais e conteúdos didáticos escolhidos para subsidiar as práticas educativas escolares, pois são encontrados ainda hoje nos livros didáticos, enfoques depreciativos da população negra, embora de forma menos evidente.

Conquistas do povo negro na educação superior

Um das bandeiras de luta do movimento negro pela inclusão social foi a criação de cotas raciais para ingresso nas Universidades Públicas com o objetivo de corrigir parte da distorção histórica e diminuir a desigualdade racial de estudantes onde a oportunidade de ingresso sempre foram favoráveis as pessoas de etnia branca.

No entanto há muito questionamento sobre esta medida é a sua eficiência, bem como se as políticas de ação afirmativa estão proporcionando a correção das distorções históricas perversas ou se estão configurando como uma cortina de fumaça para mascarar o racismo. Outro ponto importante que deve levar em consideração é se políticas de ação afirmativa tem como o objetivo promover justiça social ou promover o direito das raças no País.

A literatura recente tem ressaltado a diferença entre o preconceito racial e a discriminação. Enquanto o preconceito racial, e mesmo o racismo, têm sido classificados como fenômenos de ordem subjetiva, expressando-se por meio de valores,

ideias e sentimentos, a discriminação racial tem sido entendida como ação de exclusão, restrição ou preferência que impede o tratamento ou dos limites das políticas universalistas acesso igualitário a direitos e oportunidades em função da cor. E a própria discriminação, enquanto ato de distinção e exclusão, se expressa por intermédio de diferentes formas, na vida social.

A esses diferentes fenômenos cabe interpor ações públicas igualmente distintas. Como já alertou Silva Junior (2000) tratar como sinônimos os termos preconceito e discriminação pode implicar não apenas uma perigosa e totalitária devassa na esfera da liberdade individual, como também o que é mais frequente e perverso na omissão estatal pura e simples face da discriminação, motivada, entre outras razões, pela indefinição dos limites, do papel e dos instrumentos estatais destinados ao enfrentamento da desigualdade e à promoção da igualdade.

As chamadas ações afirmativas, por seu lado, engendram um conjunto diferenciado de medidas que têm por objetivo igualar o acesso de grupos sociais discriminados a certas oportunidades sociais. As políticas afirmativas visam estimular a participação destes grupos em determinados espaços sociais nos quais estão sub-representados. Podem ser elencadas como ações afirmativas o estabelecimento de cotas em concursos públicos, a fixação de cronogramas e metas para ampliação da representação destes grupos em instituições ou empresas ou, ainda, programas diversificados de qualificação de que são exemplo as experiências de concessão de bolsas de estudo para afrodescendentes.

Ações afirmativas são aqui entendidas como políticas que:

[...] tem por objetivo garantir a oportunidade de acesso dos grupos discriminados, ampliando sua participação em diferentes setores da vida econômica, política, institucional, cultural e social. Elas se caracterizam por serem temporárias e por serem focalizadas no grupo discriminado; ou seja, por dispensarem, num determinado prazo, um tratamento diferenciado e favorável com vistas a reverter um quadro histórico de discriminação e exclusão (JACCOUD; BEGHIN, 2002, p.67).

As ações afirmativas não são sinônimo de políticas de cotas. Podem, por exemplo, organizar-se na forma de ações específicas de qualificação ou de estabelecimento de metas ao longo do tempo para ampliar a presença de negros em determinados espaços da vida social.

A partir da Conferência de Durban que ocorreu em 2001, em que o Brasil se comprometeu a implantar ações afirmativas para reverter o quadro de desigualdades

raciais entre brancos e negros e, especialmente, após a criação da Secretaria Especial de Políticas de Promoção da Igualdade Racial no governo Lula em 2003 e da discussão dos projetos de lei PL/73-99, que institui cotas para negros nas universidades federais, e PL 6.264-05 (Estatuto da Igualdade Racial), o debate sobre a questão racial brasileira ganhou a feição digna de um combate.

Outro argumento favorável mais frequente define o sistema de cotas como uma política de reparação histórica destinada à população afrodescendente, em razão não só do passado escravocrata brasileiro, mas também pelas décadas de negligência política no combate ao racismo e na promoção da inclusão dos negros na sociedade. Para Munanga (2003), as cotas raciais são necessárias para compensar os cerca de 400 anos de defasagem no processo de desenvolvimento entre brancos e negros.

A política de cotas raciais é uma política de ação afirmativa implantada originalmente nos Estados Unidos. No Brasil, em vigor desde 2001, ela visa a garantir espaço para negros e pardos nas instituições de ensino superior. As cotas étnico-raciais em universidades públicas constituem uma demanda antiga do movimento social negro e dos intelectuais afrodescendentes, bem como de vários setores da comunidade acadêmica das Universidades Públicas, de autoridades dos sistemas educacionais federais e estaduais e do público em geral. O movimento negro sempre atuou propugnando medidas específicas tendentes à solução de demandas históricas e que se estendem até a atualidade, dentre as quais a política de cotas se sobressai, como principal exemplo de resultado obtido de suas intensas mobilizações.

Na tentativa de superar as desigualdades socioeconômicas e alcançar uma maior equidade social, o Brasil adotou no ano de 2001, o sistema de cotas nas Universidades Públicas. Com base na análise realizada dos indicadores sociais brasileiros, os negros aparecem claramente em situações de desvantagem em relação aos brancos na maioria dos espaços sociais, por conseguinte, o movimento negro vislumbra nas políticas de cotas um mecanismo de combate às desigualdades raciais existentes no contexto brasileiro.

Portanto mostra-se de essencial valia a adoção de políticas corretivas das desigualdades raciais, especialmente no âmbito educacional, tendo em vista a opinião corrente sobre o papel que a educação desempenha no processo de mobilidade social dos afrodescendentes. As cotas nas universidades públicas, de todas as políticas reivindicadas, é a que mais suscita polêmica, pois busca desmistificar o mito da

“democracia racial”, e o combate a falácia brasileira, de que todos são iguais e de que inexistente racismo.

O Sistema de Cotas para Negros no vestibular justifica-se diante da constatação de que a universidade brasileira é um espaço de formação de profissionais de maioria esmagadoramente branca, valorizando assim apenas um segmento étnico na construção do pensamento dos problemas nacionais, de maneira tal que limita a oferta de soluções para os problemas de nosso país.

O estudo da política de cotas para negros nas universidades públicas é, portanto, questão bastante relevante neste cenário de exclusão racial. Ademais, o questionamento em torno da constitucionalidade dessa política afirmativa é uma oportunidade para se discutir o direito como instrumento de transformação social e formas de interpretação do princípio da igualdade compatíveis com o Estado. Ademais, a implementação de um sistema de cotas para estudantes negros no ensino superior é um fenômeno que rompe radicalmente com a lógica de funcionamento do mundo acadêmico brasileiro desde a sua origem no início do século passado. A política de reserva de vagas está provocando um reposicionamento concreto das relações raciais em nosso meio acadêmico, começando pelo universo discente da graduação.

As Universidades Estaduais foram pioneiras na adoção das políticas de ação afirmativa e representaram neste sentido um laboratório dessas políticas no ensino superior brasileiro. Até meados de 2008, foram as Universidades Estaduais que mais rápida e consistentemente responderam a pressões da sociedade civil organizada a fim de tornar seus processos seletivos mais inclusivos e a Universidade brasileira mais plural e democrática. É possível supor que foi o êxito dessas políticas nessas Universidades um dos grandes responsáveis pelos avanços testemunhados nos últimos anos no que diz respeito à consolidação e aceitação pública da ação afirmativa, processo que culminou em um julgamento favorável no Supremo Tribunal Federal no ano de 2012 e, mais recentemente, na sanção presidencial da Lei 12.711, que institui a obrigatoriedade da adoção das cotas nas universidades federais.

Dados apresentados pelo O Grupo de Estudos Multidisciplinares da Ação afirmativa -GEMAA- (2013) em um estudo realizado intitulado como “O impacto da Lei 12.711 sobre as universidades federais”, de novembro de 2013, indica um crescimento no número de estudantes negros as Universidades comandadas pela União. Sendo que em 2003, pretos representavam 5,9% dos alunos e pardos 28,3%, em 2010

esses números aumentaram para 8,72% e 32,08%, respectivamente, o estudo apresenta mudanças introduzidas pela Lei das Cotas já em seu primeiro ano de funcionamento.

Antes da lei ser aprovada, conforme Carvalho (2014) 18 das 58 Universidades Federais do país ainda resistiam em aplicar alguma política de cotas ou bônus. Desde o vestibular de 2013, por força da legislação, todas as instituições já aderiram, ampliando o número disponível de vagas para cotistas de 140 mil para 188 mil.

A adoção do sistema de cotas por Universidades Públicas, nos últimos dois anos, já nos permite conforme estudo apresentado, analisar dados sobre o impacto do novo sistema de ingresso. Este fato é deveras significativo, já que somente tem-se dados sobre o ingresso e o desempenho no vestibular. Conforme Queiroz & Santos (2006) em um estudo realizado na UFBA, em onze dos dezoito cursos de maior concorrência, ou seja, 61 % deles, os cotistas obtiveram coeficientes de rendimento iguais ou melhores que os não cotistas.

Muitos temem que a implantação do referido sistema, promova uma desqualificação do ensino, pelo ingresso de estudantes supostamente despreparados na Universidade, o exame do desempenho dos estudantes que ingressaram na UFBA, pelo sistema de cotas, revela, no entanto resultados bastante animadores, nos cursos das diversas áreas de conhecimento.

Conforme Lázaro (2012) os dados do censo 2011, apontam um aumento de estudantes negros nas universidades. O número de negros (soma de pretos e pardos, pela metodologia do IBGE) na educação superior mais que quadruplicou no período de 1997 a 2011. Considerando a população com idade entre 18 e 24 anos, a proporção de jovens negros passa de 4% em 1997 para 19,8% em 2011.

Entretanto, os dados do censo 2011 também demonstram que cerca de 80% dos jovens negros ainda não têm acesso ao ensino superior, ressaltando assim a necessidade da Lei de Cotas e de políticas que promovam um percurso escolar consistente até a chegada à educação superior.

Cunha (2012) ressalta que as conquistas proporcionadas pelo sistemas cotas raciais e a reservas de vagas nas universidades e institutos federais resultam em um ambiente favorável para o fortalecimento da luta antirracista. Entretanto, é preciso estimular a juventude oriunda das classes populares com foco nos afrodescendentes e indígenas a ingressarem nas universidades, ou seja, estimular a cultura do ensino superior.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Lei 10.639/03 e suas Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação das Relações Étnico-Raciais e para o Ensino da História Afro Brasileira e Africana (BRASIL, 2004) possibilitaram uma reflexão na educação brasileira. Sendo uma reflexão maior em favor do povo negro, que vem galgando aos poucos o seu reconhecimento, como cidadão, como ser humano que faz parte desta sociedade que sempre lhe olhou de forma depreciativa.

É necessário que os preconceitos e barreiras sejam quebrados, para que todos possam viver de forma igualitária e justa, sem diferenças de cor ou raça. Muitos avanços já foram conseguidos através de muita luta e determinação, porém há muito a se fazer para tentar reparar tantos anos de discriminação e sofrimento.

A educação é o caminho mais curto que poderá proporcionar grandes mudanças às quais poderão propiciar a conquista de luta do povo negro. Nos tempos atuais pode-se ver muitos negros, índios, mestiços frequentando as mesmas Universidades e muitas vezes com resultados melhores que os não cotistas, isso demonstra que não é a cor da pessoa que a torna melhor ou mais culta e sim o seu interesse e estímulo.

As discussões em torno do assunto “cotas raciais” é muito recente e muitas opiniões se formam, umas contras outras a favor, porém o que sempre deve se ter como principio é oferecer educação de qualidade a todos sem diferenciação de raça ou cor.

REFERENCIAS

BRASIL. A decadência da escravidão. Disponível em: <http://www1.ibge.gov.br/ibgeteen/datas/abolicao/decadencia.html>. Acessado em Marc./2015.

_____. Constituição de 1824. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Constituicao/Constituicao24.htm. Acessado em Marc./2015.

_____. Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação das Relações Étnico-Brasil. Lei nº 10.639/2003. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil/LEIS/2003/L10.639.htm>. Acessado em 27/08/2007. Acessado em març./2015.

_____. População negra no Brasil. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/brasil500/negros/popnegra.html>. Acessado em Marc./2015.

CARVALHO, I. (2014) Dez anos de cotas nas universidades: o que mudou? Disponível em: <http://revistaforum.com.br/digital/138/sistema-de-cotas-completa-dez-anos-nasuniversidades-brasileiras/> acessado em Març./2015.

COSTA, C. S.; OLIVEIRA, I. (2008) A população negra na história da educação brasileira. Universidade Federal Fluminense – UFF disponível em: www.ie.ufmt.br.

CUNHA, S. H. P. O Instituto Cultural Steve Biko: vinte anos promovendo ações afirmativas. Cadernos do GEA n.2, jul.-dez. 2012. Disponível em: www.flacso.org.br. Acessado em Març./2015.

DIAS, L. R. Quantos passos já foram dados? A questão de raça nas leis educacionais – da LDB de 1961 à Lei 10.639, de 2003. In: ROMÃO, J. (Org.). História da educação dos negros e outras histórias. Brasília, DF: MEC; Secad, 2005. p.49-62

DOMINGUES, P. Um “templo de luz”!: A Frente Negra Brasileira (1931-1937) e a questão da educação. Revista Brasileira de Educação, São Paulo, v. 13, n. 39, p. 517-534, 2008.

FERRES JUNIOR, J. Levantamento das políticas de ação afirmativa GEMAA (2013). Disponível em: http://gemma.iesp.uerj.br/files/Levantamento_GEMAA_1c.pdf. Acessado em març./2015.

GUIMARÃES, A. S. A. Racismo e anti-racismo no Brasil. São Paulo: Editora 34, 1999.

HASENBALG, C. A. Discriminação e desigualdades raciais no Brasil. Rio de Janeiro: Graal, 1979.

HENRIQUES, R. Desigualdade racial no Brasil: evolução das condições devida na década de 1990. Rio de Janeiro/Brasília: Ipea, 2001.

JACCOUD, L.; BEGIN, N. Desigualdades Raciais no Brasil: Um Balanço da Intervenção Governamental. São Paulo: IPEA. 2002.

LÁZARO, A.; CALMON, C.; LIMA, S. C. DE S.; OLIVEIRA, L. Inclusão na Educação Superior. Cadernos do GEA n.2, jul.-dez. 2012. Disponível em: www.flacso.org.br. Acessado em Març./2015.

MENEZES, J. M. F. Educação e cor-de-pele na Bahia. Cadernos Nepre. Revistado Núcleo de Estudos e Pesquisas Sobre Relações Raciais em Educação da UFMT. Cuiabá: UFMT, número 4, 2007, p. 7-33.

MOURA, G. O Direito à Defesa. In: MUNANGA, Kabengele. Superando o racismo na escola. SECAD / MEC, Brasília, 2005, p. 69-82.

MUNANGA, K. Rediscutindo a mestiçagem no Brasil: identidade nacional versus identidade negra. Petrópolis: Ed. Vozes, 1999.

_____. "Políticas de ação afirmativa em benefício da população negra no Brasil: um ponto de vista em defesa das cotas". In: SILVA, Petronilha. Educação e ações afirmativas: entre a justiça simbólica e a injustiça econômica. Brasília: Inep, 2003

QUEIROZ, D. M.; SANTOS, J. T. Sistema de cotas: um debate. Dos dados à manutenção de privilégios e de poder. Educ. Soc., Campinas, vol. 27, n. 96 - Especial p. 717-737, out. 2006 717 Disponível em: <http://www.cedes.unicamp.br>. Acessado em Marc./2015.

ROMÃO, J. (Org.) História da educação do negro e outras histórias. Brasília: Secad – MEC, 2005.

SILVA Jr., H. Do Racismo legal ao princípio da ação afirmativa: a lei como obstáculo e como instrumento dos direitos e interesses do povo negro. In: GUIMARÃES, A. S. A.; HUNTLEY, L. (orgs.) Tirando a máscara: ensaios sobre o racismo no Brasil. Rio de Janeiro: Paz e Terra; Southern Educational Foundation Inc., 2000.

GOIÂNIA, BRASÍLIA E PALMAS: MOLDES E MODELOS URBANOS DO PROJETO DE MODERNIZAÇÃO E URBANIZAÇÃO DO TERRITÓRIO BRASILEIRO.

*Márcia Cristina Hizim Pelá **

A seguinte conjectura inaugura este trabalho: as edificações das cidades planejadas no Cerrado - Goiânia, Brasília e Palmas- estão intrinsecamente relacionadas com a transformação, em um tempo histórico curto e denso, do bioma Cerrado em território, uma vez que a ideologização em torno das cidades planejadas foi mais uma das estratégias de poder para formar a massa urbana necessária para concretizar o projeto de “modernização” e urbanização do território brasileiro, conter as revoltas da classe trabalhadora tanto do sudeste como do centro-oeste, possibilitar o controle socioterritorial do Estado sobre esta classe trabalhadora e garantir a substituição, em um primeiro momento, da oligarquia rural-agrária para a urbano-industrial.

Nesse sentido, para se entender tanto a dinâmica como o arranjo espacial atual é fundamental considerar os contextos políticos, econômicos, socioespaciais e históricos de cada uma dessas três cidades-capitais, o que pressupõe uma forte ligação entre elas e suas localizações.

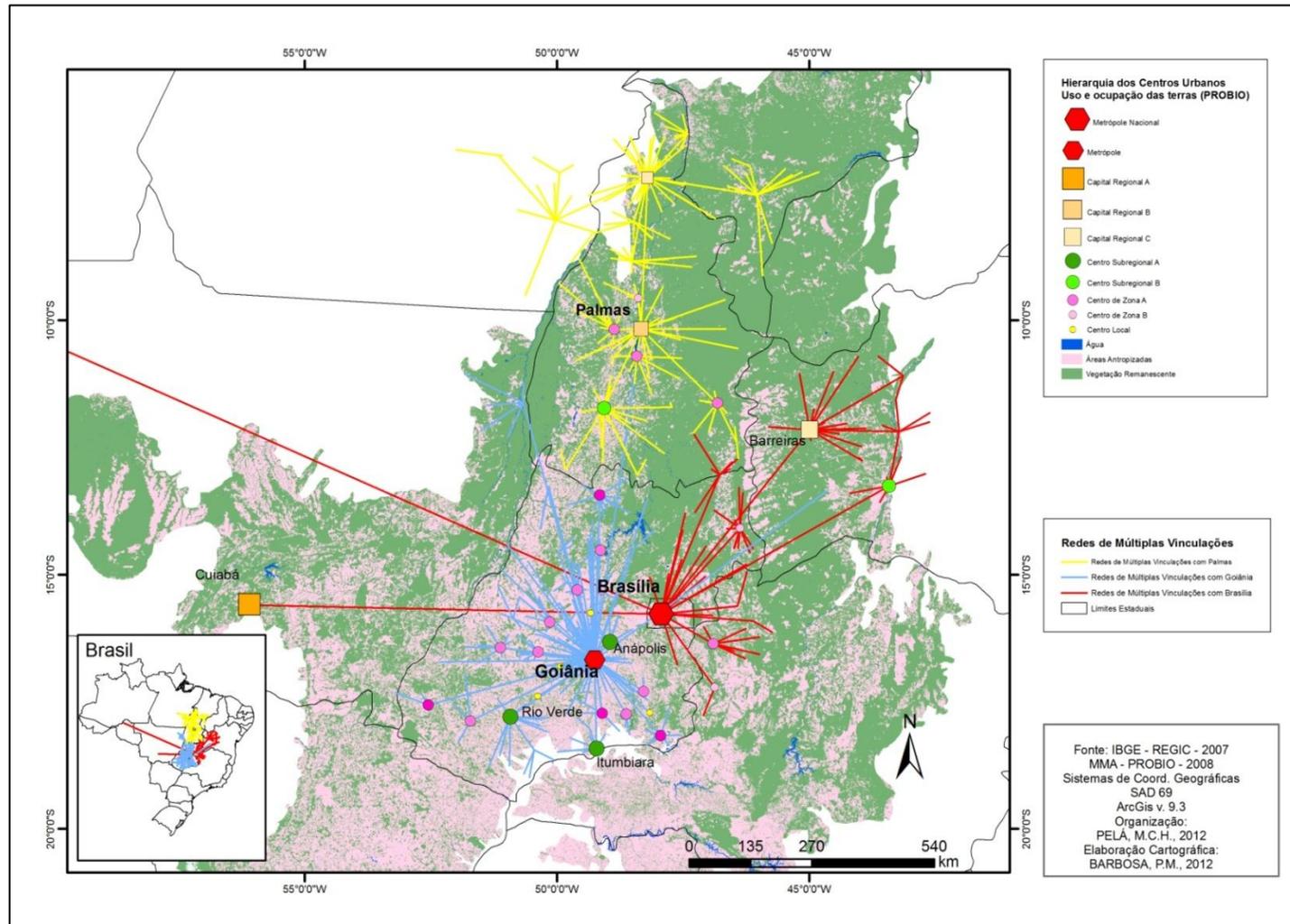
Não obstante, esta inseparabilidade não pode ser almejada apenas em escala regional e interurbana, mas também em escala nacional e global. É na conjunção dessas escalas que será possível captar a integralidade deste processo que inclui a construção das três cidades-capitais planejadas no cerrado, a modernização do território brasileiro, a redivisão territorial do trabalho e, por fim, a transformação do Brasil em urbano-industrial.

Estes pressupostos permitem elucubrar que o projeto de modernização, integração e desenvolvimento do Brasil passou necessariamente pela ocupação e transformação do Cerrado, mais especificamente no Centro-Oeste do país, onde se localizam as três cidades-capitais planejadas. Não só isso: possibilitam desvelar as consequências materiais e imateriais deste processo: uma delas é que a urbanização e o urbano foram contrapartidas à devastação e desruralização do Cerrado.

*Doutora em Geografia Urbana /UFG. Professora de Geografia e Metodologia do Trabalho Científico/UNIFAN.

O mapa 1, que conjuga as redes urbanas das cidades-capitais do Cerrado e o uso-ocupação deste bioma na sua porção centro-oeste-norte, retrata essa asseveração. A conjugação entre essas bases de dados - do Probio, que retratam o uso-ocupação que ocorreu durante estas últimas décadas no Cerrado, e do REGIC, que demonstram as redes de influências de Goiânia, Brasília e Palmas - não é por acaso. A intenção é retratar, em um só mapa, a relação intrínseca que há entre as localizações das cidades-capitais planejadas, a devastação/ocupação/urbanização do Cerrado e o processo de integração e urbanização do território brasileiro. Conforme se pode constatar a seguir.

Mapa 01: Redes urbanas das capitais do Cerrado e uso-ocupação do Cerrado



Outro apontamento que se pode extrair das informações do mapa 01 é que, considerando o processo e o tempo de criação de cada capital (Goiânia-1933, Brasília-1960 e Palmas-1990), bem como a expansão e deslocamento da fronteira agrícola, as áreas mais devastadas do Cerrado coincidem com a localização das cidades-capitais planejadas do Cerrado e, por conseguinte, com as áreas mais antropizadas da região centro-oeste-norte. Em outras palavras: a urbanização e o urbano serão a contrapartida à devastação e desruralização do Cerrado.

Marx (2008) auxilia nessa asseveração ao dizer que o domínio da agricultura pelo capital passa ser um elemento fundamental para que o capitalismo aconteça em sua plenitude, visto que isso o modo capitalista de produção desapropria o trabalhador das condições de produção, e, do mesmo modo, na agricultura, subtrai a propriedade ao trabalhador agrícola e subordina-o a um capitalista que explora a agricultura para conseguir lucro (IDEM, p.23)

É justamente aí que se percebe a relação que há entre o agronegócio, a cidade, o trabalho e a renda fundiária. Ora, para que o modo de produção capitalista se expandisse e, por conseguinte, se apoderasse de todas as esferas da produção da “nova” sociedade brasileira era necessária uma transformação nas relações de propriedade, produção e de trabalho existente nas terras cerradeiros. Contudo, esta transformação não implicou mudanças estruturais, como o monopólio da propriedade da terra nas mãos da “antiga” elite fundiária. Na verdade, o que houve foi uma (re)estruturação, a partir da técnica e das novas relações de trabalho e de produção, do modelo de acumulação capitalista.

Desta forma, fica evidente a relação sociohistórica presente nos processos de transformação espacial, bem como que as relações entre infraestrutura e superestrutura não são hierárquicas, e sim dialéticas. O modo de produção capitalista, como qualquer outro sistema, é um processo construído a partir das ações e relações humanas. Por isso que quando Marx (2008, p.25-26) trata sobre estas alterações ele dirá que

O modo capitalista de produção gera, entre outros, os seguintes resultados importantes: transforma a agricultura, que deixa os processos da fração menos evoluída da sociedade puramente empíricos e prisioneiros da tradição, e passa a aplicar, de maneira científica, a agronomia, desde que essa transformação seja possível nas condições da propriedade privada.

Não é por acaso que ainda hoje – segundo informações da Comissão Pastoral da Terra (CPT) e do Atlas Fundiário do Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA), o Brasil carrega a insígnia de ser um dos maiores do mundo em concentração de terra. Aproximadamente 46% de todas as terras do país estão concentradas nas mãos de 1% dos proprietários rurais.

Esta constatação permite compreender o porquê da dinâmica socioterritorial do Brasil moderno e urbano que, apesar de ter outras formas de organização, funcionalidade, uso e configuração geopolítica, preserva a estrutura concentradora, conservadora e latifundiária do Brasil Colônia. É justamente nesse cenário de desenvolvimento desigual e concentrado, indutor da população às cidades, que as terras cerradeiras foram se urbanizando e as cidades-capitais planejadas se consolidando e aglutinando uma boa parcela da população desterritorializa desta região e do país.

Por este motivo é que as construções de Goiânia, Brasília e Palmas em terras cerradeiras terão que simbolizar os novos tempos, mais precisamente ‘o tempo rápido’ que deverá tomar conta de parte do Cerrado. É exatamente nas auras desse novo tempo que se dá a transformação do Cerrado – de bioma para território –, bem como germina um novo espaço no país: o espaço moderno.

Dito espaço será erigido, principalmente, a partir de uma forte intervenção política e econômica do Estado que promoverá, por meio da integração, industrialização e modernização do território, o deslocamento da mão de obra dos trabalhadores e as (re)ordenações territorial, demográfica, política, econômica e sociocultural no país. Todas estas transformações têm como função a (re)criação de condições que irão assegurar, de fato, a expansão do sistema enquanto modo de produção capitalista (OLIVEIRA, F., 2003).

Desse modo é que as análises sobre este processo devem ir além da dualidade entre produto-capital e considerar as mudanças estruturais de maneira dialética e integrada. Por isto que se insiste aqui na premissa de que tanto a consolidação de um Brasil integrado, industrializado e urbano como a consolidação do modo de produção capitalista via modernização do território passam necessariamente pelo processo de ocupação e transformação do bioma Cerrado em território. De consequência, Goiânia, Brasília e Palmas são erigidas nas brisas do populismo e do discurso ideológico da preeminência do desenvolvimento, do novo

e do moderno, representação da materialização urbana e urbanística deste projeto desenvolvimentista e de integração do território.

As localizações destas cidades-capitais fazem parte das estratégias de consolidação do projeto do Brasil integrado que inicia-se em 1930 a partir do projeto desenvolvimentista e integracionista do governo de Getúlio Vargas.

Estes pressupostos conduzem aos seguintes questionamentos: como as cidades-capitais planejadas foram se afirmando como o modelo urbano do projeto de modernização do território brasileiro?

Para responder a estas indagações é necessário, em primeiro momento, compreender o processo inicial de ocupação e transformação do Cerrado, em que se constatará que a construção de Goiânia é o pontapé inicial desse projeto; a construção de Brasília, a consagração, e a construção de Palmas, a consolidação. É o que se propõe a seguir.

O CARÁTER URBANO DA OCUPAÇÃO DO CERRADO

A década de 1930 marca o início da ocupação e transformação do Cerrado, principalmente a sua porção central. O Cerrado, que até então se caracterizava por uma ocupação rural e atividade produtiva de pecuária extensiva e agricultura de autoconsumo (fazenda goiana), marcha rumo à modernização capitalista. Os recursos usados para que esse projeto se viabilizasse foram inúmeros, desde os acordos políticos e econômicos a campanhas publicitárias que tinham como objetivo difundir a necessidade de modernização.

O novo era o caminho. Para isso, nada melhor que um projeto arrojado e moderno que vislumbresse a integração e o desenvolvimento. Era a inserção do sertão nos tempos modernos. O Goiás das “Tropas e Boiadas”, de Hugo de Carvalho Ramos, deveria render-se ao traçado de Versalhes, de Atílio Correia Lima, ao projeto modernista de Oscar Niemeyer, ao modelo agroindustrial de produção, ao projeto de expansão da fronteira agrícola rumo à Amazônia Legal para que se redesenhasse uma nova geopolítica no território.

Os traços e compassos teriam como finalidades, além de mudar a paisagem do país e transformar tempos lentos em rápidos, organizar um novo espaço onde a forma econômica teria como base a acumulação capitalista, e não mais a troca

simples. Por este motivo, os riscos e rabiscos tinham que ter a capacidade de interligar os arquipélagos e o grande espaço vazio entre o sertão e o litoral, até que se chegassem às terras férteis e produtivas da maior floresta tropical do mundo: a Amazônia.

O primeiro borrão, denominado por Chaveiro (2008) como a “antecipação da modernização conservadora¹”, surge nos idos da década de 1930, no governo Vargas, quando o Estado, por meio da política denominada “Marcha para o Oeste”, passa a ser o principal agente estruturador do projeto de colonização do Cerrado, principalmente na sua porção central. O objetivo era criar condições para adequar o país a um novo ritmo de produção capitalista. Para tanto, era necessário ampliar a malha viária no Centro-Oeste, criar novas fronteiras econômicas e agrícolas, criar um novo fluxo migratório e de ocupação demográfica, construir novas cidades, ou seja, seria necessário desmontar o antigo arranjo espacial construído na época dos ciclos.

É das mãos dos trabalhadores, a maior parte composta por nordestinos, que foram sendo erigidas curvas e retas que cortariam as terras cerradeiras e as transformariam em pontes, estradas, ferrovias, capitais planejadas, enfim, traçariam o esboço inicial do que seria o celeiro do agronegócio e o modelo de um Brasil moderno, industrializado e urbanizado. Era a reedição das bandeiras dos “bravios” bandeirantes com o seu enorme contingente de mamelucos que, igualmente, deveriam trazer a civilização para as terras das árvores tortas e feias. Para isso, seria necessário transformar as terras e os povos que nelas viviam.

Os antigos coronéis, que representavam a oligarquia rural, deveriam inserir-se na nova lógica ou ceder lugar para os novos representantes do Brasil urbano, visto que em um país urbano e industrial a fazenda não poderia ser mais o epicentro do poder. Por isto, era necessário “rearranjar” as estruturas do poder, bem como as dinâmicas e as funções socioespaciais das cidades e do próprio campo, uma vez que

¹ É importante destacar que este período vai da década de 1930 a década de 1960 e tem como objetivo as modernizações nas infraestruturas e nas ideias. Outra questão relevante abordada por Salim (1986, p.308) é que neste período, especificamente para áreas de Cerrado tem sido dada maior ênfase aos programas especiais, tornando-os o principal veículo de capitalização e tecnificação de sua agricultura. Utilizando-se desses instrumentos de ação, o Estado induz os produtores rurais a realizarem as ações esperadas por meio das seguintes medidas: crédito rural orientado, assistência técnica seletiva, seguro contra riscos, incentivos fiscais etc.

o rural deve se transformar em agrícola a partir de um novo modelo de produção e a cidade, no epicentro do poder.

Além do mais, a elite foi a única classe que obteve alguma alteração de conteúdo e de poder, pois as condições dos trabalhadores, em sua grande maioria oriundos do campo, continuaram a mesma, ou ‘melhor’ (pior), houve um aumento da exploração de sua mão de obra. Expulsos de suas terras e atraídos pela ilusória oportunidade de mudança de classe social (ascensão econômica e sociocultural), tiveram que aprender outros ofícios, como pregar prego, bater concreto, devastar não mais para plantar o seu ganha-pão, mas para abrir novas fronteiras e criar condições para novos empreendimentos. Até nas cidades planejadas que ajudaram a construir, não havia sequer um lugar para abrigá-los.

Os homens e mulheres que redesenharam o país – sem terra ou condição para nela permanecer, sem emprego fixo e sem lugar digno para morar – seriam os mesmos que formariam a mão de obra excedente e móvel, o capital variável, imprescindível para concretizar o projeto de expansão do modo de produção capitalista via modernização do território. A estrutura rural e conservadora do país seria a base de construção da lógica urbana que teria na cidade o epicentro do poder e na fábrica o modelo de produção e (re)produção da vida.

A respeito, Moreira (2011) conjectura que

O centro de referência dessa lógica é o arranjo do espaço que combina a fazenda e a cidade, a que mais tarde se acrescenta a fábrica, como os entes geográficos, por excelência, da vida política do país.

Organiza esse arranjo uma economia política do espaço na qual a renda diferencial, com frequência transformada em lei de rendimentos decrescentes, se combina em escala com uma forma-valor no começo pré e depois capitalista, essa combinação respondendo pelo formato padrão da estrutura geográfica da fazenda, da fábrica e da cidade e, assim, da ordenação do espaço. (MOREIRA, 2011, p.11)

Por isso que, diferentemente de algumas pesquisas que versam sobre a ocupação do Cerrado e apontam a década de 1940 – em que foram implantadas as Colônias Agrícolas Nacionais (CAN’s)², no caso específico a Colônia Agrícola Nacional de Goiás-Cang (1941-1953) –, como o marco deste processo, esta pesquisa considera a construção de Goiânia, em 1933, como o início da

² Segundo Silva (2007), as CAN’s foram projetos de colonização – induzidas, promovidas pelo Governo Vargas – em sistema de pequenas propriedades rurais, fornecidas sem ônus financeiro aos colonos, cujos objetivos principais era ocupar o interior do país e diminuir a pressão social nas zonas agrícolas que produziam café para exportação.

materialização deste processo de colonização das terras cerradeiras, em que a agricultura no Cerrado nascerá à luz de um novo paradigma: o urbano/industrial, cujo impacto será a urbanização extensiva (CAMPOLINA, 2009).

As considerações de Silva, S. (2007) sobre o caráter urbano que havia na implantação das Colônias Agrícolas Nacionais (CAN's) contribuem com clareza para o entendimento desta realidade, ao discorrer sobre o Decreto Lei 3.059/1941:

O Decreto Lei 3.059 que criava as Colônias Agrícolas Nacionais deixava muito evidente as suas intenções em relação à implementação de centros urbanos para as áreas de colônia, não apenas para servir de sede aos núcleos agrícolas, mas também para funcionarem como centros irradiadores do desenvolvimento regional. O artigo 5º do referido decreto apresenta as considerações acerca do projeto urbano para as colônias:

Art. 5º. Fixada a região onde a colônia deverá ser fundada, será projetada a sua futura sede, escolhendo-se para isso a zona que melhores condições oferece.

Parágrafo único. No projeto da sede serão observadas todas as regras urbanísticas, visando a criação de um futuro núcleo de civilização no interior do país. (SILVA, S., 2007, p.6).

Continua o autor:

Esse documento apresenta indícios não apenas das intencionalidades urbanas para as colônias agrícolas, mas também a inclusão de princípios norteadores para as futuras cidades. Esses princípios podem ser resumidamente identificados no caráter racional que a ocupação do espaço urbano incorporava, ao enquadrar o planejamento dentro de “regras urbanísticas” visando a construção de um “núcleo de civilização” geograficamente direcionado para o “interior do país”. A racionalidade da ocupação incorporava as categorias da cidade planejada e do sertão civilizado, princípios amplamente divulgados pela Marcha para Oeste e ideologicamente atrelados aos interesses nacionalistas do Estado Novo. (SILVA, 2003, p. 6).

A cidade, nesta perspectiva, contraditoriamente ao sentido de ‘obra’ imputado por Lefebvre (2011), será o principal produto da sociedade urbana em curso no Brasil. É ela que – com a função de centro de serviços a partir do momento que objetivou uma cidade com amplo mercado produtor e consumidor de serviços e produtos industrializados, diferenciando dos rumos econômicos da elite agrária para o Estado e de elo nos âmbitos regional, nacional e mundial – abastecerá e dará o tom do novo modo de produção agropecuário que será implantado nos anos subsequentes.

Parafrazeando Oliveira, F. (2003), as cidades neste período passarão a ser, por definição e função, a sede da economia industrial e de serviços. O crescimento urbano será, portanto, a contrapartida da desruralização do produto.

É por este fator que mesmo não se desvinculando da fazenda e sendo constituída a partir das estruturas socioculturais, política e econômicas tradicionais e conservadoras, é ela, a cidade, que terá o *status* do epicentro do poder. Não só isso. É nela que, por meio da indústria da construção civil, o processo de produção de mais-valia absoluta se consolidará em terras cerradeiras e, mais tarde, criará condições estruturais para que a lógica fabril de produção, que produz a mais-valia relativa, irradie-se no campo e na cidade. Assim, desconsiderar que há relação entre a criação de Goiânia, o processo de “colonização” do Cerrado e a transição do país de rural-agrário para urbano-industrial é contribuir com a cisão entre espaço-tempo-sociedade, bem como ignorar que o epicentro do novo projeto geopolítico iniciado por Getúlio Vargas seria a cidade e não mais a fazenda.

No entanto, não se pode incorrer no erro de uma análise reducionista e desconsiderar a relação ubíqua e intrínseca entre campo e cidade, mesmo que em outra roupagem, existente desde a gênese do processo de formação e organização geográfica brasileira. Nos dizeres de Santos (2008, p. 73), “hoje, as regiões agrícolas (não rurais) contêm cidades; as regiões urbanas contêm atividades rurais”.

Desse modo, mesmo tendo-se como meta e planejamento a urbanização como uma prioridade nacional e as cidades como o lócus do poder da “nação brasileira”, o processo de transição, tanto dos pontos de vistas econômico e político quanto dos pontos de vistas socioculturais, é conflituoso. Urbano-rural, cidade-campo, moderno-tradicional, monocultura-policultura, mecanização-exploração de mão de obra, dependência-soberania, agrotóxicos-alimento ‘limpo’ se contrastam e se entrecruzam a todo instante, uma vez que a estrutura inicial tanto da sociedade como do território brasileiro tem a sua raiz fincada na fazenda, no latifúndio, no mando político e na exploração e expropriação de índios, negros, camponeses, enfim, da classe excluída e explorada.

Por isso, insiste-se em repisar que este tipo de análise, que desconsidera as relações internas entre a ocupação do Cerrado e a construção de Goiânia, é unilateral, uma vez que ressalva apenas o produto final do “desmonte” do modelo agrário-rural e desconsidera todo o processo existente nas transformações e as

estruturas necessárias (materiais e imateriais) para concretizar, de fato, a transição do país para a estrutura produtiva de base urbano-industrial.

Cidades-capitais projetadas do Cerrado: estratégia à consolidação do território cerradeiro e do Brasil integrado, moderno e urbano.

Para iniciar este subitem tomam-se como adjutórias as contribuições de Moysés e Silva (2008, p.202) que corroboram as argumentações apresentadas até o momento sobre o processo de ocupação do Cerrado em sua porção Centro-Oeste:

A decisão do Estado de atuar como principal agente estruturador da região se acentuou, sobretudo a partir dos anos 30, com a política denominada “Marcha para o Oeste” e a criação da Superintendência de Desenvolvimento do Centro-Oeste (Sudeco) em 1967, que passou a coordenar as ações e os investimentos públicos destinados ao Centro-Oeste.

Como destaque de ações concretas, deve-se salientar a construção de Goiânia, cuja pedra fundamental foi lançada em 24 de outubro de 1933. Já nos anos 50, antes mesmo da construção de Brasília, Goiânia já era um núcleo urbano expressivo, com uma população acima de 100 mil habitantes e um comércio dinâmico, sinalizando que tinha vocação e assumiria muito brevemente a condição de núcleo polarizador, o que de fato ocorreu.

Assim, repisa-se que a não consideração deste processo, além de escamotear a luta interna entre as classes, também cria uma fratura entre escalas global, nacional, regional e interurbana, bem como entre rural-urbano, espaço-sociedade e cidade-fazenda, como se não houvesse conexão alguma entre a formação dos espaços urbanos de Goiânia, a ocupação do Cerrado, o processo de “desenvolvimento”, a integração e a modernização do território brasileiro e a articulação com o capitalismo internacional.

No entanto, mesmo com a fundação de Goiânia e a implantação das CANG's, somente no final dos anos 1950 e início dos anos 1960, a partir da implantação do Plano de Metas do Governo de Juscelino Kubitschek e da construção da nova capital federal, Brasília (a 31ª meta), é que aumenta, de fato, o processo de urbanização e ocupação do Cerrado, como se denota da tabela abaixo (tabela 01).

Tabela 01 – Crescimento da população do Cerrado – de 1920 a 1960

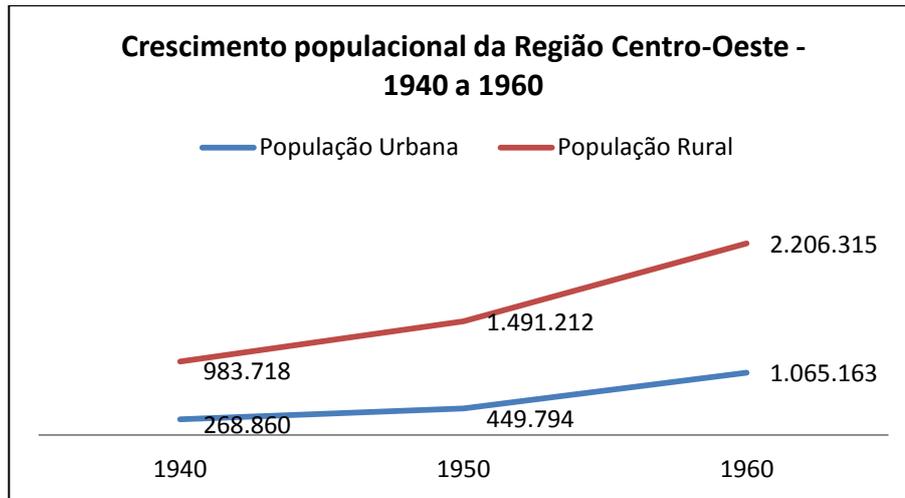
Crescimento populacional da população da porção Centro-Oeste do Cerrado – entre 1920 e 1960		
Ano	População	Crescimento populacional (%)
1920	758.531	
1940	1.258.679	66
1950	1.736.965	38
1960	3.006.866	73

Fonte: Adaptado de Klink & Moreira (2002). Elaboração própria (2013).

Os dados da tabela acima evidenciam os indícios que levam às argumentações feitas até o momento sobre o caráter urbano do projeto de modernização do território brasileiro, por conseguinte, de ocupação do Cerrado, visto que os fluxos de crescimento populacional em 1940 e 1960, na porção Centro-Oeste do Cerrado, coincidem com o período das construções de Goiânia e Brasília.

No entanto, não se pode igualmente incorrer no erro de desconsiderar a relação dialética entre o fluxo populacional rural e urbano neste processo, pois, inicialmente, mesmo com a alta taxa de crescimento da população urbana, observa-se que também haverá um expressivo crescimento da população rural na porção centro-oeste.

Gráfico 01: Crescimento populacional da Região Centro-Oeste entre as décadas de 1940 a 1960



Fonte: Censo 1940, 1950 e 1960-IBGE. Elaboração própria, 2013.

Não obstante, caso se faça uma análise relativa desses dados, será claramente observada esta tendência do deslocamento da população do campo para a cidade, uma vez que, entre 1940 e 1950, enquanto a população rural cresceu 51,59%, a população urbana cresceu 67,30%. Já entre as décadas de 1950 e 1960 haverá uma queda no crescimento populacional rural de 47,95% e um aumento exorbitante na taxa de crescimento populacional urbano de 136,81%.

Por isso, defende-se aqui que Goiânia foi o projeto urbano piloto deste processo de ocupação do Cerrado e Brasília, a consagração. A nova capital federal, que nasce sob a égide de uma nova “nação” e de um novo Brasil – moderno e industrializado –, será o modelo imperioso para mostrar ao mundo e ao povo brasileiro que é possível, ou melhor, é necessário modernizar o sertão. Nessa lógica, fica clara a relação entre expansão do capitalismo via modernização do território, ocupação do Cerrado e construção das cidades-capitais planejadas do Cerrado.

Não só isso. Igualmente fica nítido o porquê de tamanha ideologização na construção destas cidades. A adoção dos preceitos da arquitetura liberal neste processo serve, ao indicar a forma e o modelo do que deveria ser o Brasil urbano, para amenizar as revoltas dos (des)territorializados do campo, uma vez que a partir do *marketing* político constrói-se uma imaginação coletiva de que a cidade é o caminho da liberdade e da conquista de melhores condições de vida. Ou seja, escamoteia-se o uso da cidade como mecanismo de controle social e de dominação.

Crítica pertinente, para que se possa abrir a cortina de fumaça e desvelar o que está por trás das formas modernas das cidades-capitais planejadas do Cerrado, entre outros elementos, era a implantação da nova divisão nacional do trabalho que deveria adequar-se às necessidades do sistema capitalista internacional. O deslocamento da população do campo e a reconfiguração socioespacial do território brasileiro faziam parte deste pacote que marcará uma mudança significativa nas estruturas trabalhista, fundiária, espacial e socioeconômica do território brasileiro.

Nessa lógica, o campo, ao se modernizar, deveria transformar as antigas fazendas em agroempresas. Inicia-se, aí, a expulsão dos camponeses de suas terras e que mais tarde será intensificada com a mecanização. Já as cidades, que até então estavam, em sua grande maioria, subordinadas ao campo, devem ser convertidas no principal local da gestão territorial e, por conseguinte, acolher em suas periferias a população expulsa do campo.

É justamente neste movimento que a construção de Goiânia e Brasília passa a ser primordial para a consolidação da nova geopolítica brasileira. Esta é a origem das contradições e dos conflitos no/do território do processo inicial da construção das cidades de Goiânia e Brasília, que mais tarde, apesar de conter outros contextos econômicos, políticos e sociais, repetir-se-ão em Palmas. A bem da verdade, estas cidades não foram planejadas para a fixação da classe trabalhadora, mas para acolher a nova elite urbano-industrial necessária à implantação do projeto de modernização do território.

A classe trabalhadora só era necessária no primeiro momento: o da construção das cidades e o da formação e concentração desta classe nas regiões do Cerrado, o local destinado à expansão da fronteira agrícola. Todos estes fatores, além de evidenciar a relação entre mobilidade do trabalho e do capital, também demonstram que o Cerrado é a direção que o capital e o trabalho deveriam seguir, fato que tornará Goiânia e Brasília o destino de diferentes sujeitos.

Entretanto, é no final da década de 1960 e início da década de 1970³, na ditadura militar, que acontecem as chamadas mudanças estruturantes do processo

³ Segundo Freitas; Chaveiro (2011), este período, que se estende até a década de 1990, foi o marco para a mudança estruturante que ocorreu no território de Goiás e conseqüentemente na porção centro-oeste do Cerrado. Percebe-se, assim, a existência de dois períodos até chegarmos ao atual modelo de modernização do território que se tem hoje. O primeiro, de 1930 a 1960, denominado de antecipação da modernização conservadora, e o segundo, de 1970 a 1990, que é o estruturante, uma vez que se caracteriza pela forte intervenção do Estado no território.

de modernização e criam-se as condições para a intensificação da ocupação e mecanização do Cerrado, alcançado, assim, a meta de expansão do capital via modernização do território nos moldes que se tem hoje. A intervenção do Estado é incisiva e decisiva neste processo de ocupação do Cerrado, por meio da regulamentação jurídica que criou o Estatuto do Trabalhador Rural (1963) e o Estatuto da Terra (1964), e da criação do II Plano Nacional de Desenvolvimento (II PND). O governo federal, assim, passa a atuar de forma mais objetiva, leia-se ‘interventiva’, no planejamento regional.

Sobre o assunto, Mendonça *et al.* (2002, p.2) dirão que:

Compreendendo o processo acentuado nos anos 70 como a tendência decrescente da taxa de lucros, a alternativa se coloca com a reorganização do capital que se efetiva a partir do processo de reestruturação da produção e do trabalho, no sentido de criar as condições necessárias para repor os níveis de expansão e acumulação anteriores, tanto no campo como na cidade.

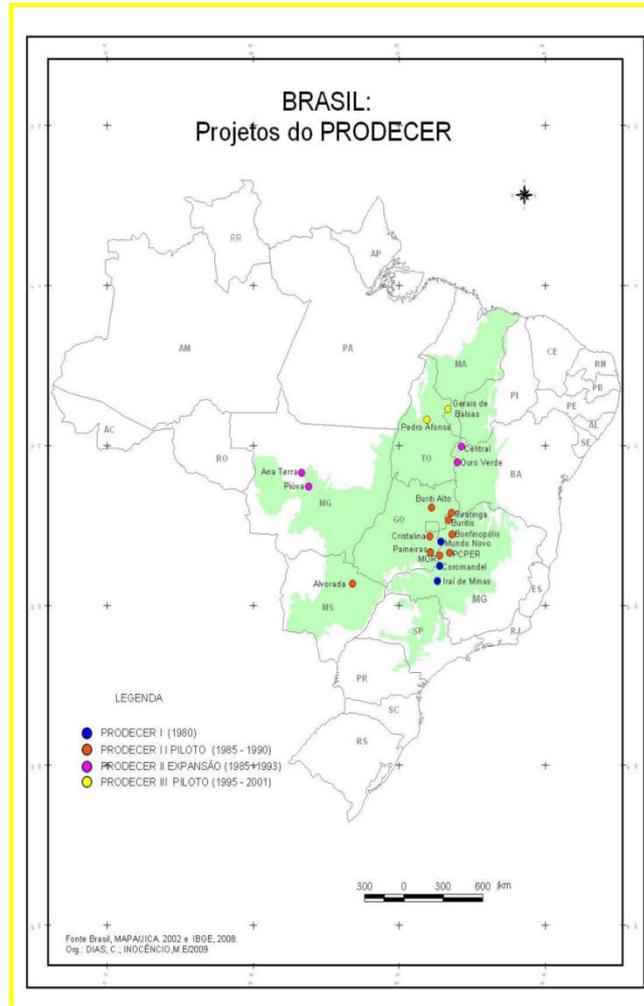
Nesse sentido é reforçada uma articulação das dimensões fundamentais do sistema – capital-Estado-trabalho – onde as duas primeiras se associam para controlar o trabalho. O afloramento da crise estrutural do capital destaca dois elementos cruciais para a análise proposta, acerca dos rebatimentos da reestruturação produtiva no mundo do trabalho. Primeiro, a tendência decrescente do valor de uso a partir da natureza destrutiva do capital, e segundo, a incontabilidade do sistema de metabolismo social do capital (Antunes, 2000). Como resposta à sua própria crise, inicia-se um processo de reorganização do capital financeiro, do capital produtivo e principalmente a reelaboração do sistema ideológico e político, acarretando um processo de reestruturação da produção e do trabalho. As novas formas de gestão, a desregulamentação das leis trabalhistas, o surgimento de novas categorias de trabalhadores acarretaram mudanças no conteúdo do território, da relação cidade-campo e conseqüentemente na ação política dos trabalhadores.

Observa-se, assim, que o Estado neste período torna-se, de fato, o principal agente do capital. Nesta condição começa a agir na transformação da agricultura e na expansão da fronteira agricultura rumo à Amazônia por meio do sistema de crédito e de programas de desenvolvimento agrário que, ao criarem mecanismos para viabilizar grandes empreendimentos nas áreas do Cerrado, despertarão o interesse do capital nacional e internacional em terras cerradeiras.

Dentre os programas destaca-se o Programa de Desenvolvimento do Cerrado (Polocentro) e o Programa de Cooperação Nipo-brasileira para o

Desenvolvimento do Cerrado (Prodec, com quatro edições até o ano de 2001), conforme demonstra o mapa 02, a seguir.

Mapa 02: Espacialização dos Projetos PRODECER, entre 1980 a 2001



Fonte: INOCÊNCIO, 2009.

Da análise do mapa de implantação dos projetos do Prodec, em terras cerradeiras, pode-se constatar que a construção de Palmas está intrinsecamente relacionada com a implantação e expansão do Prodec II, uma vez que o avanço da fronteira agrícola para a porção norte do Cerrado inicia-se com o projeto piloto do Prodec II–Piloto entre os anos de 1985-1990, ano (1990) da criação da capital do Tocantins, e intensifica-se com os projetos de expansão do Prodec II, entre 1985-1993, e do Prodec III Piloto, entre 1995-2001.

Outra constatação é que se pode tirar do mapa de implantação dos projetos do Prodec é de que Palmas é um núcleo urbano de transição entre o Cerrado e a Amazônia Legal. Desta forma, pode-se afirmar que uma das finalidades de sua

criação é a de atrair poder econômico e político com o intuito de abrir possibilidades de influenciar as áreas do sudoeste do Maranhão, sudeste do Pará e o Tocantins. Em outras palavras, Palmas é o coroamento deste projeto de expansão, ou melhor, de consolidação do modo de produção capitalista via modernização do território em terras cerradeiras, e a porta de entrada da ocupação planejada na Amazônia legal.

Palmas, como toda fronteira de expansão, é um entremeio. A sua localização demonstra isto, visto que se situa exatamente na região de expansão da nova fronteira brasileira, denominada, por pesquisadores e estudiosos, de Mapito⁴. Esta condição, além de coroá-la como o novo projeto de urbano brasileiro, em que as cidades devem se autoconstruir⁵, também demonstra que a “modernização” finalmente se consolida em terras cerradeiras. Não só isso, a sua edificação representa o atual momento econômico, político e sociocultural do país que está sob a égide do capital liberal.

Para melhor apreensão deste processo de modernização e de transição entre capital monopolista e capital liberal recorre-se, aqui, às arguições de Freitas; Chaveiro (2011, p. 12 apud Borges 2007, p. 16-17) que dirão que *a rentabilidade da acumulação simples é lenta, compartilhada, ligada apenas à produção da existência. A rentabilidade liberal deve ser inteligente, planejada, calculada e individualista*. No portal de informações e serviços do governo do Tocantins, disponível na internet, há uma área destinada aos empresários – Tocantins para investidores – que demonstra exatamente esta nova tendência de exploração e organização econômica baseada no capital liberal, conforme se pode conferir a seguir.

Na primeira parte da página é ressaltada a política de incentivos fiscais e a localização estratégica do estado, fatores necessários à produção mais competitiva:

O Tocantins é um cenário sem igual para receber investimentos. Condições naturais privilegiadas aliadas à política de incentivo fiscal do estado fazem o agronegócio crescer e atraem novas indústrias e agroindústrias. [...] Além disso, o Tocantins conta com uma posição geográfica favorável, localizado exatamente no centro do Brasil. Assim, o estado é o mais competitivo economicamente em relação ao transporte

⁴ Segundo Silva, E. B.(2013), Mapito é o acróstico para se referir aos estados de Maranhão, Piauí e Tocantins que são as áreas de expansão da fronteira agropecuária onde estão ocorrendo desmatamentos recentes no bioma Cerrado.

⁵ Sabe-se da dialética que existe em torno deste conceito (coletivo e exploração). Aqui, o que se ressalta é o uso do conceito ideologicamente para exploração e precarização da mão de obra do trabalhador

de cargas para qualquer região brasileira. A infraestrutura também conta a favor.

Neste trecho, a seguir transcrito, os destaques são para as malhas viárias e ferroviárias e para as facilidades de escoamento e logísticas, ambos necessárias à exportação de grãos, carne e hortifrúti.

Hoje o Tocantins possui 4,5 mil quilômetros de rodovias estaduais pavimentadas, integrando praticamente todas as suas cidades. Enquanto isso, 1,5 mil quilômetro de rodovias federais faz sua ligação com os demais estados. Até 2010 o Tocantins ganha a modal de transporte ferroviário, com a conclusão das obras da Ferrovia Norte-Sul em seu território. Assim, o estado se colocará no centro da malha ferroviária do Brasil e estará muito mais próximo dos consumidores da Europa e Estados Unidos que outros estados brasileiros de economia mais tradicional.

São fatores que fazem as exportações do estado avançarem, chegando à marca dos 31 países consumidores e de US\$ 154,9 milhões arrecadados em 2007, com a venda de soja (74,81%), carne e derivados (21,18%) e abacaxi (0,98%). Entre 2003 e 2007, o superávit da balança comercial do estado superou os US\$ 515,6 milhões.

Já neste trecho fica evidente a tendência da energia como um dos principais produtos a ser exportado:

PIB – Compõem o Produto Interno Bruto (PIB) do Tocantins os setores de serviços (77%), a agropecuária (15%) e a indústria (8%).

Energia – No Tocantins, também há energia elétrica suficiente para mover as indústrias. Hoje, o Tocantins possui três usinas hidroelétricas (Lajeado, Peixe/Angical e Isamu Ikeda) e 11 pequenas centrais em funcionamento. Além disso, outras duas grandes hidrelétricas estão em construção (São Salvador e Estreito). Assim, o estado produz muito mais energia do que consome (exportando 1.420 mega watts, enquanto seu consumo é de 136 mega watts (TOCANTINS⁶, 2013).

Esta lógica liberal é o ápice do projeto de expansão do capital via modernização do território cerradoeiro, por isso transitório. Nesse sentido, é importante compreender que este momento de acumulação liberal – que começa no final da década de 1980 e início da década de 1990, período da criação do estado do Tocantins e da construção de Palmas, e

⁶ O endereço do site é <http://portal.to.gov.br/empresario/tocantins-para-investidores/447>. E mesmo constando a de 2010 as informações são atuais.

vigora até os dias atuais – extrapola o modelo inicial do agronegócio que tinha como base estruturante a mercantilização da agricultura e da pecuária.

Esse modelo liberal, ao agregar a exploração de recursos naturais como a água (leia-se energia elétrica) e o minério, pode representar o retorno às “origens”⁷ do período da colonização que, como dito anteriormente, já estava traçado desde o final da Segunda Guerra Mundial, em que o Brasil, na divisão internacional do trabalho, teria como função abastecer com matérias primas e alimentos os países “desenvolvidos”.

O economista Guilherme Delgado (2010, p. 113) tem alertado que este modelo pode levar o Brasil a uma possível primarização da economia.

Temos uma armadilha grave nesse quadro estratégico. [...] As condições da expansão agrícola, vinculadas a uma inserção externa dependente; ao perfil da dupla super exploração dos recursos naturais e do trabalho humano e a uma forma de extração do excedente econômico, fortemente vinculada à renda fundiária, configuram novos ingredientes de uma questão agrária muito além dos limites setoriais da agricultura. Em última instância, caracterizam um estilo típico do subdesenvolvimento que se repõe em pleno século XXI e do qual o pacto do agronegócio é parte integrante de peso. Mas a caracterização dessa questão agrária é mais geral e mais profunda. Integra a essência do projeto nacional de subdesenvolvimento e requer um enfrentamento dentro e fora do modelo agrícola hegemônico.

Delgado adiciona a este cenário a precarização da mão de obra do trabalhador e a questão em torno propriedade da terra, que, aliás, nunca deixou de existir. Esses fatores são importantes pressupostos para que se compreenda que o conflito pelo direito à cidade e pela habitação é originado pelo conflito pela luta da terra, que é um traço do processo de construção do território brasileiro; por isso não se pode ignorar que a luta pela cidade tem sua origem na luta pela terra que era travada no campo. É a relação campo-cidade que não se pode desprezar.

Estas premissas levam a constatação que, enquanto Goiânia e Brasília desempenharam o papel político de colocar em cena a “nova” burguesia industrial-urbana e o novo modelo de produção agrícola, Palmas cumpre o papel da rearticulação da elite fundiária, que, aliás, nunca deixou ter força no país. A criação do Tocantins, e consequentemente de Palmas, significa uma reorganização da bancada ruralista no cenário nacional. Vale lembrar que as áreas antropizadas naquela região ainda são menores do que a que estão perto do estado de Goiás e do Distrito Federal, conforme se demonstra no mapa 01.

Por isso é que ora se defende que a escolha de criar uma nova capital em meio as terras “esquecidas” do antigo norte goiano não passa só pela vontade política e/ou pela

⁷ Ressaltamos que concebemos a construção histórica como um movimento em espiral, por isso ela, a história, se repete, mas jamais do mesmo modo.

vaidade de seus idealizadores e construtores. Fabricar uma cidade em meio ao “nada” tem um significado político, econômico e ideológico que não pode ser desconsiderado. Goiânia, Brasília e Palmas mostram a que vieram. Os preceitos e conceitos que as acompanham, como autoconstrução, sustentabilidade, cidades promissoras, locais de melhores condições de vida, entre outros, estão diretamente ligados aos preceitos ideológicos que, como já apontado, fazem com que uma cidade projetada e planejada ganhe, ilusoriamente, vida própria e se torne uma possibilidade de melhores condições de vida para todos.

Não obstante, conforme assinala Martins (2010), esta possibilidade anunciada pelo capitalismo é inalcançável para a classe trabalhadora. E o encantamento inicial que é criado em torno das possibilidades de melhores condições de vida em uma capital planejada se transformará na grande frustração desses sujeitos sociais que se deslocaram do campo ou de uma cidade sem a urbanização almejada. Tais frustrações transformam-se em movimentos de luta e de resistência contra a ordem estabelecida pelo capital e que expõe as contradições e desigualdades existentes na concepção e criação dos espaços urbanos de Goiânia, Brasília e Palmas.

É exatamente destas desigualdades e contradições que nasce a luta entre os sujeitos pelo direito à cidade. Ou seja, é neste abismo que se perceberá a relação dialética entre capitalismo, possibilidade e frustração; entre cidade, campo e urbano; entre ideologia, política e economia.

Esta constatação irá corroborar com a afirmativa de que o desenvolvimento do urbano será a contrapartida da desruralização do produto e de que Goiânia, Brasília e Palmas, ao se tornarem os moldes e os modelos de urbanidade, urbanização e urbano do espaço moderno brasileiro, tornaram-se o destino de diferentes sujeitos que acreditam que conseguirão melhores condições de vida, principalmente da classe trabalhadora e dos camponeses que viram, e ainda veem nestas cidades, a perspectiva do trabalho, da (re)territorialização, de moradia, do estudo, enfim, a oportunidade de se tornarem, de fato, “cidadãos”, no sentido estrito da palavra.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do exposto fica clara a relação intrínseca entre o processo de modernização do território brasileiro, a ocupação do cerrado e a criação das três cidades-capitais planejadas, já que para adequar o Brasil às novas exigências da divisão internacional do trabalho foi preciso integrar, desenvolver e urbanizar o país. Foi preciso fluidez, mercado consumidor, terras com mais produtividades, mão de obra assalariada e tantas outras transformações para que o ciclo do capital se retroalimentasse.

O Brasil agrário-rural cedeu lugar ao Brasil urbano-industrial e isso só foi possível com a ocupação das terras centrais do seu território, uma vez que elas são o elo entre o litoral, o sertão e a floresta amazônica, bem como o centro irradiador das transformações necessárias nas relações de produção, na dinâmica territorial e nos modos de vida. Só assim o país ficou apto para expandir o modo de produção capitalista pelo seu território.

Contudo, a estrutura concentradora, conservadora e latifundiária foi preservada, pois a elite agrária e seus benefícios da renda fundiária da terra não foram abalados; muito pelo contrário, a urbanização e a modernização potencializaram ainda mais esta conjuntura. É exatamente aí que fica claro a importância da transformação do bioma cerrado em território e que a aparente dualidade entre um Brasil moderno e outro atrasado nada mais é que um dos mecanismos do processo de acumulação.

Esta constatação corrobora com a argumentação de que o crescimento urbano tornou-se a contrapartida da desruralização do produto e, com isso, a desigualdade e a concentração são traços fundantes do Brasil urbano-industrial, já que os benefícios da urbanização, do desenvolvimento e da modernidade foram – e estão – estrategicamente traçados para continuarem a ser usufruídos e concentrados na mão da elite dominante.

Deste modo é que Goiânia, Brasília e Palmas são os moldes e os modelos do projeto de ocupação do Cerrado e de expansão do capitalismo, via modernização do território brasileiro, uma vez que garantem, ao mesmo tempo, a integração do território para o capital e o controle territorial dos sujeitos.

Por isso defendemos que não há como falar da modernização do Cerrado e do território brasileiro sem fazer a relação direta e intrínseca entre cidade e campo,

bem como sem considerar que Goiânia, Brasília e Palmas são a materialização prático-sensível do projeto de urbanização, desenvolvimento e expansão da capital via modernização do Cerrado e do território brasileiro.

REFERÊNCIAS

CARLOS, A.F. A. **O Espaço Urbano: Novos Escritos sobre a Cidade**. São Paulo: FFLCH, 2007.

CHAVEIRO, E. F. **A práxis simbólica do Goiás profundo**. Goiânia: Mimeógrafo, 2008.

ESTEVAM, L. **Tempo da transformação: estrutura e dinâmica econômica de Goiás**. Goiânia: Ed. da UCG, 2004.

HARVEY, D. **Condição Pós-moderna**. São Paulo: Loyola, 1998.

Inocência, Maria. Erlan. 2010. **As tramas do poder na territorialização do capital no Cerrado: o Prodecer**. Dissertation (Doctorate in Geography) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Estudos Sócio Ambientais, Curso de Geografia, Goiás

LEFEBVRE, H. *O direito à cidade*. São Paulo: Centauro, 2001.

_____. **A revolução urbana**. 3. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2008.

LIRA, E.R. **A Gênese de Palmas – Tocantins: a geopolítica de (Re)ocupação territorial na Amazônia Legal**. Goiânia: Kelps, 2011.

MENDONÇA. M.R.; RIBEIRO, D. D. R.; THOMAZ JR, A. **A modernização da agricultura e os impactos sobre o trabalho(Brasil)**. Revista Scripta Nova - Revista Eletrônica de Geografia y Ciências Sociales, Barcelona, v.6, n.119, 2002. Disponível em: <<http://www.ub.es/geocrit/c4-mdoju.htm>>>. Acessado em março 2013.

MENDONÇA. M.R.; PELÁ. M.C. H. **O Cerrado goiano numa encruzilhada de tempos: os territórios em disputa e as novas territorialidades do conflito**. In: Revista Geográfica de América Central, Número Especial EGAL, Costa Rica, 2011.

- MORAES, L.M. **A segregação planejada**: Goiânia, Brasília e Palmas. Goiânia: Ed da UCG, 2003.
- MOREIRA, R. **Pensar e ser em Geografia**: ensaios de história, epistemologia e ontologia do espaço geográfico. São Paulo: Contexto, 2007.
- OLIVEIRA, F. **Crítica à razão dualista**. O ornitorrinco. São Paulo: Boitempo, 2003.
- PAVIANI, A. (Org.). **Brasília ideologia e realidade**: espaço urbano em questão. São Paulo: Projeto, 1985.
- RAFFESTIN, C. **Por uma Geografia do poder**. São Paulo: Ática, 1993.
- SILVA, C. A.. **Antigos e novos olhares viajantes pelas paisagens do Cerrado**. In: ALMEIDA, M. G. (Org.). *Tantos Cerrados*. Goiânia: Ed. Vieira, 2005. p. 21-43.
- SILVA, S. D. **Encontros e desencontros no Oeste**: reflexões teóricas sobre as demarcações simbólicas das comunidades ribeirinhas do Rio das Almas em Goiás, nas décadas de 1940 a 1950. *História Revista*, Goiânia: 2010. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/historia/article/view/9559/6612>>. Acesso em: Mar. 2013.
- SANTOS, M. **A urbanização Brasileira de Santos**. São Paulo: Editora Universidade de São Paulo, 2008.

CAETÉS, DE GRACILIANO RAMOS: A NARRATIVA EM QUESTÃO.*Michele Giacomet**

A sucessão das obras literárias romanescas, ao longo da história da literatura, se estrutura a partir de elementos de assimilação e/ou oposição e tentativa de reconstrução. A revisão e negação dos antigos paradigmas e a tentativa de reconstrução de novos moldes, sempre em relação aos anteriores, é que possibilita a renovação do gênero.

A partir desta relação de adesão/oposição/reconstrução a um outro sistema de regras formais e adoção de procedimentos criativos é que se pode conceber novas expectativas e, conseqüentemente, novos moldes a serem legitimados.

Dessa forma, em determinados momentos da história do romance, procedimentos narrativos utilizados em algumas obras mostram-nos que houve certa rejeição quanto a alguns pressupostos legitimados pela tradição, tais como: a tentativa de uma representação fiel da realidade; a imposição do tempo cronológico; narrativas lineares; personagens e espaço descritos com abundância de detalhes; entre outros. Tais procedimentos, que deflagram esta rejeição aos parâmetros anteriores, indicam não só insatisfação dos críticos e/ou escritores com os paradigmas vigentes, mas também denotam um momento de crise e, certamente, vêm alterar os referidos paradigmas.

Um desses procedimentos renovadores da técnica do romance é a utilização de personagens-escritores que se propõem a escrever um romance e que discutem no interior do próprio romance que estamos lendo, não só seu projeto ficcional, como aspectos diversos da literatura. Chamaremos este procedimento de “romance no romance”. André Gide⁸ denominou primeiramente *mise en abyme* esse tipo de procedimento. Lucien Dällenbach⁹, ao estudar minuciosamente a questão, atribui ao procedimento da *mise en abyme* a característica fundamental da reflexividade.

*Professora Doutora/UFG. Docente na Faculdade Alfredo Nasser (UNIFAN).

⁸ GIDE, André. *Journal 1889-1939*. Paris: Gallimard (Bibliothèque Pléiade), 1948, p. 41

⁹ DÄLLENBACH, Lucien. *Le récit spéculaire*. Paris: Seuil, 1977.

A obra, ao debruçar-se sobre si mesma, reflete acerca de sua existência, ou seja, revela ou desnuda seu processo de criação. A questão da *mise en abyme* coloca em relevo a problemática da composição romanesca, como também evidencia o confronto de poéticas, isto é, a ruptura resgata a tradição, dialoga com ela e por fim, a rejeita ou a acolhe. Tal procedimento permite delegar à obra literária que o contém um caráter não só reflexivo, como também de exposição do processo. O texto é o espaço para a atitude reflexiva: este pressupõe a prática, e a prática por sua vez, conduz à teoria, em um diálogo contínuo, efetivando-se assim a crítica do processo.

O procedimento da *mise en abyme* é capaz de instaurar a ambigüidade por meio da diluição de dois tipos de fronteiras: da fronteira entre a ficção e a crítica, da fronteira entre a realidade e a ficção, já que a literatura tem como preceito a ilusão de realidade. É como se, ao voltar-se sobre si mesma, tivesse também a ilusão de alcançar a sua verdadeira face, sondando seus limites. A atitude de se ver construindo e de construir é auto-consciente. No entanto, ao ver-se construindo ela se destrói, ou melhor, premedita a sua destruição. Dessa forma, coexistem, lado a lado, um ímpeto criativo, cosmogônico e um desejo de morte - apocalíptico.

A preocupação com a feitura do romance, sua finalidade; a relação entre a representação e o mundo fenomênico e os procedimentos adotados em sua composição tornam-se alvo de especulações não só da crítica literária, mas também matéria a ser desnudada e questionada dentro dos próprios romances.

Graciliano Ramos foi um dos pioneiros, no Brasil, no que tange ao problema do questionamento da escrita romanesca, por um personagem-escritor, inserido no próprio romance. O fato de ter utilizado o procedimento da *mise en abyme* em *Caetés*¹⁰ (1933) é um indício de que o escritor comungava com preocupações literárias no contexto mundial de sua época, levando-nos a pensar que ele se preocupava em renovar o gênero romanesco. Talvez, seja esta a razão pela qual o conjunto de sua obra - particularmente de seus romances - tenha causado

¹⁰ No presente estudo será utilizada a seguinte edição do romance de Graciliano Ramos: *Caetés* 24 ed. 1933. Todas as citações do romance de Graciliano Ramos serão retiradas desta edição. Para evitar remissão às notas, os números das páginas das citações serão colocados entre parênteses, logo após as mesmas.

tanto impacto: Graciliano foi uma espécie de precursor, na literatura brasileira, ao trazer para seus romances inquietações de críticos e teóricos da literatura no final do século XIX e no início do século XX.

Caetés, obra de Graciliano Ramos, através da inserção de um personagem-escritor, deflagra essa possibilidade de discussão e questionamentos acerca do processo de criação ficcional, bem como do gênero romanesco. Desse modo, rompe com paradigmas de seu tempo e promove a renovação do gênero romanesco.

O personagem-escritor, em *Caetés*, norteia a narrativa. O narrador é o protagonista. Portanto, a atitude narrativa assumida caracteriza, segundo Gerard Genette¹¹ (1995), o narrador autodiegético, ou seja, o narrador é o responsável pelo relato dos fatos.

Assim, esse estudo se propõe a analisar a obra *Caetés* de Graciliano Ramos sob dois aspectos: de que forma a inserção de um personagem-escritor deflagra os questionamentos acerca da escrita romanesca presentes na obra, bem como a tentativa de composição de um romance histórico no interior da obra Graciliana.

A presença de um personagem-escritor permite que o texto que escreve seja criticado, analisado e questionado no corpo do próprio texto. Tal procedimento traz como consequência fundamental para a narrativa a auto-reflexividade. A tentativa de confecção de um romance histórico pelo personagem-escritor João Valério é desnudada em processo, isto é, à medida que escreve justifica determinadas adoções, critica o que escreve e a linguagem que utiliza e ainda faz inferências sobre as dificuldades de se fazer um romance histórico.

Caetés conta a história de João Valério, guarda-livros e parte interessada em uma loja de derivados de cana-de-açúcar. O protagonista é apaixonado por Luísa - uma pequena burguesa interiorana, casada com Adrião, patrão de João Valério - e com ela tem um caso amoroso. João Valério, narra a própria história e é também um personagem-escritor que tem a intenção de escrever um romance sobre os índios *caetés*. Ao tentar escrever seu romance sobre esses

¹¹ GENETTE, Gerard. *Discurso da narrativa*. Lisboa: Vega, 1995.

índios atribui a si mesmo qualidades que, a seu ver, estão sendo desperdiçadas e que acha pertinentes ao ofício de escritor, como ele declara no início:

E eu, em mangas de camisa, a estragar-me no escritório dos Teixeira, eu, moço, que sabia de metrificação, vantajosa prenda, colaborava na *Semana* de Padre Atanásio e tinha um romance começado na gaveta. É verdade que o romance não andava, encrocado miseravelmente no segundo capítulo. Em todo o caso sempre era uma tentativa. (p. 13)

Embora João Valério acreditasse que possuía valorosos pendores literários, ele irá demonstrar, no decorrer da narrativa, como é difícil e árduo o ofício de escritor e, talvez seja este um dos motivos pelos quais nunca tenha terminado seu romance. Mas, afinal, então, por que escreve o protagonista? Ele mesmo nos dá sua justificativa:

E eu pensei que o conhecimento daqueles pequeninos bisões de terracota afeiçoados pelos dedos rudes de um bárbaro, há milénios, numa caverna lóbrega entre penhascos, era para mim aquisição preciosa. Talvez eu pudesse também, com exígua ciência e apurado esforço, chegar um dia a alinhavar os meus caetés. *Não que esperasse embasbacar os povos do futuro*. Oh! não! As minhas ambições são modestas. Contentava-me um *trunfo caseiro e transitório*, que impressionasse Luísa, Marta Varejão, os Mendonça, Evaristo Barroca. Desejava que nas barbearias, no cinema, na farmácia Neves, no café Bacurau, dissessem: "Então já leram o romance do Valério?" Ou que na redação da *Semana*, em discussões entre Isidoro e Padre Atanásio, a minha autoridade fosse invocada: "Isto de selvagens e histórias velhas é com o Valério". (p. 47. Grifos nossos)

Vemos, assim, que o personagem está muito mais preocupado com sua vaidade, do que em escrever uma obra de valor que representasse, de fato, uma real contribuição para o gênero que escolheu, e que ficasse para a posteridade.

Enquanto escreve, o personagem-escritor desenvolve a crítica do processo da escrita, expõe as dificuldades de se fazer um romance histórico quando não se conhece História, sobretudo quando não se conhece o fato que se quer explorar. As dificuldades de se fazer um romance histórico são colocadas em relevo na narrativa, então, por este instrumento do autor Graciliano Ramos, João Valério, o personagem-escritor.

No entanto, o romance de João Valério permanece apenas em sua imaginação. O romance que lemos é sem nenhuma dúvida, do autor Graciliano Ramos, já que ao longo do romance João Valério nos informa apenas sobre as dificuldades que teve ao tentar escrever certas passagens ao tratar de certos assuntos. Além disso, no final de *Caetés*, João Valério afirma que desistiu de escrever o romance:

Abandonei definitivamente os *caetés*: um negociante não se deve meter em coisas de arte. Às vezes desenterro-os da gaveta, revejo pedaços da ocara, a matança dos portugueses, o morubixaba de enduape (ou canitar) na cabeça, os destroços do Galeão de D. Pero. Vem-me de longe em longe o desejo de retomar aquilo, mas contendo-me. E perco o hábito. (p.214)

Segundo Tzvetan Todorov¹², em seu artigo “As Categorias da Narrativa Literária”, propõe que toda obra literária apresenta, de certa forma, repetições. Uma das formas de repetição é o paralelismo. O paralelismo é concebido a partir da evidência de pelo menos duas seqüências que apresentam componentes semelhantes e díspares presentes na obra literária. Além do paralelismo, a gradação também pode ser concebida como uma sorte de repetição. É a consequência natural dos fatos que a antecedem. As repetições dizem respeito também às antíteses, que são elementos de oposição presentes internamente nas obras literárias ou em relação a outras obras.

Portanto, recorrendo à proposição de Todorov, assinalamos a ocorrência de uma repetição por oposição: enquanto Graciliano Ramos finaliza o seu produto (objeto/livro) – *Caetés*, o personagem-escritor, João Valério abandona seu projeto de escrever um livro sobre os índios Caetés.

Dentre os aspectos da narrativa e as dificuldades de se escrever um romance histórico expostos por João Valério, podemos citar os seguintes: a questão da verossimilhança, a crítica à linguagem, a utilização do critério de verdade na literatura e a literatura como possibilidade de conhecimento histórico.

¹² TODOROV, Tzvetan. As Categorias da Narrativa Literária. In: *Análise estrutural da narrativa*. Petrópolis: Vozes, 1972.

O romance de Graciliano Ramos busca, na problematização da feitura do romance histórico, o alicerce que deflagra a crítica no que concerne a este tipo de romance. Seu alvo, ou melhor, seu objeto não é o resgate do fato histórico. A nosso ver, o fato histórico, em *Caetés*, é utilizado como estratégia pelo autor Graciliano Ramos para expor seu ponto de vista acerca do romance histórico; ele apropria-se da História oficial não para recriá-la, ainda que literariamente, mas para questionar aspectos diversos do romance histórico e, também, para levantar a problemática acima referida abordada por João Valério. Desta forma o personagem-escritor de *Caetés* converte-se em instrumento dessa especulação do autor: ele invade a História e dialoga com ela.

Um fato interessante, decorrente desse tipo parodístico de ficcionalização da História, diz respeito aos objetivos e intenções do autor e ao comportamento do leitor: o personagem fictício, imaginário, pode ser mais facilmente manipulado pelo autor, cujas intenções, por isso mesmo, tornam-se menos comprometedoras, devido à relativização, fazendo com que o personagem-escritor e/ou os personagens secundários ligados à questão da discussão ficcional tenham mais liberdade de expressão do que se tivessem encarnado um personagem histórico e coletivo. Neste sentido, o leitor identifica-se com esse personagem particularizado e imaginário. A proximidade entre eles é mais efetiva, já que um vulto histórico necessariamente acarretaria um certo distanciamento. O autor pode, então, expor ao leitor suas idéias, dúvidas e intenções, por meio do personagem-escritor. Assim, a transformação não só da História mas também do romance histórico tradicional, nesse tipo de narrativa literária, percorre o caminho da diluição - a dimensão histórica cede lugar e é assimilada pela ficção e pelos elementos romanescos.

A invasão da História, tal como se vê no romance histórico tradicional, pode dar-se também através da "infração" que, segundo Maria Teresa de Freitas, é concebida da seguinte forma: "os elementos históricos são deformados, deslocados ou simplesmente negligenciados pela ficção"¹³. Em *Caetés*, podemos observar que, ao tratar do fato histórico, o personagem-escritor age por meio de "infrações", às vezes, até mesmo levadas às últimas conseqüências. Assim, a incorporação do fato histórico se repete tanto paralelamente, quanto positivamente, de acordo com Tzvetan Todorov. O fato repete-se com semelhanças – porém o tratamento (narrativização) é abordado diferentemente. De fato, João Valério deturpa completamente a história dos índios Caetés, negligencia fatos, o que ele justifica pela sua falta

¹³ FREITAS, Maria Teresa de. *Literatura e História: o romance revolucionário de André Malraux*. São Paulo: Atual, 1986. p. 48.

de conhecimento histórico. Mas, já que sabemos ser João Valério instrumento das concepções do autor, não seriam estas infrações intencionais?

A presença destas infrações não pode, de forma alguma, ser considerada despreziosa. Elas são, para nosso estudo, muito significativas. Em primeiro lugar, temos uma adaptação do fato histórico - a existência e história da tribo dos caetés - à narrativa ficcional, ou seja, o fato se transforma em narrativa de ficção e é tratado obedecendo às regras internas do texto narrativo. Deste modo, surge o problema da relação entre o verídico e o verossímil.

O problema da verossimilhança suscita a questão da representação e do critério de verdade. Sabe-se que a representação fiel da realidade, através da escrita, não é possível. A ficção não tem compromisso com a realidade ou com a veracidade dos fatos. O modo de apreensão do real torna-se possível pelos meios e não pelo fim, ou seja, o produto supostamente real e verdadeiro importa menos do que a concepção desse produto enquanto apresentação filtrada pelo discurso literário. O mesmo se dá com o fato histórico. Segundo Tzvetan Todorov, “A história é uma abstração pois ela é sempre percebida e narrada por alguém, ‘não existe em si’”.¹⁴ Logo, a forma como é concebido esse fato em determinado contexto, sujeito a determinados moldes ou concepções, é que faz do fato histórico um fato crível.

Tzvetan Todorov assinala ainda, no artigo supra citado:

Ao nível mais geral, a obra literária tem dois aspectos: ela é ao mesmo tempo uma história e um discurso. Ela é história, no sentido em que evoca uma certa realidade, acontecimentos que teriam ocorrido, personagens que, deste ponto de vista, se confundem com o real. Esta mesma história poderia Ter-nos sido relatada por outros meios; por um filme, por exemplo; ou poder-se-ia tê-la ouvido pela narrativa oral de uma testemunha, sem que fosse expressa em um livro. Mas a obra é ao mesmo tempo discurso: existe um narrador que relata a história; há diante dele um leitor que a recebe. Neste nível, não são os acontecimentos relatados que contam mas a maneira pela qual o narrador nos fez conhecê-los. (p. 211)

¹⁴ Op. cit., p. 213.

O personagem-escritor, João Valério, ao inserir na narrativa o problema da verdade no resgate do fato histórico (a existência da tribo indígena *caetés* no Estado de Alagoas), para compor seu romance, atrai a atenção para a questão. Incorporar para criticar, este é o procedimento adotado pelo personagem-escritor, e ele mesmo faz a crítica do seu trabalho de escritor, de seu desconhecimento acerca do fato histórico e acerca da criação romanesca. Achamos importante transcrever as passagens que se seguem, apesar de longas, porque elas ilustram de maneira abrangente os aspectos discutidos neste parágrafo:

Também aventurar-me a fabricar um romance histórico sem conhecer história! Os meus Caetés realmente não têm verossimilhança, porque deles sei apenas que existiram, andavam nus e comiam gente. Li, na escola primária, uns carapetões interessantes no Gonçalves Dias e no Alencar, mas já esqueci quase tudo. (p. 19-20)

E descrevi um cemitério indígena, que havia imaginado no escritório, enquanto Vitorino folheava o caixa. Desviando-me de *pormenores comprometedores*, construí uma cerca de troncos, enterrei aqui e ali camucins com esqueletos, espetei em estacas um número razoável de caveiras e, *prudentemente*, dei a descrição por terminada. Julgo que não me afastei muito da verdade. Vi coisa parecida quando os trabalhadores da estrada de ferro encontraram no caminho do Tanque uns vasos que rebentaram. Havia dentro ossos esfarelados, cachimbos, pontas de flechas e pedras talhadas à feição de meia-lua. (p. 40. Grifos nossos)

Com a pena irresoluta, muito tempo contemplei destroços flutuantes. Eu tinha confiado naquele naufrágio, idealizara um grande naufrágio cheio de adjetivos enérgicos, e por fim me parecia um pequenino naufrágio inexpressivo, um naufrágio reles. E curto: dezoito linhas de letra espichada, com emendas. Pôr no meu livro um navio que se afunda! Tolice. Onde vi eu um galeão? Talvez fosse uma caravela. Ou um bergantim. Melhor teria feito se houvesse arrumado os caetés no interior do país e deixado a embarcação escangalhar-se como Deus quisesse.

E não sei onde se deu o desastre. Para os lados de São Miguel de Campos, ou Coruripe da Praia, por aí. (p. 42)

Tendo em vista os comentários por nós apresentados sobre as reflexões de João Valério a respeito da criação romanesca, e os exemplos supra citados, não concordamos com António Cândido¹⁵ quando afirma que *Caetés* é um mero exercício de técnica literária. Partilhamos da posição de Zênia de Faria que em seu artigo "A ficção como crítica"¹⁶ coloca *Caetés* em um patamar mais elevado do que aquele em que tem sido colocado: *Caetés* pode ser concebido como um exercício de crítica literária e de crítica à linguagem.

A referida autora verifica, em *Caetés*, algumas estratégias que permitem inferir tal afirmação tais como: o romance no romance presente na narrativa permite que o personagem-escritor João Valério faça sua auto-crítica e a crítica da escrita; a presença de personagens ligados à linguagem: escritores, jornalistas, literatos tornam propícia a discussão acerca da linguagem, seja por meio da crítica à escrita jornalística presente em *Caetés*, seja pela crítica à fala dos personagens. Zênia de Faria ressalta a ironia como um dos principais mecanismos que desencadeiam esta atitude crítica em *Caetés*. A ironia é utilizada inclusive como um instrumento de caricatura dentro do romance. Para a autora, é no fato de *Caetés* ter um romance no romance e questionar dentro e fora deste recurso estrutural aspectos diversos da literatura e do fazer literário que está sua grande modernidade.

Segundo Maria Teresa de Freitas¹⁷, a obra literária pode estabelecer dois tipos de relação com a realidade exterior: ela pode ser representativa, ou seja, aquela cujo referencial pode ser encontrado na realidade exterior, e pode ser ainda auto-representativa, que tem como referencial a si mesma, não tendo ligação com o suposto mundo real.

João Valério, enquanto personagem-escritor, parece não fazer uma distinção entre o signo e o objeto que, para ele, é como se fossem uma e a mesma coisa. Em outros termos, ele se refere às palavras que está utilizando para escrever, como se estas fossem objetos que está manuseando. Este fato torna o relato que ele faz do seu processo de escrita extremamente saboroso, humorístico. Esta passagem nos mostra, também, que João Valério não consegue transcender do fato à ficção:

¹⁵ CANDIDO, Antonio. Ficção e confissão: ensaios sobre Graciliano Ramos. Rio de Janeiro: Editora 34, 1992, p. 14.

¹⁶ FARIA, Zênia de. A ficção como crítica. Signótica, Goiânia, n. 3, p. 145-160, jan/dez. 1991.

¹⁷ Op. Cit., p.42.

Embrenhei-me novamente nas selvas. Li a última tira e balancei a cabeça, desgostoso. Catei algumas expressões infelizes e introduzi na floresta, batida pelo vento, uma quantidade considerável de pássaros a cantar, macacos e sagüis em dança acrobática pêlos ramos, cutias ariscas espreitando à beira da caiçara. Mas isto veio espremido e rebuscado. Tudo culpa do Pascoal.

De mais a mais a dificuldade era grande, as ideias minguadas recalcitavam, agora que eu ia tentar descrever a impressão produzida no rude espírito da minha gente pelo galeão de D. Pero Sardinha. Em todo caso apinhei os índios em alvoroço no centro da ocara, aterrorizados, gritando por Tupã, e afoguei um bando de marujos portugueses. Mas não os achei bem afogados, nem achei a bulha dos caetés suficientemente desenvolvida. (p. 41-42)

Para a autora de *Literatura e História*,

[...] não é ao conhecimento científico que visa a literatura; o objetivo do discurso literário é a produção da realidade estética, mesmo se ele se refere a fatos pertencentes à realidade prática ou científica. E realidade estética significa problematização da realidade objetiva, seja ela qual for; a literatura visaria então não apenas a *colocar* a presença das coisas, mas a *interrogar* essa presença, a colocá-la em questão; e uma das qualidades do texto literário está justamente na força desse questionamento.¹⁸

Portanto, o romance de João Valério pode ser considerado, segundo os pressupostos de Freitas, como uma obra auto-representativa, isto é, refere-se a um fato histórico, porém, objetiva uma realidade estética, interroga e problematiza esta realidade. Para Graciliano, o fato serviu para o questionamento da possibilidade ou não da abordagem do romance histórico, e - tal como essa abordagem foi conduzida pelo personagem-escritor -, das possibilidades da linguagem em apreender o mundo.

Dessa forma, os diferentes aspectos analisados permitem-nos constatar que *Caetés* não se limita apenas em narrar uma história. Parece-nos que, nesta narrativa, Graciliano pretendeu - entre outros aspectos relevantes - evidenciar vários de seus próprios questionamentos quanto à composição romanesca e quanto à feitura do romance histórico. A linguagem empregada nessa composição romanesca é um dos aspectos desse

¹⁸ Idem, ibidem, p. 42.

questionamento. Em *Caetés*, essa linguagem é criticada por meio da ironia, seja através do personagem-escritor, do personagem-narrador, ou de outros personagens que, de certa forma, também utilizam a linguagem como instrumento para compor seus escritos. Como um desses exemplos, podemos citar Padre Atanásio e Pinheiro que trabalham na confecção de *A Semana*, jornal hebdomadário local.

Observemos a seguinte passagem, cheia de humor irônico, em que o padre consulta a grafia de uma palavra:

O Diretor da *Semana* mourejava na extração de um dos seus complicados períodos, que ninguém entende. Tinha aberto o dicionário três vezes. Soltou o livro com desânimo, olhou de esguelha para a banca de Isidoro e perguntou em voz baixa:

- Eucalipto é com i ou com y? Estou esquecido, e o dicionário não dá.

- Eucalipto...eucalipto... respondi indeciso. Também não sei, Padre Atanásio. Ó Pinheiro, como é que se escreve eucalipto?

- Com p, ensinou Isidoro, solícito. Não é isso. Nós queremos saber se é com i ou com y.

- Deve ser com i. Ou com y. Uma das duas, penso eu. O y sempre é mais bonito. Para que eucalipto?

- Para plantar na beira do açude, explicou o vigário. Um conselho ao Prefeito. Faltava um pedaço da segunda página. (p. 27)

A transcrição do período acima permite o questionamento da linguagem utilizada na imprensa; a letra "y", utilizada na Língua Portuguesa na época da publicação de *Caetés*, denota a linguagem rebuscada e o preciosismo empregado nos escritos de *A Semana*. No entanto, o questionamento acerca de sua utilização, ou não, indica que havia uma certa polêmica em torno da questão, o que foi percebido pelo autor de *Caetés*, evidenciando mais uma vez o caráter especulativo do conjunto de sua obra, pois, o questionamento da língua formal é sem dúvida uma de suas preocupações.

O personagem Isidoro Pinheiro mesmo diz: "O y sempre é mais bonito [...]". Por meio da ironia e do humor, a linguagem é evidenciada e desencadeia uma série de reflexões: sobre o culto à erudição, às formas rebuscadas, à grafia clássica e arcaica. Até

mesmo o personagem-escritor tem atração pela erudição, sendo, por isso, também objeto de crítica. Sobre a escolha dos vocábulos empregados em seu romance, ele confessa: "O meu fito realmente era empregar uma palavra de grande efeito: tibicoara. Se alguém me lesse, pensaria talvez que entendo de tupi, e isto me seria agradável" (p. 40). Quando ouve uma palavra que lhe é desconhecida, trata logo de apropriar-se desta e de utilizá-la, como se isto pudesse produzir grande efeito em seu discurso, como é o caso de "irreprochável" (p. 75), que ouve no jantar em casa dos Teixeira.

Não é apenas João Valério que tem este fascínio pelo discurso pomposo e erudito. Outros personagens também demonstram este gosto pelo palavreado difícil, como é o caso do amigo Isidoro Pinheiro, ao elogiar as palavras do político Evaristo Barroca: "— Eu já li aquilo. Você sabe de quem é aquilo? / - O quê? A sã política? É dele, respondeu Isidoro. O Barroca tem inteligência, tem cultura" (p. 74). O Diretor da Semana também é adepto de tal gosto, como podemos observar no exemplo cheio de ironia a seguir. Nesse exemplo, vemos ironizado o gosto da preciosidade na escrita jornalística de veleidades literárias:

Enquanto as senhoras escolhiam, aproximei-me de Isidoro, olhei a notícia que ele preparava: "Deu-nos o prazer da sua encantadora visita a senhorita Josefa Teixeira, diletta filha do abastado comerciante e nosso particular amigo Vitorino Teixeira, que nos encantou em deliciosa palestra com os sublimados dotes do seu espírito." O noticiarista levantou a pena e atirou-me ao ouvido:

_ Este sublimados aqui não está mau, hem?

_ Está ótimo. Está igual ao Camões. Mas como você fez, parece que a conversa foi com o Vitorino.

_ Ora essa! Realmente, exclamou Isidoro desapontado. Desmanchar tudo!

_ Não é preciso, sussurrou Padre Atanásio, que se acercara, lera o período. Deite um ponto no Vitorino Teixeira, corte o que e meta depois a visitante. Pronto. A visitante sem vírgula, é melhor sem vírgula. Louvei sinceramente a inteligência de Padre Atanásio e aconselhei também.

_ Acho bom suprimir o encantou, que já há uma encantadora atrás. Ponha cativou, fica esplêndido. E a senhorita, risque a senhorita, para não rimar com visita. Escreva D. Josefa Teixeira, como nós chamamos. Deixe a senhorita para a outra. (p. 65)

Um elemento extratextual de suma importância toma seu lugar na continuidade da exploração do texto, o leitor. Instaura-se entre o autor e o leitor um "pacto narrativo" - em que, conhecimentos são supostamente partilhados pelo autor e pelo leitor -, já que a narrativa romanesca apresenta ao leitor conhecimentos que deveriam ter sido apreendidos previamente. A tarefa do leitor seria a de estabelecer um elo entre História e ficção, ou melhor, perceber até que ponto estas se fundem ou se afastam. Caberia, ao leitor, também, delimitar o que é fato histórico e o que é ficção. Leitor e autor atuam juntos, então, buscando os limites da narração. Freitas, ao refletir sobre essa problemática, comenta que

[...] não é apenas na coexistência mas também, é principalmente, na confrontação dos vários campos semânticos que se deve procurar a verdade artística. É na interação, na correlação recíproca dos dois planos, literário e histórico, que se poderá encontrar o sentido profundo desses romances híbridos, que não são apenas romances históricos, nem tampouco simples romances de aventuras, mas romances da aventura do indivíduo na História. É na confrontação do homem com a História que reside aqui o verdadeiro significado da transformação do acontecimento histórico em matéria literária.¹⁹ (grifos do autor)

Para ilustrar esta relação estreita que é estabelecida entre autor e leitor, que partilham conhecimentos e confrontam o plano literário e também o plano histórico, apontamos passagens que talvez exponham de maneira exemplar tal "pacto narrativo". Estas passagens referem-se ao último desabafo do personagem-narrador, em *Caetés*:

Não ser selvagem! Que sou eu senão um selvagem, ligeiramente polido, com uma ténue camada de verniz por fora? Quatrocentos anos de civilização, outras raças, outros costumes. E eu disse que não sabia o que se passava na alma de um caeté! Provavelmente o que se passa na minha, com algumas diferenças. Um caeté de olhos azuis, que fala português ruim, sabe escrituração mercantil, lê jornais, ouve missas. É isto, um caeté. Estes desejos excessivos que desaparecem bruscamente... Esta inconstância que me faz doidejar em torno de um soneto incompleto, um

¹⁹ Idem, ibidem, p. 51.

artigo que se esquiva, um romance que não posso acabar...O hábito de vagabundear por aqui, por ali, por acolá, da pensão para o Bacurau, da *Semana* para a casa de Vitorino, aos domingos pelos arrabaldes; e depois dias extensos de preguiça e tédio passados no quarto, aborrecimentos sem motivo que me atiram à cama, embrutecido e pesado... Esta inteligência confusa, pronta a receber sem exame o que lhe impingem...A timidez que me obriga a ficar cinco minutos diante de uma senhora, torcendo as mãos com angústia..Explosões súbitas de dor teatral, logo substituídas por indiferença completa...Admiração exagerada às coisas brilhantes, ao período sonoro, às miçangas literárias, o que me induz a pendurar no que escrevo adjetivos de enfeite, que depois risco...

[...]

Um caeté, sem dúvida. O Pinheiro é um santo, e eu às vezes me rio dele, dou razão a Nazaré, que é canalha. Guardo um ódio feroz ao Neves, um ódio irracional, e dissimulo, falo com ele: a falsidade do índio. E um dia me vingarei, se puder. Passo horas escutando as histórias de Nicolau Varejão, chego a convencer-me de que são verdades, gosto de ouvi-las. Agradam-me os desregramentos da imaginação. Um caeté.

[...]

Que semelhança não haverá entre mim e eles! Por que procurei os brutos de 1556 para personagem da novela que nunca pude acabar? Por que fui provocar o Dr. Castro sem motivo e fiz de um tacho ivirapema para rachar-lhe a cabeça?

Um caeté. Com que facilidade esqueci a promessa feita ao Mendonça! E este hábito de fumar imoderadamente, este desejo súbito de embriagar-me quando experimento qualquer abalo, alegria ou tristeza! (p. 218-219)

As citações supra citadas pressupõem uma analogia entre os índios Caetés e o metafórico caeté civilizado João Valério. Estas passagens induzem o leitor a refletir também sobre nossa civilização, que tem orgulho de suas conquistas, de seus bons modos, de sua inteligência superior e, no entanto, age de maneira selvagem e inescrupulosa.

Para desencadear esta atitude questionadora do leitor, o autor Graciliano Ramos utiliza-se do contraste irônico, e este, por sua vez, desencadeia a reflexão. A forma irônica como Graciliano Ramos conduz o romance através de João Valério nos faz refletir sobre a sociedade. O tema histórico introduzido na narrativa permite levantar um sem

número de questionamentos em torno do binômio ficção/História, desde a veracidade dos fatos narrados até o intuito do personagem-escritor ao narrar a história de determinada forma.

Podemos ainda constatar, em *Caetés*, a presença da paródia. Como se sabe, na paródia, a história repete-se com diferença, pela presença da ironia. Por esse recurso, o sinistro fato histórico, - a deglutição de Don Pero Sardinha pelos caetés - é concebido de maneira antes cômica e/ou caricatural pela deglutição de Luísa, pelo agora caeté João Valério:

De repente imaginei o morubixaba pregando dois beijos na filha do pajé. Mas, refletindo, compreendi que era tolice. Um selvagem, no meu caso, não teria beijado Luísa: tê-la-ia provavelmente jogado para cima do piano, com dentadas e coices, se ela se fizesse arisca. Infelizmente não sou selvagem. E estava ali, mudando a roupa com desânimo, civilizado, triste, de cuecas. (p. 20)

Percebemos aí mais uma repetição paralelística: o fato é recuperado (“a deglutição”), porém, utilizado, na narrativa, diferentemente. Assim, a história repete-se parodisticamente, dessacralizando-se; o objeto de desejo do devorador é que é deslocado para outro personagem: D. Pero é substituído por Luísa. O contraste irônico é que desencadeia a reflexão tanto sobre a sociedade dita civilizada, quanto sobre a sociedade dita primitiva e selvagem; uma e outra são questionadas. Esta constatação leva-nos a fazer nossa a afirmação de Maria de Lourdes Netto Simões: "A diferença induz à comparação e à reflexão crítica entre um e outro tempo."²⁰

Desta forma, são assinaladas diferenças temporais, sociais e culturais entre a época em que existiram os índios caetés, seus costumes e crenças e a época em que o personagem narra suas memórias, paralelamente à tentativa de escritura de seu romance histórico, época esta em que Luísa parece-lhe instintivamente atraente e corresponde aos seus desejos capitalistas de ascensão: beleza européia, costumes burgueses, portadora de posses e prestígio.

²⁰ SIMÕES, Maria de Lourdes Netto. *As razões do imaginário*. Comunicar em tempo de revolução 1960-1990 – A ficção de Almeida Faria. Salvador: Edittus, 1998, p. 129.

A heroína é descrita tal qual as "mocinhas" dos romances românticos de José de Alencar e da poesia romântica de Gonçalves Dias, aspectos criticados por Graciliano Ramos: "Tão linda, branca e forte, com as mãos de longos dedos bons para beijos, os olhos grandes e azuis..." (p. 13). Aliás, o ideal literário de João Valério parece ser romântico, como ele mesmo revela: "Li na escola primária uns carapetões interessantes no Gonçalves Dias e no Alencar, mas já esqueci quase tudo", (p. 20). Intaura-se, portanto, por meio da caracterização de Luísa, bem como por meio da referência feita aos autores românticos, a repetição por oposição. Tal repetição desencadeia o processo reflexivo: é estabelecido o contraste entre diferentes poéticas. Uma outra personagem é descrita segundo as feições ideais dos romances românticos, Marta Varejão, a afilhada e herdeira de D. Engrácia, com quem João Valério pensa por um instante se casar devido aos seus atributos:

Mas era bonita, e os bens da viúva davam-lhe encantos que a princípio eu não tinha descoberto.

Tocava piano. Naquele momento reconheci no piano um caminho seguro para a perfeição. Falava Francês. Não havia certamente exercício mais honesto que falar francês, língua admirável. Fazia flores de parafina. Compreendi que as flores de parafina eram na realidade os únicos objetos úteis. O resto não valia nada. (p. 35)

Podemos verificar na citação acima que, pêlos atributos de Marta, evidenciados por João Valério, ela encarnava a imagem da própria futilidade. O período é sarcástico, ironiza as mulheres de uma geração que não faziam mais do que ler romances, viver a sonhar com príncipes encantados, heróis com seus cavalos brancos e que lhe propiciassem uma vida glamorosa e luxuosa.

A reflexão acerca do fato histórico, ocorrido em um passado remoto, isto é, os costumes de uma tribo indígena antropofágica, faz-nos refletir também acerca da sociedade dita civilizada tal como é vista por João Valério, quando analisa a sociedade de Palmeira dos índios. O protagonista critica não só uma sociedade passada, mas a de sua própria época; parte de uma reflexão social para culminar em uma reflexão de ordem existencial apresentada no final do romance. Nessa ordem de idéias, parece-nos oportuno lembrar aqui o seguinte comentário de Freitas:

É a resposta metafísica da arte à História, que possibilita ao homem dominar o universo, submetendo-o a uma consciência privilegiada e sobreviver à morte, atingindo uma certa forma de permanência que ultrapassa o tempo e o espaço históricos.

A inscrição do texto literário numa situação histórica pode constituir num primeiro momento, um meio de oferecê-lo a uma abordagem sócio-histórica; a presença do acontecimento histórico na ficção literária torna possível uma tentativa de certo tipo de análise histórica - embora a obra não seja essa análise. Nessa perspectiva o texto literário pode ter um valor documental, importante para a História Social ou das Mentalidades [...].²¹

Embora tenhamos aludido, há pouco, à ironia em *Caetés*, parece-nos que esse recurso deve ser examinado mais longamente, dada a sua relevância nesta obra. Sobre a importância da ironia, em *Caetés*, António Cândido afirma: "É preciso ainda notar que, na obra de Graciliano, *Caetés* é o momento da ironia"²². Concordamos plenamente com esta afirmação e consideramos que este recurso do personagem-escritor, bem como do personagem memorialista, João Valério, é uma das principais estratégias discursivas que favorecem o aspecto crítico-reflexivo do romance.

Assim, João Valério ironiza os políticos, como o prefeito Fortunato Mesquita: "-Não possui talvez inteligência muito lúcida, mas o coração é de ouro. O protetor dos pobres, absolutamente desinteressado. Sem aludir à nobre parentela..." (p. 23). O personagem-escritor eufemiza a falta de inteligência do prefeito: "Não possui talvez inteligência muito lúcida [...]". E ainda deixa em suspenso, através das reticências, a idéia de que Fortunato provém de uma família influente. Tal pontuação (as reticências) confere à fala do personagem um tom irônico. João Valério, critica ainda, por meio da ironia, a feitura de sua própria composição romanesca, mostrando-se bem consciente de suas deficiências, e a sua inabilidade para o ofício de escritor:

²¹FREITAS, Maria Teresa de . op. Cit., p. 91.

²² CANDIDO, Antonio. Op. Cit., p. 20.

Caciques. Que entendia eu de caciques? Melhor seria compor uma novela em que arrumasse Padre Atanásio, o Dr. Liberato, Nicolau Varejão, o Pinheiro, D. Engrácia. Mas como achar enredo, dispor as personagens, dar-lhes vida? Decididamente não tinha habilidade para a empresa: por mais que me esforçasse, só conseguiria garatujar uma narrativa embaciada e amorfa. (p. 20)

Continuei. Suando, escrevi dez tiras salpicadas de maracás, igaçabas, penas de araras, cestos, redes de caroá, jiraus, cabaças, arcos e tacapes. Dei pedaços de Adrião Teixeira ao pajé: o beijo caído, a perna claudicante, os olhos embaçados; para completá-lo, emprestei-lhe as orelhas de Padre Atanásio. Fiz do morubixaba um bicho feroz, pintei-lhe o corpo e enfeitei-o. Mas aqui surgiu uma dúvida: fiquei sem saber se devia amarrar-lhe na cintura o enduape ou a canitar. Vacilei alguns minutos e afinal me resolvi a pôr-lhe o enduape na cabeça e o canitar entre parênteses. (p. 40)

Assim como ironiza os políticos, *Caetés* enfoca, a nosso ver, a sociedade burguesa, sobretudo, com o intuito de criticá-la. A sociedade é apresentada pelo personagem-escritor assim como pelo personagem-narrador, por meio da ironia. É o que Linda Hutcheon²³ chama de transcontextualização.

Sobre a utilização da ironia por Graciliano e a presença do espírito crítico em *Caetés*, o crítico Wilson Martins tece o seguinte comentário:

De Eça conservou o romancista brasileiro nesse primeiro livro apenas a forma exterior da frase, urna leveza bastante simpática de construção e uma atitude irônica com relação aos personagens e aos seus casos: Graciliano Ramos não é, em *Caetés*, o autor que sofre com os seus heróis, o homem que "acredita" no que inventa [...] mas apenas o observador que está um pouco acima e um pouco fora daquelas miúdas cogitações e que por isso pode manter perante elas, vivo e atilado o seu espírito crítico. Isso prejudicou o romance no aspecto fundamental, naquele aspecto que poderia ter feito dele o maior romance brasileiro e a obra-prima do escritor alagoano: o estudo do drama psicológico e sentimental de João Valério e de Luísa (Eça?)²⁴(grifo nosso)

²³ HUTCHEON, Linda. *Uma teoria da paródia: ensinamentos das formas de arte do século XX*. Lisboa: Edições 70, 1989, p. 19.

²⁴ MARTINS, Wilson. Graciliano Ramos, o Cristo e o grande Inquisidor. In: RAMOS, Graciliano. *Caetés*. São Paulo: Record, 1994, p.225.

Embora não possa deixar de ser percebida a ligação entre *O primo Basílio* de Eça de Queiroz e *Caetés* de Graciliano Ramos, a começar pelo nome da heroína, que repete-se por meio de paralelismo, não concordamos totalmente com a afirmação de Wilson Martins. Nossa discordância deve-se ao fato de, ao contrário do referido crítico, não considerarmos que "o estudo do drama psicológico e sentimental de João Valério e Luísa" tenha sido o objetivo primeiro do autor de *Caetés*. A nosso ver, a anedota, assim como a criação de um personagem-escritor são instrumentos dos quais o autor se serve para atingir sua intenção maior que, parece-nos, é fundamentalmente crítica. Por isso, a presença do espírito crítico e da ironia, em nossa opinião, são fundamentais pois, colocam em relevância certos aspectos definidores da ideologia do romance, tais como: a crítica à tentativa do romance histórico empreendida pelo personagem-escritor, a crítica à linguagem e a crítica à sociedade burguesa interiorana e aos personagens que são concebidos caricaturalmente.

Portanto, o que, para Martins parece prejudicial, para a concepção que temos desse romance, é essencial, isto é: a utilização da ironia como instrumento da crítica. A introdução do personagem-escritor, em *Caetés*, norteia a narrativa, no sentido de que é ele que determina: o que supostamente escreve (um romance histórico), o que narra e, sobretudo a forma como faz isto, ou seja, os meios que utiliza para colocar em evidência os aspectos que deseja abordar. Diríamos que a ironia e o humor neste caso são de importância capital.

Um fato que não poderíamos deixar de mencionar é a ligação do título do romance de Graciliano Ramos, *Caetés*, com o tema do romance do personagem-escritor, - que se refere aos índios caetés, considerados ferozes, brutos e antropófagos - bem como com os demais personagens, inclusive João Valério, considerados civilizados e educados. João Valério, ao final da narrativa, compara-se, e por extensão compara o homem civilizado a um índio Caeté, logo, a um selvagem. Desse modo, verificamos nesse fato, a ocorrência de paralelismo: componentes semelhantes, mas que apresentam funções operatórias diferentes na narrativa.

Tal fato remete-nos, inevitavelmente, ao Manifesto antropófago dos Modernistas, que elegeram um anti-herói - Macunaíma - para representar o povo brasileiro. O tema recorrente sobre o indigenismo repete-se por oposição em *Caetés*, porém, de uma

forma totalmente diversa da proposta de Alencar ou de Mário de Andrade. Peri é o herói idealizado, Macunaíma o avesso, e o Caeté, de João Valério, é o homem com todas as suas ambigüidades e dilemas. Poderíamos dizer que o mito amadureceu: o personagem consegue ter uma consciência crítica de si mesmo.

Por meio da revitalização do mito indígena (passado histórico) é questionado também o presente da narrativa. Dessa forma, estabelece-se uma repetição por paralelismo. Poderíamos dizer que os questionamentos do personagem-escritor são múltiplos. Porém, é o processo de escritura, ou melhor, a tentativa de João Valério de escrever um romance histórico é que deflagra os outros questionamentos: a sociedade, o comportamento burguês-interiorano, as estruturas de poder. O próprio homem e sua individualidade são questionados também.

Portanto, a forma de utilização das fontes históricas também é colocada em xeque. A literatura não seria também uma fonte de conhecimento histórico? Segundo Maria de Lourdes Netto Simões: "Ao retomar o passado remoto, o narrador busca a reflexão sobre o tempo presente"²⁵. Portanto, o conhecimento histórico se dá por meio da reflexão. Em *Caetés*, um fato passado - a deglutição de D. Pero Sardinha pelos índios caetés - faz repensar o presente. É isto que o personagem-escritor faz, estabelece um elo entre o passado e o presente.

²⁵ NETTO SIMÕES, Maria de Lourdes. Op. Cit., p. 118.

REFERÊNCIAS

- ARISTÓTELES. *Poética*. São Paulo: Cultrix, 1990.
- ARRIGUCCI, Davi. Convergências, divergências: o círculo e a espiral. In: *O escorpião encalacrado: A poética da destruição em Julio Cortazar*. São Paulo: Perspectiva, 1973. p. 167-209.
- BAKHTIN, Mikhail. *Questões de literatura e de estética: A teoria do romance*. São Paulo: Unesp/Hucitec, 1988.
- BARBOSA, João Alexandre. A modernidade do romance. In: *Leitura do intervalo*. São Paulo: Iluminuras, 1990, p. 119-131.
- _____. *As ilusões da modernidade*. São Paulo: Perspectiva, 1986.
- BARTHES, Roland et al. *Análise estrutural da narrativa*. Petrópolis: Vozes, 1971.
- _____. *Crítica e verdade*. 3 ed. São Paulo: Perspectiva, 1999.
- BOOTH, Wayne C. *A retórica da ficção*. Lisboa: Arcádia, 1980.
- BOURNEUF, R. & OUELLET, R. *O universo do romance*. Coimbra: Almedina, 1976.
- BRAYNER, Sônia (Org.) *Graciliano Ramos*. Fortuna crítica, 2. ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1978.
- BURKE, Peter. (Org.) *A escrita da história: novas perspectivas*. São Paulo: UNESP, 1992.
- CAMPOS, Haroldo de. *Metalinguagem & outras metas*. São Paulo: Perspectiva, 1992.
- CAMPOS, Haroldo de. *Ruptura dos gêneros na literatura latino-americana*. São Paulo: Perspectiva, 1977.
- CÂNDIDO, António. *Ficção e confissão: ensaios sobre Graciliano Ramos*. Rio de Janeiro: Editora 34, 1992.
- CRISTÓVÃO, Fernando Alves. *Graciliano Ramos - estruturas e valores de um modo de narrar*. Rio de Janeiro: INL/MEC, 1975.
- DÄLLENBACH, Lucien. *Le récit spéculaire*. Paris: Seuil, 1977.

DE MAN, Paul. La lectura y la historia. In: *La resistência de la teoria*. Madrid: Distribuidora Visor, 1990. p. 87-111.

FARIA, Zênia de. A ficção como crítica. In: *Signótica*, Goiânia, n. 3, p. 145-160, jan/dez. 1991.

FIGUEIREDO, Eurídice. La Réécriture de l'Histoire dans les romans de Patrick Chamoiseau et Silviano Santiago. In: *Métissages*. Québec, volume 25, n. 3, p. 27-38, hiver 1992-1993.

FREITAS, Maria Teresa de. *Literatura e história: O romance revolucionário de André Malraux*. São Paulo: Atual, 1986.

GARBUGLIO, José Carlos et alii. *Graciliano Ramos: Antologia e estudos*. São Paulo: Ática, 1997.

GENETTE, Gerard. *Discurso da narrativa*. Lisboa: Vega, 1995.

GIDE, André. *Journal 1889-1939*. Paris: Gallimard (Bibliothèque de la Pléiade), 1948, p.41.

HUTCHEON, Linda. *Narcissistic narrative: the metafictional paradox*. New York: Methuen, 1984.

_____. *Uma teoria da paródia: ensinamentos das formas de arte do século XX*. Lisboa: Edições 70, 1989.

JAKOBSON, Roman. Dois aspectos da linguagem e dois tipos de afasia. In: *Linguística e comunicação*. São Paulo: Cultrix, 1999. p. 34-62.

_____. Linguística e poética. In: *Linguística e comunicação*. São Paulo: Cultrix, 1999. p.118-162. KOSELLECK, Reinhart. História conceptual e História Social. In: *Futuro pasado para una semântica de los tiempos históricos*. Barcelona: Paidós, 1992. p. 105-126.

MARTINS, Wilson. Graciliano Ramos, o Cristo e o grande Inquisidor. In: RAMOS, Graciliano. *Caetés*. São Paulo: Record, 1994.

MOISÉS, Leyla Perrone. *Texto, crítica, escritura*. 2 ed. São Paulo: Ática, 1993.

MOURÃO, Rui.. *Estruturas - ensaio sobre o romance Graciliano*. Belo Horizonte: Tendência, 1969.

- RAIMOND, Michel. *La crise du roman*. Paris: Corti, 1985.
- RAMOS, Graciliano. *Caetés*. 24 ed. Rio de Janeiro: Record, 1994.
- RICOEUR, Paul. La marca del pasado. In: *História y grafia*, n. 13, México: UIA, 1999, p. 157-265.
- _____. Monde du texte et monde du lecteur. In: *Temps et récit 3*. Paris: Seuil, 1998, p. 284-328.
- _____. Para una teoría del discurso narrativo. In: *Semiosis*, México, n. 22-23, p. 19-42, jun/dez, 1989.
- ROSENFELD, Anatol. *Reflexões sobre o romance moderno*. In: *Texto / contexto*. 2. ed. São Paulo: Perspectiva, 1973. p. 75-97.
- SIMÕES, Maria de Lourdes Netto. Transgressão e conquista: O conquistador. In: *As razões do imaginário: comunicar em tempo de revolução. 1960-1990 - A ficção de Almeida Faria*. Salvador: Editus, 1998.
- TELES, Gilberto Mendonça. A escrituração da escrita. Uma leitura dos romances de Graciliano Ramos. In: *A escrituração da escrita*. Rio de Janeiro: Vozes, 1996, p. 397-420.
- TODOROV, Tzvetan. *As estruturas narrativas*. São Paulo: Perspectiva, 2003.
- _____. *Poética da prosa*. São Paulo: Martins fontes, 2003.

PARTE II
SAÚDE

AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DOS RINS DE CÃES NECROPSIADOS NO SETOR DE PATOLOGIA DA EVZ/UFG, BRASIL.

*Eric Saymom Andrade Brito*¹

*Moema Pacheco Chediak Matos*²

*Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura*²

As lesões renais são frequentemente observadas em cães durante a necropsia ou na avaliação histopatológica. As injúrias renais em cães são causadas por desordens de etiologia variada que induzem alterações estruturais e funcionais dos rins, diagnosticadas por meio do quadro clínico e da histopatologia (SPARGOS & HAAS, 1994). A doença renal crônica que resulta em insuficiência renal crônica é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em cães. Diversos estudos realizados em animais que apresentam mal renais apontam para a importância de identificar, compreender e controlar os processos que desempenham um papel na progressão desde o início até a fase final da insuficiência renal (SOUZA, 2011).

As lesões do trato urinário têm sido classificadas na literatura veterinária principalmente de acordo com sua distribuição e etiopatogênese (MAXIE & NEWMAN 2007, NEWMAN 2013, SERAKIDES 2010), associando-se a fatores clínico-epidemiológicos e às repercussões da ocorrência dessas lesões (COWGILL & ELLIOTT 2008, LULICH et al. 2008). Várias delas são consideradas achados incidentais de necropsia (MAXIE & NEWMAN 2007, NEWMAN 2013, SERAKIDES 2010), porém podem ser a causa da morte ou razão para eutanásia nessa espécie animal, muitas vezes associadas à insuficiência renal aguda ou crônica (FIGHERA et al. 2008, FLEMING et al. 2011).

¹ Médico Veterinário, Residente em Patologia Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

² Professor Doutor, Setor de Patologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

As enfermidades renais podem acometer os glomérulos, os túbulos, o tecido intersticial e/ou os vasos sanguíneos, e as afecções podem ter origem hereditário-congênita, infecciosa e tóxica (toxinas endógena ou exógena), ser imunomediada, por desequilíbrios eletrolíticos (hipercalcemia) e traumáticos (POLZIN, 2007). O rim é um órgão de múltiplas funções orgânicas (excretória, regulatória e biosintética) (POLZIN *et al.*, 2008) e, para preservar a homeostase, não é necessária a presença do número original de néfrons, mas sim o suficiente para manter as funções. A falência renal retrata a disfunção máxima do órgão, e a insuficiência renal designa os quadros em que há perda de função renal, mas há ainda a tentativa de compensação por meio da reserva funcional dos rins, da ativação dos mecanismos de hipertrofia de néfrons (POLZIN *et al.*, 2008; McGROTTY, 2008). Com isso surge a relevância em caracterizar e classificar as alterações patológicas dos rins.

A coleta de dados foi executada no Setor de Patologia Animal, na Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (SPA-EVZ/UFG), compreendendo o período entre agosto de 2013 e julho de 2014. O SPA-EVZ/UFG além de contribuir na formação acadêmica dos estudantes de medicina veterinária, com as cátedras de patologia geral, patologia veterinária, histopatologia e na pós-graduação, oferece o serviço de diagnóstico em patologia veterinária à comunidade em geral. Exames como análises de biópsia, necropsia, citopatologia são promovidos no setor, sejam de animais domésticos ou silvestres dando aos médicos veterinários, proprietários de animais de companhia e indústria pecuária, diagnósticos abrangentes e precisos. Está disponível, também, um serviço especializado de cremação animal, o CremaVet®, que representa uma alternativa frente ao enterramento convencional e ao descarte indiscriminado de resíduos biológicos. Ademais são conduzidas pesquisas em torno de enfermidades que acometem animais, melhoramento de métodos em diagnóstico, e condições que possuem impacto na saúde pública. Todas estas atividades são administradas e exercidas, atualmente, por um corpo docente que conta com o total de seis professores e um aluno de pós-graduação em residência em patologia animal, e dois servidores técnico-administrativos.

Os dados são provenientes da avaliação macroscópica e microscópica de rins de cães necropsiados pelo setor supracitado, assim como a classificação das eventuais lesões encontradas.

Os animais, em específico, são oriundos das aulas práticas e da rotina de atendimento do Setor, e foram discriminados a partir da epidemiologia (sexo, idade e raça). Em relação à idade, foram selecionadas faixas etárias, nas quais considera-se filhotes (cães com menos de um ano), adultos (até 9 anos) ou idosos (10 anos ou mais), conforme anteriormente realizado (FIGHERA *et al.*, 2008). Quanto à raça, foram fracionados em com raça definida (CRD) ou sem raça definida (SRD), análogo a levantamento prévio segundo INKELMANN *et al.*(2012).

A avaliação macroscópica dos rins, e ao ocorrer lesões, foram colhidas amostras teciduais, que em seguida eram acondicionadas em recipientes de boca larga, devidamente identificados, contendo solução fixadora aquosa de formol a 10%, neutro e tamponado. O material colhido permaneceu no mínimo 48 horas submerso no fixador, para adequada preservação das amostras. Na sequência, este foi processado e incluído em parafina de acordo com as técnicas rotineiras do Laboratório de Histopatologia, Setor Patologia Animal, EVZ/UFG. Cortes de 3µm foram confeccionados, distendidos sobre lâminas histológicas e corados pela técnica de hematoxilina e eosina, conforme descreve LUNA (1968). Para a leitura das lâminas foi utilizado microscópio óptico de campo claro, sendo as alterações histomorfológicas classificadas de acordo com critérios propostos por McGAVIN & ZACHARY (2013). No rim as lesões macroscópicas foram agrupadas e classificadas conforme apresentado no Quadro 1 e as lesões microscópicas no Quadro 2.

Os principais achados microscópicos são esplanadas e sempre que possível são feitas correlações com as alterações macroscópicas.

Análise dos dados

De um total de 77 cães necropsiados do período de doze meses (agosto de 2013 e julho de 2014) no SPA-EVZ/UFG, 53 apresentaram lesões renais, correspondendo a uma prevalência de aproximadamente 68,8%.

Os 53 cães, perfizeram um total de 186 lesões. Deste número, 140 (75,2%) são lesões microscópicas e 46 (24,8%) são macroscópicas. Na grande maioria dos casos, o mesmo animal apresentou no mínimo uma ou mais lesões.

No QUADRO 1 estão sumarizados as 46 lesões renais macroscópicas e classificadas conforme a sua distribuição e colocadas em ordem decrescente de prevalência. As informações no que concerne a sexo, raça e idade também estão tabuladas. No QUADRO 2 estão sumarizados as 140 lesões renais microscópicas e classificadas de maneira semelhante ao quadro 1.

Quadro 1 - Prevalência das lesões renais macroscópicas de 77 cães necropsiados no Setor de Patologia Animal EVZ / UFG entre o período de agosto de 2013 a julho de 2014, considerando gênero, raça e idade.

Lesões renais macroscópicas	Nº/%	Sexo	Raça	Idade
		F/ M	CRD/ SRD	FT/ AD / ID
Alterações de coloração	14*/30,5			
Palidez multifocal subcapsular	9 / 64,3	5 / 4	3 / 6	0 / 6 / 3
Lesões circunscritas puntiformes pálidas	2 / 14,3	2 / 0	2 / 0	0 / 2 / 0
Palidez difusa	2 / 14,3	1 / 1	2 / 0-	0 / 1 / 1
Coloração acastanhada difusa	1 / 7,1	0 / 1	1 / 0-	0 / 1 / 0
Distúrbios circulatórios	11*/23,9			
Petéquias	6 / 54,5	0 / 6	1 / 3	1 / 3 / 2
Congestão focal	3 / 27,3	1 / 2	2 / 1	0 / 2 / 1
Hemorragia focal	1 / 9,1	1 / 0	0 / 1	0 / 1 / 0
Hemorragia na gordura perirrenal	1 / 9,1	1 / 0	0 / 1	0 / 0 / 1
Alterações de consistência	10*/21,7			
Nodularidade da superfície capsular	7 / 70	3 / 4	1 / 6	0 / 7 / 0
Aderência capsular	2 / 20	1 / 1	2 / 0	0 / 2 / 0
Fibrose	1 / 10	0 / 1	0 / 1	0 / 1 / 0
Anomalias do desenvolvimento	5*/10,8			
Cisto de retenção	4 / 80	0 / 4	4 / 0	0 / 2 / 2
Hipoplasia renal unilateral	1 / 20	0 / 1	0 / 1	1 / 0 / 0
Lesões da pelve renal	4*/8,7			

Hidronefrose	3 / 75	2 / 1	2 / 1	0 / 3 / 0
Abscesso	1 / 25	1 / 0	0 / 1	1 / 0 / 0
Alterações de volume	2*/4,4			
Aumento de volume	1/50	1 / 0	1 / 0	0 / 1 / 0
Diminuição de volume	1/50	0 / 1	1 / 0	0 / 0 / 1
TOTAL	46			

F = fêmeas; M = machos; * = valor correspondente ao total de cada grupo; FT = filhotes; AD = adultos; ID = idosos; CRD = com raça definida; SRD = sem raça definida.

Tendo em vista as lesões macroscópicas, as alterações de coloração sobressaíram, possuindo um total de 14 ocorrências (30,5%), exibidas em ordem decrescente, por: palidez multifocal subcapsular (9), lesões circunscritas puntiformes pálidas (2), palidez difusa (2) e coloração acastanhada difusa (1). Os distúrbios circulatórios vieram logo em seguida contando com 11 ocorrências (23,9%), correspondentes, em ordem decrescente, a: petéquias (6), congestão focal (3), hemorragia focal (1) e hemorragia na gordura perirrenal (1). As alterações de consistência foram observadas em dez dos casos (21,7%), expostos em ordem decrescente: regiões puntiformes firmes (7), aderência capsular (2) e fibrose (1). As anomalias do desenvolvimento ocorreram em cinco dos casos (10,8%), mostrados em ordem decrescente, por: cisto de retenção (4) e hipoplasia renal unilateral (1). As lesões da pelve renal totalizaram quatro ocorrências (8,7%) representadas, em ordem decrescente, por: hidronefrose (3) e abscesso (1). As alterações de volume representaram 2 dos casos (4,4%), sendo exibidas, em ordem decrescente, como: aumento de volume (1) e diminuição de volume (1).

Quadro 2 - Prevalência das lesões renais microscópicas de 77 cães necropsiados no Setor de Patologia Animal, EVZ / UFG entre o período de agosto de 2013 a julho de 2014 considerando gênero, raça e idade.

Lesões renais microscópicas	Nº/%	Sexo	Raça	Idade
		F/M	CRD/SRD	FT/ AD / ID
Lesões túbulo-intersticiais	52*/37,1			
Nefrite túbulo-intersticial	21 / 40,5	10 / 11	8 / 13	4 / 13 / 4
Necrose tubular aguda	15 / 28,8	2 / 13	7 / 8	1 / 13 / 1
Pigmento biliar no epitélio tubular	10 / 19,2	2 / 8	4 / 6	1 / 9 / 0
Atrofia tubular focal	6 / 11,5	3 / 3	5 / 1	1 / 4 / 1
Distúrbios circulatórios	37*/26,4			
Congestão/Hiperemia	25 / 67,5	11 / 14	11 / 14	2 / 19 / 4
Hemorragia	12 / 32,5	6 / 6	4 / 8	1 / 8 / 3
Lesões Glomerulares	15*/10,7			
Glomeruesclerose	9 / 60	4 / 5	5 / 4	0 / 8 / 1
Glomerulonefrite	6 / 40	2 / 4	3 / 3	1 / 4 / 1
Fibrose renal	12*/8,5			
Fibrose Renal Focal	12 / 100	5 / 7	8 / 4	1 / 9 / 2
Lesões da pelve renal	10*/7,2			
Pielonefrite/Pielite	8 / 80	5 / 3	2 / 6	0 / 6 / 2
Abscesso perinefrético	1 / 10	0 / 1	0 / 1	1 / 0 / 0
Hidronefrose	1 / 10	0 / 1	1 / 0	0 / 0 / 1
Anomalias do desenvolvimento	6*/4,3			
Cistos renais	4 / 66,6	2 / 2	3 / 1	1 / 2 / 1
Hipoplasia renal unilateral	2 / 33,4	1 / 1	1 / 1	1 / 1 / 0
Mineralização	6*/4,3			
Nefrocalcinose focal	6 / 100	1 / 5	4 / 2	0 / 4 / 2
Neoplasias Renais	2*/1,5			
Mestastáticos/multicêntricos	2 / 100	0 / 2	2 / 0	0 / 2 / 0
TOTAL	140			

F = fêmeas; M = machos; * = valor correspondente ao total de cada grupo; FT = filhotes; AD = adultos; ID = idosos; CRD = com raça definida; SRD = sem raça definida.

A respeito das lesões microscópicas, as túbulo-intersticiais predominaram, totalizando 52 ocorrências (37,1%) representadas em ordem decrescente de prevalência, por: nefrite túbulo-intersticial (21), necrose tubular aguda (15), pigmento biliar no epitélio tubular (10) e atrofia tubular focal (6).

A seção dos distúrbios circulatórios representou 26,4% dos casos (37) das lesões renais. Tais lesões em ordem decrescente de ocorrência foram: congestão/hiperemia (25) e hemorragia (12).

A seção de lesões glomerulares contou com a significância de 10,7% dos casos, totalizando 15 observações dentre esses. Estas lesões em ordem decrescente de prevalência foram: glomeruloesclerose e glomerulonefrite, a primeira com 9 (60%) observações e a segunda com 6 (40%).

A fibrose renal focal aconteceu em 12 casos, significando 8,5% no total de lesões microscópicas renais.

As lesões da pelve renal ocorreram em 7,2 % dos casos (10) das quais em ordem decrescente de ocorrência tivemos: pielonefrite/pielite (8), abscesso perinefrético (1) e hidronefrose (1).

Dentre as anomalias do desenvolvimento, as quais ocorreram em 6 casos (4,3%), foram observados: cistos renais (4) e hipoplasia renal unilateral (2).

A nefrocalcinose focal foi observada em seis casos, tendo assim uma frequência de 4,3% no total de lesões renais microscópicas com 6 casos observados.

Quanto as neoplasias renais, os metastáticos/multicêntricos (2 casos), sendo estes um caso de metástase de carcinossarcoma e outro de sarcoma indiferenciado.

Na FIGURA 1 observa-se os principais achados de um cão que apresentava doença renal crônica, sendo relevantes alterações como a pielonefrite crônica e a fibroplasia local.

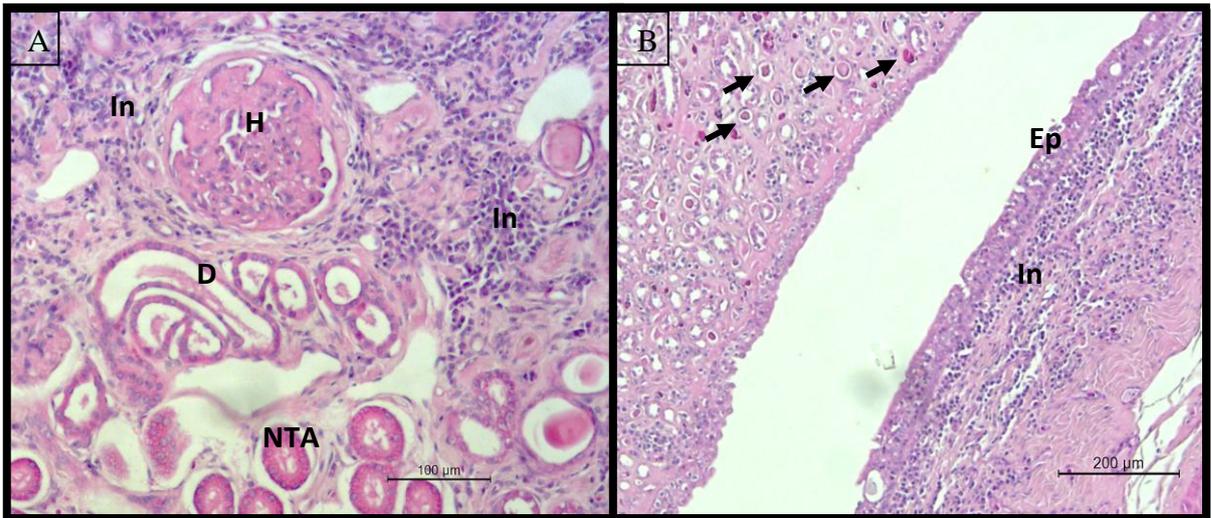


Figura 1. A Córtex renal: note a presença de glomérulo hialinizado(H), infiltrado inflamatório (In) linfoplasmocitário, em caso de nefrite intersticial crônica associada a fibroplasia, dilatação tubular (D) e necrose tubular aguda(NTA). B Pelve renal: Observe o mesmo infiltrado inflamatório(In) linfoplasmocitário na região subjacente ao epitélio pélvico(Ep), além da nefrocalcinose tubular multifocal (setas) na área pelve renal. H&E.

As lesões renais e a importância de seu diagnóstico

A partir do levantamento realizado deste estudo foi possível constatar que mais da metade do total de 77 cães submetidos a exame anatomopatológico em um período de 12 meses no SPA-EVZ/UFG, apresentou algum tipo de lesão renal, evidenciando assim a eventual importância da avaliação sistemática e criteriosa, do órgão em questão. Importância análoga a esse tipo de lesão fora observado por INKELMANN *et al.*, (2012) em estudo retrospectivo, o qual fez uma ocorrência de 73,8% de lesões renais. Ainda foi possível correlacionar à prevalência de tais lesões. Não foi possível, porém, elaborar uma significância clínica das lesões diagnosticadas nos rins, o que eventualmente seria trazido a conhecimento através da relevância das lesões como causas de morte espontânea ou razão de aplicação de eutanásia, por exemplo, uma vez que a disponibilidade de informações do histórico clínico era limitada em diversos dos casos. Sendo esta última, característica peculiar que foi limitante no momento de quantificar a importância clínica das lesões renais.

A nefrite túbulo-intersticial, aqui expressada pelo maior número de ocorrências das lesões microscópicas, concomitante com as lesões macroscópicas

de nodularidade da superfície capsular e palidez multifocal subcapsular, sendo esta última também de maior expressividade dentre as lesões macroscópicas, são agrupadas e classificadas como lesões típicas desta entidade de maior importância, caracterizada por um grupo de doenças inflamatórias que envolvem interstícios e túbulos (NEWMAN, 2013). Neste trabalho a nefrite-intersticial foi, em todas as ocorrências, caracterizada como crônica em sua duração, devido a achados descritos por NEWMAN (2013), como infiltrado celular mononuclear por vezes esparso ou focal, fibrose renal focal (medular e cortical), mutáveis graus de atrofia e/ou esclerose tubular e glomerular. INKELMANN *et al.* (2012) teve semelhante resultado e atribuí-o como grande maioria de achados incidentais de necropsia e não tendo etiologia específica determinada.

A necrose tubular aguda sendo a segunda alteração microscópica mais relevante está diretamente associada às alterações como ocorrências de pigmento biliar no epitélio tubular e atrofia tubular focal. Sendo estas alterações pertencentes às: uma das causas e uma das etapas de evolução da lesão, respectivamente, desta entidade, mesmo não sendo observadas de forma simultânea nos casos deste relato. Segundo NEWMAN (2013) a necrose tubular aguda é a causa mais importante de insuficiência renal aguda. É principalmente resultado da isquemia ou da lesão nefrotóxica aos túbulos epiteliais renais. Causas diversas como desidratação, hipoalbuminemia, arritmias, uso prolongado de fármacos anti-inflamatórios não esteroidais e antibióticos podem culminar nesse tipo de lesão (PIRANI *et al.*, 2008). Entretanto a determinação da causa da necrose tubular aguda, assim como a nefrite túbulo-intersticial, são de difícil constatação utilizando somente os achados microscópicos. Além de ratificar sobre a privação do histórico clínico, existe o fato da relação funcional interdependente dos componentes do néfron. Deste modo, lesões em porções inicialmente não afetadas pela injúria, se desenvolvem (POLZIN *et al.*, 2008). No exame macroscópico, o reconhecimento da necrose tubular aguda é em geral, difícil. Evidências como córtex edemaciado, a coloração variando de um mogno pálido a bege com a superfície capsular levemente translúcida, lisa e fina. A superfície de corte do córtex renal é saliente e as estriações estão abaladas ou acentuadas, opacas e esbranquiçadas (NEWMAN, 2013).

Em relação aos distúrbios circulatórios encontrados o que teve relevância destacada foram congestão/hiperemia sendo a primeira correspondente a um aumento do fluxo arterial sanguíneo e o segundo a um aumento no do sangue

venoso na vasculatura do rim (SERAKIDES *et al.*, 2010). A hiperemia renal é um processo bastante observado secundário à inflamação renal aguda o que foi observado em número reduzido dos casos deste estudo, geralmente associado à pielonefrite/pielite. A grande maioria dos resultados nessa categoria foram casos de congestão renal. Tal achado pode ser atribuído a razões fisiológicas, de forma passiva, secundário ao choque hipovolêmico ou à insuficiência cardíaca ou por hipostasia (NEWMAN, 2013).

Dentre as lesões glomerulares a glomeruloesclerose tomou evidência. Tal lesão se refere essencialmente a glomérulos não funcionais em resultado de um insulto grave e assim diminuem de tamanho e se tornam hipocelulares, e após o aumento do tecido conjuntivo fibroso, matriz mesangial e perda de capilares. A glomeruloesclerose é, também, considerada o estágio terminal de glomerulonefrite, ou seja, uma lesão crônica, o que vem a corroborar o alto número de lesões crônicas a nível túbulo-intersticial neste mesmo trabalho. Doenças sistêmicas como hipertensão arterial e diabetes mellitus são abordados como causas de glomeruloesclerose em cães, ambas com efeitos deletérios à saúde renal tais como hipertensão glomerular e microangiopatia imunomediada afetando a membrana basal, respectivamente (REGO, 2006).

Ainda retomando a alta incidência de lesões com caráter crônico, a fibrose renal teve um número relativo de observações. Segundo NEWMAN, (2013) é uma lesão mais observada em caráter secundário de uma lesão glomerular ou tubular preexistente, consistindo indício da fase de cicatrização desta lesão, por exemplo, a glomerulonefrite, nefrite túbulo-intersticial e necrose dos túbulos renais.

Dentre as lesões da pelve renal, pielonefrite/pielite teve a maior frequência observada. Em alguns dos casos de pielonefrite e de pielite havia a ocorrência de cistite. Nesses casos o mecanismo que vincula a ocorrência da pielonefrite é o refluxo urinário vesicouretral durante a micção, principalmente em decorrência da extensão de uma infecção do trato urinário inferior, o que leva a urina contaminada até a pelve renal (MAXIE & NEWMAN, 2007; SERAKIDES *et al.*, 2010).

As anomalias do desenvolvimento foram pouco prevalentes. Tal resultado não é surpreendente uma vez que tais alterações em geral não são frequentes em todas as espécies domésticas incluindo os cães (HÜNNING *et al.*, 2009).

A nefrocalcinose é uma evidência, também de lesão crônica ao rim, mais especificamente da entidade chamada insuficiência renal. A nefrocalcinose compreende um processo pelo qual o epitélio tubular renal é lesionado por um aumento no cálcio intracelular. O cálcio é precipitado na mitocôndria e nas membranas basais tubulares. Sendo assim uma das consequências da toxicose denominada uremia, resultado da insuficiência renal, que entre outras consequências, culmina na mineralização de tecidos moles, como estômago, pulmão, pleura e rins (NEWMAN, 2013). Nestes poucos casos observados a nefrocalcinose estava intimamente relacionada com ocorrências de nefrite túbulo-intersticial crônica. Lesões de veras do parênquima renal podem causar uremia devido à azotemia prolongada. Qualquer que seja a condição que leve à azotemia (pré-renal, renal ou pós-renal), a excreção de metabólitos fica comprometida e pode haver desenvolvimento de sinais clínicos e lesões extrarrenais de uremia (COWGILL & ELLIOTT, 2008)

No presente trabalho somente foram observados dois casos de neoplasias metastáticas. A maioria das neoplasias renais é metastática geralmente ocorrendo em um número duas vezes maior do que os primários no rim de cães, alcançando o órgão pelas vias hematogena ou linfática ou pode ocorrer invasão tumoral por extensão direta (MEUTEN, 2002; MAXIE & NEWMAN, 2007). O carcinossarcoma é uma neoplasia maligna mamária possuindo um componente epitelial (epitélio luminal e/ou mioepitelial) e se apresentam com diversos tipos de diferenciação (CASSALI *et al.*, 2014). No Setor de Patologia Animal EVZ/UFG um levantamento retrospectivo de tumores mamários diagnosticados demonstrou que o carcinossarcoma se sobressaiu com uma ocorrência de 22,54%, dentro da classe de tumores malignos (BRITO *et al.*, 2013), resultado semelhante de OLIVEIRA FILHO *et al.* (2010) em relação a maior prevalência do carcinossarcoma. O sarcoma indiferenciado foi diagnosticado, tendo em vista uma população de células neoplásicas mesenquimais, estas pobremente diferenciadas que infiltravam o parênquima renal. Meios diagnósticos, como a imunohistoquímica, são necessários para classificação da origem celular específica.

Quando analisados conjuntamente os cães com lesão renal, observou-se que houve predominância de cães SRD (54,7%) sobre os CRD (45,3%). Porém dados em relação às raças predominantes na população atendida pelo Setor de

Patologia Animal, são desconhecidas, impossibilitando assim uma análise correta deste parâmetro.

Um alerta pela vigilância a saúde do rim

A avaliação e classificação de lesões renais em 77 cães necropsiados no Setor de Patologia Animal da EVZ/UFG, no período de agosto de 2013 a julho de 2014 permitiu concluir que mais da metade desses cães apresentaram algum tipo de lesão renal. Aliado a tal prevalência é necessário um estudo sobre as raças predominantes na população de cães da área de abrangência atendida pelo Setor de Patologia Animal para uma comparação fidedigna deste parâmetro frente à análise de prevalência não só das lesões renais, assim como outras lesões.

As principais lesões renais diagnosticadas, em ordem decrescente de prevalência, foram: nefrite túbulo-intersticial, congestão/hiperemia, glomeruloesclerose, fibrose renal focal, pielonefrite/pielite, cistos renais, nefrocalcinose focal e neoplasias metastáticas/multicêntricas. As características epidemiológicas como sexo, raça e idade tiveram grandes variações de acordo com o tipo de lesão apresentada.

Tendo em vista o alto número de lesões consideradas um insulto crônico e até o ponto final comum de estágios de reparação é condizente afirmar que estes animais, ainda em vida sofreram com lesões renais ativas, mesmo que não signifique atingir a doença renal. Assim evidenciando a importância do seja diagnóstico ainda *in vivo* e de forma precoce da lesão renal, assim como o diagnóstico *post-mortem* da mesma.

REFERÊNCIAS

BRITO, E.S.A.; SANTOS, A.S.; SANTIN, A.P.I.; MOURA, L.R.; PORTO, R.N.G.; de MOURA, V.M.B.D. Avaliação retrospectiva de tumores mamários caninos encaminhados ao setor de patologia animal/EVZ-UFG no período de janeiro de 2007 até abril de 2013. In: XVI ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 16. 2013 Curitiba. Anais do XVI Encontro Nacional de Patologia Veterinária. São Paulo: Associação Brasileira de Patologia Veterinária, 2013.

CASSALI, G.D.; LAVALLE, G.E.; FERREIRA, E.; ESTRELA-LIMA, A.; DE NARDI, A.B.; GHEVER, C.; SOBRAL, R.A.; et al. Consensus for the diagnosis,

prognosis and treatment of canine mammary tumors-2013. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**. n. 7, v. 2, p. 38-69, 2014.

COWGILL, L.D.; ELLIOTT, D.A. Insuficiência renal aguda. In: ETTINGER S.J. & FELDMAN E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato**. 5 ed. Vol.2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.2008. p. 1701-1721.

FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M.; SILVA, M.C.; BRUM J.S.; GRAÇA D.L.; KOMMERS G.D.; IRIGOYEN L.F.; BARROS C.S.L. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense(1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 28, v. 4. p. 223-230, 2008.

FLEMING, J.M.; CREEVY, K.E.; PROMISLOW, D.E.L. Mortality in North American Dogs from 1984 to 2004: An investigation into age, size and breed-related causes of death. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 25, p. 187-198, 2011.

HÜNNING P.S.; AGUIAR J.; LACERDA L.A.; SONNE L.; OLIVEIRA E.C.; HAAS G.F. Displasia renal em um cão. **Acta Scientiae Veterinariae**.n. 37, v. 1, p. 73-77, 2009.

INKELMANN, M.A.; KOMMERS, G.D.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S.L.; SILVEIRA, I.P.; TROST, M.E. Neoplasmas do sistema urinário em 113 cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**.n. 31, v. 11, p. 1102-1107, 2011.

INKELMANN, M.A.; KOMMERS, G.D.; TROST, M.E.; BARROS, C.S.L.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; SILVEIRA, I.P. Lesões do sistema urinário em 1.063 cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**.n.32, v.8, p. 761-771, 2012.

LULICH J.P., OSBORNE C.A., BARTGES J.W. & LEKCHAROENSUK C. Distúrbios do trato urinário inferior dos caninos. In: ETTINGER S.J. & FELDMAN E.C. (Eds), **Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato**. 5 ed, v.2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 1841-1877.

LUNA, L. G. **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258p.

MAXIE, M.G. & NEWMAN, S.J. The urinary system. In: Maxie M.G. **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5 ed. Vol.2. Philadelphia: SaundersElsevier, 2007. p. 425-522.

McGAVIN, M.D; ZACHARY J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

McGROTTY, Y. **Diagnosis and management of chronic kidney disease in dogs and cats**. **Companion Animal Practice**, v.30, 2008. p.502-507.

MEUTEN D.J. Tumors of the urinary system. In: MEUTEN D.J. **Tumors in Domestic Animals**. 4ed. Ames: Iowa State Press, 2002, p. 509-546.

NEWMAN, S.J. O Sistema urinário. In: MacGAVIN M.D. & ZACHARY J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 592-662.

PIRANI, T.B. **Insuficiência renal aguda em cães**. Trabalho de conclusão de curso de Clínica Médica de Pequenos Animais, *Latu sensu*- Universidade Católica de Brasília, Ribeirão Preto, 2008.

POLZIN, D.J.11 Guidelines for conservatively treating chronic kidney disease. **Veterinary Medicine**, peer-reviewed, 2007, p.788- 799.

POLZIN, D.J.; OSBORNE C.A.; JACOB F.; ROSS S. Insuficiência renal crônica. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 1721-1751.

REGO, A.B.A.S. **Microalbuminúria em cães com insuficiência renal crônica: relação com pressão sanguínea sistêmica**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

SERAKIDES R. 2010. Sistema urinário. In: SANTOS R.L. & ALESSI A.C. (Eds), **Patologia Veterinária**. São Paulo: Roca, 2010. p. 291-336.

SOUZA, S.N. 2011. **Aplicação dos exames complementares no Diagnóstico da insuficiência renal crônica em cães**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

SPARGOS, B.H.; HAAS, M. The kidney. In: RUBIN, S.I.; FABER, J.L. **Pathology**. 2ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1994. p.804-865.

USO DO EXTRATO DE *Pterodon emarginatus* (SUCUPIRA BRANCA) NO CONTROLE DE SARNA SARCÓPTICA EM SUÍNOS.

Eric Saymom Andrade Brito¹

Adriana Marques Faria²

Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura³

Moema Pacheco Chediak Matos³

A SARNA SARCÓPTICA E A PRODUÇÃO DE SUÍNOS

São notáveis, durante os últimos anos, relevantes alterações nos sistemas de produção animal e no controle de doenças parasitárias que conduziram a premência de se compreender com maior rigor a distribuição e prevalência das ectoparasitoses. Boa parte destas alterações está associada ao aumento da produtividade, tais como a elevada densidade, animal em ambientes restritos e a redução da diversidade genética. As ectoparasitoses provocadas por artrópodes podem ter um impacto considerável na produtividade e no bem estar dos animais domésticos (COLEBROOK E WALL, 2004).

A sarna causada por *Sarcoptes scabiei* var. *suis* é uma doença comum na produção suína e a literatura mundial tem revelado uma elevada prevalência da doença (MERCIER *et al.*, 2002). No Brasil, um estudo de OLIVEIRA (2006) atribuiu a baixa prevalência (8 a 16%) da sarna sarcóptica a granjas de reprodutores de suídeos certificadas (GRSC) do estado do Paraná à baixa sensibilidade do teste empregado, que pode ter subestimado o número de casos. Em outro estudo realizado na região sul do país, (PAIVA *et al.*, 2006) identificaram a sarna sarcóptica em 82,3%, das 64 granjas analisadas. Em análise de granjas da microrregião de Goiânia, verificou-se a prevalência de 12,11% (SILVA, 2002). Trata-se de um parasita ubíquo, difícil de controlar, uma vez que todas as fases de vida do parasita são encontradas, quer nas galerias que escava na epiderme, quer à superfície da pele (SMETS e VERCRUYSSSE, 2000; MERCIER *et al.*, 2002).

¹Médico Veterinário, Residente em Patologia Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

²Mestra em Ciência Animal, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

³Professor Doutor, Setor de Patologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

A confirmação do diagnóstico da sarna sarcóptica requer vários critérios, dentre eles se destacam a sintomatologia clínica provocadas por lesões cutâneas e achados histológicos. Com relação ao critério histopatológico os principais achados são a dermatite perivascular superficial e profunda, associada a infiltrado mononuclear e grande número de eosinófilos, mastócitos, linfócitos, além de edema papilar e espongirose (PERESTRELO-VIEIRA, 2000; SOBESTIANSKY *et al.*, 2007; MACGAVIN *et al.*, 2009).

A UTILIZAÇÃO DE BIOPRODUTOS DO CERRADO

A importância econômica da doença nos suínos, está agremiado à diminuição da eficiência na produção (ELBERS *et al.*, 2000), aos custos adicionais no matadouro no caso das lesões severas na pele e ao uso contínuo de acaricidas nos animais afetados (VESSEUR *et al.*, 1998). Devido essa relação dos altos gastos e a necessidade de um alimento sem resíduos, o uso da fitoterapia tem ganhado destaque nas pesquisas e na rotina da produção. No cenário do cerrado encontramos espécies com propriedades aplicáveis ao tratamento da sarna: dentre elas o *Pterodon emarginatus*. O gênero *Pterodon* Vog. Das Dipteryxae (Fabaceae, Faboideae) compõem aproximadamente seis espécies que são distribuídas pelo Brasil e Bolívia (KIRKBRIDE *et al.*, 2003). A espécie *Pterodon emarginatus* conhecida popularmente como sucupira-branca ou faveira é uma espécie arbórea, nativa do cerrado brasileiro, podendo ser encontrada nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul, seu uso, destaca-se pela importância medicinal e florestal (LORENZI, 2002). Estruturas secretórias no pericarpo do *P. emarginatus* produzem e acumulam substâncias terpenóides, especialmente os diterpenos (FASCIO *et al.*, 1976) as quais demonstraram atividade biológica cercaricida e larvicida. O óleo das sementes apresentou atividade acaricida, anti-inflamatória e analgésica quando testada em roedores (DUARTE *et al.*, 1996; CARVALHO *et al.*, 1999; PAULA *et al.*, 2005). O extrato de sucupira, mesmo na condição de óleo bruto, apresenta potencial fungicida e bactericida, o que pode representar uma alternativa econômica e ecologicamente viável, pois o seu processo de obtenção utiliza apenas os frutos (favas), sem comprometer a sobrevivência das árvores. O objetivo do presente ensaio é de avaliar a atividade acaricida do extrato

de *Pterodon emarginatus* no tratamento e controle da sarna sarcóptica em sistemas de produção de suínos.

A partir do objetivo de avaliar a atividade acaricida do extrato de *Pterodon emarginatus* no tratamento e controle da sarna sarcóptica em sistemas de produção de suínos, seguiu-se a seguinte metodologia:

ELABORAÇÃO DOS EXTRATOS

A fase de extração, elaboração e padronização da concentração do óleo-resina de *Pterodon emarginatus* diluído em veículo específico qsp, foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia da UFG (LPPN/UFG). Foram realizados pré-experimentos (ensaio *in vitro*) onde se determinou que a melhor concentração do óleo resina de *Pterodon emarginatus* para a utilização no tratamento *in vivo* foi de 25%.

SELEÇÃO DOS ANIMAIS

Foram utilizados 12 animais em fase de reprodução, com peso em média 300 Kg, de uma granja comercial da região de Morrinhos, no Estado de Goiás. Estes foram escolhidos a partir da presença de sinais clínicos característicos da sarna e da presença do agente (*Sarcoptes Scabiei* var. *suis*). Os animais positivos para sarna e que apresentavam padrão de gravidade e distribuição de lesões semelhantes foram identificados e distribuídos aleatoriamente em três grupos de quatro animais, sendo controle negativo (G1), não tratado; controle positivo (G2), tratado com ivermectina; e tratado (G3), tratado com o óleo resina de *Pterodon emarginatus* diluído em veículo específico.

CLASSIFICAÇÃO DAS LESÕES

As lesões foram qualificadas e quantificadas a partir dos achados histopatológicos dos fragmentos de pele extraídos dos animais de cada grupo. Os parâmetros avaliados foram: dermatite perivascular superficial com infiltrado

linfocitário e eosinofílico, hiperemia, hemorragia, hiperqueratose e hiperplasia epidérmica, os quais foram quantificados em ausente, discreto, moderado e acentuado. A presença de ácaros e contaminações secundária, foram classificados em ausente e presente.

TRATAMENTO

O tratamento *in vivo* compreendeu a aplicação semanal num período total de quatro semanas do bioproduto à base de *Pterodon emarginatus* na concentração de 25%, no dorso dos animais e também naqueles que apresentavam lesões características de sarna sarcóptica.

COLHEITA E PROCESSAMENTO DE MATERIAL

Em todos os animais foram submetidos a biopsias de pele por punch de 5mm, realizadas imediatamente, antes e após o último dia de tratamento. Para tal procedimento foi efetuado bloqueio anestésico local com cloridrato de lidocaína a 1%. Após a coleta dos fragmentos de pele, esses foram acondicionados em frascos plásticos de boca larga com tampa, contendo formol tamponado a 10%, por um período de 48 horas. Posteriormente estes espécimes foram recortados, processados e incluídos em parafina, para obtenção de cortes de 5µm e corados em HE. A avaliação microscópica seguiu os critérios de GINN et al.(2007). O procedimento histológico foi realizado no Laboratório de Histopatologia do Setor de Patologia Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ-UFG). Laboratório este que além de oferecer o serviço de diagnóstico anatomopatológico para animais de companhia e exóticos, contribui para projetos de pesquisa associado ao programa de pós-graduação em Ciência Animal da EVZ-UFG.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as variáveis quantitativas que apresentaram distribuição normal utilizou-se ANOVA, com delineamento casualizado. Para as variáveis quantitativas que não apresentaram distribuição normal, optou-se pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (SAMPAIO, 1998) com auxílio do Software R.

RESULTADOS

A respeito do quadro clínico, observou-se nos animais uma redução na quantidade de crostas na região dorsal, no pavilhão auricular e axilas. O único grupo que apresentou agravamento no quadro clínico foi o grupo controle (G1), no qual se notou um aumento das crostas dos animais. Porém nenhum animal apresentou resolução do quadro clínico de sarna sarcóptica.

Quanto aos parâmetros da avaliação microscópica podemos aferir que a presença de hiperemia e hemorragia foram observadas na grande maioria dos fragmentos analisados. Em relação à hemorragia no G1 sua presença era 100% moderada, enquanto no grupo G2 era 75% discreto e 25% moderado, já em G3 era 100% discreta. Após os tratamentos G2 e G3 apresentaram tiveram redução na quantidade deste parâmetro. A hiperemia observada no grupo G1 25% discreta e 75% moderada. G2 e G3 50% discreta e 50% moderada. Os grupos G2 e G3 apresentaram redução da hiperemia ao final do tratamento. Não houve diferença ($P>0,05$) para esses parâmetros.

A presença de inflamação na derme superficial dos suínos foi bastante recorrente nos fragmentos de todos os tratamentos analisados. O infiltrado inflamatório linfocitário foi predominantemente moderado nos grupos G2 e G3. Em G1 foi 50% discreto e 50% moderado. Após os tratamentos o grupo G2 e G3 apresentou evidente redução na presença de linfócitos. O grupo controle negativo apresentou aumento desse infiltrado. A infiltração eosinofílica foi predominantemente moderada em todos os grupos antes dos tratamentos. Após os tratamentos, houve redução na presença de eosinófilos nos grupos G2 e G3. O grupo controle negativo apresentou aumento desse infiltrado após os tratamentos.

Com relação à hiperplasia epidérmica G1 apresentaram 75% discreto e 25% moderado, enquanto G2 25% discreto, 50% moderado e 25% acentuado. No grupo G3 se verificou 50% discreto e 25% para as quantificações moderado e acentuado. Nos fragmentos dos grupos G2 e G3 colhidos após o tratamento a alteração foi discreta na maioria dos fragmentos. No grupo controle negativo a hiperplasia epidérmica manteve-se discreta em 50% dos animais e moderada nos outros 50%. A hiperqueratose antes do tratamento em G1 foi de 25% discreta e 75% moderada. Em G2 foi de 100% moderada e em G3 apresentou-se 25% discreta e 75%

moderada. Após os tratamentos, os grupos G2 e G3 apresentaram hiperqueratose discreta. O grupo controle negativo não apresentou alteração na hiperqueratose nos fragmentos colhidos após o tratamento. Não houve diferença ($P > 0,05$) para hiperplasia epidérmica e hiperqueratose.

O ácaro estava presente em apenas 25% dos fragmentos dos grupos G1, G2 e G3, acompanhado de acentuado infiltrado inflamatório, hiperplasia epidérmica e hiperqueratose. Não foi observada a presença do ácaro em nenhum fragmento após os tratamentos. Não houve diferença ($P > 0,05$) para presença do ácaro.

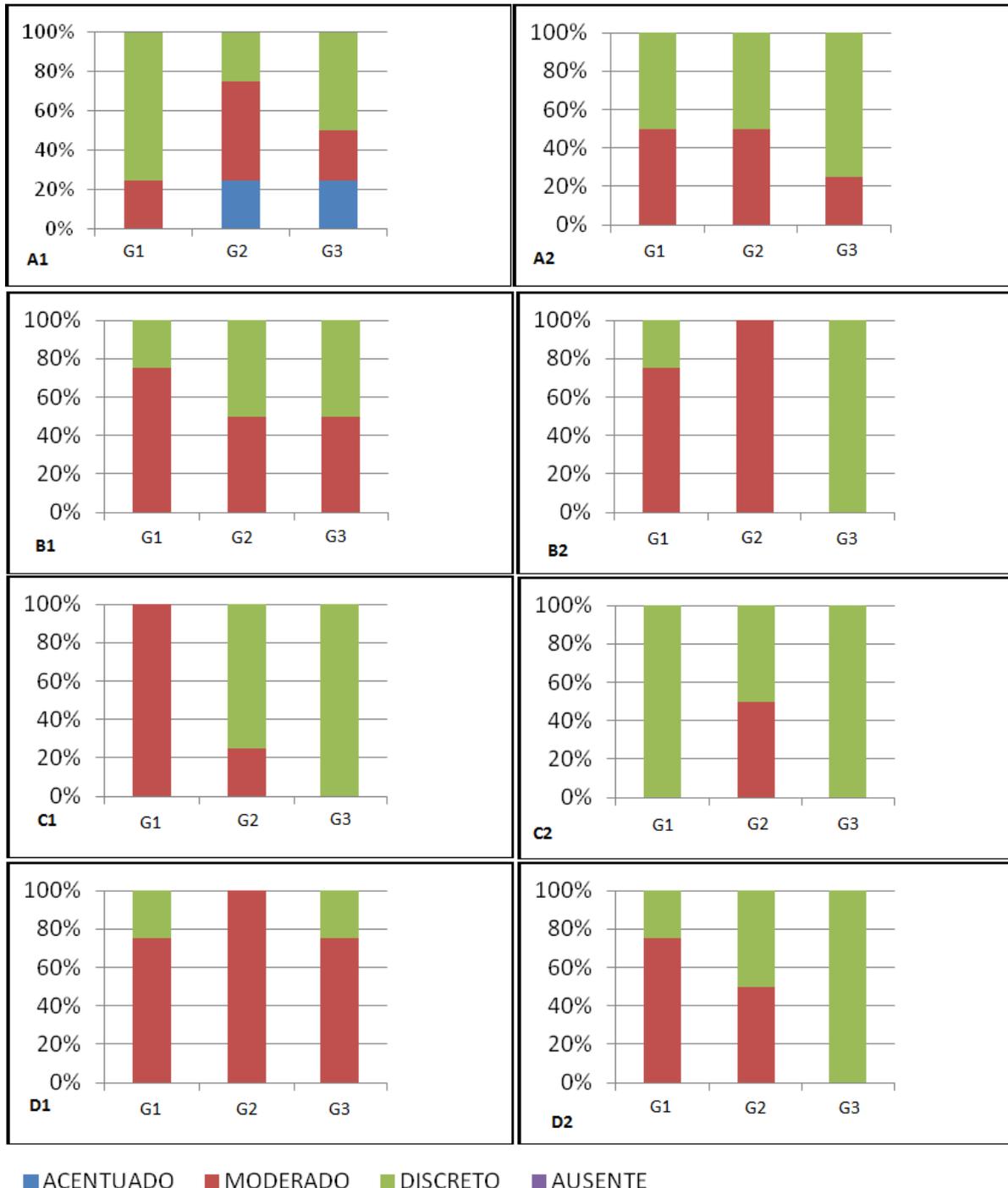


Figura 1: Escores histológicos avaliados pela coloração de HE em tegumento de suínos em fase de reprodução acometidos por sarna sarcóptica entre 03/09/2012 e 01/10/2012. A1: Hiperplasia epidérmica, antes dos tratamentos; A2: Hiperplasia epidérmica, depois dos tratamentos; B1: Hiperemia, antes dos tratamentos; B2: Hiperemia, depois dos tratamentos; C1:Hemorragia, antes dos tratamentos; C2: Hemorragia, depois dos tratamentos; D1: Hiperqueratose, antes dos tratamentos; D2: Hiperqueratose, depois dos tratamentos. G1: grupo controle negativo;

G2: grupo positivo ; G3: grupo tratado com óleo resino de *Pterodon emarginatus*.

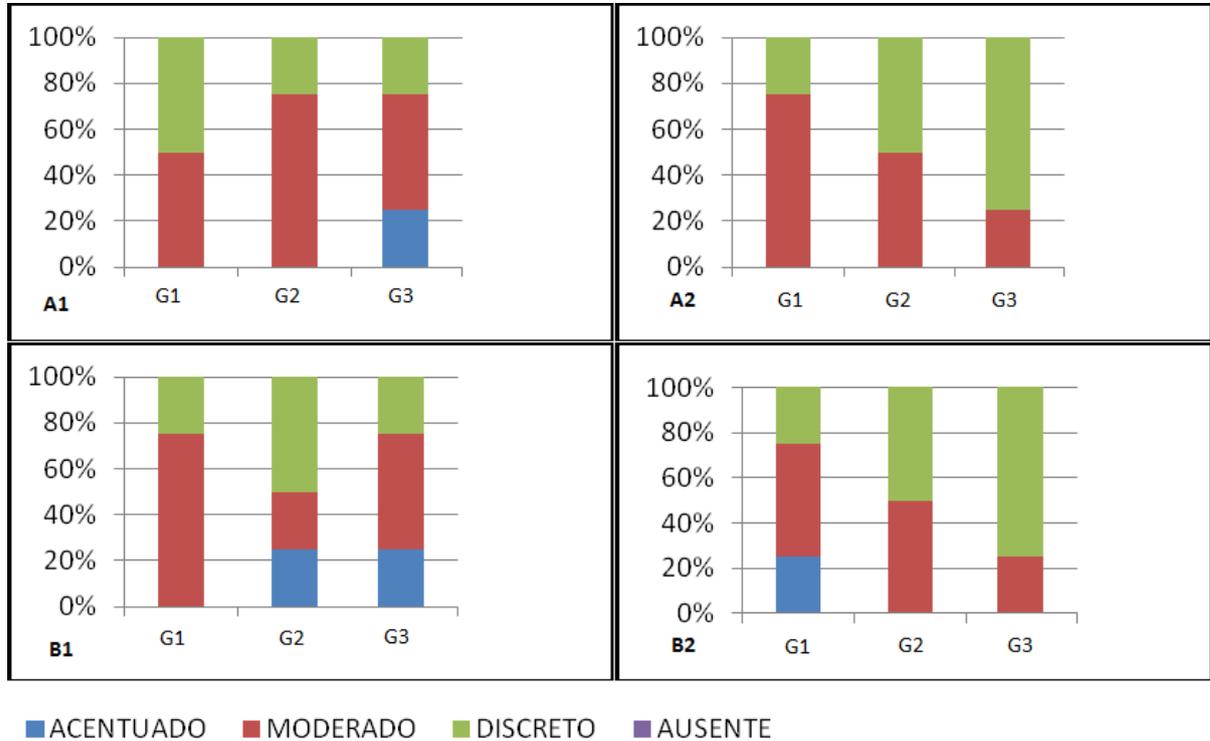


Figura 2: Escores histológicos avaliados pela coloração de HE em tegumento de suínos em fase de reprodução acometidos por sarna sarcóptica entre 03/09/2012 e 01/10/2012. A1: Infiltrado linfocitário, antes dos tratamentos; A2: Infiltrado linfocitário, depois dos tratamentos; B1: Infiltrado eosinofílico, antes dos tratamentos; B2: Infiltrado eosinofílico, depois dos tratamentos. G1: grupo controle negativo; G2: grupo controle positivo; G3: grupo tratado com óleo resina de *Pterodon emarginatus*.

DISCUSSÃO

Os animais do grupo tratado com do óleo resina de *Pterodon emarginatus* (G3) apresentaram melhora dos sinais clínicos e da injúria da pele por crostas hiperqueratóticas em diversas regiões do corpo. Foi caracterizado por WALTON *et al.* (2008) como uma síndrome clínica resultante onde o sistema imunológico falha em promover uma resposta efetiva e de controlar a infestação e assim prevenir

novas ocorrências da enfermidade. De acordo com este autor uma gama de respostas imunes está envolvida com esta síndrome, casos em que os animais são capazes de controlar a propagação do parasita, mas podem não ter imunidade suficiente para debelar a infestação. MORA (2008) caracterizou como rara a presença de *Sarcoptes scabiei* nas avaliações microscópicas no exame histopatológico, principalmente devido à presença reduzida do ácaro nesses animais.

No presente experimento, utilizou-se veículo específico contendo promotores de absorção, que não apresentaram efeitos deletérios aos animais e auxiliaram na absorção e na atuação do bioproduto testado. Segundo SMITH *et al.* (1995) a limitada permeabilidade da pele é um dos fatores que impedem uma maior utilização da via cutânea para à obtenção de efeito sistêmico. Os promotores químicos aumentam significativamente a penetração de substâncias através da epiderme, porém não devem causar irritação ou dano severo à pele.

O tratamento com Ivermectina mostrou discreta eficiência na redução de crostas no dorso e na redução do prurido. A Ivermectina tem sido usada com sucesso no tratamento da sarna sarcóptica que acometem os animais domésticos. O fármaco age interrompendo impulsos nervosos dos parasitos, causando paralisia e morte dos mesmos (VICTORIA e TRUJILLO, 2001). Existem diversos casos de resistência do ácaro *Sarcoptes scabiei* à Ivermectina e a dificuldade e eficácia limitada do tratamento pode estar relacionada à subdosagem ou a dificuldade do fármaco em atingir as crostas para eliminar o parasita do hospedeiro, com consequente resistência do micro-organismo ao produto acaricida (CURRIE, *et al.*, 2004; TEREDA, *et al.*, 2010).

Neste ensaio, a melhora no índice de prurido e do escore de dermatite observados decorrente da aplicação do Bioproduto à base de *P. emarginatus*, pode ser atribuída às propriedades terapêuticas dos compostos fenólicos e as substâncias terpenóides presentes no óleo resina de *P. emarginatus*. Estas propriedades já haviam sido relatadas por GALCERAN *et al.* (2011) que acrescentou também propriedades anti-inflamatórias e analgésicas ao bioproduto. Nos animais em fase reprodutiva, observou-se que além da redução no índice de prurido houve também redução na quantidade de crostas no dorso, região auricular e axilar. Segundo VIEGAS JUNIOR (2007) a ação acaricida conferida principalmente aos terpenos se

deve à capacidade de inibição da acetilcolinesterase nos parasitas-alvo, havendo indícios de que também atuam na inibição ou retardo no crescimento, aos danos na maturação, à redução da eficiência reprodutiva, à ação como supressores de apetite, podendo levar os artrópodes predadores à morte por inanição ou toxicidade direta dos compostos terpenoides. A avaliação microscópica de ambos os grupos demonstrou discreta alteração positiva dos parâmetros avaliados.

Assim, o tratamento com o bioproduto à base de *P. emarginatus* demonstrou ser eficiente no tratamento da sarna sarcóptica no presente ensaio. Porém foram evidenciados limitações no controle da doença. Pode-se inferir que com pequenos ajustes da formulação dos bioprodutos, estes sejam uma opção viável para o tratamento desta da sarna sarcóptica em suínos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Brasil é possuidor de uma flora que agrega diversidade e singularidades, que por sua vez é pouco conhecida cientificamente e utilizada. É neste ponto em que reside a importância no enfoque de estudos para caracterização e descobrimento de substâncias com propriedades terapêuticas. A partir desse trabalho foi possível avaliar o potencial terapêutico de uma espécie botânica originária do bioma do cerrado.

O estudo *in vivo*, utilizando-se os suínos em fase de reprodução evidenciou-se a atividade acaricida com elevada eficácia do óleo resina de *P. emarginatus*. A avaliação em caráter qualitativo demonstrou uma melhora eminente dos animais tratados, visto que o quadro clínico dos animais tratados apresentou notável recuperação.

Os resultados obtidos nos permitiram concluir que o bioproduto do cerrado testado, pode ser fonte de novas substâncias químicas com atividade acaricida e anti-inflamatória, demonstrando ser uma variedade natural ao tratamento ou mesmo complementar da sarna sarcóptica em suínos. Logo, sua fácil aplicação, ausência de toxicidade para os animais, a não obrigatoriedade de período de carência para o consumo alimentar e por não produzirem contaminação ambiental, são pontos

atrativos para a utilização destes bioprodutos além de aproximar as produções de suínos à sustentabilidade.

É indiscutível a amplitude do uso de tratamentos acaricidas convencionais tanto em animais de companhia em rebanhos. O resgate e o reconhecimento atual dos fitoterápicos alternativos para o tratamento de doenças surgiu com a necessidade de redução dos gastos e da diminuição da poluição ambiental. A etnoveterinária vem se destacando e trazendo soluções sustentáveis com alta eficácia como opção para o tratamento da sarna sarcóptica entre outras doenças.

A sarna sarcóptica representa um problema da saúde animal e humana no mundo atual, determinando não apenas efeitos deletérios como prejuízos econômicos. Admite-se que ainda há muito a ser pesquisado sobre os efeitos benéficos e novas utilidades para os produtos naturais e seus derivados. A continuidade das pesquisas farmacológicas e os ensaios a campo de bioprodutos constitui-se uma forma de agregar valor à flora fitoterápica nacional e garantir uma redução na quantidade de resíduos químicos gerados na produção animal. Assim estimular a utilização da extensa biodiversidade do país com responsabilidade sobre a degradação ambiental e poluição, ou seja, estimular o desenvolvimento sustentável.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, J. C.; SERTIÉ, J. A; BARBOSA, M. V.; PATRÍCIO, K. C.; CAPUTO, L. R.; SARTI, S. J.; FERREIRA, L. P.; BASTOS, J. K. Anti-inflammatory activity of the crude extract from the fruits of *Pterodon emarginatus* Vog. **Journal of Ethnopharmacology** v.64, p.127-133, 1999.

COLEBROOK, E. & WALL, R.; Ectoparasites of livestock in Europe and the Mediterranean region. **Veterinary Parasitology** v120, p 251-274, 2004.

CURRIE, B.J.; HARUMAL, P.; MCKINNON, M.; WALTON, S. F. First Documentation of In Vivo and In Vitro Ivermectin Resistance in *Sarcoptes scabiei*. **Clinical Infectious Diseases**. Chicago, v. 39, p. 8–12, 2004.

DUARTE, I. D. ; FERREIRA-ALVES, D. L.; VELOSO, D. P.; NAKAMURA-CRAIG, M. Evidence of the involvement of biogenic amines in the antinociceptive

effect of vouacapan extracted from *Pterodon polygalaeflorus* Benth. **Journal of Ethnopharmacology**, v.55, p.13-18, 1996.

ELBERS, A.R.W., RAMBAGS, P.G.M., VAN DER HEIJDEN, H.M.J.F., & HUNNEMAN, W.A. Production performance and pruritic behaviour of pigs naturally infected by *Sarcoptic scabiei* var. *suis* in a contact transmission experiments. **Vet Q**. v22(3), p145-9, 2000.

FASCIO, M; MORS, W.B. ; GILBERT, B. ;MAHAJAN, J.R. ;MONTEIRO, M.B. ; SANTOS FILHO, D. AND VICHNEWSKI, W.. **Diterpenoids furans from *Pterodon* species**. *Phytochem*. v15, p 201–203, 1996.

GALCERAN, C.B.; SERTIE, J.A.A.; LIMA, C.S.; CARVALHO, J.C.T. Anti-inflammatory and analgesic effects of 6a,7b–dihydroxy-vouacapan-17b-oic acid isolated from *Pterodon emarginatus*. *Vogel 1837 Vog. Fruits*. **Inflammopharmacology**. Dordrecht, v.19, p.139–143, 2011.

GINN, P. E.; MANSELL, J. E. K. L.; RAKISH, P. M. Mites. In: MAXIE, M. G. (Ed), **Jubb, Kennedy and Palmer’s Pathology of Domestic Animals**. United Kingdom:Saunders Elsevier: St. Louis, 2007. p. 719-728.

KIRKBRIDE, J.R. J.H; GUNN, C.R. AND WEITZMAN, A.L. **Fruits and seeds of genera in subfamily Faboideae (Fabaceae)**. *Tech Bull U S Dep Agric* 1890: 1-1212, 2003.

LORENZI, H 2002. **Árvores Brasileiras, manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Vol. 1, 4 ed, São Paulo, 242 p.

LUNA, L. G. **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258p.

MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009, p. 1199-1201.

MERCIER, P.; CARGILL, C.F.; WHITE, C.R. Preventing transmission of sarcoptic mange from sows to their offspring by injection of ivermectin. Effects on swine production. **Veterinary Parasitology**. Amsterdam, v.110, p. 25–33, 2002.

MORA, A. C. Raspado auricular para detección de sarna. **Suis** [online], 2008. Disponível em: <http://www.ivis.org/advances/suis/A5506.0511.ES.pdf?LA=2>. Acesso em: 10 ago. 2011.

OLIVEIRA, A. B.; BIONDO, A. W.; ALBERTON, G. C.; SANTIS, A. P. T.; VIANNA, G.N. O.; TEIXEIRA, M. A.; PIEPER, M. prevalência de *Sarcoptes scabiei* var. *suis* em granjas de reprodutores suídeos certificadas do estado do Paraná, no período de 2002 a 2004. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n. 2, p. 61-65, 2006.

PAIVA, D. P.; MORES, N.; SOBESTIANSKY, J.; DALLA COSTA, O. A.; BARIONI JUNIOR, W. Prevalência de sarna sarcóptica em suínos de terminação, da Região Sul do Brasil. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINARIOS ESPECIALISTAS EM SUINOS**, Belo Horizonte, MG. Anais... Concórdia:EMBRAPA-CNPSA, v.9. 2006.

PAULA, F. B. A.; GOUVÊA, C. M. C. P.; ALFREDO, P. P.; SALGADO, I. Protective action of a hexane crude extract of *Pterodon emarginatus* fruits against oxidative and nitrosative stress induced by acute exercise in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.5 , p.1- 9, 2005.

PERESTRELO-VIEIRA, R.; SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.; PERESTRELO-VIEIRA, H. **Doença dos Suínos**. Goiânia: Publicações Ciência e Vida, p. 424-426, 2000.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária, p. 221, 1998.

SMITH, E.W., H.I. MAIBACH “Percutaneous Penetration Enhancers: The Fundamentals” em **Percutaneous Penetration Enhancers** (Smith, E.W. & H.I. Maibach ed.). CRC Press, New York, Cap. 1.1, p. 1-4. 1995.

SOBESTIANSKY, J.; LINHARES, G. F. C.; MORENO, A. M.; MATOS, M. P. C. Ectoparasitoses In: SOBESTIANSKY, Y.; BARCELLOS, D., **Doenças dos suínos**.Goiânia: Canône Editorial, 2007, p. 335-351.

SILVA, E. V. **Avaliação de três métodos de diagnóstico e determinação da prevalência de Sarna sarcóptica em suínos mantidos em criações intensivas na microrregião de Goiânia – GO – Brasil.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2002.

SILVA, I.D.; TAKATSUKA, F.S.; ROCHA, M.R.; Cunha, M.G. Efeito do extrato de sucupira (*Pterodon emarginatus* Vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical.** Goiânia: 35 (2): 109-115, 2005.

SMETS, K. & VERCRUYSSSE, J. Evaluation of different methods for the diagnosis of scabies in swine. **Veterinary Parasitology.** v90, p. 137-134, 2000.

TERADA, Y.; MURAYAMA, N.; IKEMURA, H.; MORITA, T.; NAGATA, M. *Sarcoptes scabiei* var. *canis* refractory to ivermectin treatment in two dogs. **Veterinary dermatology.** Tokyo, v. 21, p.608-612, 2011.

WALTON, S.F.; BEROUKAS, D.; ROBERTS-THOMSON, P.; CURRIE, B.J. New insights into disease pathogenesis in crusted (Norwegian) scabies: the skin immune response in crusted scabies. **British Journal of Dermatology.** Londres, v.158, p.1247–1255, 2008.

VIEGAS-JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova.** São Paulo, v. 26, p. 390-400, 2003.

VESSEUR, P. C., RAMBAGS, P. G. M. & VAN DER HEIJDEN, H. M. J. F. *Sarcoptes scabiei* var. *swis* and eradication on seven combined farrow to finish farms, the base for an eradication programme. **Proceedings of The 15th IPVS Congress,** Birmingham, England, 5-9 July. p. 121, 1998.

VICTORIA, J, TRUJILLO, R. Topical ivermectin: A new successful treatment for scabies. **Pediatr Dermatol .**v18:p. 63–65. 2001.

PERCEPÇÃO DO PROFISSIONAL FARMACÊUTICO SOBRE A POLÍTICA NACIONAL DE MEDICAMENTOS: CONTEÚDO E PROCESSO DE IMPLEMENTAÇÃO.

*José Natal de Souza **

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS), durante a 30^a Assembleia Mundial, em 1977, aprovou a meta “Saúde para todos no ano 2000” e recomendou a realização de uma Conferência Mundial para o intercâmbio de experiências em matéria de desenvolvimento de cuidados primários de saúde (OMS/Unicef, 1978).

Essa decisão foi concretizada com a realização da Conferência Mundial sobre Atenção Primária em Saúde, realizada em Alma-Ata, URSS, atual União Soviética, em 1978, com a participação do United Nations Children’s Fund (Unicef), onde se ratificou a meta de ‘Saúde para todos’ e a atenção primária como uma estratégia fundamental para alcançar essa meta, fato que tem uma repercussão muito importante no desenvolvimento da Assistência Farmacêutica no mundo.

Com o objetivo de apoiar os países no cumprimento dessas recomendações, foi criado, em 1981, o Programa de Ação de Medicamentos da OMS. A missão deste programa é diminuir a morbi-mortalidade das doenças mais comuns, e para isso propõe colaborar com países em desenvolvimento, contribuir na implementação tanto de políticas nacionais de medicamentos quanto de programas que garantam equidade e acesso aos medicamentos essenciais, bem como assegurem sua qualidade e seu uso racional.

* Mestre em Ciência Política/UNIEURO. Professor de Farmacologia, Toxicologia, Epidemiologia, Homeopatia/UNIFAN. Professor de Farmacologia/FAMED-UNIRV.

Em 1990, a Lei nº 8.080 de 19 de setembro – Lei Orgânica da Saúde – e a Lei nº 8.142 de 28 de dezembro regulamentam as determinações da Constituição de 1988 e consagram os princípios de descentralização das ações e serviços de saúde e de municipalização da gestão, definindo papéis e atribuições dos gestores nos três níveis de atuação.

Historicamente, a atenção à saúde no Brasil tem investido na formulação, implementação e concretização de políticas de promoção, proteção e recuperação da saúde. Há, pois, um grande esforço na construção de um modelo de atenção à saúde que priorize ações de melhoria da qualidade de vida dos sujeitos e coletivos.

Com o movimento da reforma sanitária e a Constituição Federal de 1988, a saúde tornou-se um direito de todos e dever do estado. Incluída neste contexto encontra-se a Assistência Farmacêutica, que ganhou maior ênfase com a desativação da Central de Medicamentos em julho de 1997 e a publicação da Política Nacional de Medicamentos em outubro de 1998, através da Portaria nº 3.916/98. 6,16

A necessidade de promover a melhoria das condições da assistência à saúde da população e para a consolidação do Sistema Único de Saúde, contribuindo para o desenvolvimento social do país, fez merecer a publicação de uma Portaria Ministerial no final de 1998 que traçou a Política Nacional de Medicamentos. Esta Política configura e explicita uma série de decisões de caráter geral adotadas pelo poder público e que aponta aos rumos e linhas estratégicas de atuação a serem seguidas na condução da matéria.

Com as novas transformações científicas e com a chegada de uma era globalizada, o farmacêutico precisou além de atualização constante, aumentar o seu círculo de responsabilidades, uma vez que a saúde pública demanda a utilização de medicamentos e seus usuários necessitam cada vez mais de um acompanhamento individualizado. A questão é que, em função do aumento do consumo desordenado de medicamentos, a responsabilidade do profissional farmacêutico também tende a aumentar.

Fazer Análise de Política é descobrir o que os governos fazem, porque fazem e que diferença isto faz. Isto demonstra a importância deste estudo, com um enfoque comportamental, sobre como a Política Nacional de Medicamentos está sendo recebida ou percebida pelo profissional farmacêutico, e se há efetividade enquanto Política de Saúde Pública.

Assim, o artigo busca a percepção do profissional farmacêutico sobre a Política Nacional de Medicamentos no Sistema de Saúde. Visa também, entender ou identificar como está o desempenho desta Política Pública diante do usuário final. Mais especificamente, o que este profissional percebe, através de sua experiência, sobre o conteúdo e o processo de implementação da Política Nacional de Medicamentos.

PORCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Muito embora a metodologia clássica utilizada por várias décadas na pesquisa antropológica tenha conseguido resultados positivos e de grande importância para a compreensão dos grupos humanos, a teoria das representações sociais – elaborada por Serge Moscovici – será utilizada aqui como um instrumento metodológico eficaz para a coleta, a análise dos dados e tendo com objetivo final o entendimento das relações sociais e culturais estabelecidas coletivamente entre os indivíduos.

As representações sociais têm três funções básicas: função cognitiva de interação, função de interpretação da realidade e função de orientação das condutas e das relações sociais. Essas três funções articuladas (e caracterizadas como representações sociais que são) permitem aos indivíduos, integrantes de grupos sociais específicos, terem um entendimento com a realidade que os cerca e com a qual, de algum modo, convive ou se relaciona. Com base nelas podem interpretar a realidade a partir do seu conhecimento, por permitir que eles a relacionem com fatos e situações que já avaliam, sendo capazes de conformar novas percepções e formas de agir quando depararem com novas situações e relações sociais.

As representações sociais podem ser definidas como “imagens construídas sobre o real”, elas são elaboradas na relação dos indivíduos em seu grupo social, na ação no espaço coletivo comum a todos, sendo assim, diferente da ação individual.

A pesquisa qualitativa em saúde trabalha com o universo de significados, motivações, aspirações, crenças, valores e atitudes, o que corresponde a um espaço mais profundo das relações, dos processos e dos fenômenos que não podem ser reduzidos à operacionalização variável.

Neste estudo utilizamos como método a pesquisa qualitativa, que abarca percepções, conhecimento, sentimentos e compreensão dos profissionais farmacêuticos participantes, com base na técnica de grupo focal. Em primeiro momento, como parte exploratória, foi feita uma entrevista semi-estruturada individual, com profissionais farmacêuticos, atuantes em diferentes setores, com experiência de no mínimo seis anos com a Política Nacional de Medicamentos.

A escolha desses profissionais deveu-se fundamentalmente à sua visão sistêmica do universo de atuação do profissional farmacêutico, constituindo um grupo de pessoas capazes de fornecer as informações necessárias à consecução do estudo. A coleta de dados, através da entrevista semi-estruturada, objetivou abranger vários setores do universo farmacêutico, tais como: 1) supervisor de uma rede de drogarias-setor privado; 2) docente de uma Instituição de Ensino Superior, responsável pela matéria; Atenção Farmacêutica- Setor Acadêmico; 3) diretor de uma Entidade de classe representativa; 4) funcionário do Ministério da saúde do Departamento de Assistência Farmacêutica- Setor Público.

Para a coleta de dados, que se deu entre o dia 21/09/2014 a 28/10/2014, foi elaborado um instrumento de pesquisa, a partir de entrevistas organizadas com questões semi estruturadas, garantindo assim um roteiro pré-estabelecido com o tema em foco que garantisse a livre expressão dos pesquisados. Esses dados passaram sob o crivo da Análise de Conteúdo.

A principal vantagem da entrevista aberta e também da semi-estruturada é que essas duas técnicas quase sempre produzem uma melhor amostra da população

de interesse. As respostas espontâneas dos entrevistados e a maior liberdade que estes têm podem fazer surgir questões inesperadas ao entrevistador que poderão ser de grande utilidade em sua pesquisa.

As entrevistas com grupos focais é uma técnica de coleta de dados cujo objetivo principal é estimular os participantes a discutir sobre um assunto de interesse comum, ela se apresenta como um debate aberto sobre um tema. Os participantes são escolhidos a partir de um determinado grupo cujas idéias e opiniões são do interesse da pesquisa. Podemos considerar que a discussão em grupo visa muitas vezes complementar a entrevista individual e até a observação participante.

A construção do roteiro e a elaboração do manual basearam-se em observações sobre a prática profissional farmacêutica, onde o conhecimento do conteúdo e das diretrizes da Política Nacional de Medicamentos seja necessário. Para tal, foram escolhidos quatro profissionais de universos de atuação também distintos: 1) farmacêutico do setor hospitalar; 2) farmacêutico do setor Magistral; 3) farmacêutico do Setor Regulatório-ANVISA; 4) farmacêutico do setor Industrial.

A sessão do grupo focal foi gravada em fita de áudio, sendo ao final elaborado relatório sobre a discussão contendo as falas dos participantes. Neste procedimento, a análise inter-sujeitos em cada grupo e a análise intra-sujeitos entre os grupos foi repetida várias vezes até ser obtida uma interpretação aprofundada do material coletado e a definição dos núcleos temáticos.

Essa perspectiva metodológica justifica-se visto que, em linhas gerais, o objetivo consiste em trabalhar com a percepção dos profissionais de farmácia envolvidos nesse processo. Foi garantido anonimato a todos. Os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

O presente estudo procurou compreender a percepção do profissional farmacêutico a cerca da Política Nacional de Medicamentos.

Foi utilizada a técnica de Condensação de Significados, segundo Kvale (1996), para a análise das entrevistas semi-estruturadas e do conteúdo do grupo focal. Consiste no resumo dos significados encontrados no conteúdo das entrevistas, em um formato condensado, sem perder a sua essência. Os núcleos temáticos emergentes desta análise foram, dentre outros: atenção farmacêutica, programa de farmácia popular, conteúdo e processo de implementação da Política Nacional de Medicamentos, reformulação do currículo do curso de farmácia, Lei dos Genéricos. Nos resultados, as falas dos profissionais farmacêuticos são apresentadas sem edição.

Conteúdo e processo de implementação da PNM

No que se refere ao conteúdo da política, os profissionais das entrevistas individuais, em conjunto, consideram que é, “amplo e eficiente somente no papel”, “satisfatório para o momento em que foi concebida”. Dentro do mesmo contexto ressalta-se a seguinte opinião dentro do grupo de discussão, ”nos últimos 12 anos não foi bem aplicada”, ”normalmente o que está escrito é muito bonito, mas na prática não acontece”.

A implementação da Política Nacional de Medicamentos foi abordada dentro do grupo focal, onde as falas apontam de modo consensual: “há falta de uma linguagem afinada entre as esferas de governo sobre a legislação”, “a falha na implementação da política ocorre por interpretações diferentes da mesma”.

A experiência do profissional entrevistado, do setor acadêmico, considera a característica de cada cidadão, enquanto indivíduo em formação, “as vivências são diferentes, não tem como ter a mesma percepção”; “a percepção da Política de

Medicamentos vai dar uma gama tão grande de interpretações que terá de comparar cada resposta com que existe ou não.”

Importante considerar, também, a vivência burocrática e avaliativa do profissional entrevistado, representante do setor público, sobre sua percepção do conteúdo e do processo de implementação da Política Nacional de Medicamentos, “hoje precisa ser reformulada”; afinal “o próprio SUS está sendo reformulado.”

Assim, pela diversidade de opiniões, é necessário, no levantamento dos dados, conhecer sobre o contexto social e histórico dos indivíduos enquanto sujeitos sociais.

As considerações apresentadas sobre o conteúdo e o modo de implementação da política demonstram uma percepção comum entre os participantes da pesquisa. De modo geral todos os profissionais consideram que as normas sempre chegam de cima para baixo.

Alguns profissionais afirmaram conhecer, em detalhes, o conteúdo da Política Nacional de Medicamentos, dentro do seu universo profissional ou campo de atuação, somente após sua formulação e implementação. É consenso entre todos os entrevistados que este é bom e foi bem concebido.

Programa Farmácia Popular

Por considerar a necessidade de implementar ações que promovam a universalização do acesso da população aos medicamentos, e que a meta de assegurar medicamentos básicos e essenciais à população envolve a disponibilização de medicamentos a baixo custo, para os cidadãos que são assistidos pela rede privada; e por considerar a necessidade de proporcionar diminuição do impacto causado pelos gastos com medicamentos no orçamento familiar, ampliando o acesso aos tratamentos, o Governo, pelo Decreto número 5.090 de 20 de maio de 2004, regulamenta a Lei número 10.858 de abril de 2004 e institui o programa “Farmácia Popular do Brasil”.

As considerações apresentadas pelo grupo focal diante das entrevistas individuais, sobre o Programa Farmácia Popular, não demonstraram haver consenso, como ocorrido no tema conteúdo e implementação.

“A farmácia popular é privada e visa o lucro”, “ela deveria ser do SUS e do Ministério da Saúde”, foram falas de todos os participantes dentro do grupo focal. Enquanto que para dois farmacêuticos entrevistados, a percepção é, “a Farmácia Popular não estava prevista no texto inicial da Política Nacional de Medicamentos, ela amplia a Assistência Básica na rede privada e um maior número de pessoas terá acesso aos medicamentos essenciais”.

Para a iniciativa privada, há propostas, como a farmácia popular, que impactam na venda de medicamentos, interferindo no mercado, conforme a fala (eventualmente insincera) “o setor privado elogia este trabalho e quer ampliá-lo”. Uma das perspectivas para a Política Nacional de Medicamentos era a de ampliar o acesso aos medicamentos, distribuindo, em muitos casos, medicamentos de forma gratuita à população.

Algo que, na opinião da maioria dos participantes, não procede com o programa farmácia popular, “esta política não aumentou o acesso da população, e sim a possibilidade de quem pode comprar adquirir medicamento mais barato”, “quem não pode comprar continua não podendo comprar isto é uma realidade”, “a indústria farmacêutica pressiona a prescrição médica”, “a Farmácia popular é uma ineficiência do governo em fornecer os medicamentos essenciais”.

Reformulação do currículo de farmácia

Nas últimas quatro décadas, a prática farmacêutica tem se movido em direção a um tema mais inclusivo, centrado no paciente e na interação humana. A partir dessa visão humanista da atuação profissional, o farmacêutico passou a assumir diferentes funções, atitudes e valores direcionados às necessidades e aos interesses humanos.

A qualidade da formação do profissional de farmácia atualmente foi considerada tanto no grupo focal quanto nas entrevistas individuais. De modo geral, a percepção de que há uma necessidade de se reformular o currículo do curso de farmácia se mostrou urgente: “a percepção do profissional não é muito boa, ele (farmacêutico) não tem uma matéria, na graduação, que dê uma visão política da realidade”, “falta especialização do farmacêutico, com o currículo generalista não há, sem especialização, uma boa inserção”, “a formação do profissional generalista, deve ser reestruturada, não há médico generalista”.

Entretanto para o profissional entrevistado, representante do setor público, “o profissional mais jovem tem uma percepção melhor, pois houve uma reformulação do currículo do estudante de farmácia, há uma visão mais generalista do contexto social de atuação do profissional farmacêutico”.

Atenção farmacêutica

A Atenção Farmacêutica surgiu a partir do aprofundamento da prática Farmácia Clínica, com a inserção de um componente fortemente humanístico. Essa nova filosofia de prática farmacêutica é focada diretamente no usuário e não nos medicamentos propriamente ditos.

No Brasil, a Atenção Farmacêutica foi introduzida com diferentes vertentes e compreensões no país, muitas vezes sem diretrizes técnicas sistematizadas e sem levar em conta as suas características e do seu sistema de saúde. Assim, a Atenção Farmacêutica vem assumindo crescente importância nas discussões dos rumos e perspectivas da profissão, “o farmacêutico deixa de ser o balconista na visão do consumidor, e passa a ser visto como profissional”, “a assistência farmacêutica melhorou, mas não tudo que ainda pode”. Este é a única categoria de análise onde não há polarização de percepções entre o grupo de análise e as entrevistas individuais.

Na análise dos discursos do grupo focal e das entrevistas individuais, inúmeras críticas como, “continuamos desarticulados na atenção farmacêutica”, “a

assistência farmacêutica é muito abrangente, deve-se escolher o profissional especializado e com experiência”, “a atenção farmacêutica pressupõe muitas funções e o estudante não aprende na academia se articular no processo”, foram registradas. “Como um profissional generalista pode atuar na atenção farmacêutica se ele não tem experiência com medicamentos”? É opinião geral que para o serviço público de saúde seja selecionados profissionais especializados e experientes na atenção farmacêutica.

Lei dos Genéricos

Segundo a concepção da Organização Mundial da Saúde (OMS), o medicamento genérico é o produto farmacêutico intercambiável, pois contém o mesmo princípio ativo, na mesma dose e forma farmacêutica do remédio referência. É administrado pela mesma via e tem a mesma indicação terapêutica do medicamento referência, devendo apresentar a mesma segurança e a mesma eficácia clínica.

Em 1999, a Lei 9.787 de 10 de fevereiro, institui o medicamento genérico no país, de acordo com as normas internacionais adotadas por Países da Comunidade Européia, EUA e Canadá, além da OMS. A Lei 9.787/99 foi regulamentada pela Resolução 391 09/08/99, que apresenta todos os critérios sobre produção, ensaios de bioequivalência, ensaios de biodisponibilidade, registro, prescrição e dispensação de medicamentos genéricos.

Ressalta-se um consenso na análise do grupo focal, sobre a promoção do uso racional e o acesso da população aos medicamentos considerados essenciais e a elaboração da Política do Genérico, “é uma política para inglês ver, o custo do medicamento na drogaria é relacionado ao valor de importação”.

Neste contexto, complementa-se a partir da visão dos componentes do grupo focal, sobre a produção de medicamentos no Brasil, apesar de serem medicamentos produzidos por laboratórios públicos e/ou privados, comercializados pelo seu princípio ativo (e não nome fantasia), incentivado pelo governo com a intenção de

reduzir os custos repassados à população, e desta forma melhorar o acesso à eles, “o estímulo do avanço tecnológico não ocorreu, pois importamos 90% dos insumos”, e que “na parte de pesquisa somos meros recrutadores”, “o paracetamol de uma empresa indiana é usado por cinco laboratórios, pois é mais fácil devido à questão fiscal e de impostos”.

A consideração unânime do grupo focal é que, “deve-se trazer a tecnologia e direcionar as pesquisas para doenças endêmicas locais típicas”. Acrescenta-se, ainda, pela fala de todos os participantes do grupo focal que, “mobiliza-se para HIV e H1N1, pois a matéria prima é cara e importada”, “não é gasto em medicamento pelo perfil de necessidade dos usuários, mas sim, pela doença da moda”, “os imunobiológicos são caros e há mobilização”, “a promoção da produção de medicamentos dos laboratórios do governo, não está produzindo mais nada, está restrito, refêm dos insumos”.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a análise dos resultados foi possível chegar a algumas conclusões deste estudo. A princípio, acredito na relevância dele e na sua importância para a Política Nacional de Medicamentos, principalmente para instrumentalizar aos novos gestores que estarão dando continuidade às ações implementadas por essa política. Em especial àqueles que diretamente serão responsáveis pela formação, qualificação e aperfeiçoamento do profissional farmacêutico.

O Estado é o maior responsável pela formulação e implantação de políticas que promovam a garantia e melhoria permanente do bem-estar social, nas suas várias dimensões. As políticas devem ser estruturadas, inspiradas pelo princípio da justiça social. O setor privado, neste sentido, no setor de saúde, tem suma importância na questão da equidade, e eficiência para o sistema, na busca para alcançar o máximo de benefícios sociais.

É preciso buscar o entendimento de que as percepções são instrumento de pensamento que ajudam a compreender o caráter relacional que ultrapassa o individualismo, como entidade absoluta. A diversidade nas relações sociais envolve interpretações e simbolismos, daí o discurso do sujeito tornar-se a base da análise deste estudo.

Durante o desenvolvimento deste trabalho pôde-se perceber que o profissional farmacêutico ainda não está inserido diretamente na concepção e formulação de políticas sociais, principalmente nas que norteiam sua atuação profissional.

Neste contexto, a Política Nacional de Medicamentos se destaca como um dos mais evidentes projetos social para o campo de atuação do farmacêutico, fortemente marcado pela delimitação de diretrizes e prioridades sobre todo o processo que envolve a produção, dispensação e uso do medicamento.

Ainda que haja, o conhecimento, por parte desses profissionais sobre o conteúdo e ao processo de implementação da política Nacional de Medicamentos, a grande maioria não a relaciona ao seu ramo de atuação. Relata ter o conhecimento de outras regulamentações em seus diversos setores de atividade profissional, sem vinculá-las às diretrizes e prioridades desta política.

Neste sentido, percebemos que houve uma forte influência elitista no processo de formulação da Política Nacional de Medicamentos. E que seu processo de implementação fora feito de forma autoritária e de cima para baixo.

Isto demonstra, entre outras coisas que, se por um lado o Estado tem o dever de normatizar e implementar políticas que garantam princípios constitucionais de bem estar social, como universalidade e equidade; por outro lado, está associada também a necessidade da efetiva participação desde o início, dos respectivos atores sociais que mais lhe interessem, no caso específico de nosso estudo, o farmacêutico.

Há ainda muitas dificuldades a serem superadas. Porém, observamos um grande dinamismo no processo de implementação da PNM. Com uma melhor percepção de todos sobre o processo de formulação e de implementação das políticas sociais, principalmente a do farmacêutico em especial a PNM, poderemos impulsioná-las, contribuindo decisivamente na melhoria nas condições de saúde da população brasileira.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Ericka França. Análise da Política Nacional de Medicamentos no Brasil, 1999 a 2002: o caso dos medicamentos Genéricos. Recife, 2004. .Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Departamento de Saúde Coletiva, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2005.

ARAÚJO, Marivânia Conceição de. A teoria das representações sociais e a pesquisa antropológica. *Revista Hospitalidade*. São Paulo, ano V, n. 2, p. 98-119, jul.- dez. 2008.

BRASIL. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Formulação de Políticas de Saúde. Política Nacional de Medicamentos. Brasília, DF, 2001b. 40p.

DYE, T.R. *The policy analysis*. Alabama: The University of Alabama Press, 1976. (GAPI-UNICAMP)

JODELET, Denise. La representación social: fenómenos, concepto y teoría. In: MOSCOVICI, Serge. *Psicología social, II – Pensamiento y vida social; Psicología social y problemas sociales*. Barcelona: Paidós, 1986.

OLIVEIRA, Mary Jane Limeira. *Assistência Farmacêutica: a percepção dos gestores e profissionais de saúde de São Luís(MA)*. Rio Grande do Sul 2004. Dissertação (mestrado). UFRGS, Faculdade de Farmácia.

PINTO, E. L. et al. Pró-equidade de gênero: incorporando políticas de ação afirmativa no mundo de trabalho. *Revista do Serviço Público Brasília* 60(4): 401-413 out/ Dez 2009.

KVALE, Steinar. *Interviews. An introduction to Qualitative Research Interviewing*. Sage Publications, Thousand Oaks, London, New Delhi, 1996.

MINAYO, Maria Cecília S. O conceito de representações sociais dentro da sociologia clássica. In: GUARECHI, Pedrinho A. e JOVCHELOVITCH, Sandra. *Textos em representações Sociais*. Petrópolis - RJ: Vozes, 1994.

MINAYO, Maria Cecília de Souza. *O desafio do conhecimento: pesquisa qualitativa em saúde*. São Paulo: HUCITEC; Rio de Janeiro: ABRASCO, 1992.

Aprendendo a entrevistar: como fazer entrevistas em Ciências Sociais . *Revista Eletrônica dos Pós-Graduandos em Sociologia Política da UFSC - Valdete Boni e Sílvia Jurema Quaresma* Vol. 2 nº 1 (3), janeiro-julho/2005, p. 68-80.

SÁ, Celso P. Representações sociais: o conceito e o estado atual da teoria. In: SPINK, Mary Jane P. (Org.). *O conhecimento do cotidiano: as representações sociais na perspectiva da psicologia social*. São Paulo: Brasiliense, 1995.

CERVO, Amando Luiz; BERVIAN, Pedro Alcino. *Metodologia científica*. São Paulo: Makron Books, 1996.

Silva, Leandressonn Conde da. *A percepção do farmacêutico sobre a Atenção Farmacêutica nas Unidades de Estratégia Saúde da Família do Município de Vitória - ES / Vinicius Rangel Teixeira – Rio de Janeiro, 2009. Dissertação (Mestrado em Saúde da Família) –Universidade Estácio de Sá, 2009.*

BRASIL. Lei nº 9.787, 10 de fevereiro de 1999. Altera a Lei 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. DOU, Brasília, 11 fevereiro de 2000. Seção I.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 3.916, de 30 de outubro de 1998. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 1998.

OS PRINCIPAIS METAIS PESADOS CAUSADORES DE POLUIÇÃO NAS ÁGUAS E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE PÚBLICA.

*Lindomar Gomes dos Santos*¹

*Wanderlei Elias Perez*²

*Rodrigo da Silva Santos*³

O elevado desenvolvimento industrial ocorrido nas últimas décadas tem sido um dos principais responsáveis pela contaminação de nossas águas e solos, seja pela negligência no seu tratamento antes de despejá-las nos rios ou por acidentes e descuidos cada vez mais frequentes, que propiciam o lançamento de muitos poluentes nos ambientes aquáticos (ESTEVES, 1998 apud PINTO, 2005).

Os problemas ambientais decorrentes das atividades industriais estão relacionados principalmente com a introdução repentina e frequente de compostos químicos, nos ecossistemas. Isto altera a capacidade de autodepuração dos mesmos, resultando no acúmulo destes contaminantes a níveis problemáticos até prejudiciais (BORBA, 2010 apud ROSSI, 2012). Dentre estes poluentes podemos citar os metais pesados, um grande problema para a saúde humana, que têm sido introduzidos pelas atividades industriais numa quantidade muito maior do que aquela que seria natural, causando grandes poluições (KAWAI et al., 2003).

O esgoto sanitário apresenta constituintes do esgoto doméstico, comercial, industrial e institucional. A composição do esgoto sanitário em média é de 99,9% de água e apenas 0,1% de sólidos, sendo que 75% desses sólidos são constituídos de matéria orgânica em decomposição, onde proliferam microrganismos, podendo ocorrer organismos patogênicos, que são oriundos das fezes humanas e metais pesados oriundos de efluentes industriais (NUVOLARI, 2003 apud SOUZA, 2005).

¹ Biólogo. Especialista em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia pela Universidade Federal de Goiás (UFG).

² Farmacêutico. Mestre em Engenharia do Meio Ambiente pela Universidade Federal de Goiás (UFG).

³ Biólogo. Doutor em Ciências Biológicas (Genética) pela Universidade de São Paulo (USP).

Acredita-se que os metais talvez sejam os agentes tóxicos mais conhecidos pelo homem. Há aproximadamente 2.000 anos A.C. grandes quantidades de chumbo eram obtidas de minérios, como subproduto da fusão da prata e isso provavelmente tenha sido o início da utilização desse metal pelo homem (KAWAI et al., 2003).

Os metais pesados têm recebido especial atenção devido a efeitos tóxicos e ao uso intensivo nas atividades industriais geradoras de grande variedade de resíduos sólidos e líquidos que podem vir a ser descartado também em aterros sanitários (HEITZMANN JR, 1999 apud SANTOS, 2006).

Metais pesados são elementos químicos, de peso atômico relativamente alto, que em concentrações elevadas são muito tóxicos à vida. A ação desses metais na saúde humana é muito diversificada e profunda (KAWAI, 2003; PINTO, 2005).

Em sua maioria, os metais pesados são transportados de um lugar para outro por via aérea, sejam como gases ou como espécies unidas a material particulado em suspensão, entrando em contato, nesse caso, com todos os ambientes da Terra, inclusive o fluvial (BAIRD, 2002). A contaminação das águas por metais pesados é facilitada por essa dispersão de materiais particulados no ambiente, pois esses metais, uma vez no ar ou no solo, são facilmente carregados para os corpos d'água, onde podem ficar disponíveis ou retidos nos sedimentos (ESTEVES, 1998 apud MALDONADO; WENDLING, 2009).

A presença de metais pesados nos ambientes aquáticos pode ocorrer por processos naturais, como atividade vulcânica, erosão e, também, devido à intensa atividade antropogênica dos setores industriais (indústrias extrativistas de metais; de tintas e pigmentos; efluentes de indústrias químicas, indústrias de couros e produtos similares; indústrias do ferro e do aço; e indústria de petróleo) e dos setores agrícolas (uso de fertilizantes e defensivos); além do descaso em relação ao esgoto e ao lixo doméstico (CHAGAS, 2008). Podendo também estar presentes no solo graças à localização das regiões agrícolas e industriais, sendo, então proibida a produção de alimentos nestes solos (SANTOS; RODELLA, 2007).

Todas as formas de vida são afetadas pela presença de metais dependendo da dose e da forma química que se apresentam. Muitos deles são essenciais para o

crescimento de todos os tipos de organismos, desde as bactérias até mesmo o ser humano, mas eles são requeridos em baixas concentrações e quando se apresentam em níveis elevados podem danificar sistemas biológicos. A manifestação dos efeitos tóxicos está associada à dose e pode distribuir-se por todo o organismo, afetando vários órgãos, alterando, inclusive, os processos bioquímicos, as organelas e as membranas celulares (KAWAI, 2003; PINTO, 2005).

A concentração da maioria dos metais pesados encontrados na água potável é normalmente pequena e não causa problemas diretos a saúde; contudo, podem ocorrer exceções. As quantidades de metais ingeridas através da dieta alimentar são normalmente muito mais importantes que as quantidades atribuíveis à água diretamente. Paradoxalmente, os peixes consumidos que contêm metais pesados originam-se normalmente de águas com baixas concentrações (GONÇALVES, 2008). Os metais tóxicos mesmo em baixas concentrações não se degradam, e tendem a circular e permanecer por longo tempo no ambiente, além de se acumularem através da cadeia alimentar, o que causa sérios problemas de saúde pública (MACHADO, 2008 apud ROSSI, 2012). Portanto, para determinação de metais pesados no ecossistema aquático, é analisada sua presença tanto nas águas, quanto nos materiais particulados, sedimentos como nos organismos aquáticos (GONÇALVES, 2008).

Entre os mais perigosos estão o mercúrio, o cádmio (encontrado em baterias de celulares), cromo e o chumbo. Esses metais diferem-se de outros agentes tóxicos porque não são sintetizados nem podem ser destruídos pelo homem. A atividade industrial diminuiu significativamente a permanência desses metais nos minérios, bem como a produção de novos compostos, além de alterar a distribuição desses elementos no planeta (KAWAI et al., 2003).

Neste trabalho serão discutidos os riscos que os metais pesados oferecem à saúde, quais as formas e tipos mais encontrados e as interferências provocadas por eles na água nos padrões de potabilidade vigentes, verificando os limites máximos permissíveis desses contaminantes tão, assustadoramente, presentes em nossas vidas.

OS POLUENTES MAIS COMUNS

A preocupação com o meio-ambiente e, em especial, com a água, tem crescido na última década. Cada vez mais os órgãos reguladores procuram tornar os limites de tolerância mais rigorosos (SILVA, 2011). Essa cautela aumenta, principalmente, quando a água é usada para o consumo humano (DORES; DELAMONICA-FREIRE, 2001 apud MALDONADO; WENDLING, 2009).

Todas as formas de vida existentes dependem da água. Lagos e rios são as principais fontes de água potável, mesmo constituindo, em seu conjunto, menos de 0,01% do suprimento total de água na Terra (BAIRD, 2002). A poluição das águas decorre da adição de substâncias ou de formas de energia que, diretamente ou indiretamente, alterem as características físicas e químicas do corpo d'água de uma maneira tal, que prejudique a utilização das suas águas para usos benéficos (SANTOS, 2011).

Os metais pesados, ou também chamados elementos-traço, são elementos químicos que ocorrem na natureza, quase sempre em pequenas concentrações. Na atualidade o termo elementos-traço tem tido mais destaque, por também englobar elementos como o Arsênio, que causam problemas ambientais, mas que não se enquadra como metal pesado (MALDONADO; WENDLING, 2009). No Brasil, é a Portaria 2.914 de 2011, do Ministério da Saúde que estabelece os limites dos metais pesados para a água potável.

A presença de diferentes metais em um sistema aquático pode, em decorrência de efeitos antagônicos, resultar na sensível diminuição da toxicidade desses metais, comparando com a soma de suas toxicidades quando presentes individualmente. Destacam-se por sua toxidez os metais cádmio, cromo, mercúrio, níquel, chumbo e, em menor grau cobre e zinco (PEREIRA, 2004).

Entender a dinâmica do comportamento de metais em águas continentais tem sido o principal enfoque da geoquímica ambiental durante várias décadas, e o interesse vem crescendo, na procura de alternativas reguladoras, mitigadores e remediativas para manejar corpos de água contaminados (WARREN & HAACK, 2001 apud MALDONADO; WENDLING, 2009). Dentre os metais que podem causar danos à saúde humana pode-se destacar o alumínio (Al), bário (Ba), chumbo

(Pb), cádmio (Cd), mercúrio (Hg), cromo (Cr), manganês (Mn) e níquel (Ni), estes metais podem ser obtidos por diversas fontes antrópicas (SALGADO, 1996; ZEITOUNI et al., 2007 apud LOPEZ, 2010).

A remoção desses metais tóxicos de águas residuais é usualmente realizada por processos físico-químicos, tais como precipitação, coagulação, processos de redução, troca iônica, processos de membrana e adsorção (KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1995 apud ROSSI, 2012). Entretanto, os altos custos, a complexidade dos processos e a baixa eficiência dos métodos de membrana têm limitado seu uso na remoção de metais pesados. Em face disso, vêm sendo realizadas muitas pesquisas com o objetivo de desenvolver e/ou viabilizar técnica e economicamente, processos de remoção de metais tóxicos com custos reduzidos, alta eficiência e sem agressões ao ambiente (ROSSI, 2012).

No homem, o limite de toxicidade é tanto mais baixo quanto menos útil for o elemento. Os sintomas da intoxicação metálica dependem de cada metal em particular, mas de um modo geral afetam os rins, o trato gastrointestinal e o cérebro. Vários metais pesados são causas de doenças que se tornaram clássicas: o arsênio provoca doença de Hoff's; o cádmio, a doença de Itai-Itai; o mercúrio, a doença de Minamata (BARROS JÚNIOR, 2001).

A seguir trataremos de alguns dos metais pesados de maior interesse para os sistemas de abastecimento de água: Zinco (Zn), Cobre (Cu), Bário (Ba), Chumbo (Pb), Cádmio (Cd), Cromo (Cr), Arsênio (As) e Mercúrio (Hg).

ZINCO (Zn)

O zinco é empregado em materiais galvanizados, fins elétricos pigmentos para pinturas, cosméticos, produtos farmacêuticos, inseticidas, podendo encontrar-se em muitos resíduos industriais (BATALHA; PARLATORE, 1977). É frequentemente incluído em formulações de inibidores de corrosão onde seu efeito na tubulação de aço é similar àquele da galvanização (KEMMER, 1977 apud BARROS JÚNIOR, 2001).

O zinco é um elemento essencial e benéfico para o metabolismo humano, atuando na atividade da insulina e de diversos compostos enzimáticos. A deficiência de zinco nos animais conduz ao atraso do crescimento, que pode ser corrigido pela adição de zinco na dieta (BATALHA; PARLATORRE, 1998).

A presença do zinco é comum nas águas naturais, como aponta levantamento feito nos Estados Unidos, em que sua concentração excedia a 20 mg/l em 95 dos 135 mananciais pesquisados (BEAN, 1974).

O zinco em concentrações acima de 5,0 mg/L, confere sabor à água e uma certa opalescência às águas alcalinas (PERPÉTUO, 2011). Alguns de seus sais como cloreto de zinco e sulfato de zinco são muito solúveis na água; já outros como carbonato de zinco, óxido de zinco e sulfeto de zinco são insolúveis na água e por isto algumas quantidades de zinco podem ser removidas por decantação nos processos de tratamento de água. Salienta-se que a solubilidade do zinco é variável, dependendo do pH e da alcalinidade (BATALHA; PARLATORE, 1977). O nível de zinco dissolvido na água pode aumentar à medida que a acidez da água também aumenta. Geralmente, em valores baixos de pH, o zinco permanece como íon livre, que tende a ser adsorvido e transportado por sólidos suspensos em águas não contaminadas. Já nas águas contaminadas onde a sua concentração é alta, a remoção por precipitação do hidróxido é possível, particularmente quando o pH é maior do que 8 (AZEVEDO; CHASIN, 2003 apud CHAGAS, 2008).

Os efeitos tóxicos do zinco sobre os peixes são muito conhecidos, assim como sobre as algas. As experiências com outros organismos aquáticos são escassas (PERPÉTUO, 2011). A bioacumulação do zinco em organismos aquáticos depende dos níveis tróficos, sendo maior nos organismos bentônicos em relação aos peixes e maior em peixes onívoros comparando com os piscívoros. A temperatura da água também é um fator que influencia na absorção do zinco, em climas quentes a bioacumulação é maior (ESPÍNDOLA et al., 2000 apud CHAGAS, 2008).

A Agência de Proteção do Meio ambiente dos Estados Unidos (EPA), baseando-se nas preferências de sabor do consumidor e devido ao fato de o processo de tratamento convencional, não o remover em quantidades

apreciáveis, recomenda que os mananciais de abastecimento de água a concentração de zinco não exceda a 5mg/l. Já os padrões internacionais da OMS adotam como teores máximos, desejável e permissível, respectivamente, 5mg/l e 15mg/l (BATALHA; PARLATORE, 1977), já a portaria 2914, recomenda como Valor Máximo Permissível (VMP) 5 mg/L (BRASIL, 2011).

COBRE (Cu)

O cobre é constituinte natural do solo e principal fonte de contaminação dos sistemas aquáticos. Atinge as águas ribeirinhas por ação das chuvas ou movimentação do solo (CHAGAS, 2008). Geralmente está presente em pequenas quantidades nas águas superficiais e subterrâneas (variando até 1 mg/l). Na forma de cloreto, sulfato e nitrato são muitos solúveis na água, não acontecendo o mesmo quando se apresenta como carbonato, hidróxido, óxido e sulfeto. Os íons de cobre, que se encontram em um pH igual ou maior do que 7 nas águas naturais, precipitam o carbono e hidróxido e são assim removíveis por adsorção ou sedimentação. Este é o motivo pelo qual não se encontram concentrações significativas de cobre nas águas superficiais ou subterrâneas (BATALHA; PARLATORE, 1977).

O cobre pode estar presente na água como resultado da corrosão de tubos ou acessórios feitos com cobre ou suas ligas. Também pode ser resultado da contaminação da água com restos minerais advindos da produção do cobre ou ter sido adicionado deliberadamente como sulfato de cobre para controle do crescimento de algas (KEMMER, 1977 apud BARROS JÚNIOR, 2001). Outro meio de contaminação é através de atividades antrópicas devido ao escoamento de produtos usados na agricultura como fertilizantes (CHAGAS, 2008).

Geralmente o cobre também é encontrado nos tecidos dos animais e vegetais (NEVES et al., 2001). O cobre em pequenas quantidades é até benéfico ao organismo humano, catalisando a assimilação do ferro e seu aproveitamento na síntese da hemoglobina do sangue, facilitando a cura de anemias (PERPÉTUO, 2011) e por consequência a sua deficiência produz anemia nutricional nas crianças (NEVES et al., 2001). Além disso, é componente de

muitas enzimas e pigmentos respiratórios, sendo um dos elementos essenciais para os seres vivos (ESPÍNDOLA et al. 2000 apud CHAGAS, 2008). Um exemplo disso, é o cobre na forma de íon cúprico (Cu^{+2}) que é importante como micronutriente, pois a sua ausência além da anemia, também causa a perda de pigmentação dos cabelos, aumenta a inibição e propicia perda da elasticidade arterial. Entretanto, a água contendo mais de 1ppm fornece muito mais cobre que o necessário e possui sabor desagradável para a maioria das pessoas (MACEDO, 2004 apud QUEIROZ, 2006).

O cobre é suspeito como causa de Hemochromatosis, apesar de não se ter provado ainda casos de envenenamento crônico, mesmo em populações relacionadas com indústrias que trabalham com cobre e que o absorvem em quantidade suficiente para terem a pele e os cabelos coloridos de verde (NEVES et al., 2001).

O cobre é altamente tóxico para crianças e adultos que apresentem problemas de metabolismo. A absorção excessiva do cobre é favorecida pela presença de zinco, prata, cádmio e sulfatos na dieta alimentar (ANGINO et al., 1970 apud QUEIROZ, 2006).

A ingestão diária de cobre por todas as fontes é da ordem de 2 a 5 mg, mas, em alguns casos, existem deficiência. O cobre não é considerado um tóxico de efeito cumulativo como o chumbo ou mercúrio. A excreção média diária de cobre na urina é de aproximadamente 1,0 mg/l, sendo o restante eliminado pelas fezes. No entanto, elevadas concentrações de cobre podem produzir vômitos e uma ingestão oral muito prolongada pode ocasionar estragos ao fígado. Em quantidade excessiva na água é tóxico também para uma ampla variedade de espécies aquáticas, desde bactérias a peixes (BATALHA; PARLATORE, 1977).

A portaria 2914 recomenda como valor máximo permissível 2 mg/L de cobre (BRASIL, 2011).

BÁRIO (Ba)

Os sais de bário são utilizados industrialmente na elaboração de cores, fogos de artifício, fabricação de vidro, inseticidas e para combater animais e insetos daninhos. Devido à solubilidade extremamente baixa do sulfato de bário, geralmente, apenas traços são encontrados em águas naturais. Sob forma de carbonato ocorre, naturalmente, em algumas fontes minerais. Estando presente nos efluentes de mineração (BATALHA; PARLATORE, 1977), como da extração da bauxita, decorrendo também das atividades industriais (PERPÉTUO, 2011). O bário é capaz de precipitar-se rapidamente como carbonatos e sulfatos, ficando concentrado principalmente nos sedimentos sob forma insolúvel, podendo se concentrar a níveis tóxicos a vida aquática (CASQUÍMICA, 2008).

A entrada do bário no corpo humano é feita principalmente através do ar e da água, pois nenhum alimento o contém em quantidades apreciáveis (CASQUÍMICA, 2008). E a sua absorção varia de acordo com o tipo de exposição. A absorção oral está intrinsecamente relacionada com a solubilidade dos diferentes derivados do bário. Assim sendo, o sulfato de bário, que é extremamente insolúvel, tem absorção gastrointestinal praticamente nula, compostos solúveis em água, como nitrato e cloreto de bário são mais facilmente absorvidos, e o carbonato de bário é convertido em pH ácido a cloreto, sendo também absorvido (REMIÃO, 2012).

O bário é considerado um estimulante muscular (BATALHA; PARLATORE, 1977), mas não um elemento de efeito cumulativo, entretanto provoca efeitos adversos em todo o organismo humano, produz efeitos sobre o sistema nervoso, afeta o coração, aumentando constrição dos vasos sanguíneos, elevando assim a pressão arterial (PERPÉTUO, 2011), mesmo sob exposição em doses pequenas ou moderadas. A dose fatal para o homem é considerada entre 0,8 a 0,9 g como cloreto (550 a 660 mg de bário) (BATALHA; PARLATORE, 1977). A portaria 2914 adota como valor máximo permissível 0,7 mg/L (BRASIL, 2011).

CHUMBO (Pb)

Em condições naturais, apenas traços de chumbo são encontrados nas águas, em geral sua origem vem da poluição por efluentes industriais ou minas ou, ainda, como resultado da ação corrosiva sobre as canalizações desse metal (SANTOS, 2010). Sua presença em água é indicio de contaminação com água proveniente de metalúrgicas (KEMMER, 1977 apud BARROS JÚNIOR, 2001).

Globalmente, estima-se que cerca de 300 milhões de toneladas de chumbo já foram lançadas no meio ambiente durante os últimos cinco milênios, em especial nos últimos 500 anos. Após a chegada do automobilismo, no início do século XX, aumentou-se bastante a emissão de chumbo em razão de seu uso junto com o petróleo (PAOLIELLO, 2001 apud SILVA, 2011).

A presença do chumbo no corpo humano pode ser prejudicial para a saúde e até levar a morte, mesmo quando as exposições são breves (BATALHA; PARLATORE, 1977). O chumbo é um elemento não essencial e que atua como uma neurotoxina, sendo que uma de suas principais fontes de poluição no ambiente são os pesticidas (ALLOWAY & AYRES, 1995 apud LOCATELLI, 2009).

Nos países tecnologicamente mais desenvolvidos, o amplo uso do chumbo multiplica os riscos a que está submetida à população. O envenenamento pode resultar na acumulação do chumbo no corpo em quantidades suficientes e por qualquer uma das fontes mais comuns: alimentos, ar, água e fumaça de tabaco inalada. É um veneno cumulativo e a intoxicação crônica por ele causada é denominada saturnismo e pode levar à morte (BATALHA, PARLATORE, 1977).

A água potável apresenta níveis muito baixos de chumbo dissolvido, sendo uma das menores fontes de exposição do elemento para os seres humanos, quando comparada a outras fontes como ar e os alimentos. Entretanto, o chumbo presente na água tem maior absorção pelo organismo do que o presente nos alimentos (BAIRD, 2002). A absorção de chumbo através da pele, exceto em certas condições ocupacionais específicas, em geral, não tem significado sanitário importante (BATALHA; PARLATORE, 1998). Todavia ao se

estabelecer os limites permissíveis para algum elemento é necessário levar em conta a quantidade média proveniente também das outras fontes de emissão (SANTOS, 2010). Atualmente muitas outras fontes de chumbo têm sido gradualmente interrompidas, então calcula-se que a água potável contribua com cerca de um quinto da ingestão total de chumbo. Mas, felizmente, são muitos os sistemas de tratamento doméstico capazes de remover com sucesso a maior parte do chumbo presente na água potável (BAIRD, 2002).

Devido à estreita faixa entre a quantidade de chumbo a que está exposta a população e os limites potencialmente perigosos por um longo período de tempo, o chumbo na água de consumo humano deve estar limitado a baixas concentrações. Admitindo um consumo diário de 2 litros de água e se esta contiver 0,05 mg/l de chumbo, teríamos um consumo adicional de 0,1 mg/l, aproximadamente 25% do consumo total diário (NEVES et al., 2001).

Se compararmos os átomos de cada metal, o chumbo não é tão perigoso quanto o mercúrio, por exemplo. Contudo a população está mais exposta ao chumbo proveniente de uma maior variedade de fontes, e geralmente, em níveis mais elevados do que os associados ao mercúrio. Globalmente, há mais pessoas afetadas de maneira adversa pelo chumbo, embora, em média, em menor extensão, do que as expostas ao mercúrio. Ambos os metais são mais tóxicos na forma de seus compostos orgânicos do que como cátions inorgânicos simples. Em termos de sua concentração no ambiente, o chumbo está muito mais próximo – cerca de um pra dez – dos níveis nos quais se manifestam sinais evidentes de envenenamento do que qualquer outra substância, inclusive o mercúrio. Por isso, é adequado que a sociedade continue a tomar medidas graduais para reduzir a sua exposição ao chumbo (BAIRD, 2002).

A toxidez aguda do chumbo é caracterizada por queimadura na boca, sede intensa, inflamação do trato gastrointestinal, ocasionando diarreias e vômitos. A toxidez crônica produz anorexia (inapetência), náusea, vômito, dores, dores abdominais diversas, paralisia, confusão mental, distúrbios visuais, anemia e convulsões (NEVES et al., 2001).

As principais formas de contaminação ainda são a ingestão de alimentos ou água contaminados e a inalação de partículas de poeira da substância, que

pode se armazenar por até 30 anos no tecido ósseo. Os efeitos da exposição ao chumbo são devastadores e incluem danos neurológicos, redução de QI, anemia, distúrbios nervosos, perda de controle muscular e até a morte (MOREIRA, 2008 apud CRUZ, 2012). As crianças são especialmente vulneráveis aos efeitos do chumbo. Mesmo quantidades relativamente pequenas de chumbo podem causar rebaixamento permanente da inteligência nas crianças, potencialmente resultando em desordens para leitura, distúrbios psicológicos e retardamento mental. Outros efeitos podem incluir doenças nos rins e artrite (GREENPEACE, 2003).

Contudo, os padrões internacionais da OMS aumentaram o nível permitido de chumbo de 0,05 mg/l para 0,1 mg/l. Apóiam-se na tese que, em muitos países, a água consumida com este valor por muitos anos não apresentou nenhum efeito prejudicial adverso. E que valores inferiores são difíceis de atingir, em países onde ainda são utilizadas canalizações de chumbo (NEVES et al., 2001). No Brasil o valor recomendado pela Portaria 2.914 é de 0,01 mg/L (BRASIL, 2011).

CÁDMIO (Cd)

Em condições naturais o cádmio se apresenta na água em traços mínimos, talvez devido à sua instabilidade nos campos orgânicos, é encontrado em sua forma inorgânica (NEVES et al., 2001), no material particulado em suspensão e nos sedimentos (SILVA & PRADO-FILHO, 1998 apud SILVA, 2007). Mas sua introdução na água pode ocorrer devido ao contato com recipientes ou canalizações onde esteja presente, em geral, associado ao zinco (SANTOS, 2010), já que os dois metais ocorrem usualmente juntos, e não existe nenhum mineral específico que contenha cádmio explorável economicamente (NEVES et al., 2001).

A maior parte do cádmio é produzida como subproduto da fusão do zinco, já que os dois metais ocorrem usualmente juntos. Certa poluição ambiental por cádmio pode ocorrer frequentemente em áreas adjacentes a fundições de chumbo, zinco e cobre. Como é o caso de outros metais pesados, a combustão do carvão também introduz cádmio no ambiente. A liberação de cádmio por incineração de

materiais residuais que contêm o elemento é também uma importante fonte desse metal no ambiente (CRUVINEL, 2009).

Industrialmente é utilizado em pinturas, galvanoplastia, baterias alcalinas, plásticos, cerâmica, fotografia, reatores nucleares, fertilizantes (NEVES et al., 2001) e também como inseticida (PERPÉTUO, 2011). Devido à sua similaridade com o Zinco, as plantas absorvem cádmio das águas de irrigação. O uso nos campos agrícolas de fertilizantes de fosfatos, que contêm cádmio iônico, contamina a natureza, e o lodo de esgoto contaminado com o cádmio emitido pelas indústrias aumenta o nível desse elemento no solo e, conseqüentemente, nas plantas que crescem sobre ele. No futuro, especula-se que o cádmio poderá ser removido dos fertilizantes de fosfato antes da venda ao consumidor. O solo também recebe cádmio por deposição atmosférica (BAIRD, 2002).

Outro uso importante de Cádmio é como um dos eletrodos das baterias recarregáveis “nicad” (níquel-cádmio), usadas em calculadoras e aparelhos similares. O cádmio é emitido no ambiente pela incineração de plásticos e outros materiais que o utilizem como pigmento ou estabilizante. Também ocorre emissão para a atmosfera quando o aço laminado com cádmio é reciclado, já que o elemento quando aquecido é razoavelmente volátil (seu ponto de ebulição é 765°C) (CRUVINEL, 2009).

O cádmio apresenta alto potencial tóxico, não sendo considerado como um elemento benéfico ou essencial aos processos vitais da natureza. Exerce efeito cumulativo e é tóxico à concentração relativamente baixa para numerosas espécies de vida e talvez para todas. (NEVES, 2001). Apesar de o cádmio não experimentar biomagnificação, ele é um veneno cumulativo, pois não é rapidamente eliminado, permanecendo no organismo por várias décadas (BAIRD, 2002). Sua semivida biológica é longa, ultrapassando facilmente os 10 anos (GHANEM, 2009).

Segundo Déoux e Déoux (1996) apud Ghanem (2009) o cádmio é facilmente absorvido por via digestiva e pulmonar. Depois de sua passagem para o sangue, é armazenado no fígado e em grande quantidade nos rins, sendo estes os órgãos críticos, do ponto de vista dos seus efeitos sobre a saúde, pois calcula-se que cerca de 1/3 do cádmio absorvido em exposição contínua, concentra-se nos rins (NEVES, 2001). A acumulação no rim perturba as funções renais e determina o

aparecimento de hipertensão (GHANEM, 2009). Segundo Figueredo (1990) apud Barros Júnior (2001) o cádmio também ocasiona problemas nos ossos e é carcinogênico em doses superiores a 0,01 mg/L. Os diabéticos podem ser mais sensíveis ao efeito nefrotóxico do cádmio (GHANEM, 2009).

Além dos malefícios já mencionados, é um irritante gastrointestinal, provocando dores muito fortes (BARROS JÚNIOR, 2001) e causando intoxicação aguda ou crônica sob a forma de sais solúveis. No Japão, um aumento de concentração de cádmio de 0,005 mg/L a 0,18 mg/L, provocado por uma mina de zinco, causou a doença conhecida como “Doença de Itai-Itai” (PERPÉTUO, 2011). Todavia, sua toxidez pode ser inibida pela presença de outros elementos, tais como ferro, cálcio, zinco, e selênio, por meio de mecanismo ainda não totalmente esclarecido (BATALHA e PARLATORRE, 1998).

Apresenta efeito agudo, sendo que uma única dose de 9,0 gramas pode levar à morte e efeito crônico, pois concentra-se nos rins, no fígado, no pâncreas e na tireóide. Estudos feitos com animais demonstram a possibilidade de causar anemia, retardamento de crescimento e morte (PERPÉTUO, 2011).

Para exposições em ambiente industrial é recomendado um limite de 5 mg de cádmio por 100 ml de sangue (44 nmol/L), mas este limite pode não conferir proteção contra danos renais em caso de exposições a longo prazo, (GRANDJEAN, 1998 apud CRUVINEL, 2009). Nenhum tratamento de quelação é eficaz para reduzir, no homem, a concentração desse elemento (GHANEM, 2009).

A Agência de Proteção do Meio Ambiente dos Estados Unidos recomenda que devido aos efeitos fisiológicos adversos do cádmio e por falta de informações adequadas sobre o processo da sua remoção dos tratamentos convencionais, sua concentração nos mananciais não deve ultrapassar a 0,01 mg/l. Sugeriu que a concentração de cádmio na água deve ser de 0,005 mg/l dada a dificuldade da sua redução nos alimentos, valor este também recomendado pela portaria 2914 (BRASIL, 2011).

CROMO (Cr)

O cromo é raramente encontrado nas águas naturais (NEVES et al., 2011), sendo um metal resultante da intemperização dos constituintes do solo e sua presença na natureza de forma livre só pode ser obtida na forma de oxidante, resultante da ação antrópica obtido principalmente em locais que ocorrem a deposições de resíduos de origem industrial (CASTILHOS et al., 2001). O cromo é largamente empregado nas indústrias, especialmente em galvanoplastias, onde a cromeação é um dos revestimentos de peças mais comuns (PERPÉTUO, 2011). Pode ocorrer como contaminante das águas sujeitas a poluição de despejos de curtumes, de indústrias de cromatos e de circulação de água de refrigeração, onde é usado para o controle da corrosão (NEVES et al., 2001).

Na natureza o cromo está presente em rochas, nos animais, nos vegetais, no solo e na poeira e em gases de origem vulcânica. Pode ser encontrado em diversas formas: as mais comuns são o Cromo (0), Cromo (III) ou Cromo (VI), e não têm cheiro ou sabor (SILVA; PEDROSO, 2001). A forma trivalente do cromo (III), encontrada em minerais naturais, é essencial para saúde humana e tendo como função principal manter o metabolismo da glicose normal. Por outro lado, o cromo hexavalente (VI), bastante utilizado em compostos químicos, tem sido implicado em problemas de saúde como irritações na pele e câncer de pulmão (GARLIPP, 2006 apud ESCOBAR, 2011).

A ocorrência natural dos sais de cromo hexavalente, os cromatos, é muito rara, de modo que quando estão presentes na água, devem originar-se da poluição por despejos industriais. Os sais de cromo hexavalente são largamente usados nas operações de piquelagem e cromagem de metais, corantes, explosivos, cerâmica, papel, etc. (SANTOS, 2011). A forma hexavalente é mais tóxica do que a trivalente. Produz efeitos corrosivos no aparelho digestivo e nefrite (PERPÉTUO, 2011).

As concentrações de cromo em água doce são muito baixas, normalmente inferiores a 1 µg/L. É comumente utilizado em aplicações industriais e domésticas, como na produção de alumínio anodizado, aço inoxidável, tintas, pigmentos, explosivos, papel, fotografia. Na forma trivalente o cromo é essencial ao

metabolismo humano e, sua carência, causa doenças (CETESB, 2009). O cromo trivalente é considerado atóxico e há alguns anos foi identificado como sendo o Fator de Tolerância à Glicose (FTG) o que faz supor seja ele um elemento essencial para os mamíferos (NEVES et al., 2001).

Na forma hexavalente é tóxico e cancerígeno. Os limites máximos são estabelecidos basicamente em função do cromo hexavalente (CETESB, 2009). Os compostos hexavalentes precipitam proteínas e têm ação irritante. Do ponto de vista ocupacional, seus principais efeitos tóxicos ocorrem na pele, nas membranas mucosas e nos pulmões (NEVES et al., 2001). A dose tóxica para o homem seria de 5 mg de bicromato de potássio. Não se conhece ainda a quantidade de íon de cromato que pode ser ingerida a longo prazo sem consequências adversas. O cromo não se acumula no organismo (SANTOS, 2011).

O cromo hexavalente é convertido em cromo Trivalente dentro do corpo humano, uma vez que o cromo trivalente é um elemento necessário para a manutenção da boa saúde, uma vez que ajuda o corpo humano a utilizar o açúcar, a gordura e as proteínas. O cromo Hexavalente, presente no meio ambiente, é, geralmente, o resultado em aplicações na fabricação de produtos químicos, peles e têxteis e eletro-pintura. A maioria dos metais possui potencial nefrotóxico, ou seja, substância que é tóxica para o rim. Além de outros elementos como o ferro, chumbo, cádmio, entre outros, o cromo é um perigoso metal e não apenas para o rim, mas responsável por causar outras doenças fatais, como tumores (CHEIS, 2013).

O caso mais famoso de contaminação da água por cromo hexavalente foi parar nos cinemas no filme “*Erin Brockovich, uma mulher de talento*”, em 2000, cuja protagonista Erin foi interpretada pela atriz Julia Roberts. O fato ocorreu nos Estados Unidos, na cidade de Hinkley, no estado da Califórnia, em que a empresa “Pacific Gas and Electric (PG&E)”, que fornecia gás e energia elétrica para mais de 30 milhões de pessoas e utilizava cromo hexavalente para evitar a oxidação das máquinas, contaminou o lençol freático da cidade (SANTOS SILVA, 2011). A empresa que já sabia da contaminação desde 1965 escondeu por mais de 20 anos a contaminação, informando as autoridades da Califórnia apenas em 1987, só quando os níveis de cromo se tornaram muito altos (MENDES, 2014). Erin que era auxiliar

em um escritório de advocacia foi a responsável por reunir as provas que incriminavam a PG&E e graças a isso em 1994 a empresa foi processada e condenada a pagar 333 milhões de dólares para as 648 famílias vítimas da contaminação por cromo hexavalente (SANTOS SILVA, 2011).

Nos EUA o limite na água potável é de 100 microgramas/L, já na Austrália o nível máximo permitido em água doce é de 0,01 mg/L e na água do mar de 0,05 mg/L, valor este também recomendado no Brasil, porém para água potável (BRASIL, 2011).

ARSÊNIO (As)

O arsênio (As) não é realmente um metal, mas um semimetal, já que suas propriedades são intermediárias entre as dos metais e as dos não-metais (BAIRD, 2002). O arsênio é um semimetal muito tóxico, que alcançou o lençol freático, em função da mudança da forma de abastecimento da água potável para a população (MACEDO, 2002 apud QUEIROZ, 2006). Em fontes termais e nas águas naturais é frequente a ocorrência de traços de arsênio (PERPÉTUO, 2011), inofensivos à saúde. O aumento do seu teor nas águas é, em geral, devido a despejos industriais, atividades de mineração ou por lavagem superficial do solo, onde são utilizados inseticidas e herbicidas à base desse elemento (SANTOS, 2010).

As fontes de arsênio para o ambiente provêm do uso continuado de seus compostos como pesticidas, de sua emissão durante a mineração e fundição de ouro, chumbo, cobre, níquel (pois ocorre habitualmente nesses minérios), da produção de ferro e aço e da combustão de carvão, do qual é um contaminante. A lixiviação de minas abandonadas de ouro, de décadas e séculos atrás, pode ainda ser uma fonte significativa de poluição por arsênio nos sistemas aquáticos (BAIRD, 2002). Também é usado como fungicida, na indústria da preservação da madeira e com o uso industrial de certos tipos de vidros, tintas e corantes (PERPÉTUO, 2011). Entretanto, a ingestão de água, especialmente se é subterrânea, constitui a principal fonte de arsênio para a maioria das pessoas. Em muitos alimentos, existem níveis secundários de arsênio, e, efetivamente, uma quantidade desse elemento é essencial para a boa saúde das pessoas. Em razão dessa grande quantidade de fontes

torna-se necessário fixar o limite de sua concentração na água de consumo humano (BAIRD, 2002).

A forma química de arsênio consiste de compostos orgânicos e inorgânicos trivalentes e pentavalentes. Sua presença natural se dá principalmente nas águas subterrâneas e em algumas águas superficiais. São as águas moles ricas em bicarbonato de sódio (muito alcalinas) que representam maior concentração de arsênio (GHANEM, 2009).

Os compostos de arsênio, como o óxido de As_2O_3 , foram venenos comuns usados por assassinos e suicidas desde os tempos dos antigos romanos até a Idade Média. Os compostos de arsênio também foram amplamente utilizados como pesticidas, antes da era moderna dos compostos orgânicos. Embora seu uso nestas aplicações tenha diminuído a contaminação por arsênio ainda constitui um problema ambiental em algumas regiões do planeta (BAIRD, 2002).

O arsênio pode entrar no ambiente como formas associadas ao fosfato. Como o mercúrio, o arsênio pode ser convertido em formas mais móveis na água ou formas metiladas mais tóxicas, pela ação de bactérias (MANAHAM, 1994 apud PEREIRA, 2004).

Tanto o arsênio trivalente como o pentavalente são facilmente absorvíveis pelo trato gastrointestinal, pelo pulmão, distribuindo-se por todos os tecidos dos organismos. Acredita-se que a toxidez do arsênio pentavalente se deve à sua redução para trivalente. A concentração do arsênio nos rins, fígado e paredes do intestino pode conduzir a graves conseqüências. Sabe-se que a ingestão de pequenas quantidades como 100 mg pode provocar envenenamento grave, enquanto a ingestão de 130 mg é fatal (BATALHA; PARLATORE, 1977).

Para Ling et al (2005) apud Hobold (2007), os sintomas da intoxicação através do arsênio surgem dentro de 30 minutos se for ingeridos com alimentos. A redistribuição ocorre dentro de 24 horas, para o fígado, baço, rins e trato gastrointestinal. No sistema nervoso central os sintomas incluem delírio, convulsão, coma e morte.

O arsênio tem estado associado à ocorrência de câncer, mas evidências substanciais a partir de estudos e experiências em homens e animais apoiam a

posição que níveis de arsênio normalmente encontrado no ambiente não causam tumores (BATALHA e PARLATORRE, 1998). É encontrado em verduras e frutas. Em moluscos, até 100 mg/Kg, sendo que a ingestão de 130 mg é fatal. Apresenta efeito cumulativo, sendo carcinogênico (PERPÉTUO, 2011).

A ingestão de 100 mg/l pode resultar em severa intoxicação e de 130 mg/l, em acidente fatal. O arsênio elimina-se lentamente do organismo humano, daí o efeito cumulativo de pequenas doses (SANTOS, 2010).

O valor adotado nos padrões internacionais para água de consumo humano da OMS recomenda um nível máximo de arsênio de 0,05 mg/l, já a portaria 2914 de 25 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde estabelece um valor de 0,01mg/L (BRASIL, 2011).

MERCÚRIO (Hg)

A presença do mercúrio no meio ambiente é devida a sua utilização na agricultura. Verifica-se a aplicação do mercúrio na produção eletrolítica da soda e do cloro, na fabricação de instrumentos industriais, farmacêuticos, pinturas, catalisadores, na produção de pesticidas (fungicidas e herbicidas), explosivos, lixiviação das cinzas de carvão ou fabricação de baterias elétricas (KEMMER, 1977 apud BARROS JÚNIOR, 2001) e outras finalidades, constituindo assim, um componente frequente de diversos resíduos industriais (GHANEM, 2009).

Entre os resíduos sólidos é comum encontrarmos: PVC, pilhas, lâmpadas fluorescentes, interruptores, produtos farmacêuticos, entre outros. Todos caracterizados como fontes potenciais de metais e entre eles o mercúrio (BISINOTI, 2002).

O mercúrio elementar é usado em centenas de aplicações, por apresentar uma propriedade incomum de conduzir bem a eletricidade. Em razão disso é muito utilizado em lâmpadas fluorescentes e lâmpadas a mercúrio, destinadas à iluminação pública. Entretanto em razão da contaminação ambiental seu uso tem sido substituído por lâmpadas a vapor de sódio, que apresentam um risco de toxicidade menor e constituem fontes de luz mais eficientes (BAIRD, 2002).

A preocupação a respeito da poluição por mercúrio surge dos seus efeitos à saúde humana (como distúrbios renais e neurológicos), decorrentes da exposição ao mercúrio metilado, extremamente tóxico. Uma grande quantidade de mercúrio pode ser adsorvida ao húmus, quando em pH ácido, favorecendo assim a formação de metilmercúrio. Quando em pH básico, a maior quantidade de mercúrio é adsorvida pela fração mineral (BISINOTI, 2002).

O mercúrio é o mais volátil de todos os metais, e seu vapor é altamente tóxico, pois difunde-se dos pulmões para a corrente sanguínea, e depois atravessa a barreira hemato-encefálica para penetrar no cérebro; o resultado é um grave dano ao sistema nervoso central, que se manifesta por dificuldades na coordenação, na visão e no tato. Grandes quantidades de vapor de mercúrio são lançadas ao ar, como resultado da combustão descontrolada de carvão e óleo combustível, ambos contendo traços do elemento, e da incineração de lixo municipal, que contém mercúrio em alguns produtos, como as baterias (BAIRD, 2002).

Ainda que o mercúrio inorgânico possa ter efeitos prejudiciais sobre o homem e outros animais, tornou-se claro que os componentes orgânicos de mercúrio da forma alquil são os mais tóxicos, principalmente o metilmercúrio. São suficientes em pequenas concentrações para se manifestarem sintomas clínicos após algumas semanas ou mesmo alguns anos (BATALHA; PARLATORE, 1998).

O mercúrio combina-se fortemente com proteínas dos seres vivos, e age especificamente sobre os tecidos dos rins, destruindo a capacidade destes órgãos de remover do sangue produtos de eliminação (COELHO, 1990 apud PEREIRA, 2004). Ele pode ser ainda ser metilizado por atividade bacteriana e ser introduzida na cadeia alimentar aquática (KEMMER, 1977 apud BARROS JÚNIOR, 2001). Os efeitos sobre os ecossistemas aquáticos são igualmente sérios, de forma que os padrões de classificação das águas naturais são também bastante restritivos com relação a este parâmetro (PERPÉTUO, 2011).

Inúmeros casos de intoxicações, às vezes com características epidêmicas, atribuídos à contaminação de produtos alimentícios outros, além de peixes e animais aquáticos, também já se registraram. Assim, a partir dos anos 50, ocorreram, em distintas partes do mundo, episódios de intoxicação coletiva por mercúrio, entre os maiores já registrados, como resultado da ingestão de sementes

de trigo e outros cereais tratados com praguicidas organomercuriais (AZEVEDO et al. 2001).

Os principais acidentes de contaminação ao redor do mundo foram:

- Iraque, em 1956: 100 pessoas foram envenenadas devido à ingestão de alimentos contaminados com etilmercúrio presente no fungicida utilizado no cultivo do trigo, 14 pessoas vieram a óbito; Neste país, os mercuriais orgânicos passaram a ser usados como desinfetantes de sementes em 1955 e já no período 1955-59 ocorreram 200 casos de intoxicação. Um surto mais claramente definido foi verificado em 1960, acarretando cerca de mil internações hospitalares (DAMLUJI, 1976 apud AZEVEDO et al., 2001).
- Japão, de 1953 a 1960: na Baía de Minamata onde fábricas de acetaldeído e cloreto de vinila descarregavam grades quantidades de cloreto de mercúrio e metilmercúrio no mar. Nesse período, 121 pessoas foram envenenadas por se alimentarem com peixes e moluscos apanhados na área contaminada, resultando 46 mortes;
- Japão em 1965, em Niigata: 47 casos de envenenamento e 6 mortes em circunstâncias semelhantes. As pessoas mais severamente atacadas consumiam peixe de águas contaminadas com mercúrio, com uma frequência de 0,5 a 3 vezes por dia.
- Iraque: No período de dezembro de 1971 a março de 1972 (inverno), uma ocorrência muito grave de intoxicações por organomercuriais, na verdade uma epidemia, voltou a castigar o Iraque. Desta feita houve admissão hospitalar de 6.530 casos, dos quais 459 evoluíram a óbito. O agente tóxico então responsável foi o metilmercúrio contido no fungicida (AZEVEDO et al., 2001).

Esses acidentes são exemplos dos efeitos deletérios que o mercúrio produz podendo levar a danos irreversíveis ao sistema nervoso central, atingindo funções sensoriais, visuais, auditivas e motoras, podendo levar à morte (AZEVEDO, 2003 apud SILVA, 2007).

A intoxicação aguda pelo mercúrio apresenta os como sintomas: dor intensa, vômitos (podem ser até sanguinolentos), sangramento nas gengivas, sabor metálico na boca, ardência no aparelho digestivo, diarreia grave ou sanguinolenta, inflamação na boca (estomatite), nefrose nos rins, problemas hepáticos e pode levar a morte em até 2 dias; Já a sua intoxicação crônica tem como sintomas: transtornos digestivos, transtornos nervosos, caquexia (perda do apetite, fraqueza e perda muscular), afrouxamento dos dentes, transtornos renais leves e possibilidade de alteração cromossômica (HIGASHI, 2013).

A intoxicação crônica do mercúrio leva a "Doença de Minamata". Os sintomas incluem distúrbios sensoriais nas mãos e pés, danos à visão e audição, fraqueza e, em casos extremos, paralisia e morte. A "Síndrome de Minamata" demora 20 anos para se manifestar após o início da contaminação (HIGASHI, 2013).

O mercúrio é largamente utilizado no Brasil nos garimpos, no processo de extração do ouro (amálgama). O problema é em primeira instância ocupacional, pois o próprio garimpeiro inala o vapor de mercúrio, mas, posteriormente, torna-se um problema ambiental, pois normalmente nenhuma precaução é tomada e o material acaba por ser descarregado nas águas. Casos de contaminação já foram identificados na região do Pantanal, no norte brasileiro e em outras. Pode ainda ser usado em indústrias de produtos medicinais, desinfetantes e pigmentos (PERPÉTUO, 2011).

Os padrões da qualidade da água para o consumo humano da OMS limitam em 0,001 mg/l a quantidade máxima de mercúrio na água, valor este também recomendado pela portaria 2914 (BRASIL, 2011).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de metais pesados na água traz consigo inúmeros problemas de saúde pública. Eles, em geral, têm origem em rejeitos industriais que acabam sendo lançados indevidamente nos corpos d'água e assim os contaminando.

Considerando os impactos ambientais e os efeitos causados na saúde do homem pelos acidentes já ocorridos com metais pesados, o mercúrio, o cromo hexavalente, o chumbo e o cádmio são os que mais chamam atenção em um primeiro momento, entretanto a detecção de qualquer um deles na água, seja o zinco, cobre, bário, chumbo, cádmio, cromo, arsênio ou o mercúrio, requer uma série de medidas para a investigação das fontes de poluição, análise do teor de contaminação e cuidados para a mitigação de seus danos, pois estes são elementos extremamente tóxicos, que podem deixar sequelas irreversíveis as suas vítimas por décadas, ou mesmo gerações, como nos grandes casos de contaminações ambientais que resultem em câncer e até mesmo conduzir centenas de pessoas ao óbito rapidamente por intoxicação.

O desenvolvimento de novas tecnologias está possibilitando a substituição de vários desses elementos nas cadeias produtivas, o que resulta, como consequência em uma presença menor deles nos efluentes gerados. Entretanto, em razão de todos os metais pesados terem várias fontes de emissão, o monitoramento deles na água é de extrema importância, para que suas concentrações não ultrapassem os limites máximos toleráveis, tanto para a garantia da saúde e bem estar dos seres humanos, como também pela manutenção do equilíbrio de todo o meio ambiente.

A detecção dos metais pesados nos mananciais de abastecimento torna necessária a verificação de seus níveis, para avaliar se estão dentro de valores permissíveis ou não, pois ainda hoje poucos métodos apresentam grandes resultados na sua remoção, e ainda assim os existentes são de difícil implementação, devido à baixa taxa de retirada do contaminante, ao alto custo do processo e ao grande tempo de duração que a descontaminação demanda. Sendo em muitos casos, o mais recomendável e prudente, a interrupção imediata do uso desse manancial e a sua substituição por outro que atenda os limites estabelecidos pelo Padrão de Potabilidade.

No Brasil a norma atual de regulamentação do Padrão de Potabilidade, que é a Portaria 2.914 de 2011 do Ministério da Saúde, traz valiosas informações sobre os índices de toxicidade ao ser humano e ao ecossistema, refletindo através dos rigorosos Valores Máximos Permissíveis (VMPs) uma preocupação mundial com a

qualidade da água que é ofertada à população nos mananciais de abastecimento. E desta forma, chama a atenção para um monitoramento bastante responsável dos corpos d'água, não só com relação à presença dos metais pesados, mas também de vários outros agentes tóxicos, que assustadoramente se fazem cada vez mais presentes em nossas vidas na atualidade.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, F. A. et al. Aspectos Atualizados dos Riscos Toxicológicos do Mercúrio. TECBAHIA R. Baiana Tecnol., v. 16, n. 3, p.87 a 104, 2001.

BAIRD, Colin. Química Ambiental; trad. Maria Angeles Lobo Récio e Luiz Carlos Marques Carrera. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

BARROS JÚNIOR, L. M. Biosorção de metais pesados presentes em águas de produção da indústria de petróleo. Natal, 2001. 127 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química, UFRN.

BATALHA, B. I.; PARLATORRE, A. C. Controle da qualidade da água para consumo humano: bases conceituais e operacionais. São Paulo: CETESB, 1998.

_____. Controle da qualidade da água para consumo humano: bases conceituais e operacionais. São Paulo: CETESB, 1977.

BEAN, Elwood L. Potable water-quality goals. Journal American Water Works Association, New York, N.Y. 66(4):221-30, Apr. 1974.

BISINOTI, M. C. Produção de Hg orgânico em sedimentos tropicais a partir do Hg⁰ experimentos em microcosmos. Campinas, 2002. 133 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em: http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.>>. Acesso em 20 jun. 2015.

CASQUÍMICA. Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos: Cloreto de Bário. 2008. Disponível em: <http://www.casquimica.com.br/fispq/cloretobario.pdf>. Acesso em 20 jul. 2015.

CASTILHOS, D.; GUADAGNIN, C. A.; SILVA, M. D. DA; LEITZKE; V. W.; FERREIRA, L. H.; NUNES, M. C. Acúmulo de cromo e seus efeitos na fixação biológica de nitrogênio e absorção de nutrientes em soja. In: Rev. Bras. de AGROCIÊNCIA, v.7 n. 2, p. 121-124, Mai-Ago, 2001.

CHAGAS, G. C. Avaliação do potencial bioindicador de *Trichodactylus fluviatilis* (Latreille, 1828) (crustacea: decapoda: trichodactylidae) na Bacia Do Rio Corumbataí (s/p). Rio Claro, 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Instituto De Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho.

CHEIS, D. Os danos que o Cromo Hexavalente pode causar à saúde. 2013. Disponível em: <<http://www.revistatae.com.br/noticiaInt.asp?id=6928>>. Acesso em 27 jul. 2015.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem. São Paulo, 2009. Disponível em: <<http://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/32/2013/11/variaveis.pdf>> Acesso em 23 jul. 2015.

CRUVINEL, D. F. C. Avaliação da fitorremediação em solos submetidos à contaminação com metais. Ribeirão Preto, 2009. Dissertação (Mestrado) - Dep. de engenharia química e engenharia de alimentos - Universidade de Ribeirão Preto, UNAERP.

CRUZ, N. R. Exposição Ambiental ao Chumbo: Um Problema de Áreas Contaminadas Próximas a Fábricas de Baterias. Bauru, 2012. 34 f. Monografia (Licenciatura em Química). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP.

ESCOBAR, N. F. C. Estudo hidrogeoquímico nos estuários dos rios Jaguaribe e Passa-Vaca, Salvador, BA. Salvador, 2011. Monografia (Bacharelado em Oceanografia) – Universidade Federal da Bahia.

GHANEM, M. A. Avaliação da qualidade da água subterrânea em Joinville, SC e seus riscos à saúde. Joinville, 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente) - Universidade da Região de Joinville, UNIVILLE.

GONÇALVES, M. F. Variação temporal e espacial da presença dos metais pesados Cd, Cr, Ni, Pb, Zn na Bacia Do Rio Barigüi e identificação de suas fontes potenciais. Curitiba, 2008. 131 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) – Universidade Federal do Paraná.

GREENPEACE. Metais Pesados: contaminando a vida. 2003. Disponível em <http://www.greenpeace.org.br/toxicos/pdf/metais_pesados.doc>. Acesso em 24 jun. 2015.

HIGASHI, A. N. Intoxicação crônica e aguda por metais pesados na pesquisa ortomolecular. 2013. Disponível em: <<http://www.ortomoleculardrhigashi.med.br/not%C3-%ADcias/62/intoxicacao-cronica-e-aguda-por-metais-pesados-na-pesquisa-ortomolecular#>>>. Acesso em 28 jul. 2015.

HOBOLD, Valdir. Avaliação de Metodologias para Análise Toxicológica utilizando algas do tipo *Scenedesmus subspicatus* e *Daphnia magna*. Criciúma, 2007. 85 f. Monografia (Curso de Engenharia Ambiental) - Universidade do Extremo Sul Catarinense.

KAWAI, Bruna et al.. Poluição por metais. 2003. Disponível em <<http://www.fernandosantiago.com.br/met90.htm>>. Acesso em 28 jun. 2015.

LOCATELLI, O. C. Metais pesados nas águas da microbacia do Lajeado São José – Chapecó – SC – Brasil e suas implicações na saúde da população. Revista Grifos, n. 27, p 139-154, Dezembro/2009.

LOPES, D. Plantas nativas do cerrado uma alternativa para fitorremediação. Estudos, Goiânia, v. 37, n. 3/4, p. 419-437, mar./abr. 2010.

MALDONADO, A. C. D; WENDLING, B. Manejo de ecossistemas aquáticos contaminados por metais pesados. Agropecuária Técnica. Areia-PB, v.30, n.1, p.21–32, 2009.

MENDES, Diogo. 10 Terríveis Tragédias que Eles Tentaram Manter em Segredo. 2014. Disponível em: <<http://www.relativamenteinteressante.com/2014/03/10-terríveis-tragedias-que-eles.html>>. Acesso em 28 jul. 2015.

NEVES, F. C. et al. Transporte e comportamento geoquímico de metais pesados no estuário Guajarina, Pará/Brasil. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 21., João Pessoa, 2001. ABES – Trabalhos Técnicos. p. 1-28.

PEREIRA, R.S. Identificação e caracterização das fontes de poluição em sistemas hídricos. Revista Eletrônica de Recursos Hídricos. IPH-UFRGS. v.1, n. 1. p. 20-36, 2004.

PERPÉTUO, E. A. Parâmetros de caracterização da qualidade das águas e efluentes industriais. 2011. Disponível em: <<http://www.cepema.usp.br/wp-content/uploads/2011/06/8-Par%C3%A2metros-de-caracteriza%C3%A7%C3%A3o-da-qualidade-das-aguas-e-efluentes-industriais.pdf>>. Acesso em 22 jul. 2015.

PINTO, L. M. O. Implicações da contaminação por metais pesados no meio ambiente da Baía de Sepetiba e entorno: O caso da Cia Mercantil Ingá. Niterói, 2005. 131 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas de Gestão), Universidade Federal Fluminense.

QUEIROZ, M. T. A. Bioacumulação de metais pesados no Rio Piracicaba, minas gerais, aplicando a análise por ativação neutrônica instrumental. Coronel Fabriciano, 2006. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial). Centro Universitário do Leste de Minas Gerais, UNILEST-MG.

REMIÃO, F. Bário Comunicação de Risco. 2012. Disponível em: <<http://bario2.wix.com/bario#!toxicocinetica/c1w8g>>. Acesso em 23 jul. 2015.

ROSSI, A. Biossorção de cromo VI por espécies de *aspergillus* utilizando esporos livres e encapsulados. Passo Fundo, 2012. 62 f. Monografia (Curso de Engenharia Ambiental) – Universidade de Passo Fundo.

SANTOS SILVA, O. S. Contaminação por cromo hexavalente, cidade de Hinkley, EUA. 2011. Disponível em: <<http://orlandosantosdasilva.blogspot.com.br/2011/04/contaminacao-por-cromo.html>>. Acesso em 28 jul. 2015.

SANTOS, C. C. A Gestão Ambiental no re-aproveitamento de água na indústria têxtil. Rio de Janeiro, 2010. 51 f. Monografia (Especialização em Gestão Ambiental) – Universidade Cândido Mendes.

SANTOS, G. C. G. dos; RODELLA, A. A. Poluição do solo e qualidade ambiental. USP/ESALQ. Revista Brás. Ci. Solo, v. 31, p. 793-804, 2007.

SANTOS, Ismael Brando. Tratamento e Análises de Águas Industriais. 2011. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAfLQUAC/tratamento-analise-aguas-industriais>>. Acesso em 22 jun. 2015.

SANTOS, J. P. Caracterização de Cd, Co, Cu, Pb, Cr, Fe, Mn, Zn e Hg na lixeira urbana de Porto Velho – Rondônia. Porto Velho, 2006. 93 f. Monografia (Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Rondônia, UNIR.

SILVA, A. L. S. Contaminação ambiental por chumbo. 2011. Disponível em: <<http://www.infoescola.com/ecologia/contaminacao-ambiental-por-chumbo/>>. Acesso em 16 jul. 2015.

SILVA, C. S.; PEDROSO, M. F. Ecotoxicologia de cromo e seus compostos. 2001. In: Caderno de Referencia Ambiental. v 6. Salvador/Bahia, 2001.

SILVA, J. M. Estudo de elementos-traço em macrófitas aquáticas da sub – Bacia Do Rio Madeira. Porto Velho, 2007. 49 f. Monografia (Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Rondônia, UNIR.

SOUZA, I. F. Caracterização da qualidade de efluente e a possível utilização do resíduo como fonte energética. Botucatu, 2005. 137 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho.

A POLUIÇÃO HÍDRICA E OS METAIS PESADOS

*Lindomar Gomes dos Santos*¹

*Wanderlei Elias Perez*²

*Rodrigo da Silva Santos*³

A poluição do meio ambiente tornou-se assunto de interesse público em todas as partes do mundo. Não apenas os países desenvolvidos vêm sendo afetados pelos problemas ambientais, também as nações em desenvolvimento começam a sofrer os graves impactos da poluição. Isso decorre de um rápido crescimento econômico associado à exploração de recursos naturais até então intocáveis. Ao lado dos crescentes problemas provocados pela contaminação do meio ambiente, estão os processos de produção utilizados para extrair matérias-primas e para transformá-las numa multiplicidade de produtos para fins de consumo em escala internacional (BRAILE, 1979).

A saúde de uma população está diretamente relacionada com as condições socioeconômicas e sanitárias em que vivem. Desta forma a qualidade e a quantidade da água que utiliza o destino dos dejetos, as soluções para eliminar o lixo, assim como a quantidade e a qualidade dos alimentos disponíveis são de fundamental importância para a promoção, proteção e recuperação da saúde (MACHADO, 1988).

Em pequenas comunidades urbanas e rurais grande parte dos problemas de saúde é devida à má qualidade ou pequena quantidade para o consumo e higiene. Logo, a saúde humana é dependente não apenas da quantidade de água adequada, mas também da qualidade apresentada por ela (PANAMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2001).

¹ Biólogo. Especialista em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia pela Universidade Federal de Goiás (UFG).

² Farmacêutico. Mestre em Engenharia do Meio Ambiente pela Universidade Federal de Goiás (UFG).

³ Biólogo. Doutor em Ciências Biológicas (Genética) pela Universidade de São Paulo (USP).

Essa qualidade está diretamente relacionada aos tipos de impurezas nela contida, bem como aos seus respectivos teores de concentração. As impurezas, que são capazes de conferir à água suas características, podem ser determinadas através de exames físicos (cor, turbidez, etc.) ou exames químicos (do cloro residual, dos metais pesados, oxigênio consumido, pH, etc.) (VIANA, 2001).

O presente trabalho irá discorrer sobre as formas de poluição hídrica nos padrões de potabilidade vigentes e sobre um dos grandes problemas de saúde pública mundial, que são metais pesados.

ESTÁGIOS DE POLUIÇÃO

A proteção ao meio ambiente contra os agentes poluidores de origem industrial é um problema complexo para países como o Brasil (ARTHAUD, 2005). Segundo Braile e Cavalcanti (1993) a questão mais importante parece estar centralizada nos seguintes aspectos: Providenciar um controle ambiental seguro, sem prejuízos dos investimentos econômicos; Obtenção de informação técnica referente aos melhores meios de que se dispõe para controlar a poluição; Obtenção e emprego de técnicas de controle à poluição ambiental e de pessoal especializado em sua aplicação; Selecionar e adaptar as soluções de controle importadas ao conjunto de técnicas desenvolvidas no país.

Inicialmente é necessário caracterizar as diferentes formas de contaminação do meio ambiente causadas pela atividade humana. Segundo Braile e Cavalcanti (1993) consideram que existem essencialmente três situações de poluição, cada uma delas característica do estágio de desenvolvimento social e industrial:

A) Primeiro Estágio: Poluição Patogênica. Neste estágio, as exigências quanto à qualidade da água são relativamente pequenas, tornando-se comuns as enfermidades veiculadas pela água. O uso de estações de tratamento de água e sistemas de adução podem prevenir os problemas sanitários nesse estágio.

B) Segundo Estágio: Poluição Total. Este estágio define-se como aquele em que os corpos receptores tornam-se realmente afetados pela carga poluidora que recebem (expressa como sólidos em suspensão e consumo de oxigênio). Embora neste estágio a “saúde” do corpo do receptor seja diretamente afetada, os prejuízos à saúde da população podem ser reduzidos se existirem estações eficientes de tratamento de água e de esgoto. Essa fase normalmente ocorre durante o desenvolvimento

industrial e o crescimento das áreas urbanas. A tecnologia existe como medida terapêutica.

C) Terceiro Estágio: Poluição Química. É o estágio da poluição causada pelo contínuo uso da água. O consumo de água aumenta em função do crescimento exponencial da população e da produção industrial. Cada dia é maior a quantidade de água retirada dos rios e maior e mais diversa a poluição neles descarregada. Tais águas conterão desde sólidos dissolvidos e compostos orgânicos até compostos químicos mais sofisticados (como, por exemplo, organofosforados e vários tipos de metais pesados, usados na indústria e agricultura), que causam preocupações, uma vez que não podem ser detectados rapidamente nas baixíssimas concentrações em que ocorrem.

A portaria 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde, que regulamenta a qualidade da água para o consumo humano no Brasil, define o Valor Máximo Permissível (VMP) para substâncias químicas inorgânicas que representam risco à saúde, expresso na Tabela 1, a seguir.

Tabela 1 - Padrão de potabilidade para substâncias químicas Inorgânicas.

<i>SUBSTÂNCIAS INORGÂNICAS</i>		
PARÂMETRO	UNIDADE	<i>VMP</i>
Antimônio	mg/L	0,005
Arsênio	mg/L	0,01
Bário	mg/L	0,7
Cádmio	mg/L	0,005
Cianeto	mg/L	0,07
Chumbo	mg/L	0,01
Cobre	mg/L	2
Mercúrio	mg/L	0,001
Fluoreto	mg/L	1,5
Cromo	mg/L	0,05

Nitrato	mg/L	10
Nitrito	mg/L	1
Selênio	mg/L	0,01
Urânio	mg/L	0,03

Fonte: BRASIL, 2011.

CONTROLE DA QUALIDADE DA ÁGUA PARA FINS DE ABASTECIMENTO.

A água é originada através da ação das chuvas, que ao se precipitarem sobre a superfície terrestre formam, então, os rios, lagos, açudes e, no subsolo, os lençóis freático (raso) e artesianos (profundo). A Terra é chamada “planeta água” pelo fato de possuir 70% de sua superfície coberta por água (QUEIROZ, 2006).

Sua importância pode ser observada inclusive na composição dos organismos, como no caso dos humanos, nos quais está presente em cerca de 70% de seu peso corpóreo, sendo constituinte de moléculas, organelas, células, tecidos, etc. Também é o constituinte orgânico mais abundante na matéria viva em geral, podendo representar de 65 a 95% de massa da maior parte das formas vivas (SANTOS, 2011).

Sendo a água um ótimo solvente, quando se precipita, dissolve os gases existentes na atmosfera (gás carbônico, oxigênio, etc.). Ao atingir a terra, parte dela escoar sobre a superfície, parte se infiltra e outra se evapora (MIRANDA et al., 2010). A parte que escoar e a que se infiltra vão dissolvendo, em sua trajetória, os minerais existentes como, por exemplo, os carbonatos de cálcio e magnésio promovendo também o carreamento de substâncias tóxicas como pesticidas e defensivos agrícolas, ricos em metais pesados.

O conceito de impureza na água é relativo e está ligado ao uso específico ao qual ela se destina (BRASIL, 2011). Na indústria, por exemplo, de um modo geral, a água pode ser matéria-prima e se junta a outras para criar produtos acabados, ou ser utilizada como meio de transporte, como agente de limpeza em sistemas de refrigeração, como fonte de vapor e produção de energia.

Oliveira (1987) apud Magno e Souza (2007) considerou que as impurezas comumente encontradas na água apresentam-se:

- Em suspensão: bactérias, microrganismos (algas, protozoários), areia, silte, argila, resíduos industriais e domésticos.
- Em estado coloidal: substâncias corantes vegetais e sílica.
- Em dissolução: sais de cálcio, de magnésio e de sódio, ferro, manganês e gases (oxigênio, gás carbônico, etc.).

Outras substâncias podem se fazer presentes na água, tais como:

- As de interesse especial: iodo, flúor e substâncias radioativas.
- As que podem causar envenenamento: arsênio, cromo, cobre e chumbo.
- As que em excesso têm efeito laxativo: magnésio e sulfato.

Na indústria química – que às vezes gera poluentes extremamente perigosos – a água é a matéria-prima mais usada na manufatura de centenas de produtos importantes, vindo o ar em segundo lugar. Vários minérios e minerais, usualmente considerados como elementos básicos mais importantes na fabricação de produtos químicos, na verdade ficam aquém da água e do ar em frequência de uso (MACHADO, 1988).

Não existindo na natureza água em absoluta pureza, necessário se faz o estabelecimento dos limites máximos aceitáveis para as impurezas nela contida, de acordo com o fim a que se destina. Nasceu daí o conceito de Padrão de Potabilidade, ou seja, a fixação dos limites aceitáveis de impurezas contidas na água destinada ao abastecimento público (PHILIPPI JR, 1992 apud GIAFFERIS, 2001).

Poluição pode ser entendida como qualquer alteração nas propriedades físicas, químicas e biológicas das águas que possa trazer prejuízos à saúde, à segurança e ao bem estar da população.

De uma maneira geral, considera-se que a poluição das águas é decorrente da adição de substâncias ou de formas de energia que alteram as características físicas e químicas do corpo d'água, prejudicando assim a utilização das suas águas para usos benéficos (SANTOS, 2011).

Pádua (2010) ressalta os dois tipos distintos de poluição das águas e como eles afetam o corpo receptor (rio, baía, lago, lagoa, laguna, reservatório, aquífero

subterrâneo e o mar). No primeiro, denominado fonte ou poluição pontual, a poluição é decorrente de ações modificadoras localizadas. É o caso, por exemplo, da desembocadura de efluentes de uma estação de tratamento de esgotos domésticos ou industriais em um rio, ou mesmo, a saída de um tronco coletor de esgotos domésticos sem tratamento, ou ainda a saída no mar, de um emissário submarino.

O autor ainda pontua que o segundo tipo é a poluição difusa se dá pela ação das águas da chuva ao lavarem e transportarem a poluição nas suas diversas formas espalhadas sobre a superfície do terreno (urbano ou não) para os corpos receptores. A poluição difusa é distribuída ao longo das margens, não se concentrando em um único local como é o caso da poluição pontual (PÁDUA, 2010). Não havendo possibilidade de estabelecer qualquer padrão de lançamento, seja em termos de quantidade, frequência ou composição. Por esse motivo o seu controle é bastante difícil em comparação com a poluição pontual (MIERZWA, 2001 apud PEREIRA, 2004).

Embora se registrem progressos no setor das técnicas de controle da poluição para vários campos da indústria de extração e transformação, ainda não se chegou a métodos que propiciem um controle absoluto. É inegável, porém, a urgência de adotarem-se outras medidas de controle, a fim de assegurar a não ocorrência de prejuízos irreparáveis, sob a ótica ambiental, mesmo nas áreas menos desenvolvidas (BRAILE, 1979).

O nível de controle – necessário ou imposto – é frequentemente definido em termos da melhor tecnologia, cuja determinação depende de dois fatores primordiais: informação disponível e condições econômicas. Diante da necessidade de controle, torna-se lógico considerar a melhor tecnologia, que ofereça vantagens significativas em comparação a outras técnicas. Entretanto, a fim de identificá-la e aplicá-la, é indispensável contar com informações que definam as condições de aplicabilidade e desenvolvimento do controle de poluição (VIANA, 2001).

Note-se que isto não se limita apenas à qualificação dos efluentes, mas deve também abranger uma vasta gama de processos de produção menos poluidores, conversão de energia, custos de controle, etc.

As considerações econômicas exercem grande influência, quando se trata de definir a melhor tecnologia. Fatores regionais (tais como a capacitação da mão-de-

obra e custo de energia) também desempenham um importante papel, quando se trata de decidir se uma técnica é viável ou não (BRASIL, 2006).

A falta de exigência, em relação ao controle, na maioria dos países em desenvolvimento, implica em que a tecnologia existente seja aceitável. Desse modo, haverá pouco ou nenhum incentivo por parte das empresas, a fim de desenvolver novas práticas menos poluentes e mais adequadas ao contingente de recursos dos países em que se localizam (SANTOS, 2009).

Pereira (2004) observa que o grau de poluição das águas é medido através de características físicas, químicas e biológicas das impurezas existentes, que são identificadas por parâmetros de qualidade das águas (físicos, químicos e biológicos).

Para o autor, as características físicas são analisadas sob o ponto de vista de sólidos (suspensos, coloidais e dissolvidos na água) e gases. Já as características químicas, observam as substâncias orgânicas e inorgânicas e as biológicas sob o ponto de vista da vida animal, vegetal e organismos unicelulares (algas) (PEREIRA, 2004).

A poluição química tem o inconveniente de enriquecer as águas com substâncias estranhas à sua composição natural. Certas substâncias, em teores elevados, podem favorecer o desenvolvimento nocivo de microrganismos prejudicando a qualidade da água (SANTOS, 2011). A presença de organismos patogênicos na água constitui o aspecto de maior significação e interesse para a saúde pública.

Por contaminação entende-se a presença na água de elementos em concentração nocivos à saúde humana, tais como, bactérias patogênicas, substâncias tóxicas e/ou radioativas (BRASIL, 2006)

Braile (1993) apud Sassim et al. (2001) pontua que atualmente, os poluentes industriais que mais preocupam são os orgânicos, especialmente os sintéticos e os metais pesados. A poluição por matérias orgânicas vem crescendo muito, principalmente a partir do fim da Segunda Guerra Mundial, com a expansão acelerada da indústria petroquímica. Segundo Maia et al. (1998) e O'Connor et al. (2000) apud Silva et al. (2004) “Por razões da mesma natureza, existem também grandes preocupações com relação aos despejos que encerram metais pesados”.

O PROBLEMA DOS METAIS PESADOS

Os metais pesados são micropoluentes inorgânicos provenientes, na sua maioria, de efluentes industriais altamente tóxicos para a vida aquática (TOMAZ, 2006 apud SANTOS, 2013).

Uma vasta gama de atividades econômicas faz a utilização de diversos tipos de metais durante seus processos de produção, tais como, indústrias metalúrgicas, de tintas, de cloro e de plástico PVC (vinil) e como resultado, parte deles acaba sendo lançada nos cursos de água. Outras fontes importantes de contaminação do ambiente por metais pesados são os incineradores de lixo urbano e industrial, que promovem a sua volatilização e formam cinzas ricas em metais, principalmente mercúrio, chumbo e cádmio (PEDREIRA FILHO et al, 2009).

Desde que o homem descobriu a metalurgia, a produção de metais pesados aumentou e seus efeitos tóxicos geraram problemas de saúde permanentes, tanto para seres humanos como para o ecossistema (GREENPEACE, 2003). Tem sido noticiada a ocorrência da contaminação de adultos, crianças, lotes e residências, com os metais pesados, principalmente por chumbo e mercúrio (KAWAI et al., 2003).

Em geral, as concentrações de metais pesados na água estão muito abaixo dos padrões de qualidade estabelecidos, sendo as quantidades de metais ingeridas através de nossa dieta alimentícia, muito mais importantes do que as quantidades contidas na água que bebemos (WEIBULL, 2001). Por outro lado, entretanto, a tendência dos metais pesados é de se aderirem aos sólidos em suspensão que com o tempo acabam sedimentando-se no fundo do corpo d'água (ESTEVES, 2002 apud MALDONADO; WENDLING, 2009). Em virtude disso procura-se analisar as concentrações de metais pesados nos sedimentos, cujos valores podem ser significativos e representar uma ameaça para a biota e, conseqüentemente, ao ser humano no topo da cadeia alimentar (WEIBULL, 2001).

Uma vez identificada a presença de um metal em um local de trabalho ou atividade deve ser realizado o seu monitoramento para que se conheça a sua toxicidade, que é a capacidade de provocar um efeito deletério, quando introduzido no organismo humano e por este absorvido, verificando, então a possibilidade de exposição ocupacional, ou seja, o risco ou periculosidade que é a capacidade ou probabilidade do metal sair de onde se encontra e penetrar no organismo humano e

atingir os seus sítios de ação e provocar um efeito nocivo (COLACIOPPO, 2001).

Algumas substâncias experimentam o fenômeno da biomagnificação: suas concentrações aumentam progressivamente ao longo de uma cadeia alimentar ecológica (HOBOLD, 2007). E isso ocorre com os metais pesados, que além de serem tóxicos são cumulativos no organismo e podem provocar diversos tipos de doenças no ser humano com a ingestão de pequenas doses, por períodos consideráveis (DIAS et al., 2001). Os metais são mensurados, geralmente, em miligramas por grama ou microgramas por grama, expressos em peso seco (SANTOS, 2007).

Esses metais não podem ser destruídos e apresentam uma alta capacidade de interação com o meio, são reativos, o que explica a dificuldade de encontrá-los em estado puro na natureza. Normalmente esses elementos apresentam-se em concentrações muito pequenas, associadas a outros elementos químicos, dando origem aos minerais nas rochas. Quando são lançados na água junto com os resíduos industriais eles podem ser absorvidos, tanto pelos tecidos animais, quanto por vegetais (GREENPEACE, 2003).

Os rios desaguam no mar e desta forma estes poluentes também alcançam as águas salgadas e podem se depositar no leito oceânico. Além disso, os organismos marinhos que acumularem os metais pesados, ao morrerem também contribuiram para a fixação deles nos sedimentos, representando um estoque permanente de contaminação para a fauna e a flora aquáticas (GREENPEACE, 2003).

Metais como o zinco (Zn), o cobre (Cu), o bário (Ba), o chumbo (Pb), o cádmio (Cd), o cromo (Cr), o arsênio (As) e o mercúrio (Hg), são aqueles que apresentam maiores riscos ambientais em razão de seu uso intenso, toxicidade e ampla distribuição. Até o momento, nenhum invadiu o ambiente a ponto de constituir um perigo difundido por toda parte. Contudo, foi descoberto que cada um deles ocorre em níveis tóxicos em determinados locais nos últimos tempos (HOBOLT, 2007).

Batista e Venâncio (2003) apud Amaral Neto (2015) ressaltam o fato de que no passado, era frequente a contaminação com metais pesados devido ao contato dos alimentos com materiais de equipamentos como o cobre e chumbo das canalizações ou soldas, materiais de embalagens e ainda por incorporação de água contaminada aos alimentos.

Baird (2002) observa o fato de que apesar de associarmos os metais pesados

como poluentes da água e, conseqüentemente, de nossos alimentos, eles são em sua maioria transportados de um lugar para outro por via aérea, seja como gases ou como espécies adsorvidas em material particulado em suspensão. Conforme já foi observado nos Grandes Lagos, região dos Estados Unidos, e em alguns países da Europa, como a Suécia, em que a deposição de chumbo em sedimentos de lagos remonta à época dos antigos gregos, que foram os primeiros a produzir prata em grandes quantidades para fabricar moedas. Aparentemente, uma quantidade bastante substancial de chumbo contaminante presente na prata bruta escapou para o ar durante a refinação do metal (BAIRD, 2002). Desta forma, observa-se que substâncias tóxicas também podem se depositadas no solo ou em corpos d'água de regiões distantes, em razão do movimento das massas de ar. Assim, os metais pesados podem estar presentes em vários organismos que compõem a cadeia alimentar humana, entretanto é necessário salientar que populações residentes em locais próximos a indústrias ou incineradores estão mais suscetíveis a uma possível contaminação (GREENPEACE, 2003).

A toxicidade dos metais pesados depende em grande medida da forma química do elemento. Pois existem formas quase totalmente insolúveis passam através do corpo humano sem causar grandes danos e outras mais devastadoras que causam doenças imediatas ou morte, como o óxido de arsênio em dose suficientemente elevada (BAIRD, 2002). A contaminação por metais pesados representa um enorme risco à saúde pública, pois são difíceis de serem eliminados e se acumulam no organismo (AMARAL NETO, 2015).

Baird (2002) considera que essa toxicidade depende do pH e da quantidade de carbono dissolvido e em suspensão, já que interações como complexação e adsorção podem remover de forma satisfatória alguns íons metálicos e eliminar sua atividade biológica potencial.

CLASSIFICAÇÃO E OCORRÊNCIA DOS METAIS PESADOS.

Kawai et al. (2003) colocam que a classificação dos metais pesados ocorre da seguinte maneira:

1. Elementos essenciais: sódio, potássio, cálcio, ferro, zinco, cobre, níquel e magnésio.

2. Micro-contaminantes ambientais: arsênio, chumbo, cádmio, mercúrio, alumínio, titânio, estanho e tungstênio.
3. Elementos essenciais e simultaneamente micro-contaminantes: cromo, zinco, ferro, cobalto, manganês e níquel.

A Tabela 2, que se segue esboça os principais metais pesados e as suas principais fontes contaminadoras.

Tabela 2 – Principais fontes poluentes de Chumbo, Cádmio, Mercúrio, Cromo e Zinco.

<i>METAL</i>	FONTES PRINCIPAIS
Chumbo	- indústria de baterias automotivas, chapas de metal semi-acabado, canos de metal, cable sheating, aditivos em gasolina, munição. - indústria de reciclagem de sucata de baterias automotivas para reutilização de chumbo.
Cádmio	- fundição e refinação de metais como zinco, chumbo e cobre. - derivados de cádmio são utilizados em pigmentos e pinturas, baterias, processos de galvanoplastia, solda, acumuladores, estabilizadores de PVC, reatores nucleares.
Mercúrio	- mineração e o uso de derivados na indústria e na agricultura. - células de eletrólise do sal para produção de cloro.
Cromo	- curtimento de couros, galvanoplastias.
Zinco	- metalurgia (fundição e refinação), indústrias recicladoras de chumbo.

Fonte: KAWAI et al., 2003.

EFEITOS NA SAÚDE

Os íons metálicos são necessários para muitas das funções vitais do organismo humano (MASSABNI, 2006). Boa parte dos organismos vivos necessita apenas quantidades mínimas de metais para a sua sobrevivência, em razão disso eles são denominados micronutrientes, como é o caso do zinco, do magnésio, do cobalto e do ferro (GREENPEACE, 2003). A ausência de alguns deles pode ocasionar sérias doenças, tais como: anemia, por deficiência de ferro; retardamento do crescimento de crianças, por falta de zinco (MASSABNI, 2006). Entretanto, esses metais tornam-se tóxicos e perigosos para a saúde humana quando ultrapassam determinadas concentrações-limite (GREENPEACE, 2003).

Já outros elementos, como o chumbo, o mercúrio, o cádmio, o cromo e o arsênio são metais que não existem naturalmente em nenhum organismo. Não desempenhando também funções nutricionais ou bioquímicas em microorganismos, plantas ou animais. Ou seja, a sua presença em organismos vivos é prejudicial em qualquer concentração (GREENPEACE, 2003). Geralmente, os seres humanos estão expostos a estes metais por ingestão ou inalação. Trabalhar ou viver perto de um local industrial que utiliza estes metais e seus compostos aumenta os riscos de exposição, assim como viver perto de um local onde esses metais tenham sido imprópriamente descartados (AMARAL NETO, 2015).

Sempre considerou-se os efeitos tóxicos dos metais pesados como sendo de curto prazo, com eventos agudos e evidentes, como a anúria e diarreia sanguinolenta, decorrentes da ingestão de mercúrio. Todavia, atualmente tem se observado ocorrências a médio e longo prazo e as relações causa-efeito, que muitas vezes podem ser assintomáticas ou pouco perceptíveis. Geralmente esses efeitos são difíceis de serem distinguidos e perdem em especificidade, pois podem ser provocados por outras substâncias tóxicas ou por interações entre esses agentes químicos (KAWAI et al., 2003).

O aparecimento dos efeitos tóxicos está associado à quantidade a qual o organismo foi exposto, podendo distribuir-se por todo o organismo, afetando vários órgãos, alterando, inclusive, os processos bioquímicos, as organelas e as membranas celulares (KAWAI et al., 2003). A toxicidade dos metais tóxicos é muito alta, sua ação direta sobre os seres vivos acontece através do bloqueio de atividades biológicas, especificamente pela inativação enzimática devido à formação de ligações entre o metal e alguns grupos funcionais das proteínas, causando danos irreversíveis em diversos organismos (VULLO, 2003). Os metais pesados também se ligam às paredes celulares, dificultando o transporte de nutrientes (MASINI, 2002).

Contudo, a maioria da população não tem informações precisas sobre os riscos e as conseqüências da contaminação por esses metais para a saúde humana (KAWAI et al., 2003). Estilos de vida de subsistência também podem impor riscos mais elevados de exposição e impactos sobre a saúde por causa das atividades de caça e coleta de materiais recicláveis (AMARAL NETO, 2015).

Acredita-se que pessoas idosas e crianças sejam mais susceptíveis às substâncias tóxicas. As principais fontes de exposição aos metais tóxicos são os

alimentos, observando-se um elevado índice de absorção gastrointestinal (KAWAI et al., 2003).

A tabela 3, a seguir demonstra os principais efeitos de alguns dos metais mais perigosos.

Tabela 3 – Efeitos do Chumbo, do Mercúrio e do Cádmio na saúde humana.

METAL	CHUMBO (Pb)	MERCÚRIO (Hg)	CÁDMIO (Cd)
Efeito na saúde	<p>Provoca alterações no sangue e na urina, ocasionando doenças graves e em alguns casos, invalidez total e irreversível. Ocasionalmente problemas respiratórios.</p> <p>Provoca alterações renais e neurológicas. As principais alterações são no desenvolvimento cerebral das crianças, podendo provocar o idiotismo.</p> <p>Apesar de menos agressivo na água do que no ar, depositado nos ossos, musculaturas, nervos e rins, provoca estado de agitação, epilepsia, tremores, perda da capacidade intelectual e anemia.</p>	<p>Afeta o sistema nervoso central, provocando lesões no córtex e na capa granular do cérebro.</p> <p>Alterações em órgãos do sistema cardiovascular. Acumula-se no sistema nervoso, principalmente no cérebro, medula e rins.</p> <p>Provoca perda de coordenação dos movimentos, dificuldade no falar, comer e ouvir, além de atrofia e lesões renais, urogenital e endócrino.</p>	<p>Provoca alterações no sistema nervoso central e no sistema respiratório.</p> <p>Compromete ossos e rins.</p> <p>Ocasionalmente edema pulmonar, câncer pulmonar e irritação no trato respiratório.</p> <p>Analogamente ao mercúrio, afeta o sistema nervoso e os rins.</p> <p>Provoca perda de olfato, formação de um anel amarelo no colo dos dentes, redução na produção de glóbulos vermelhos e remoção de cálcio dos ossos.</p>

Fonte: KAWAI et. al, 2003

Massabni (2006) salienta que o tratamento para intoxicações causadas por chumbo, mercúrio e cádmio está basicamente centrado na utilização de antídotos, que são chamados de agentes complexantes ou quelantes e podem ser naturais ou sintéticos. Ao chegarem ao organismo esses antídotos se ligam ao metal pesado auxiliando sua excreção pela urina. Como em casos de intoxicação por mercúrio, chumbo ou alumínio, nos quais utiliza-se o EDTA de cálcio, por infusão endovenosa. O tratamento deve ter entre 5 a 10 aplicações para que o metal seja eliminado do organismo (HIGASHI, 2012). Outros exemplos de complexantes são a penicilamina, o dimercaprol e o ácido 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA) (MASSABNI, 2006). Higashi (2012) orienta que é importante evitar ao máximo a exposição aos contaminantes, além de consumir produtos orgânicos e fazer exames anuais de para avaliar a concentração de metais pesados no organismo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente o meio ambiente tem suas características alteradas em função de ofertas de resíduos de origens diversas, decorrentes da interferência da ação do homem e em virtude da precariedade nas condições de saneamento. A presença de substâncias tóxicas e organismos patogênicos em amostras ambientais indicam qualidade da mesma alterada para os fins a que se destinam.

Historicamente, a maior preocupação recai sobre a qualidade das águas, por ter sido desde tempos mais remotos, relacionada com a transmissão de doenças de veiculação e transmissão hídrica. A partir de então surgiu à necessidade de indicadores de contaminação das águas.

Os despejos de resíduos industriais são as principais fontes de contaminação das águas dos rios com metais pesados, cujos efeitos na saúde são os mais variados, desde simples irritações no aparelho digestivo e respiratório, até câncer, esterilidade, degeneração mental e física e algumas vezes pode-se chegar ao óbito.

A sua detecção nos mananciais de abastecimento, torna necessária a verificação de seus níveis estabelecidos, no Brasil, pela portaria 2914 de 12 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde e avaliar se são permissíveis ou não, pois poucos são os métodos eficazes na remoção dos metais pesados, e ainda assim os existentes são de difícil implantação, devido à baixa taxa de eficiência e ao alto custo.

Em muitos casos, onde a concentração encontrada é superior aos valores recomendados desses tóxicos, a única alternativa é a troca do manancial por outro que atenda melhor aos padrões de qualidade para o consumo humano.

REFERÊNCIAS

AMARAL NETO, R. F. Efeitos dos metais pesados na saúde humana. 2015. Disponível em: <<http://www.robertofrancodoamaral.com.br/blog/alimentacao/efeitos-dos-metais-pesados-na-saude-humana/>>. Acesso em 07 jul. 2015.

ARTHAUD, I. D. B. Redução de toxicidade do efluente de uma refinaria de petróleo, empregando reatores biológicos aeróbios, de leito fixo e fluxo ascendente,

inoculados com *Aspergillus niger*. Fortaleza, 2005. 71 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil –Saneamento Ambiental) - Universidade Federal do Ceará.

BAIRD, Colin. Química Ambiental; trad. Maria Angeles Lobo Récio e Luiz Carlos Marques Carrera. 2.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

BRAILE, P. M. Manual de Tratamento de Águas Residuárias. São Paulo, CETESB, 1979.

BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J.E.W.A. Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais. São Paulo: CESTESB, 1993.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. Manual de Saneamento. 4ª ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, FUNASA. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em:

<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>>.

Acesso em 20 jun. 2015.

COLACIOPPO, Sérgio. Higiene e toxicologia ocupacional metais pesados. In: Jornada de Toxicologia da Sociedade Paulista de Medicina do Trabalho e do Departamento de Medicina do Trabalho da Associação Paulista de Medicina, 1., 2001, São Paulo. Anais...São Paulo: SPMT e DPMTAPM, 2001.

DIAS, N. M. P. et al. Adsorção de cádmio em dois latossolos ácricos e um nitossolo. R. Bras. Ci. Solo, 25:297-304, 2001.

GIAFFERIS, Giselda Passos. Saneamento básico e saúde pública. 2001. Disponível em: <<http://www.unifra.br/professores/14252/SANEAMENTO.pdf>>. Acesso em 25 jun. 2015.

GREENPEACE. Metais Pesados: contaminando a vida. 2003. Disponível em <http://www.greenpeace.org.br/toxicos/pdf/metais_pesados.doc>. Acesso em 24 jun. 2015.

HIGASHI, A. N. Orientação para tratamento te intoxicação por metais pesados. 2012. Disponível em:

<<http://www.ortomoleculardrhigashi.med.br/informativos/42/orientacao-para-tratamento-de-intoxicacao-por-metais-pesados#.VZ1nwF9Vikp>>. Acesso em 08 jul. 2015.

HOBOLD, Valdir. Avaliação de Metodologias para Análise Toxicológica utilizando algas do tipo *Scenedesmus subspicatus* e *Daphnia magna*. Criciúma, 2007. 85 f. Monografia (Curso de Engenharia Ambiental) - Universidade do Extremo Sul Catarinense.

KAWAI, Bruna et al.. Poluição por metais. 2003. Disponível em <<http://www.fernandosantiago.com.br/met90.htm>>. Acesso em 28 jun. 2015.

MACHADO, Ítalo de Lima. Manual de Educação Sanitária; Educação Sanitária e seu Planejamento; Métodos de abordagem comunitária; Saneamento na zona rural e periferia urbana. Goiânia, 1988.

MAGNO, C.E.P; SOUZA, F.K.S. Diagnóstico do microsistema de abastecimento de água de uma comunidade ribeirinha do município de Barcarena-PA. Belém, 2007. 81 f. Monografia (Engenharia Civil). Centro de Ciências Exatas e Tecnologia – CCET, Universidade Da Amazônia – UNAMA.

MALDONADO, A. C. D; WENDLING, B. Manejo de ecossistemas aquáticos contaminados por metais pesados. Agropecuária Técnica. Areia-PB, v.30, n.1, p.21–32, 2009.

MASSABNI, A. C. Os metais e a saúde humana. 2006. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/quimica_viva__os_metais_e_a_saude_humana>. Acesso em 07 jul. 2015.

MASSINI, J. O que são metais pesados e por que fazem mal à saúde?. Revista Mundo Estranho. Editora Abril S.A, São Paulo. ed. 04, 2002 .

MIRANDA, R.A.C; OLIVEIRA, M.V.S; SILVA, D.F. Ciclo Hidrológico Planetário: abordagens e Conceitos. ISSN 1981-9021 - Geo UERJ - Ano 12, v.1, nº 21, 1º semestre de 2010.

PÁDUA, Hélcias. Água - Parte IV. 2010. Disponível em: <<http://www.portalbonito.com.br/colunistas/helcias-de-padua/257/agua-parte-iv>>. Acesso em 29 jun. 2015.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Informe regional sobre avaliação 2000 na região da Américas: água potável e saneamento, estado atual e perspectivas. Washington, D C.: Organização Pan-Americana da Saúde, 2001.

PEDREIRA FILHO, W. R. Elementos Metálicos em Pescados na Cidade de São Paulo. ConSCIENTIAE SAÚDE. Rev. Cient., UNINOVE – São Paulo. v.2, p. 61-65, 2009.

PEREIRA, R.S. Identificação e caracterização das fontes de poluição em sistemas hídricos. Revista Eletrônica de Recursos Hídricos. IPH-UFRGS. v.1, n. 1. p. 20-36, 2004.

PHILIPPI JR, A. Saneamento do meio. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP, 1992. p. 3-60. Apostila.

QUEIROZ, Marluce Teixeira Andrade. Bioacumulação de metais pesados no Rio Piracicaba, minas gerais, aplicando a análise por ativação neutrônica instrumental.

Coronel Fabriciano, 2006. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial). Centro Universitário do Leste de Minas Gerais, UNILEST-MG.

SANTOS, A. L. B. Sedimento e comunidades de peixes como indicadores da qualidade ambiental em praias insulares e continentais na baía de Sepetiba- RJ. Seropédica, 2007. 29 f. Monografia (Curso de Engenharia Florestal) - Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SANTOS, C. A. Índice de Qualidade Laboratorial (IQL): uma proposta para laboratórios de controle ambiental. São Paulo, 2009. 125 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública). Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

SANTOS, Ismael Brando. Tratamento e Análises de Águas Industriais. 2011. Disponível em: <<http://www.tratamento-analise-aguas-industriais.com.br>>. Acesso em 22 jun. 2015.

SANTOS, M.T. Análise da qualidade ambiental da Bacia Hidrográfica do Ribeirão Guaraçau, com base no Mapa de uso da terra e aspectos morfométricos, escala 1:10.000. Guarulhos, 2013. 59 f. Dissertação (Mestrado em Análise Ambiental). Centro de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade de Guarulhos.

SASSIM, M. N. M. et al. Estudo da desnitrificação em reator compartimentado para tratamento de esgoto proveniente de indústria de tintas e vernizes. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 21., João Pessoa, 2001. ABES – Trabalhos Técnicos. p. 1-6.

VARGAS, Giovana B.F. Elaboração de uma proposta de projeto de tratamento de águas residuárias da indústria de tintas. Trabalho Curso Engenharia Ambiental, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2003.

VIANA, Guarany Marques. Sistemas públicos de abastecimento de água. João Pessoa, 2001.

VULLO, D.L.; Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente. Química Viva, v. 2, n. 3, 2003.

WEIBULL, W. W. Poluição na Baía de Sepetiba. Rio de Janeiro, 2001. 13 f. Trabalho Acadêmico (Ecologia Marinha) – Curso de Oceanografia, Universidade Estadual do Rio de Janeiro.

SÍNDROMES PARANEOPLÁSICAS: CLASSIFICAÇÕES E PRINCIPAIS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

*Cristina Cruvinel Freitas**

*Norberto Mendonça Garcia Filho**

*Mônica de Oliveira Santos**

*Sabrina Fonseca Ingênilo Moreira Dantas**

*Rodrigo da Silva Santos**

INTRODUÇÃO

Há mais de 100 anos reconheceu-se que certos tipos de cânceres apresentavam vários sintomas não atribuíveis diretamente à invasão ou compressão tumoral. Essa condição foi denominada como Síndrome Paraneoplásica (SP) por volta da década de 1940, mas até hoje permanece desconhecida. As SP são um conjunto de distúrbios clínicos, bioquímicos e hormonais, que podem provocar manifestações nos sistemas neurológico, dermatológico, osteomuscular, reumatológico e hematológico. Estes distúrbios são associados à neoplasias malignas mas não diretamente relacionados com o local de invasão tumoral, obstrução, efeito de massa ou efeitos metastáticos do tumor. Esses efeitos podem ser independentes das manifestações da própria doença neoplásica (SILVA et al.,2010; LORRAINE, PELOSOF e GERBER, 2010; DUTRA et al., 2014).

A fisiopatologia da maioria das SP ainda é desconhecida, mas acredita-se estar relacionada à atividades de secreção tumoral (hormônios e citocinas) ou reatividade cruzada imunológica entre o tumor e tecidos normais (SILVA et al.,2010; LORRAINE, PELOSOF e GERBER, 2010; HUÑIS, 2015). Algumas SP estão associadas a anticorpos contra antígenos neuronais expressos pelo tumor, os quais podem ser investigados no sangue e líquido cefalorraquidiano (DUTRA et al., 2014).

*Faculdade de Medicina Alfredo Nasser, Instituto de Ciências da Saúde (ICS-UNIFAN).

Dentre as manifestações proteicas mais interessantes do câncer está a produção de substâncias hormonais que produzem síndromes clínicas únicas (YEUNG e GAGEL, 2003).

Células neuroendócrinas estão dispersas ao longo de quase todos os órgãos. Em maior proeminência estão no pulmão, trato gastrointestinal, pâncreas, glândula da tireóide, glândula adrenal, mama, próstata, e pele. Estas células são mais comumente obtidas a partir da crista neural e produzem aminas biogênicas e hormônios polipeptídicos. A lista dos hormônios produzidos por tumores derivados deste grupo de células neuroendócrinas inclui ACTH, calcitonina, peptídeo intestinal vasoativo (VIP), bombesina, fator liberador do hormônio de crescimento (GHRH), polipeptídeo pancreático, hormônio liberador de corticotropina (CRH), neurotensina, a somatostatina (SRIF) e outros peptídeos pequenos (YEUNG e GAGEL, 2003).

Em algumas circunstâncias, as SP aparecem antes mesmo do diagnóstico do câncer, portanto seu reconhecimento geralmente leva à detecção de um tumor oculto num estágio ainda tratável, o que pode afetar substancialmente os resultados clínicos (LORRAINE, PELOSOF e GERBER, 2010). Entre 7 e 15% das neoplasias se manifestam em algum momento de sua evolução por alguma forma de Síndrome Paraneoplásica, mas espera-se que essa prevalência aumente à medida que a expectativa de vida dos indivíduos aumente e os métodos diagnósticos sejam mais eficazes (GÁMEZ et al., 2001; BAIJENS e MANNI, 2006).

Entre os pacientes com câncer de pulmão esta porcentagem chega a 10% (GÁMEZ, GARCIA DE LUCAS E RODRIGUES, 2001). Os tipos de câncer frequentemente associados às Síndromes Paraneoplásicas são: câncer de pulmão de pequenas células, de mama, ovário, e doença de Hodgkin (SILVA et al., 2010).

A despeito de sua baixa frequência, por causarem morbidades consideráveis, seu tratamento efetivo aumenta a tolerância à terapia do câncer, aumentando a sobrevida e qualidade de vida do paciente (HUÑIS, 2015).

Devido ao seu extenso quadro sintomatológico e à raridade de ocorrência de síndromes isoladas, existem poucos estudos clínicos prospectivos a seu respeito. Propõe-se neste estudo uma revisão bibliográfica sobre as Síndromes Paraneoplásicas mais comuns, os sistemas que podem ser comprometidos e sua apresentação clínica.

REVISÃO DA LITERATURA

As Síndromes Paraneoplásicas podem ser estudadas de acordo com o sistema acometido e dividem-se em Endócrinas, Dermatológicas, Neurológicas, Hematológicas, Osteomusculares e Reumatológicas.

Síndromes Paraneoplásicas Endócrinas (SPE)

As SPE geralmente resultam de produção tumoral de hormônios ou substâncias proteicas que simulam a função hormonal, o que desencadeia desarranjos metabólicos (GÁMEZ, GARCIA DE LUCAS E RODRIGUES, 2001; LORRAINE, PELOSO e GERBER, 2010).

Essas Síndromes compartilham algumas características: a secreção raramente responde aos testes de supressão, a Síndrome pode dominar o quadro clínico dificultando o diagnóstico da neoplasia adjacente, pode ser útil para monitorar a evolução tumoral, o tratamento do tumor melhora a sintomatologia provocada pela síndrome (STREWLER, 2003).

Com relevância na Medicina Intensiva, os tipos de SPE mais preocupantes e passíveis de complicações graves são as síndromes cushingóides paraneoplásicas, a síndrome da secreção inapropriada de hormônio antidiurético (SIADH), a hipoglicemia paraneoplásica e a hipercalcemia maligna (FARIA, 2012).

Síndrome da Secreção Inapropriada de Hormônio Antidiurético (SIADH)

A constância da osmolaridade plasmática e do equilíbrio hidroeletrólítico é de fundamental importância para a homeostasia do organismo e manutenção da vida. A hiponatremia é o distúrbio hidroeletrólítico mais comum da prática clínica e pode causar significativa morbi-mortalidade. Nesse contexto, a síndrome da secreção inapropriada do hormônio antidiurético (SIADH) é caracterizada pela secreção contínua ou pelo aumento da atividade do hormônio arginina-vasopressina (A-VP) ou hormônio antidiurético (ADH) e responde por 14 a 40% dos casos de hiponatremia associada a malignidade. Muitas vezes a hiponatremia é uma condição sub-diagnosticada, (MARUICHI et al., 2012), sendo

na maioria dos casos assintomático até alcançar níveis séricos de sódio de 120mEq/L, especialmente se a doença se desenvolver lentamente (TOY & PATLAN, 2013).

Em seu mecanismo fisiológico, quando ocorre um discreto aumento na osmolaridade (1%), os osmorreceptores hipotalâmicos desidratam, deflagrando sensação de sede e estímulo à produção e liberação de ADH a partir do estoque da hipófise posterior. Nesse processo, o pró-hormônio sofre ação de peptidases em grânulos secretores e são liberados na circulação. Quando a osmolaridade é corrigida, a A-VP é rapidamente metabolizada, já que possui meia-vida aproximada de 15 dias (BALASUBRAMANIAN, FLAREAU e SOURBEER, 2007).

Os mecanismos propostos para o surgimento de hiponatremia paraneoplásica são a produção ectópica de ADH, a invasão tumoral do nervo vago, com desinervação de barorreceptores, e a secreção de fatores que agem no hipotálamo facilitando a liberação de ADH ou reajustando o osmostato hipotalâmico – atividade “hormon-like” (YOO, BEDIAKO e ACKA, 2008). Esta condição desenvolve-se em ausência de estímulos osmóticos ou não osmóticos (PE´QUEUX et al., 2002; FORGA, ANDA e MARTINEZ DE ESTEBAN, 2005; RAFTOPOULOS, 2007).

A hiponatremia paraneoplásica é do tipo hipo-osmótica euvolêmica, ou seja, não há perda de volume plasmático e sim excreção renal continuada de sódio, contudo a urina é concentrada, devido a ação antidiurética do ADH (COWEN, HORDAK e VERBALIS, 2013).

Devido à excreção de solutos, raramente surgem sinais clínicos de hipervolemia, sendo o excesso de fluido circulante deslocado principalmente para os compartimentos intracelulares. No cérebro, essa expansão leva ao edema cerebral e aos sintomas neurológicos da hiponatremia (MARUICHI et al., 2012).

Seus sintomas dependem do grau e rapidez com que a hiponatremia se instala. Sintomas moderados incluem cefaleia, fraqueza e dificuldades de memorização. Níveis séricos de sódio abaixo de 125 mEq/L, particularmente instalados dentro de 48 horas podem ser acompanhados de alteração do status mental, convulsões, coma, colapso respiratório e morte. Quando a hiponatremia instala-se lentamente, não são observadas complicações neurológicas (COWEN, HORDAK e VERBALIS, 2013; LORRAINE, PELOSOF e GERBER, 2010; MARUICHI et al., 2012; YOO, BEDIAKI e ACKA, 2008;

BALASUBRAMANIAN, FLAREAU e SOURBEER, 2007), sendo observado sintomas mais brandos como náuseas, vômitos, sonolência, letargia (RADULESCU et al., 2007).

Afeta entre 1 a 2% de todos os pacientes com câncer, sendo 10 a 45% de todos os casos de câncer de pulmão de pequenas células. Outros tumores associados com o excesso de secreção de ADH são mesotelioma, timoma, linfoma de Hodgkin, tumores nasofaríngeos, duodenais, pancreáticos, uretra, próstata, útero, leucemia, tumores cerebrais e gástrico (COWEN HORDAK e VERBALIS, 2013).

Hipercalemia humoral maligna

A hipercalemia é a Síndrome Paraneoplásica mais comum dos tumores malignos, posto que aparece em 20 a 30% de todos os cânceres (FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ et al., 2010; STEWART, 2005), principalmente nos cânceres de mama, pulmão e mieloma múltiplo (MARADEI et al., 2011). Hipercalemia maligna ocorre em mais de 10% de pacientes com câncer avançado e geralmente está associada a pior do prognóstico. O índice de mortalidade em pacientes oncológicos com hipercalemia é de 50% dentro de 30 dias após o aparecimento do quadro (SAITO et al., 1981).

Considera-se quatro mecanismos fisiopatológicos para o aparecimento da hipercalemia paraneoplásica:

- Secreção do peptídeo relacionado ao paratormônio (PTHrP) pelas células tumorais: acomete 80% dos casos e ocorre mais comumente em tumores de células escamosas (cabeça e pescoço, pulmões, pâncreas), carcinoma de rim, bexiga, ovário, endométrio, de mama e os linfomas associados ao HTLV-1 (Vírus Linfotrópico humano – I) e câncer de próstata;
- Combinação do paratormônio com receptores nos ossos e rins (Hiperparatireoidismo ectópico);
- Em torno de 20% dos casos derivam de atividade osteolítica em sítios de metástases ósseas, comuns em câncer de mama, próstata, pulmão, mieloma múltiplo e linfoma; ou em torno de células malignas na medula óssea.
- Em casos raros, a hipercalemia pode resultar de secreção tumoral de vitamina D (1,25-(OH)₂ - D ou 1,25 dihidroxivitamina D) (SAITO et al., 1981; FARIAS, 2005).

A grande reabsorção esquelética difusa será a principal fonte de cálcio a gerar hipercalcemia. Ao contrário do hiperparatireoidismo primário, o aumento da osteólise osteoclástica não é contrabalançado por estímulo osteoblástico, caracterizando desacoplamento da remodelação (MACLEOD, CHATTOPADHYAY e BROWN, 2003).

Também foi descrito que o PTHrP induz a produção de IL-8 (Interleucina – 8) nas células do câncer de próstata. Sabe-se que a IL-8 é potente fator angiogênico, contribuindo para a atividade tumorigênica de várias malignidades. Assim, o PTHrP pode mediar a progressão do câncer de próstata. Por outro lado, a hipercalcemia é capaz de estimular a síntese de PTHrP por células normais e malignas ativando receptores de cálcio (CaSR) nas células (FARIAS, 2005, MACLEOD, CHATTOPADHYAY e BROWN, 2003).

A suspeita da hipercalcemia deve ser verificada caso haja diminuição do nível de PTH, alcalose metabólica com baixo nível para o cloro e alto para o bicarbonato, sendo os níveis de $1,25 (OH)_2 \cdot D$ e fosfato geralmente baixos e o AMPc urinário e depuração renal de cálcio aumentados (CHABNER e LONGO, 2015).

A hipercalcemia, a princípio é de rápida instauração e pode causar letargia. Os sintomas relacionados ao sistema nervoso central predominam, tais como progressivo declínio da capacidade cognitiva, confusão mental, estupor e coma. As alterações na função renal (incapacidade de concentrar a urina acarretando poliúria e desidratação, nefrolitíase e nefrocalcinose) e no trato gastrointestinal (anorexia, náuseas e vômitos) surgem com o prolongamento do estado de hipercalcemia e corroboram para a desidratação, agravando o quadro (SAITO et al., 1981; STREWLER, 2003; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ et al., 2010; FARIAS, 2005).

Os sintomas e sinais de hipercalcemia leve são de difícil reconhecimento por serem inespecíficos, principalmente quando se desconhece que existe doença, como no caso do hiperparatireoidismo primário. Nas malignidades, o quadro clínico é mais exuberante, e deve ser sempre pesquisado (FARIAS, 2005).

A severidade dos sintomas depende não apenas do grau de hipercalcemia mas também da rapidez de sua instalação (STEWART, 2005), sendo que para o controle adequado da hipercalcemia é necessário para dar tempo de o paciente responder ao tratamento antineoplásico (FARIAS, 2005).

Pseudo Síndrome de Cushing ou Síndrome de Secreção Ectópica de ACTH (Hormônio Adrenocorticotrópico)

Atualmente sabe-se que esta síndrome associa-se a tumores que possuem características neuroendócrinas. Estes tipos de células são capazes de produzir substâncias precursoras de ACTH (proopiomelanocortina - POMC) e apenas uma pequena parte dos tumores chega a secretar o hormônio propriamente dito em quantidades suficientes para produzir a Síndrome de Cushing. Esses fatores resultam em produção e liberação de cortisol pelas glândulas adrenais (KHAN, 1968; EJAZ et al., 2011). Alguns tumores ainda contam com potencial enzimático para transformar esses precursores em substâncias biologicamente ativas, capazes de desencadear um efeito sistêmico similar à Síndrome de Cushing (OCHOA-CARRILLO et al., 2003).

O quadro clínico resulta do excesso de glicocorticóides circulantes, contudo nem sempre acompanha os sintomas clássicos da Síndrome de Cushing, como obesidade central, face de lua cheia, hirsutismo e estrias, devido ao curso rápido e maligno da enfermidade neoplásica subjacente que não permite que os efeitos do cortisol no metabolismo se manifestem (AMER et al., 2001). As manifestações características dos pacientes com secreção ectópica de ACTH são perda de peso, fadiga, fraqueza muscular, hipertensão, edema, alcalose metabólica e em alguns casos hiperpigmentação, hipoglicemia, hipocalemia, hipopotassemia, causada pelo excesso de cortisol e menos frequente psicose, causada pelo excesso de esteróides. (OCHOA-CARRILLO et al., 2003; KHAN, 1968; NEWELL-PRICE et al., 1998; GÁMEZ, GARCIA DE LUCAS e RODRIGUES et al., 2001, CHABNER e LONGO, 2015).

Aproximadamente 5 a 10% dos casos de Síndrome de Cushing (hipercortisolismo) são paraneoplásicos. Dentre estes, 50 a 60% são derivados de tumores de pulmão de origem neuroendócrina como: câncer de pulmão de pequenas células (CPPC) e tumores brônquicos carcinoides, (EJAZ et al., 2011), mas também podem estar relacionados a câncer medular de tireóide, de próstata metastático (NEWELL-PRICE et al., 1998), câncer de timo (15%), das células da ilhota pancreática (10%), de carcinomas brônquicos, entre outros (CHABNER e LONGO, 2015).

Frequentemente a Síndrome aparece antes do diagnóstico do câncer e sua recidiva coincide com recorrência tumoral (KHAN, 1968; EJAZ et al., 2011).

Hipoglicemia

As neoplasias associadas a esta situação são do tipo mesenquimatoso e hepatocarcinomas, contudo há relatos de hipoglicemia paraneoplásica associada a tumores de pulmão (ODELL, 1997), a tumores mesodérmicos, epiteliais e hematopoiéticos (MARTÍNEZ DE ESTEBAN, et al, 2005).

Os mecanismos implicados em sua patogenia são variados: há hipótese de consumo aumentado de glicose pelo tumor; a desnutrição e a fadiga desencadeadas pela doença neoplásica alteram as vias de gliconeogênese (bloqueio da produção hepática de glicose através da glicogenólise e gliconeogênese, bloqueio da lipólise) (LEROITH et al. 1995).

Tumores mesenquimais, hepatocelulares, carcinoma de suprarenais e outros grandes tumores são capazes de secretar quantidade excessiva dos precursores dos fatores de crescimento (IGF-1, IGF-2) que apresentam atividade similar à insulina tipo II (OCHOA-CARRILLO et al., 2003, CHABNER e LONGO, 2015). Esses fatores de crescimento também apresentam importante potencial anabólico, mitogênico, e de regulação do crescimento, regeneração e diferenciação celular, o que sugere que atuem como fatores de crescimento de certos tumores (PAVELIC et al., 1999). Além disso, alterações nos níveis de expressão e na metilação do gene de IGF-2 e em suas proteínas de ligação (IGFBP) são descritos para câncer de fígado, pulmão, ovário e outros (PERKS e HOLLY, 2015).

Outra teoria que se tem sugerido para explicar a hipoglicemia paraneoplásica é a de que certos tumores são capazes de estimular a proliferação de receptores de insulina por um mecanismo ainda não bem compreendido ou fator de crescimento semelhante à insulina circulante (IGF) (OCHOA-CARRILLO et al., 2003; SETOYAMA et al., 2014).

Os sintomas para hipoglicemia são hiperidrose, fome, ansiedade, alterações visuais e do nível de consciência e mudanças de comportamento que cessam à ingestão de glicose; em casos graves pode ocorrer convulsões e coma (LEROITH et al., 1995; OCHOA-CARRILLO et al., 2003).

Ocorrem episódios de hipoglicemia com níveis de glicose abaixo de 20 mg/dL e afeta tipicamente pacientes idosos com câncer avançado (HOFF e VASSILOPOULOU-SELLIN, 1998). Ocasionalmente, estes episódios de hipoglicemia podem preceder o diagnóstico do tumor subjacente (NAYAR et al., 2006).

Síndromes Paraneoplásicas Neurológicas (SPN)

Síndromes Paraneoplásicas Neurológicas resultam de reatividade cruzada imune entre células tumorais e componentes do Sistema Nervoso. Em resposta ao câncer em desenvolvimento, o organismo produz anticorpos direcionados ao tumor, conhecidos como anticorpos onconeurais. Devido à similaridade antigênica, esses anticorpos associados a linfócitos T antígeno-específicos inadvertidamente também atacam tecidos do Sistema Nervoso (VEDELER et al., 2006).

O diagnóstico das SPNs pode incorporar imagens, sorologias, eletroencefalografia, estudos de condução nervosa, eletromiografia, e análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) para sinais de inflamação (PELOSOF e GERBER, 2010).

Anticorpos Onconeurais, que são geralmente detectáveis no soro e raramente requerem testes de fluido cérebro-espinal, podem não ter sensibilidade e especificidade. Aproximadamente 30% dos pacientes com SPN estudados não têm anticorpos detectáveis no soro. Os anticorpos onconeurais descritos para SPN são classificados de acordo com as 3 categorias principais: (1) aqueles que têm uma estrutura molecular bem caracterizada e com uma forte associação com o câncer (Anti-anfifisina; anti-CV2; [proteína mediadora da resposta colapsina-CRMP5], anti-Hu; [anticorpo nuclear antineuronal - Anna 1], Anti-recoverina; anti-Ma2; anti-Ri [Anna-2], anti-io [PCA-1]); (2) aqueles que são parcialmente caracterizados (Anna - 3; metabólicos do receptor de glutamato - subtipo 1 - anti-mGluR1; anti-Tr; anti-Zic4; PCA-2); ou (3) que ocorrem em ambos câncer- e síndromes não associados ao câncer (anti-receptor de acetilcolina [AchR]; anti-nicotínico AchR; canais de cálcio voltagem [anti-VGCC], canais de potássio voltagem [anti-CPVD], (de BEUKELAAR e SILLEVIS SMITT, 2006; PELOSOF e GERBER, 2010).

Devido ao fato de as células tumorais não produzirem diretamente os agentes causadores das SPN e porque os anticorpos onconeurais podem causar danos permanentes, o tratamento oncológico não necessariamente resulta em melhora neurológica. Embora as SPN sejam raras, afetando menos que 1% dos pacientes com câncer, algumas malignidades apresentam alta incidência dessas condições. Por exemplo, 1% de pacientes com tumor maligno broncogênico do tipo microcítico, apresentam alterações paraneoplásicas como Síndrome Miasteniforme de Eaton-Lambert, encefalite límbica e neuropatia sensorial subaguda (GÁMEZ, GARCIA DE LUCAS e RODRIGUES, 2001). Em torno de 5% dos pacientes com câncer de pulmão de pequenas células e mais de 10% dos pacientes com linfoma ou mieloma desenvolvem a SPN (LIGUORI et al., 2001).

Cerca de 70% dos indivíduos com quadro sugestivo de Síndrome Paraneoplásica apresentam sintomas neurológicos, sendo que os sintomas da SPN são detectados antes que o câncer seja diagnosticado em 80% dos casos (HONNORAT e ANTOINE, 2007). Desses sujeitos, 70 a 80% terão diagnóstico da neoplasia com exames de imagem como tomografia de tórax, abdome e pelve ou a utilização de PET scan (DUTRA et al., 2014).

Dependendo do compartimento afetado do Sistema Nervoso, os sintomas podem ser mudanças cognitivas e de personalidade, ataxia, déficits dos nervos cranianos, fraqueza ou ausência. As SPN podem afetar o Sistema Nervoso Central (por exemplo, encefalite límbica e degeneração cerebelar paraneoplásica), a junção neuromuscular (por exemplo, síndrome de miastenia de Lambert-Eaton e miastenia grave), ou o Sistema Nervoso Periférico (por exemplo, neuropatia autonômica e neuropatia sensorial subaguda), (GRAUS et al.2004; VEDELER et al., 2006, PELOSOF e GERBER, 2010).

O impacto das SPN no prognóstico é complexo e reflete vários fatores: o desenvolvimento da SPN pode resultar no diagnóstico do câncer ou ocultá-lo clinicamente. Independente da malignidade existente, a própria SPN pode resultar em morbidade severa por poder causar mudanças patológicas irreversíveis ao Sistema Nervoso (REES, 2004; VEDELER et al., 2006, PELOSOF e GERBER, 2010).

Síndrome da Miastenia de Eaton-Lambert

A Síndrome da miastenia de Eaton-Lambert é um transtorno autoimune da junção neuromuscular. O mecanismo pelo qual o tumor participa do desenvolvimento dessa Síndrome parece consistir na formação de auto anticorpos séricos IgG e anticorpos Anti-VGCC, que atacam os canais de cálcio impedindo sua entrada em resposta aos potenciais de ação, com diminuição da liberação de acetilcolina na junção neuromuscular, o que altera a condução do estímulo nervoso (OCHOA-CARRILLO et al., 2003). Esse mecanismo interfere no funcionamento de vários componentes extra e intracelulares dos canais de cálcio pré-sinápticos dependentes de voltagem na junção neuromuscular (MOTOMURA et al., 1995).

Não ocorrendo a liberação de acetilcolina na junção neuromuscular, ocorre debilidade muscular e fadiga, principalmente a musculatura proximal em membros inferiores, que caracterizam esta síndrome, sendo que ptose e impotência sexual também podem acontecer. A apresentação pode ser gradual e insidiosa, afeta mais o sexo masculino e se inicia na idade adulta. (O'SUILLEABHAIN, LOW e LENNON, 1998; SILVA et al., 2010).

É comum a presença de disfunção autonômica como boca seca, hipotensão postural, debilidade dos músculos da respiração. Em casos avançados pode ocorrer ptose, diplopia e disfagia. 60% dos casos associa-se a enfermidade maligna como câncer renal e linfoma. Outros cânceres relacionados com miastenia Eaton-Lambert são os de próstata e adenocarcinomas (PELOSOF e GERBER, 2010). Os pacientes com essa Síndrome têm 60% de possibilidade de apresentar tumores do tipo microcítico que afeta 1 a 2% dos pacientes com carcinoma de pulmão de pequenas células (SILVA et al., 2010). A Síndrome de Eaton Lambert pode preceder a neoplasia em anos (O'SUILLEABHAIN, LOW e LENNON, 1998).

Neuropatia Sensorial Subaguda (NSS)

Esta entidade afeta basicamente o axônio, respeitando-se relativamente a bainha de mielina (STUBGEN, 1995).

A Neuropatia Sensorial Subaguda se associa com tumores do tipo microcítico em 77% dos casos e pode preceder o diagnóstico de câncer pulmonar

em meses. Em um adulto com polineuropatia periférica e histórico de tabagismo prolongado, a soropositividade de auto anticorpos nucleares anti-neuronais-1 é marcador de câncer microcítico de pulmão (DALMAU et al., 1992). Outros anticorpos estudados para NSS são: anti-Hu; anti-CRMP5; anti-CV2 e anti-anfifisina, (PELOSOF e GERBER, 2010).

Esta entidade clínica pode ter formas de apresentação variável; a mais comum é uma neuropatia sensitiva pura, com perda do potencial de ação nervoso ao fim de dias de evolução. Quando esta síndrome ocorre em contexto paraneoplásico, estão habitualmente presentes anticorpos Anti-Hu no soro, e a sua proporção pode correlacionar-se com a gravidade dos sintomas. O líquido cefalorraquidiano (LCR) apresenta-se hiperproteico e com pleocitose moderada (FARIA, 2012).

A NSS se caracteriza por ter um curso subagudo e grave, geralmente inicia-se com disestesias ou parestesias distais e está associada a perda ponderal importante. Com a progressão do quadro, a neuropatia passa a localizar-se bilateralmente, afetando as regiões proximais das extremidades, tronco e face. Não é raro encontrar dano na mucosa oral e genital. A NSS também manifesta-se por uma disfunção autonômica caracterizada por constipação, hipotensão ortostática e arreflexia pupilar. Os reflexos tendinosos tornam-se ausentes, contudo a atividade motora permanece intacta. As lesões neurológicas ocorrem a nível dos gânglios dorsais com degeneração secundária das colunas posteriores (OCHOA-CARRILLO et al, 2003).

Clinicamente a Neuropatia Sensorial Subaguda se caracteriza pelo desenvolvimento subagudo de alterações sensoriais assimétricas como dor, parestesias e edemaciamento, que afeta as extremidades e acompanha-se de uma ataxia sensorial que pode ser incapacitante (GÁMEZ, GARCIA DE LUCAS e RODRIGUES, 2001).

Encefalite límbica

A maioria dos casos de Encefalite Límbica (EL) está associada ao Câncer de pulmão de pequenas células (70% dos casos). Seu mecanismo fisiopatológico consiste em agressão provocada pelo anticorpo Anti-Hu às células do Sistema Nervoso; mas também pode estar associada a tumores da mama e testículo pela

ação de outros anticorpos, como por exemplo anti-Ma2 (FARIA, 2012; PELOSOF e GERBER, 2010).

Os sintomas neurológicos podem preceder o diagnóstico de carcinoma de pulmão em 2 ou 3 anos. Pode iniciar-se como uma síndrome ansiosa-depressiva, porém o sintoma mais característico é a deterioração progressiva da memória recente. Outras possíveis complicações são agitação, confusão, hiperinsônia, amnesia, distúrbios da personalidade, agitação e crises convulsivas que podem culminar em coma. (GULTEKIN et al., 2000; REES, 2004; FARIA, 2012; OCHOA-CARRILLO et al., 2003).

A EL pode ser classificada em subtipos, consoante o tipo de anticorpos envolvidos e a determinação do tumor primário, por exemplo: Anti - Hu está associado a carcinoma de pequenas células de pulmão, tumores de estômago, neuroblastoma, neoplasia de próstata; Anti-Ma2 está associado a câncer de Testículo; Anti – VGKC acompanha tumores de Pulmão e timo; Anti–Ncmag está relacionado à teratomas e timomas (FARIA, 2012).

Síndromes Paraneoplásicas Hematológicas

Síndromes hematológicas paraneoplásicas raramente são sintomáticas. Estas condições são geralmente detectadas após o diagnóstico de câncer, são tipicamente vistas em associação com a doença avançada, raramente requerem tratamento específico, e podem melhorar com o sucesso do tratamento da doença subjacente (SORENSEN et al., 2000; TEFFERI, PATNAIK e PARDANANI, 2006; JALI, PRASHANTH e AMARKHED, 2013).

Estas enfermidades afetam tanto os elementos corpusculares do sangue como os sistemas que se encarregam de manter a homeostasia do organismo (OCHOA-CARRILLO et al., 2003).

Eosinofilia

Eosinofilia Paraneoplásica representa um subconjunto de eosinofilia secundária que aparece devido à produção por células tumorais de fatores de crescimento eosinofílicos (GM-CSF). Em contraste, a eosinofilia primária, um diagnóstico separado encontrado em práticas hematológico-oncológicas, muitas vezes representa um fenômeno clonal causado diretamente pelo processo

neoplásico hematológico. Pacientes com eosinofilia paraneoplásica e outras formas de eosinofilia secundária podem apresentar elevados níveis séricos de interleucinas, como IL-2, IL-3 e IL-5 (TEFFERI, PATNAIK e PARDANANI, 2006; ANAGNOSTOPOULOS et al., 2005).

As malignidades mais comuns associadas à eosinofilia são linfomas e leucemias, mas também pode ser vista em tumores pulmonares, gastrointestinais e ginecológicos. A eosinofilia paraneoplásica normalmente é assintomática, mas em certos casos, pode causar sibilos e dispneia (JALI, PRASHANTH e AMARKHED, 2013).

Granulocitose

Granulocitose Paraneoplásica ocorre em aproximadamente 15% dos pacientes com tumores (JALI, PRASHANTH e AMARKHED, 2013).

Em pacientes com câncer, vários fatores podem contribuir para a leucocitose: fatores de crescimento hematopoiéticos que levam à hiperexpressão de células maduras da medula óssea (69%), infecção (15%), paraneoplasia (10%), glicocorticóides ou vasopressores (5%), e leucemia (1%) (FARIA, 2012).

Granulocitose paraneoplásica está associada a câncer de pulmão de células grandes, como também câncer gastrintestinal, cerebral, pâncreas, mama, renal e ginecológico, linfoma de Hodgkin. O mecanismo é pouco compreendido. Alguns tumores têm demonstrado produzir substâncias que simulam atividade colonizante (FARIA, 2012). Alternativamente, a leucocitose pode resultar do comprometimento da medula óssea por um tumor (TEFFERI, PATNAIK e PARDANANI, 2006).

Este tipo de alteração hematológica confere, em geral, um pobre prognóstico ao paciente, pois o deixa mais propenso a processos infecciosos. A alteração da resposta imune celular a nível de linfócitos T e B, interfere não somente na ativação da cascata de complemento, como também afeta os mecanismos humorais, interrompendo as vias reguladoras que permitem ao organismo defender-se de patógenos, aumentando com isso a morbi-mortalidade (KLASTERSKY e AOUN, 2004).

Aplasia de células vermelhas / anemia

Aplasia de células vermelhas paraneoplásica é mais comumente associada com timoma e resulta em um ataque autoimune contra as células vermelhas sanguíneas precursoras. A aplasia de células vermelhas também pode ser vista associada a linfomas e leucemias. Nestes casos, o mecanismo proposto é um aumento em linfócitos granulares de células T causando disfunção autoimune da eritropoiese (THOMPSON e STEENSMA, 2006).

Anemia associada a câncer de pulmão ocorre em 20% dos pacientes e geralmente tem um curso lento, com manifestações moderadas. Os casos de anemia grave podem estar relacionados diretamente a invasão tumoral, seja porque o tumor provoca a hemorragia ou porque existe invasão tumoral a nível da medula óssea. É necessário considerar também as deficiências nutricionais e os efeitos do tratamento antineoplásico (MARQUES NETO, 1992). Este tipo de anemia é causada por uma reação cruzada contra antígenos tumorais, ou por disfunção imune da cascata de complemento (CHINOY et al., 2007; FARIA, 2012).

Estudos têm demonstrado uma diminuição do tempo de vida médio dos eritrócitos em pacientes com câncer, que se deve a uma diminuição da resistência osmótica da membrana desta célula (OCHOA-CARRILLO et al., 2003), ou a presença de anticorpos anti-eritropoietina (anti-EPO) (ROSSERT et al., 2004; Fujimi et al., 2014).

Síndromes Paraneoplásicas Reumatológicas e Osteomioarticulares

As manifestações osteomioarticulares estão frequentemente presentes no cortejo clínico das Síndromes Paraneoplásicas. A dor é o sintoma prevalente e serve de alerta ao paciente. A dor é resultante da liberação de prostaglandinas e outros mediadores químicos pelas células tumorais, (KOBAK, 2013) ou ainda pela ação integrada de outras condições, como aumento da pressão intramedular, estiramento da membrana periosteal, fraturas patológicas, compressão e traumatismo de estruturas ligamentares e nervosas. A sinovite, às vezes muito precoce, pode anteceder em meses o diagnóstico da neoplasia, determinando dor e inflamação em pequenas e grandes articulações (MARQUES NETO, 1992; CHINOY et al., 2007; OCHOA-CARRILLO et al., 2003).

A artrite é um achado comum em pacientes que têm câncer. Nesta população, é fundamental diferenciar artrite séptica e sinovite metastática. Exames de cultura, cristalografia, e citologia do líquido sinovial são úteis ferramentas para o diagnóstico inicial (MARENCO et al., 2011).

Osteoartropatia hipertrófica

A osteoartropatia hipertrófica é caracterizada por neoformação óssea em torno do corpo de ossos longos e de falanges, inchaço articular e dor. Fator de crescimento vascular endotelial, fator de crescimento plaquetário e prostaglandina E2 liberados pelo tumor têm sido considerados possíveis causadores desta síndrome (OBONDENT et al., 2009).

Aproximadamente 90% dos casos são paraneoplásicos. Suas apresentações clínicas estão presentes em 10% dos pacientes com tumores de pulmão de pequenas células (THIERS, SAHN e CALLEN, 2009; DICKINSON, 1993).

Clinicamente, caracteriza-se por uma inflamação dolorosa no terço distal dos braços, pernas e articulações adjacentes, formação óssea ao longo dos ossos longos das extremidades. Pode apresentar-se associada a hipocratismo digital e mais de 20% dos pacientes com câncer de pulmão manifestam ambas alterações (DICKINSON, 1993).

Hipocratismo digital

O hipocratismo digital (HD), também conhecido como “dedos em baqueta de tambor”, desenvolve-se por uma reação proliferativa com aumento na convexidade do leito ungueal e adelgaçamento das falanges distais (SRIDHAR, 1998). A causa é desconhecida, porém recentemente tem-se relacionado a níveis elevados de fator de crescimento de hepatócitos, (HOJO et al., 1997). Outros mecanismos propostos para explicar a etiopatogenia desta entidade são alterações locais na oxigenação tissular, dilatação da vasculatura distal mediada por substâncias produzidas pelo tumor, acúmulo de megacariócitos e plaquetas na falange distal e deflagração de resposta inflamatória local (SRIDHAR, LOBO e ALTMAN, 1998).

Aproximadamente 12% dos pacientes com câncer de pulmão apresentam HD, principalmente os do tipo de pequenas células, e existem relatos de que o tipo histológico do tumor influencia a proporção de pacientes com HD. É uma ocorrência mais comum em mulheres (MACEDO et al., 2004).

Síndromes Paraneoplásicas Dermatológicas (mucocutâneas)

A frequência pela qual certas dermatoses estão associadas com malignidade interna sugere que sua ocorrência não é um evento casual, podendo anteceder a neoplasia, outras vezes pode seguir em curso paralelo ou aparecer independentemente da mesma. Essas condições cutâneas parecem ocorrer entre 7 a 15%, ignorando-se a incidência específica relacionada aos tipos de neoplasias (COHEN, 1994; THIERS, SAHN e CALLEN, 2009). Algumas dessas dermatoses são mais frequentes em pacientes com doença maligna hematológica, enquanto outras são mais prevalentes em pacientes com tumores sólidos (COHEN e KURZROCK, 1997).

Muitas vezes, consistem em diagnósticos paraneoplásicos puros, com associação de fácil determinação não só ao tumor como à sua progressão (FARIA, 2012).

Em geral, essas síndromes são menos responsivas ao tratamento, comparadas a seus equivalentes não-paraneoplásicos (THIERS, SAHN e CALLEN, 2009).

São múltiplos e podem ser classificados de acordo com o tipo de lesões ou de acordo com o mecanismo subjacente: deposição de substâncias na derme (neutrófilos, por exemplo), lesões papuloescamosas ou vesiculobolhosas, reações inflamatórias proliferativas, eritemas, degeneração vacuolar da camada basal da derme, vasculite (COHEN e KURZROCK, 1997). Apesar da maioria não ser fatal, algumas síndromes paraneoplásicas dermatológicas, como o pênfigo, podem resultar na morte em 30% dos casos (FARIA, 2012). As principais manifestações dermatológicas paraneoplásicas são:

Acantose nigricans

A *Acantose nigricans* (AN) é caracterizada por uma hiperpigmentação espessa da pele, predominantemente em áreas de flexão do corpo, como a região de axilas e virilhas, pescoço, mas também em mucosas. A AN pode ser classificada como benigna ou maligna (ANM). A forma benigna (80%) é relativamente comum e pode ser associada com a obesidade, resistência à insulina, diabetes mellitus e uso de drogas, ao contrário da forma maligna, que é rara (PIPKIN e LIO, 2008; EHST et al., 2010). Entre os casos paraneoplásicos, o adenocarcinoma gástrico é a malignidade mais comumente associada. Tende a ser mais severa e mais da metade dos pacientes tem envolvimento das mucosas. O mecanismo de lesão resulta de produção tumoral de fator de crescimento epidérmico (BRAVERMAN, 2002; THIERS, SAHN e CALLEN, 2009).

Histologicamente observa-se hiperqueratose com adelgaçamento da camada córnea e papilomatose. A aparição súbita de AN em adultos, particularmente quando se manifestam lesões que afetem mucosas, sugerem a existência de uma enfermidade maligna (CURTH, HILBERG e MACHACEK, 1962).

A ANM foi observada em 58% dos pacientes antes do diagnóstico de tumor (EHST et al., 2010), sendo associada a 90% de todos os cânceres abdominais; 55-61% em tumores de origem gástrica. Em adenocarcinomas é encontrada em 70-90% dos casos. Outras condições menos malignas estão associadas a tumores uterinos, hepáticos, intestinais e outros (PIPKIN e LIO, 2008; SNEDDON, 1970; EHST et al., 2010; KRAWCZYK et al., 2009; COSTA et al., 2012).

O mecanismo fisiopatológico exato para de ANM ainda não está bem definido. Acredita-se que as citocinas produzidas por células neoplásicas estão envolvidos, tais como fator de crescimento alfa (TGF- α), fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1), fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e hormônio estimulante de melanócitos (MSHA). O mecanismo de ação pressupõe que TGF- α seria estruturalmente semelhante ao fator de crescimento epidérmico (EGF- α), interagindo com este receptor presente na superfície de células epidérmicas (PIPKIN e LIO, 2008; SNEDDON, 1970; KRAWCZYK et al., 2009; BRINCA et al., 2011).

Dermatomiosite

A dermatomiosite é uma enfermidade difusa do tecido conectivo caracterizada comumente por miopatia inflamatória que apresenta múltiplas alterações da pele antes da apresentação de fraqueza dos músculos proximais. Os achados dermatológicos incluem erupção cutânea heliotrópica na parte superior das pálpebras, erupção eritematosa na face, pescoço, costas, tórax e ombros, e pápulas sobre as articulações interfalangeanas que pode mimetizar psoríase (KANG et al., 2005), além de sinal de Gottron e fotodistribuição em “V” no tórax (sem histórico de exposição ao sol) conhecido como sinal de xale - associado com paresia proximal simétrica (PIPKIN e LIO, 2008; Dourmishev LA, Draganov PV, 2009; EHST et al., 2010).

A incidência é mais elevada em adultos com mais de 45 anos, acasos de dermatomiosite em crianças não está associada com malignidades (EHST et al., 2010). Aproximadamente 10 a 25% dos casos são paraneoplásicos. As malignidades comumente associadas são câncer de mama, ovário, estômago, baço pulmão, próstata e medula óssea (MARIE et al., 2002; CURTH, HILBERG e MACHACEK, 1962; OCHOA-CARRILLO et al., 2003).

O diagnóstico é feito após constatação de elevação do nível de creatina fosfoquinase e biópsia muscular revelando atrofia perifascicular de fibras musculares e infiltrado inflamatório (KANG et al., 2005).

Vasculite leucocitoclástica

Vasculite leucocitoclástica paraneoplásica ocorre mais comumente associada a malignidade hematológica ou pulmonar, renal, gastrintestinal, ou tumores da próstata, linfomas e leucemias. Apresenta-se como uma púrpura palpável abaixo das extremidades inferiores que são acompanhadas de dor, queimação e prurido. Esta condição tem sido atribuída à circulação de antígenos tumorais ou migração leucocitária. Esses antígenos levam à deposição de complexos imunes em pequenas veias, o que, associado a uma reação de hipersensibilidade, dispara o sistema complemento e a reação inflamatória (THIERS, SAHN e CALLEN, 2009).

Pode ocorrer disfunção orgânica secundária à inflamação vascular, como dano renal, gastrintestinal, pericárdico e neurológico, acompanhados de sinais e sintomas articulares (LOTTI, COMACCHI e GHERSETICH, 1999; OCHOA-CARRILLO et al., 2003).

Pênfigo paraneoplásico (PPN)

O pênfigo paraneoplásico é uma grave condição em que ulcerações bolhosas afetam a pele e as mucosas. Se não for efetivamente tratada, pode resultar em importante morbidade (infecção secundária) e nos casos, mais graves, pode haver envolvimento de vias aéreas, causando falência respiratória e até mesmo morte. O desenvolvimento do PPN oral com estomatite dolorosa é visto em quase todos os casos e, muitas vezes pode ser o primeiro sintoma, sendo geralmente o menos sensível ao tratamento.

Sugere-se que a síndrome surja a partir de anticorpos dirigidos contra antígenos tumorais que apresentam reatividade cruzada contra várias proteínas presentes em desmossomos e hemidesmossomos responsável pela adesão entre as células, provocando assim o deslocamento da pele (PELOSOF e GERBER, 2010; CERRONI, ZENAHLIK e KERL, 1995; FARIA, 2012). Este envolvimento generalizado e grave da doença é a que distingue de outros tipos de pênfigo não paraneoplásico. A doença é extremamente refratária e de mau prognóstico, independentemente do estadiamento do tumor (FARIA, 2012).

O PPN ocorre mais em adultos entre 45 e 70 anos de idade e está mais associado a patologia hematológica (80%), incluindo linfomas - não-Hodgkin (42%), e leucemia linfocítica crônica (29%), podendo ainda associar-se a timoma, macroglobulinemia de Waldenstrom e carcinomas fusiformes (SHAH et al., 2011; BOYCE e HARPER, 2009; EDGIN et al., 2008; EHST et al., 2010; FARIA, 2012) e ainda na doença de Castleman, principalmente em crianças e adolescentes (SHAH et al., 2011).

Síndrome de Gardner

A Síndrome de Gardner (SG) clinicamente apresenta lesões cutâneas como cistos sebáceos epidérmicos múltiplos da face e do couro cabeludo, tumores

cutâneos dermóides, dentes supranumerários, osteomas da face e cabeça, além de pólipos gastrintestinais (ORTIGOSA e REIS, 2008). Também é conhecida como polipose adenomatosa familiar e foi descrita em 1953 como uma síndrome autossômica dominante com alto índice de transformação em malignidade (PROVOST, LAMAN e GIARDIELLO, 2001).

Aos 30 anos, 50% dos pacientes com essa Síndrome desenvolvem neoplasias malignas gastrintestinais, e aos 50 anos, quase 100% (ORTIGOSA e REIS, 2008). Estes tumores são geralmente assintomáticos, no entanto, podem apresentar-se como uma massa de crescimento lento com dor sobre a região do inchaço (GUNDEWAR et al., 2013).

Síndromes Paraneoplásicas Renais (SPR)

A glomerulonefrite membranosa com síndrome nefrótica tem sido claramente associada a neoplasias. Apesar da maioria dos casos serem idiopáticos, calcula-se que cerca de 20% dos casos estão associados a câncer. Além do Câncer de cólon, o câncer gástrico, câncer de pulmão e linfomas malignos são freqüentemente associada à síndrome nefrótica com incidência de 25, 15 e 10%, respectivamente (KEUR et al., 1989; TAKANE et al., 2014). Na grande maioria dos tumores, a síndrome é caracterizada por proteinúria nefrótica, hipertensão e hematúria microscópica, sendo detectada após o diagnóstico do tumor, não o precedendo. A deposição de complexos imunes mediada pelo tumor nos glomérulos ativa o sistema complemento e aumenta a permeabilidade da membrana glomerular à substâncias proteicas (Imunoglobulinas IgG), o que leva à lesão epitelial, com consequente proteinúria (FILGUEIRA et al., 2010; MADAIIO e HARRINGTON, 2001; FARIA, 2012). Relatos de autores vem apresentando a SPR relacionada ao linfoma de Hodgkin (LH) com incidência de 1% em crianças (POURTSIDIS et al., 2014).

O depósito de paraproteínas e citocinas que atuam como fatores de crescimento podem favorecer esclerose glomerular e desencadear o dano renal. Os casos de síndromes nefróticas paraneoplásicas provocam um desequilíbrio no organismo, dificultando o tratamento e agregando complicações capazes de diminuir o tempo de vida destes pacientes (MADAIIO e HARRINGTON, 2001).

Miscelânea

Com menor frequência encontramos como manifestações paraneoplásicas: miopatia necrosante aguda, neuromonopatia motora, neuropatia microvasculítica, polirradiculoneuropatia inflamatória desmielinizante (REES, 2004); acromegalia ectópica (FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ et al., 2010), ginecomastia paraneoplásica (FORGA, ANDA E MARTINEZ DE ESTEBAN, 2005).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como a exata etiologia das síndromes paraneoplásicas permanece obscura, o diagnóstico é frequentemente realizado por exclusão, considerando-se lesões metastáticas, infecções, reações de intoxicação associadas ao tratamento quimioterápico ou radioterápico, obstrução direta ou efeito infiltrativo do tumor primário, não esquecendo fatores inerentes aos procedimentos diagnósticos como punções transcutâneas.

Um tumor maligno pode ter diversas formas de manifestação e este reconhecimento pode levar ao diagnóstico de neoplasias que não foram suspeitadas. Essas manifestações podem ser inespecíficas e muitas delas são muito sutis.

A presença de uma Síndrome Pananeoplásica conduz a importante agravamento do quadro clínico do paciente, provocando morbidades, e o médico deve estar atento a esse quadro, conduzindo uma investigação consistente, a fim de diagnosticar a neoplasia subjacente, ou melhor conduzir a sintomatologia do paciente, aumentando sua tolerância ao tratamento da neoplasia concomitante.

Sempre que ocorrerem sintomas que não apresentam evidência clara de sua origem, deve-se hospitalizar o paciente e investigar a possibilidade de uma síndrome paraneoplásica.

Avanços médicos recentes têm melhorado a compreensão, diagnóstico e tratamento de síndromes paraneoplásicas, porém a medicina é, ainda hoje, falível – e nem sempre capaz de superar os desígnios naturais – sempre à procura, não só da

cura infalível e dos anos extra de vida, mas sobretudo do alívio dos sintomas, da vida digna e com qualidade.

REFERÊNCIAS

ADAMSON, J. W. The Anemia of Inflammation/Malignancy: Mechanisms and Management. **American Society of Hematology**, v. 1, p. 159-165, 2008.

AMER, K. M. A. et al. Lung carcinoid related Cushing's Syndrome: report of three cases and review of the literature. **Postgraduate medical journal**, v. 77, p. 464–467, 2001.

ANAGNOSTOPOULOS, G. K.; SAKORAFAS, G. H.; KOSTOPOULOS, P.; MARGANTINIS, G.; TSIAKOS, S.; TERPOS, E.; PAVLAKIS, G.; FORTUN, P.; ARVANITIDIS, D. Disseminated colon cancer with severe peripheral blood eosinophilia and elevated serum levels of interleukine-2, interleukine-3, interleukine-5, and GM-CSF. **Journal of surgical oncology**, v. 89, p. 273-275, 2005.

BAIJENS, L. W. J. e MANNI, J. J. Paraneoplastic Syndromes In Patients With Primary Malignancies Of The Head And Neck: Four Cases And A Review Of The Literature. **European archives of oto-rhino-laryngology**, v. 263, p. 32-36, 2006.

BALASUBRAMANIAN, A., FLAREAU, B., SOURBEER, J. J. Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion. **Hospital Physician**, v. 39, p. 33 – 36, 2007.

BERENTSEN, S. Therapy for chronic cold agglutinin disease: perspective for further improvements. **Blood transfusion**, v.11, p. 167-168, 2013.

BOYCE, S.; HARPER, J. Paraneoplastic dermatoses. **Dermatologic clinics**, v. 20, p. 523–533, 2002.

BRAVERMAN, I. M. Skin manifestations of internal malignancy. *Clinics in geriatric medicine*, v.18, p. 1-19, 2002.

BRINCA, A.; CARDOSO, J. C.; BRITES, M. M.; TELLECHEA, Ó.; FIGUEIREDO, A. Florid cutaneous papillomatosis and acanthosis nigricans maligna revealing gastric adenocarcinoma. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 86. p. 573–577, 2011.

CERRONI, L.; ZENAHLIK, P.; KERL, H. Specific cutaneous infiltrates of B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia Arising at the site of Herpes Zoster and Herpes simples Scars. **Cancer**, v. 76, n.1, 1995.

- CHABNER, B. A.; LONGO, D. A. **Manual de Oncologia de Harrison**. 2ed. Porto Alegre-RS: ArtMed. p. 59, 2015.
- CHINOY, H. et al. The diagnostic utility of myositis autoantibody testing for predicting the risk of cancer-associated myositis. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 66, p. 1345–1349, 2007.
- COHEN, P. R. Cutaneous paraneoplastic syndromes. **American family physician**, v. 50, n. 6, p. 1273-1282, 1994.
- COHEN, P. R.; KURZROCK, R. Mucocutaneous Paraneoplastic Syndromes. **Seminars in Oncology**, v. 24, n. 3, p. 334-359, 1997.
- COSTA, M. C.; MARTINEZ, N. S.; BELICHA, M. G.; LEAL, F. Acanthosis nigricans and "tripe palm" as paraneoplastic manifestations of metastatic tumor. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 87, p. 498–500, 2012.
- COWEN, L. E.; HODAK, S. P.; VERBALIS, J. G. Age-Associated Abnormalities of Water Homeostasis. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 42, n. 2, p. 349–370, 2013.
- CURTH, H. O.; HILBERG, A. W.; MACHACEK, G. F. The site and histology malignant acanthosis nigricans. **Cancer**, v. 15, n. 2, p. 364-382, 1962.
- DALMAU, J. et al. Anti-Hu-associated paraneoplastic encephalomyelitis-sensory neuronopathy. **Medicine**, v. 71, p. 59-72, 1992.
- DE BEUKELAAR, J. W.; SILLEVIS SMITT, P. A. Managing paraneoplastic neurological disorders. **Oncologist**, v. 11, p. 292-305, 2006.
- DICKINSON, C. J. The aetiology of clubbing and hypertrophic osteoarthropathy. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 23, p. 330-338, 1993.
- DOURMISHEV, L. A.; DRAGANOV, P. V. **Mundial Journal Gastroenterology**, v. 21 n. 15 p. 4372-4379, 2009.
- DUTRA, P. L. et al. Leucocitose como Síndrome Paraneoplásica de Adenocarcinoma Pulmonar: Relato de caso. In: II Congresso Brasileiro de Medicina Hospitalar – II CBMH. **Blucher Medical Proceedings**, v.1, n. 5, p.69, 2014.
- EDGIN, W. A.; PRATT, T. C.; GRIMWOOD, R. E.; Pemphigus Vulgaris and Paraneoplastic Pemphigus. **Oral & Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, v. 20, p. 577–584, 2008.
- EHST, B. D.; MINZER-CONZETTI, K.; SWERDLIN, A.; DEVERE, T. S. Cutaneous manifestations of internal malignancy. **Current problems in surgery**, v. 47, p. 384–445, 2010.

EJAZ, S. et al. Cushing Syndrome Secondary To Ectopic Adrenocorticotrophic Hormone Secretion. **Cancer**, v.1, p. 4381-4389, 2011.

FARIA, A. F. G. de. **Síndromes Paraneoplásicas**. Estágio de Medicina Intensiva – UCIP HFF: 2012. Disponível em: <http://repositorio.hff.min-saude.pt/AnaFaria-Sindromesparaneoplasicos.pdf>

FARIAS, M. L. F. de. A Hipercalcemia nas Malignidades: Aspectos Clínicos, Diagnósticos e Terapêuticos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 49, n. 5, p. 816-824, 2005.

FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, F. J. et al. Hipercalcemia paraneoplásica associada a uma tumoración epidermoide rectal em uma paciente com fístula anal de larga duración. **Gastroenterología y hepatología**, v. 33, n.7, 2010.

FILGUEIRA, P. H. O. et al. Paraneoplastic Syndromes and the Kidney. *Saudi journal of kidney diseases and transplantation*, v. 21, n. 2, p. 222-231, 2010.

FORGA, L.; ANDA, E.; MARTÍNEZ DE ESTEBAN, J. P. Síndromes hormonales paraneoplasicos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, v. 28, n. 2, p. 213-226, 2005.

FUJIMI, A.; KAMIHARA, Y.; KANISAWA, Y.; HASHIMOTO, A.; NAKAJIMA, C.; HAYASAKA, N.; UEMURA, N.; OKUDA, T.; MINAMI, S.; IYAMA, S.; TAKADA, K.; SATO, T.; HARA, A.; IWATA, Y.; FURUICHI, K.; WADA, T.; KATO, J. Anti-erythropoietin receptor antibody-associated pure red cell aplasia accompanied by Coombs-negative autoimmune hemolytic anemia in a patient with T cell/histiocyte-rich large B cell lymphoma. **International journal of hematology**, v.100, n.5; p. 490-493, 2014.

GÁMEZ, B. J.; GARCÍA DE LUCAS, M. D.; RODRÍGUEZ, M. G. Cáncer de pulmón y síndromes paraneoplásicos. **Anales de medicina interna Madri**, v.18, n.8, p. 440-446, 2001.

GRANGER, J. M.; KONTOYIANNIS, D. P. Etiology and outcome of extreme leukocytosis in 758 nonhematologic cancer patients - A retrospective, single-institution study. **Cancer**, v. 115, n. 17, p. 3919–3923, 2009.

GRAUS, F. et al. Recommended Diagnostic Criteria For Paraneoplastic Neurological Syndromes. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, v. 75, p. 1135–1140, 2004.

GULTEKIN, S. H. et al. Paraneoplastic limbic encephalitis: neurological symptoms, immunological findings and tumour association in 50 patients. **Brain**, v. 123, p. 1481-1494, 2000.

GUNDEWAR, S.; KOTHARI, D. S.; MOKAL, N. J.; GHALME, A. Osteomas of the craniofacial region: A case series and review of literature. *Indian Journal of Plastic Surgery*, v. 46, n. 3, p. 479–485, 2013.

- HOFF, A.O.; VASSILOPOULOU-SELLIN, R. The Role Of Glucagon Administration In The Diagnosis And Treatment Of Patients With Tumor Hypoglycemia. **Cancer**, v. 82, n. 8, p. 1585-1592, 1998.
- HOJO, S. et al. Hepatocyte Growth Factor and Digital Clubbing. **Internal Medicine**, v. 36, n.1, p. 44-46, 1997.
- HONNORAT, J.; ANTOINE, J. C. Paraneoplastic neurological syndromes. **Orphanet journal of rare diseases**, v. 2, n. 22, 2007.
- HUÑIS, A. P. **Síndromes Paraneoplásicas, Definición y fisiopatología**. In: http://www.coba.org.ar/archivos/sindrome_paraneoplasico.pdf. Visualizado em 07/03/2015.
- JALI, S.; PRASHANTH, G. P.; AMARKHED, P. Migratory polyarthritis in aleukemic lymphoblastic leukemia: An undesignated paraneoplastic syndrome. **Journal of the Scientific Society**, v. 40, n. 1, p. 44-46, 2013.
- KANG, E. H. et al. Concise Report Interstitial Lung Disease in Patients With Polymyositis, Dermatomyositis and Amyopathic Dermatomyositis. **Rheumatology**, v. 44, p. 1282–1286, 2005.
- KEUR, I.; KREDIET, R. T.; ARISZ, L. Glomerulopathy as a paraneoplastic phenomenon. **The Netherlands journal of medicine**, v. 34, p. 270–284, 1989.
- KHAN, A. Cushing's syndrome associated with carcinoma of pancreas. **Postgraduate medical journal**, v. 44, n. 518, p. 925–926, 1968.
- KLASTERSKY, J.; AOUN, M. Opportunistic infections in patients with cancer. **Annals of Oncology**, v. 15, Suppl. 4, p. 329–335, 2004.
- KOBAK, S. Chronic monoarthritis and foot-drop as a paraneoplastic syndrome in prostate cancer. **Rheumatology International**, v. 33, n. 1, p. 223-225, 2013.
- KRAWCZYK, M.; MYKALA-CIESLA, J.; KOLODZIEJ-JASKULA, A. Acanthosis nigricans as a paraneoplastic syndrome. Case reports and review of literature. **Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej**, v. 119, p. 180–183, 2009.
- LEROITH, D. et al. Insulin-like Growth Factors and Cancer. **Annals of Internal Medicine**, v. 122, n. 1, p. 54-59, 1995.
- LIGUORI, R. et al. Morvan's Syndrome: Peripheral And Central Nervous System And Cardiac Involvement With Antibodies To Voltage-Gated Potassium Channels. **Brain**, v. 124, n. 12, p. 2417-2426, 2001.
- LOTTI, T. M.; COMACCHI, C.; GHERSETICH, I. Cutaneous necrotizing vasculitis – relation to systemic disease. **Advances in experimental medicine and biology**, v. 455, p. 115-125, 1999.

MACEDO, A. G.; FUSARI V. C.; ALMEIDA, J. R. P.; MATTOS E DINATO, S. L.; ROMITI, N. Baqueteamento digital como manifestação inicial de neoplasia pulmonar. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 79, n. 4, 2004.

MACLEOD, R. J.; CHATTOPADHYAY, N.; BROWN, E. M. PTHrP stimulated by the calcium-sensing receptor requires MAP kinase activation. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 84, p. 435-442, 2003.

MADAIO, M. P.; HARRINGTON, J. T. The Diagnosis of Glomerular Diseases: Acute Glomerulonephritis and the Nephrotic Syndrome. **Archives of internal medicine**, v. 161, n. 1, p. 25-34, 2001.

MARADEI, S.; ARCURI, L. J.; TABAK, D. Urgências metabólicas no paciente oncológico. **ONCO &**, p. 44-50, 2011.

MARENGO, M. F.; SUAREZ-ALMAZOR, M. E.; LU. H. Neoplastic and Paraneoplastic Synovitis. **Rheumatic diseases clinics of North America**, v. 37, n. 4, p. 551-572, 2011.

MARIE, I. et al. Interstitial Lung Disease in Polymyositis And Dermatomyositis. **Arthritis Care & Research**, v. 47, n. 6, p. 614-622, 2002.

MARQUES NETO, J. F. Síndromes paraneoplásicas: revisão das manifestações osteomioarticulares. **Revista de Ciências Médicas – PUCCAMP**, v. 1, n. 2, p. 49-53, 1992.

MARUICHI, M.D. et al. Síndrome da secreção inapropriada do hormônio antidiurético. **Arq. Med. Hosp. Fac. Cienc. Med. Santa Casa São Paulo**, v. 57, n. 1, p. 41-45, 2012.

MOTOMURA, M. et al. An improved diagnostic assay for Lambert-Eaton myasthenic syndrome. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v. 58, p. 85-87, 1995.

NAYAR, M.K.; LOMBARD, M.G.; FURLONG, N. J.; MCNULTY, S. J.; HARDY, K. J.; VORA, J. Diagnosis and management of nonislet cell tumor hypoglycemia: case series and review of the literature. **Endocrinologist**, v. 16, n.4, p. 227-230, 2006.

NEWELL-PRICE, J. et al. The Diagnosis and Differential Diagnosis of Cushing's Syndrome and Pseudo-Cushing's States. **Endocrine Reviews**, v. 19, n. 5, p. 647-672, 1998.

O'SUILLEABHAIN, P.; LOW, P. A.; LENNON, V. A. Autonomic dysfunction in the Lambert-Eaton myasthenic syndrome. **Neurology**, v. 50, p. 88-93, 1998.

OBONDENT, M. et al. Hypertrophic Osteoarthropathy Masquerading As Lower Extremity Cellulitis And Response To Bisphosphonates. **Journal of thoracic oncology**, v. 4, p. 260-262, 2009.

OCHOA-CARRILLO, F. J. et al. Síndromes paraneoplásicos. Su asociación con el carcinoma pulmonar. **Cirugía y cirujanos**, v. 71, p. 150-161, 2003.

ODELL, W. D. Endocrine/metabolic syndromes of cancer. **Seminars in oncology**, v. 24, n. 3, p. 299-317, 1997.

ORTIGOSA, L. C. M.; REIS, V. M. S. dos. Dermatomiosite. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 83, n. 3, 2008.

PAVELIC, K. et al. Insuline-like growth factor family in malignant haemangiopericytomas: the expression and role of insulin-like growth factor I receptor. **Journal of Pathology**, v. 188, p. 69-75, 1999.

PEQUEUX, C. et al. Oxytocin Synthesis and Oxytocin Receptor Expression by Cell Lines of Human Small Cell Carcinoma of the Lung Stimulate Tumor Growth through Autocrine/Paracrine Signaling. **Cancer Research**, v. 62, p. 4623–4629, 2002.

PELOSOF, L. C.; GERBER, D. E. Paraneoplastic syndromes: an approach to diagnosis and treatment. **Mayo Clinic proceedings**, v. 85, n. 9, p. 838–854, 2010.

PERKS, C. M.; HOLLY, J. M. P. Epigenetic regulation of insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) in cancer. **Journal of Cell Communication and Signaling**, v. 9, n.2, p.159 – 166, 2015.

PIPKIN, C.A.; LIO, P. A. Cutaneous manifestations of internal malignancies: an overview. **Clinics in dermatology**, v. 26, p. 1–15, 2008.

POURTSIDIS, A.; DOGANIS, D.; BAKA, M.; VARVOUTSI, M.; KOSMIDIS, H. Nephrotic syndrome and Hodgkin lymphoma in children. Report of two cases. *Hippokratia*, v. 18, n. 4, p. 373–375, 2014.

PROVOST, T. T.; LAMAN, S. D.; GIARDIELLO, F. M. Hereditary Paraneoplastic Syndromes. In: PROVOST, T. T.; FLYNN, J. A. **Cutaneous manifestations of systemic diseases**. Ed. BC Decker, Chapter 30, p. 389-400, 2001.

RADULESCU D. et al. Severe paraneoplastic hyponatremia and hypoosmolality in a patient with small-cell lung carcinoma: Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion versus Atrial Natriuretic Peptide or both? **Clin Lung Cancer**, v. 8, n. 6, p. 392-395, 2007.

RAFTOPOULOS H. Diagnosis And Management Of Hyponatremia in cancer patients. **Support Care Cancer**, v. 15, p. 1341-1347, 2007.

REES, J. H. Paraneoplastic syndromes: when to suspect, how to confirm, and how to manage. **Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry**, v. 75, suppl 2, p. 43-50, 2004.

ROSSERT, J.; CASADEVALL, N. AND ECKARDT, KAI-UWE. Anti-Erythropoietin Antibodies and Pure Red Cell Aplasia. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 15, p. 398–406, 2004.

SAITO, K. et al. Primary Squamous Cell Carcinoma Of The Thyroid Associated With Marked Leukocytosis And Hypercalcemia. **Cancer**, v. 48, p. 2080-2083, 1981.

SETOYAMA, T.; MIYAMOTO, S.; HORIMATSU, T.; FUNAKOSHI, T.; NIKAIDO, M.; KODAMA, Y.; MINAMIGUCHI, S.; YAMABATA, T.; MUTO, M.; CHIBA, T. Bioactive insulin-like growth factors as a possible molecular target for non-islet cell tumor hypoglycemia. **Cancer biology & therapy**, v. 15, n. 12, p. 1588-1592, 2014.

SHAH, A.; JACK, A.; LIU, H.; HOPKINS, R. S. Neoplastic: paraneoplastic dermatitis, fasciitis, and panniculitis. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 37, p. 573–592, 2011.

SILVA, M. M. et al. Síndromes Paraneoplásicas – o que o cirurgião dentista precisa saber? **Odonto**, v.18, n.36, p.25-30, 2010.

SNEDDON, I. B. Cutaneous manifestations of visceral malignancy. **Postgraduate medical journal**, v. 46, p. 678–685, 1970.

SORENSEN, H. T. et al. Prognosis of Cancers Associated with Venous Thromboembolism. **The New England journal of medicine**, v. 343, p. 1846-1850, 2000.

SRIDHAR, K. S.; LOBO, C. F.; ALTMAN, R. D. Digital Clubbing and Lung Cancer. **Chest**, v.114, p. 1535-1537, 1998.

STEWART, A. F. Hypercalcemia Associated with Cancer. **The New England journal of medicine**, v. 352, p. 373-379, 2005.

STREWLER, G. J. Humoral Manifestations of Malignancy. In: LARSEN, P.R., KRONENBERG, H. M., MELMED, S., POLONSKY, K. S. **Williams Textbook of Endocrinology**, 10th ed., Ed. Elsevier, p. 1835-1857, 2003.

STUBGEN, J. P. Neuromuscular disorders in systemic malignancy and its treatment. **Muscle Nerve**, v. 18, p. 636-648, 1995.

TAKANE, K.; MIDORIKAWA, Y.; YAMAZAKI, S.; KAJIWARA, T.; YOSHIDA, N.; KUSUMI, Y.; TAKAYAMA T. Gastrointestinal stromal tumor with nephrotic syndrome as a paraneoplastic syndrome: a case report. **Journal of case reports in medicine**, v. 8, p. 108, 2014.

TEFFERI, A.; PATNAIK, M. M.; PARDANANI, A. Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic. **British Journal of Haematology**, v. 133, p. 468–492, 2006.

THIERS, B. H.; SAHN, R. E.; CALLEN, J. P. Cutaneous Manifestations of Internal Malignancy. **Cancer Journal Clinical**, v. 59, p. 73-98, 2009.

THIERS, B. H.; SAHN, R. E.; CALLEN, J. P. Cutaneous manifestations of internal malignancy. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 59, p. 73–98, 2009.

THOMPSON, C. A.; STEENSMA, D. P. Pure red cell aplasia associated with thymoma: clinical insights from a 50-year single-institution experience. **British Journal of Haematology**, v. 135, n. 3, p. 405–407, 2006.

TOY, E. C.; PATLAN JR, J. T. **Casos Clínicos em Medicina Interna (Lange)** - 4ed. Porto Alegre-RS: ArtMed. p. 59, 2013.

VEDELER, C.A. et al. Management Of Paraneoplastic Neurological Syndromes: Report Of An Task Force. **European Journal Of Neurology**, v. 13, p. 682–686, 2006.

YEUNG, S. C. J.; GAGEL, R. F. Endocrine Paraneoplastic Syndromes (Ectopic Hormone Production). In: KUFEL, D. W.; POLLOCK, R. E.; WEICHSELBAUM, R. R.; BAST JUNIOR, R. C.; GANSLER, T. S.; HOLLAND, J. F.; FREI, E. **Holland-Frei Cancer Medicine**. Ed. Hamilton (ON): BC Decker, 6th edition; Part VIII, Section 38, Cap 158, 2003.

YOO, M.; BEDIAKO, E. O.; AKCA, O. Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone (SIADH) Secretion Caused by Squamous Cell Carcinoma of the Nasopharynx: Case Report. **Clinical and Experimental Otorhinolaryngology**, v. 1, n. 2, p. 110-112, 2008.

O PAPEL DA VIGILÂNCIA PARA O VÍRUS INFLUENZA NO ESTADO DE GOIÁS, DENTRE OS ANOS DE 2009 E 2014.

Yves Mauro Fernandes Ternes *

INTRODUÇÃO

O vírus influenza pertence à família *Orthomyxoviridae* e se subdivide antigenicamente em A, B e C. O vírus influenza A possui uma maior capacidade em sofrer variação antigênica, o que contribui para a existência de um grande número de subtipos de acordo com, principalmente, duas proteínas presentes na superfície viral; a Hemaglutinina, responsável pela adesão do vírus à célula hospedeira, e a Neuraminidase, associada à liberação do vírus da célula do hospedeiro (PETRIE et al., 2015). Para o vírus influenza B ocorre menos alterações antigênicas, já o vírus influenza C é antigenicamente estável. Além desta grande variabilidade gênica do vírus influenza A, a duração da memória imunológica em adultos para o vírus influenza é de cerca de 10 a 12 meses, em média. Diante disso, a Organização Mundial da Saúde recomenda que a vacinação ocorra anualmente para a população (WHO, 2012). Entretanto, ainda são necessários novos estudos para comprovar a efetividade da vacinação na redução das complicações da doença (ARRIOLA et al., 2015).

O uso do antiviral fosfato de oseltamivir (Tamiflu®) é indicado para os casos de SRAG que necessitam de internação, ou para pacientes que apresentem Síndrome Gripal (SG) e que tenham algum fator de risco, como extremos etários ou portadores de doenças crônicas. O uso de oseltamivir pode reduzir a transmissão do vírus, a duração dos sintomas e complicações associadas ao vírus influenza (HAYWARD, 2010).

*Biomédico, Doutor em Epidemiologia pela UFG, técnico responsável pela vigilância de SRAG no Dept. de Epidemiologia da SMS de Goiânia-GO e Docente do curso de Medicina da Faculdade Alfredo Nasser.

As infecções pelos vírus respiratórios, principalmente influenza, podem causar SG. Segundo o Ministério da Saúde, todo paciente que apresente sintomatologia de SG, como febre, tosse, dor de garganta, mialgia, coriza e/ou cefaleia deve permanecer em observação, sem necessidade de internação. O uso de oseltamivir está indicado apenas para os pacientes que apresentem fatores de risco para complicações.

Já os casos que apresentem SG, associados a quadros de insuficiência respiratória, são classificados como Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), necessitam de hospitalização para monitorização, além da coleta para pesquisa de vírus respiratórios e tratamento imediato com oseltamivir (BRASIL, 2014).

A investigação ativa dos casos de SRAG, além da existência de unidades sentinela para SG, permitem ao sistema de vigilância um melhor acompanhamento do perfil de vírus respiratórios circulantes, visto que os Laboratórios Centrais (Lacens) fazem a identificação, além dos vírus Influenza A e B, do Adenovírus, Parainfluenza 1, 2 e 3 e Vírus Sincicial Respiratório (BRASIL, 2014). Esse sistema de vigilância é fundamental para a elaboração da vacina contra a gripe, visto que a construção de sua plataforma é elaborada com os vírus influenza (A e B) mais prevalentes no respectivo ano anterior, estratificada por hemisférios. Desta forma, para que uma vacina seja mais efetiva, é necessário que sua composição represente a realidade do país e/ou hemisfério.

As hospitalizações associada ao vírus influenza ocorrem em maior número nas pessoas idosas (acima de sessenta anos), bem como em crianças menores de cinco anos, o que demonstra a necessidade de melhorar de prevenção de influenza nesta população (THOMPSON et al., 2004). Outros agentes respiratórios têm sido descritos com importante papel neste cenário, como o vírus sincial respiratório (GOLDSTEIN et al., 2015).

Dentre as complicações respiratórias causadas pelo vírus influenza, uma das mais importantes é a infecção bacteriana secundária. Com a pandemia ocorrida em 1918-1919, conhecida como gripe espanhola, mais de 50 milhões de pessoas morreram, principalmente devido às complicações secundárias, e um outro fator que contribuiu foi o fato de ter ocorrido na era pré-antibiótica (MORENS;

TAUBENBERGER; FAUCI, 2013). Assim, o vírus influenza causa grande morbidade no paciente, deixando-o suscetível a outras infecções respiratórias oportunistas, principalmente as pneumonias (CID J12 a J18).

Diante disso, o objetivo deste trabalho é avaliar o impacto da vigilância epidemiológica do vírus influenza dentre os casos notificados no SINAN no estado de Goiás, entre os anos de 2009 a 2014.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma busca no site do Ministério da Saúde, área técnica para o vírus Influenza. A fonte de busca de dados foi o Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período analisado, 3.031 casos de SRAG foram notificados para SRAG no SINAN Influenza Web para o estado de Goiás (Tabela 1). Para a pandemia ocorrida no ano de 2009, em Goiás 1.304 casos foram notificados, sendo confirmado 646 pacientes com influenza A H1N1pdm2009. Posteriormente, a vacina foi administrada pelo Programa de Imunização do Ministério da Saúde para toda a população brasileira, diminuindo desta forma drasticamente os casos notificados em 2010 (388), e o mesmo para o ano seguinte (91). Nos anos seguintes, houve um padrão nas notificações.

Tabela 1. Distribuição dos casos de Síndrome Respiratória Aguda Grave notificados no SINAN entre os anos de 2009 e 2014, no Brasil.

Ano	Total casos de SRAG	Casos de SRAG confirmados influenza A H1N1 pdm2009	
		N	%
2009	1.304	646	49,5
2010	388	12	3,1
2011	91	1	1,1
2012	392	29	7,4
2013	478	52	10,9
2014	378	32	8,5
Total	3.031	772	25,5

Fonte: SINAN Influenza Web.

O estado de Goiás possui um perfil de doenças tropicais, onde a dengue atua de forma endêmica em todo o estado. A SRAG é incidente em regiões de clima mais ameno, como estados da região Sul. No Paraná por exemplo, foram notificados 40.015 casos de SRAG, com 30.650 casos confirmados, muito superior ao identificado no estado de Goiás (646) (SVS, 2012).

A grande redução dos casos notificados observada após o ano de 2009 no estado se deve, principalmente, ao fato do Ministério da Saúde, pelo Programa de Imunização, disponibilizar a vacina contra o vírus influenza A H1N1 pdm2009 para toda a população brasileira. Como houve um grande impacto na saúde pública neste período, houveram grandes mudanças nos hábitos de vida por parte da população, onde principalmente o uso de álcool gel foi disseminado em vários ambientes. Tais intervenções promoveram uma importante redução nos casos da doença. Entretanto, com o passar do tempo, houve uma espécie de esquecimento de tais recomendações, assim como uma redução da memória imunológica para o vírus pandêmico, havendo desta forma um aumento dos casos notificados de SRAG para os anos de 2012 em diante.

Porém, este trabalho possui limitações. Foi utilizado como fonte dados secundários, ele não representa com significância a realidade do estado. Falhas na notificação existem, havendo um direcionamento das notificações para as unidades públicas, as quais participam das capacitações com maior frequência em relação às unidades privadas.

Portanto, com nossos resultados, observa-se que a doença permanece endêmica no estado, exigindo do sistema de vigilância constante ações que permitem avaliar a distribuição dos casos, tanto de Síndrome Gripal quanto de SRAG. Isto se deve à determinações do Ministério da Saúde para que os municípios façam a implantação do Sistema de Vigilância Sentinela para SG e SRAG, nas unidade de saúde de urgência e emergência e UTIs, respectivamente (BRASIL, 2014).

Diante disso, os departamentos de vigilância municipais e estadual devem estar em sincronia, tanto na assistência quanto na vigilância epidemiológica, para que se possa notificar oportunamente os pacientes que atendam a definição de caso, e conseqüentemente fazer a pesquisa e identificação de vírus respiratórios juntamente ao Lacen. Essa caracterização etiológica é crucial para o monitoramento da doença, que permitirá construir a séria histórica e conseqüentemente direcionar as ações em saúde, como também irá contribuir para a elaboração da vacina contra a gripe para o ano seguinte para o hemisfério sul.

REFERÊNCIAS

ARRIOLA, C. S. et al. Does Influenza Vaccination Modify Influenza Severity? Data on Older Adults Hospitalized With Influenza During the 2012-2013 Season in the United States. **J Infect Dis**, Mar 27 2015.

BRASIL. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. SAÚDE, M. D. S.-S. D. V. E. Brasília 2014.

GOLDSTEIN, E. et al. Estimating the hospitalization burden associated with influenza and respiratory syncytial virus in New York City, 2003-2011. **Influenza Other Respir Viruses**, May 16 2015.

HAYWARD, A. Does treatment with oseltamivir prevent transmission of influenza to household contacts? **Clin Infect Dis**, v. 50, n. 5, p. 715-6, Mar 1 2010.

MORENS, D. M.; TAUBENBERGER, J. K.; FAUCI, A. S. Pandemic influenza viruses--hoping for the road not taken. **N Engl J Med**, v. 368, n. 25, p. 2345-8, Jun 20 2013.

PETRIE, J. G. et al. Persistence of Antibodies to Influenza Hemagglutinin and Neuraminidase Following One or Two Years of Influenza Vaccination. **J Infect Dis**, May 26 2015.

SVS. **Informe Técnico de Influenza**. SAÚDE, S. D. V. E. Brasília: 15 p. 2012.

THOMPSON, W. W. et al. Influenza-associated hospitalizations in the United States. **JAMA**, v. 292, n. 11, p. 1333-40, Sep 15 2004.

WHO. Vaccines against influenza WHO position paper - November 2012. **Wkly Epidemiol Rec**, v. 87, n. 47, p. 461-76, Nov 23 2012.

A APRENDIZAGEM BASEADA EM PROBLEMAS (PBL) E SUA APLICAÇÃO NO ENSINO DE CIÊNCIAS MÉDICAS

*Yves Mauro Fernandes Ternes*¹

*Rodrigo da Silva Santos*²

INTRODUÇÃO

A educação é um processo dinâmico e sistemático, que envolve trocas constantes de informações, promovendo assim uma interação entre pessoas de uma determinada comunidade. Esse processo interativo, proporciona aos atores envolvidos no processo, a elaboração de conhecimentos e significados, que serão incorporados a sua estrutura cognitiva e ao patrimônio cultural coletivo. Inicialmente é um processo de repercussão individual, mas que também atinge a esfera social e coletiva (Mcgriff, 2000). Nesse contexto, observa-se que os educadores, em especial, aqueles envolvidos com o ensino médico, estão somando contínuos esforços para satisfazer a crescente demanda em melhorar a educação médica (Rendas, et al, 1995; Angeli e Loureiro, 2001). Transformar a educação médica, é um processo complexo, que envolve romper com relações de poder já estabelecidas dentro das tradicionais escolas médicas, acumular forças favoráveis para diminuir as extensas forças contrárias, possuir um corpo docente estruturante, composto por profissionais reflexivos e dispostos a participarem da elaboração de ideias construtivas (Feuerwerke, 1999; Moretto, 1999; Angeli e Loureiro, 2001).

Esse processo complexo de mudança do ensino médico, envolve tanto o tradicionalismo dos professores e instituições, quanto dos alunos que estão vinculados a modelos pedagógicos sustentados pela retenção da informação, estruturados em sistemas rígidos, com disciplinas separadas umas das outras, avaliações classificatórias embasadas em memorização de conceitos, o que não permite uma organização do conhecimento.

¹ Docente e Coordenador Adjunto da Faculdade de Medicina Alfredo Nasser, Instituto de Ciências da Saúde (ICS-UNIFAN). ² Docente e Coordenador de Tutoria da Faculdade de Medicina Alfredo Nasser, Instituto de Ciências da Saúde (ICS-UNIFAN).

Esse sistema forma alunos passivos, incapazes de dirigir seu processo formativo, adquirindo um conhecimento não integrado as habilidades necessárias e dissociado da prática clínica (Fasce et al, 1994; Angeli e Loureiro, 2001). Assim, uma das alternativas propostas a este modelo tradicional de ensino, é a aprendizagem baseada em problemas ABP/PBL (Aprendizagem Baseada em Problemas, do inglês *Problem Based Learning*), uma metodologia ativa que surgiu no final da década de 60, inovando no cenário educacional da Universidade de MacMaster (Ontário, Canadá), quando um grupo de docentes dessa instituição, estava estruturando um novo programa para o curso de medicina. Atualmente tem-se observado maiores mudanças na educação médica, principalmente na América do Norte, Austrália e Holanda. (Engel, 1992; Angeli e Loureiro, 2001)

O PBL é uma metodologia, onde o processo educativo está centrado no estudante, estimulando nele a disciplina, organização, capacidade de autoformação e incentivando-o a prática da pesquisa, a busca pela informação e o desenvolvimento do raciocínio crítico. Os conteúdos que devem ser aprendidos, são identificados a partir da apresentação de um problema real ou simulado a um grupo pequeno de alunos em reuniões semanais, chamadas de reuniões tutoriais, coordenadas por um tutor com experiência em dinâmica de grupo e não necessariamente um perito no assunto. Para a resolução do problema, o aluno deve recorrer aos seus conhecimentos prévios, adquirir conhecimentos novos, associando à aplicação da prática, que é simultânea, integrando em tempo real, o que facilita a retenção do conhecimento e o resgate do mesmo, quando necessário (Angeli e Loureiro, 2001; Toledo Júnior, 2008).

Essa metodologia ativa, preconiza que seu sucesso depende de uma série de requisitos, tais como: recursos institucionais adequados, um corpo docente treinado e familiarizado com o método, porém o principal requisito, são alunos que apresentem características de personalidade como independência, determinação, senso de responsabilidade, desinibição, capacidade de comunicação e de organização, o que não é fácil, tendo em vista que os nossos estudantes na maioria são adolescentes, o que requer maturidade e mudanças de atitudes e desenvolvimento de habilidades necessárias para a prática profissional (Rodrigues e Figueiredo, 1996; Angeli e Loureiro, 2001; Toledo Júnior, 2008).

TUTORIA

Dentre os diversos encontros no currículo do PBL, a sessão tutorial, ou meramente tutoria, direciona boa parte do conteúdo teórico nos quatro primeiros anos do curso de medicina. Composta de sete a dez alunos, por meio de um pequeno grupo de estudo, os alunos discutem, expõem conhecimentos prévios, tomam decisões, tornando mais dinâmica a construção do conhecimento. Neste cenário, os alunos devem seguir o que chamamos de “*Os Sete Passos*” (Quadro 1). De uma forma geral, os passos três, quatro e cinco estão associados aos conhecimentos prévios do aluno e à estruturação do problema, e os passos seis e sete com a elaboração e construção de conhecimentos (Toledo Júnior, 2008).

Quadro 1. Descrição dos sete passos do grupo tutorial.

Os Sete Passos	
Passo 1	Leitura do problema e identificação de termos desconhecidos.
Passo 2	Identificação da ideia central.
Passo 3	Exposição dos conhecimentos (chuva de ideias ou <i>brainstorm</i>).
Passo 4	Resumo das exposições
Passo 5	Identificação dos objetivos de estudo.
Passo 6	Aprendizagem auto-dirigida.
Passo 7	Discussão dos objetivos.

A condução do PBL, em especial a tutoria, requer o desenvolvimento de várias habilidades pelos membros envolvidos (tutor/professor, aluno-coordenador, aluno-relator e grupo de alunos). A definição inicial de suas funções e sua aplicabilidade são chaves cruciais para o seu bom andamento. Sendo assim, segue:

- Tutor/professor: neste ambiente o professor, do ensino tradicional, assume o papel de tutor, atuando na mediação da discussão, permitindo que os alunos

atingam os objetivos de aprendizagem previamente determinados. Quanto menos o tutor intervém na discussão, mais autonomia segue a sessão. Entretanto, sua participação pode também enriquecer tal discussão, condição essa defendida para uma melhor qualidade na aprendizagem discente;

- Aluno-coordenador: nomeia-se um coordenador para que gerencie a discussão do problema/caso clínico, estimulando a participação, senso crítico e interação do grupo tutorial. Quando o coordenador não conduz sua função de forma satisfatória para o seu grupo, o tutor muitas vezes assume seu papel, e ao final da tutoria, durante o *feedback*, são mostradas tais falhas para que em um segundo momento possam ser corrigidas.
- Aluno-relator: identifica-se um relator, que fará um dos papéis mais dinâmicos da tutoria. Ele irá ao mesmo tempo organizar no quadro o que foi discutido nos encontros (abertura e fechamento), bem como participar da discussão. Muitos alunos apresentam certa dificuldade com tal função, principalmente durante o 1º ano do curso. Mas no decorrer dos semestres, esta dificuldade é naturalmente superada.
- Grupo de alunos: e os demais alunos compõem o restante do grupo, os quais participam efetivamente no andamento da discussão. Estes discentes são fundamentais pela qualidade do direcionamento e aprofundamento dos temas abordados. Quanto mais empenho e dedicação do grupo na condução dos passos, melhor atinge-se os objetivos de aprendizagem.

Em algumas situações, o grupo tutorial pode ter maior dificuldade em atingir todos os objetivos previamente definidos. Contudo, o Manual do Aluno, documento entregue no início de cada módulo/unidade curricular, possui a “árvore temática”, a qual é representada por meio de um fluxograma interconectado, com todos os assuntos a serem abordados naquele módulo temático. Assim, a consulta na “árvore temática”, durante a tutoria, pode ser fundamental na conclusão do assunto a ser pesquisado.

Como mencionado anteriormente, temos um momento muito importante, o *feedback*. Nele, tanto o aluno quanto o docente levantam os pontos positivos e negativos de cada encontro, aprimorando cada vez mais a relação interpessoal da

equipe, para um melhor andamento dos trabalhos. Este momento exige um certo “jogo de cintura” em algumas situações, por parte de todos os envolvidos; qualquer desentendimento pode, ao mesmo tempo, ser tranquilamente sanado, mas também pode alimentar, de certo ponto, mais a discórdia. Um tutor experiente, bem como um grupo com um pouco de maturidade, ajudam e muito neste momento.

LABORATÓRIO DE MORFOFUNCIONAL

Em paralelo aos assuntos discutidos em tutoria, os discentes terão encontros nos laboratórios de morfofuncional, os quais compõem-se em Anatomia, Histopatologia e Imagenologia. Os alunos deverão fazer um rodízio pelos três laboratórios, abordando conteúdos intimamente relacionado entre eles, bem como associados àqueles da tutoria na respectiva semana.

Durante as aulas práticas, o discente deve ter estudado previamente o conteúdo da semana, por meio de consulta ao Manual do Aluno. É desejável que o corpo discente o tenha para um melhor direcionamento do aprendizado. O professor/tutor irá auxiliar o aluno no estudo prático, estimulando o senso crítico muitas vezes com casos clínicos, quando aplicável. Diferente do método tradicional, os conteúdos presentes no morfofuncional estão presentes durante os quatro primeiros anos do curso, fato este que pretende-se consolidar os conceitos ali estudados.

Grande desafio para o corpo docente é a condução de uma aula no morfofuncional sem ministrar o conteúdo, ou seja, de maneira passiva ao aluno. Caso isso aconteça, todo o processo de aprendizagem pode ficar prejudicado, pois é preciso que o professor compreenda o método, para aí sim ser repassado o conteúdo ao discente da maneira mais apropriada. O docente que utiliza do método passivo na passagem do conteúdo, pode estar sim prejudicando todo um curso.

AValiação NO PBL

Metodologias ativas exigem critérios mais complexos de avaliação. No método PBL é recomendado que seja feita uma mesclagem entre avaliações

formativas e cognitivas. Diante disso, a criação de uma comissão de avaliação é ponto chave para o bom andamento do processo.

Neste sentido, analisar o tripé conhecimento, atitude e habilidades permite não somente uma avaliação mais completa, como também mais justa, do ponto de vista prático. O conceito de que o discente aprende apenas por meio de questionários e provas cognitivas é um engano cometido há muitos anos. Atualmente, quando coloca-se esse tripé como base do critério de avaliação, a construção do conhecimento se torna até mesmo mais prazerosa. Ciências práticas, como a medicina, deveriam direcionar suas avaliações para tais conceitos. Porém, órgãos maiores que definem para qual rumo seguir a educação no país, ponto este que não iremos discutir no momento.

Entretanto, vários são os fatores que podem ser essenciais na qualidade da metodologia. O preparo do corpo docente, o desempenho do corpo discente (maturidade), qualidade da estrutura física, entre outros, são pontos que devem ser considerados. Assim, programas de capacitação docente continuada, orientação discente quanto ao método de avaliação e suas características, devem ser considerados pelas instituições de ensino (Oliveira et al, 2012).

No outro sentido, conhecimento do método por parte dos diretores e reitores das instituições de ensino também pode ser um divisor de águas. O curso que adota o método PBL requer um corpo docente muito mais volumoso, ou seja, exige-se um maior número de professores, pois uma turma é dividida em grupos e sub-grupos. Este requisito aproxima a relação docente/discente, sendo assim mais fácil identificar e sanar quaisquer dificuldades por parte do aluno. A valorização do corpo docente também se faz necessária neste sentido, vista a dinâmica no processo de aprendizagem ser mais complexa quando comparado ao método tradicional.

REFERÊNCIAS

ANGELI AO, LOUREIRO SR. A aprendizagem baseada em problemas e os recursos adaptativos de estudantes do curso médico. Rev. Bras. Educ. Med; 25: 32-41. 2001.

ENGEL CE. Problem-based learning. Br J Hosp Med. 48:325-9. 1992.

FASCE E, RAMIREZ L, IBANEZ P. [Results of a problem-based learning experience applied to first year medical students]. *Rev. Med. Chil.* 122(1): 1257-62. 1994.

FEUERWERKE LCM. Cinco caminhos para não abrir espaços de transformação do ensino médico. *Rev. Bras. Educ. Méd.* 23(2/3): 21-6. 1999.

MCGRIFF SJA. Position paper and concept map: philosophy of education, 2000. Disponível em: www.personal.psu.edu/~sjm256/. Acessado em 10 de dezembro de 2015.

MORETTO RA. Como abrir caminhos para a transformação do ensino médico. *Rev. Bras. Educ. Méd.* 23(2/3): 38-45. 1999.

OLIVEIRA, V. T. D., BATISTA, N. A. Avaliação Formativa em Sessão Tutorial: Concepções e Dificuldades. *Rev. bras. educ. med.* 4 36 (3), 2012.

RENDAS AB, PINTO PR, MORAIS M DA G, COSTA PF, MAGALHÃES J. Applications of problem-based learning in the basic medical curriculum. *Acta Med. Port.* 8 (7-8): 459-62. 1995.

RODRIGUES MLV, FIGUEIREDO JFC. Aprendizagem centrado em problemas. *Medicina: Faculdade de Ribeirão Preto – HC*, 29: 396-402. 1996.

TOLEDO JÚNIOR, A. C. C., IBIAPINA, C. C., LOPES, S. C. F., RODRIGUES, A. C. P., SOARES, S. M. S. Aprendizagem baseada em problemas: uma nova referência para a construção do currículo médico. *RMMG.* 18 (2):, 2008.

A UTILIZAÇÃO DA REABILITAÇÃO VIRTUAL NA FISIOTERAPIA NEUROLÓGICA

*Nathalia Cristina Rosa **

*Fabiana da Silveira Bianchi Perez ***

*Andressa Ribeiro da Costa ****

INTRODUÇÃO

A fisioterapia neurológica tem como objetivo melhorar a qualidade de vida e a funcionalidade dos pacientes, e para que isso seja conseguido deve-se iniciar o tratamento de maneira precoce e os exercícios devem ser realizados regularmente (SCHIAVINATO *et al.*, 2011).

Alguns métodos de tratamento podem se tornar cansativos e monótonos, pois a reabilitação neurológica ocorre de forma lenta, por ser um processo que ocorre a longo prazo é necessário a diversificação do tratamento para estimular o paciente durante a terapia, partindo dessa idéia surge à realidade virtual que atua como um fator motivador no tratamento fisioterapêutico tradicional (ABDALLA *et al.*, 2010).

A realidade virtual é uma forma de interação entre o indivíduo e o ambiente virtual que é proporcionado através de estímulos diversos que foram gerados pelo computador promovendo uma maior sensação de realidade durante a execução dos jogos (SEGALA, OLIVEIRA, BRAZ, 2014).

Os principais benefícios observados através do uso da realidade virtual são: melhora do equilíbrio e postura, da amplitude de movimento dos membros superiores e inferiores, mobilidade, melhora da funcionalidade e melhora na motivação dos pacientes (JUNIOR *et al.*, 2011).

* Graduada em Fisioterapia pela Faculdade Alfredo Nasser, Pós Graduada em Fisioterapia Traumatologia Ortopédica com Ênfase em Terapias Manuais pelo CDCCS, Brasil.

** Graduada em Fisioterapia pela Universidade Estadual de Goiás (UEG), pós graduada em Fisioterapia Hospitalar pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), Mestre em Ciências Médicas pela Universidade de Brasília (UnB), Doutora em Ciências Médicas pela Universidade de Brasília (UnB).

*** Graduada em Fisioterapia pela Universidade Estadual de Goiás (UEG).

METODOLOGIA

A revisão bibliográfica realizada consultou a base de dados de bibliotecas convencionais e da Biblioteca Virtual em Saúde, LILACS (Centro Latino Americana de Informação em Saúde), e Google Acadêmico, utilizando como descritores os termos Jogos de vídeo, Reabilitação, Fisioterapia.

A seleção buscou artigos publicados entre os anos de 2006 a 2014, nas línguas portuguesa e inglesa. A busca de dados aconteceu no período de Agosto a Setembro de 2014. Foram selecionados para esta revisão, estudos sobre a utilização da reabilitação virtual no tratamento de pacientes neurológicos.

Foram adotados como critérios de inclusão, artigos publicados no período citado e que apresentavam especificidade com o tema. Foram excluídos os artigos que não tinham relação com o objetivo de estudo e aqueles que não foram encontrados na íntegra.

No portal da Biblioteca Virtual em Saúde foram encontrados 55 artigos, 3 no LILACS e 1180 artigos no Google Acadêmico. Contudo, apenas 25 artigos contemplaram os critérios de inclusão e exclusão.

REFERENCIAL TEÓRICO

A reabilitação tem como objetivo principal recuperar a função motora, reduzindo assim, o risco de novas lesões. Para alcançar tais objetivos é necessário que o profissional tenha um pleno conhecimento sobre a enfermidade a ser tratada e os distúrbios por estas causadas (JUNIOR *et al.*, 2011). Para que a reabilitação seja eficaz é necessário que ocorra intervenção precoce e intensidade na repetição dos exercícios (SCHIAVINATO *et al.*, 2011).

Com o passar dos anos a área da saúde vem sendo impulsionada pelo crescente avanço tecnológico, com isso na área da fisioterapia novas tecnologias estão sendo inseridas com o objetivo de auxiliar nos programas de reabilitação. Surge então a realidade virtual que é uma das tecnologias que vem sendo amplamente utilizada pelo fisioterapeuta (BÔAS *et al.*, 2013).

A realidade virtual é definida como uma experiência que proporciona ao paciente através dos estímulos diversos que foram gerados pelo computador a imersão e interação de forma tridimensional com o ambiente virtual muito semelhante ao ambiente real, tornando-o capaz de executar tarefas que não

conseguem realizar no dia a dia, fazendo com que este recurso seja utilizado como um fator motivacional para o paciente no tratamento fisioterapêutico convencional (SOUSA, 2011; SILVA *et al.*, 2013; SCHIAVINATO *et al.*, 2011).

O uso do ambiente virtual é um recurso considerado de baixo custo que oferece um ambiente multisensorial e proporciona um feedback imediato ao paciente a respeito dos movimentos que este está executando. Através de diversos estímulos como visual, sonoro, tátil permite ao paciente experimentar uma maior sensação de realidade. Com o estímulo visual o paciente pode perceber os movimentos que foram realizados e assim pode realizar auto correções durante a execução dos movimentos, através do feedback tátil o paciente recebe estímulos proprioceptivos que foram gerados através de vibração e descarga de peso (SCHIAVINATO *et al.*, 2011; JUNIOR, SILVA, 2012).

A realidade virtual permite ao fisioterapeuta adaptar a terapia as habilidades funcionais de cada paciente em um ambiente que é considerado seguro, além de possibilitar a evolução da complexidade dos exercícios de acordo com o progresso do paciente durante a reabilitação. Também é possível controlar a duração e a intensidade dos exercícios que são realizados (DEUTSCH *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2011).

Os videogames utilizados na reabilitação virtual são chamados de exergames estes possibilitam a interação física do usuário com o computador através do movimento humano. Os exergames possuem sensores que são responsáveis por captar os movimentos que foram realizados pelo usuário e então transmiti-los ao videogame de forma mais semelhante ao que foi realizado (SOUSA, 2011).

Dentre os exergames utilizados para a reabilitação podemos citar o uso do Playstation Move lançado pela Sony, o Xbox 360° que é utilizado juntamente com o Kinect da Microsoft e o Nintendo Wii lançado pela Nintendo. Destaca-se o uso do Nintendo Wii por ser o mais comercializado e de menor custo do mercado (MONTEIRO, 2011).

O Nintendo Wii foi lançado em 2006 pela Nintendo, este possui um sensor de luz infravermelho que tem como função captar os movimentos realizados pelo próprio usuário e assim transmiti-los ao videogame de forma semelhante a que foi realizado. O Nintendo Wii possui três controles básicos que podem ser utilizados de forma individual ou de forma conjunta durante os jogos são eles o Wii Remote,

Nunchuck que são controles sem fio utilizados pelos membros superiores e o Wii Balance Board utilizado pelos membros inferiores (MENDES, 2012).

Um dos controles sem fio utilizado pelos membros superior é o Wii Remote, este possui um sensor infravermelho que capta os movimentos realizados e também possui acelerômetros responsáveis por captar a aceleração aumentando assim a precisão dos movimentos. O Wii Remote possui também uma função que permite a emissão de sons e vibração, dessa forma no momento em que o paciente está jogando um jogo de tênis, por exemplo, quando este vai acertar a bola com a raquete recebe um estímulo proprioceptivo (Figura 1) (PARATELLA, 2011; SANTOS *et al.*, 2013).

O outro controle utilizado para os membros superiores é o Nunchuck que deve ser usado em conjunto com o Wii Remote nos jogos em que é necessário a ação simultânea de ambos os membros superiores (Figura 1) (RODRIGUES *et al.*, 2012).



Figura 1: Nunchuck e Wii Remote. Fonte: <https://store.nintendo.com> (2014).

A plataforma Wii Balance Board possui um formato retangular que possui quatro sensores de pressão localizados em cada uma das suas extremidades, estes sensores são responsáveis por captar os movimentos realizados pelos membros inferiores e a descarga de peso realizada em cada membro. A plataforma possui características semelhantes a uma plataforma de força utilizada em laboratório

podendo ser empregada para avaliar o equilíbrio na postura ortostática (Figura 2) (ABDALLA *et al.*, 2010).



Figura 2: Plataforma Wii Balance Board. Fonte: microsite.nintendo-europe.com (2014).

Existem vários jogos lançados pela Nintendo, dentre estes destaca-se dois pacotes de jogos que estão sendo amplamente utilizados na reabilitação são eles: Wii Fit e o Wii Sports. Os jogos do Wii Fit proporciona ao usuário a realização de exercícios físicos que são subdivididos em diferentes categorias que proporcionam ao usuário o treino de equilíbrio, força, condicionamento muscular e exercícios aeróbicos (SILVA *et al.*, 2012; TAKEICH, JESUS, 2011).

Outro pacote de jogos lançado é o Wii Sports que possibilita ao usuário a prática de cinco esportes diferentes tênis, baseball, golfe, boliche e boxe. A prática desses esportes possibilita treinar o controle dos membros superiores e transferências de peso nos membros inferiores (GONGOLO, 2011; BÔAS *et al.*, 2013).

Na execução de alguns jogos o paciente é desafiado a realizar movimentos em diferentes direções seja ântero-posterior, látero-lateral e movimentos rotacionais, de forma simultânea com esses movimentos também são realizados movimentos de tronco e nos membros superiores, mostrando que a utilização dos jogos permite a realização de movimentos funcionais que exigem o controle ativo de tronco, membros superiores e membros inferiores pelo paciente (SCHIAVINATO *et al.*, 2011).

Quando acontece uma lesão neurológica ocorre o comprometimento de diversos sistemas, como consequência ocorre alterações na função motora, sensitiva

e cognitiva predispondo a limitações funcionais para os pacientes. O quadro clínico das lesões neurológicas são muito variáveis (PARATELLA, 2011; SILVA *et al.*, 2012).

De forma geral os principais comprometimentos dos pacientes neurológicos são a espasticidade, déficits de força, equilíbrio, coordenação motora e controle postural levando o paciente a perda da independência funcional e como consequência afetando a qualidade de vida desses pacientes (BÔAS *et al.*, 2013).

A realidade virtual tem sido utilizada no tratamento de patologias como Acidente Vascular Encefálico, Paralisia Cerebral, Doença de Parkinson, Paralisia Braquial Obstétrica, Traumatismo Crânio Encefálico e Síndrome de Down, os benefícios relatados sobre o uso da realidade virtual incluem melhora do controle postural e do equilíbrio, da amplitude de movimento, da funcionalidade dos membros superiores e inferiores além de atuar como recurso motivacional no tratamento fisioterapêutico (SOUSA, 2011; SCHIAVINATO *et al.*, 2010; CRUZ, 2012).

O Acidente Vascular Encefálico (AVE) é um déficit neurológico causado por alterações na circulação cerebral e pode ser decorrente de isquemia ou hemorragia que vai comprometer o sistema nervoso central e conseqüentemente levar a comprometimentos motores, cognitivos e sensitivos ao paciente, as manifestações clínicas do AVE dependem da localização e extensão da lesão, de forma geral as principais manifestações são hemiplegia, déficit de força muscular de membros superiores e inferiores, alterações na marcha, déficit de equilíbrio e controle postural tais sequelas se não tratadas corretamente podem se tornar permanentes levando o paciente à incapacidade funcional (SOUZA *et al.*, 2011).

Nos pacientes com sequela de AVE o uso da realidade virtual é um dos recursos que vem sendo utilizado na reabilitação destes pacientes pois através dos movimentos repetitivos que são realizados durante a execução dos jogos as células que não foram afetadas pela lesão procuram novas formas de transmitir as informações neurais (GONGOLO, 2011). Outro fator de importância no uso da realidade virtual é o feedback visual que é fornecido pelos jogos pois é através deste que o paciente é capaz de realizar autocorreções estimulando assim o planejamento e o controle motor (PAVÃO *et al.*, 2013).

A Paralisia Cerebral (PC) é definida como uma desordem da postura e do movimento que acomete o encéfalo durante o período de desenvolvimento, as

principais causas da PC são Infecções congênitas como toxoplasmose, citomegalovírus, herpes, rubéola, sífilis, hipóxia pré-parto, medicações específicas, abuso de álcool e drogas ilícitas e traumatismos abdominais graves (CARVALHO, 2013). Podendo ser classificada de acordo com o tipo, localização do comprometimento, gravidade das alterações e quanto ao nível de independências nas atividades de vida diária. Quanto à localização do comprometimento, a PC pode ser dividida em quadriplegia, em que ocorre o comprometimento simétrico dos quatro membros, diplegia em que há comprometimentos dos quatro membros, predominando nos membros inferiores e hemiplegia que é a lesão de um dos hemisférios cerebrais, comprometendo apenas um hemicorpo (ABDALLA *et al.*, 2010).

Os principais déficits causados pela PC se caracterizam por alterações de tônus muscular, equilíbrio, marcha, controle postural e força muscular de membros superiores e inferiores podendo levar ao surgimento de contraturas e deformidades como consequência levando ao atraso no desenvolvimento motor (LOPES *et al.*, 2013).

A reabilitação do paciente com PC deve ser realizada ao longo da vida se mostrando muitas vezes monótona para o paciente, surge então à necessidade de se aplicar recursos novos, que vão atuar como recurso motivacional no tratamento é o caso da realidade virtual que possibilita a prática de exercícios funcionais para o paciente além de estimular as funções cognitivas básicas que são exigidas no dia a dia (SEGALA, OLIVEIRA, BRAZ, 2014).

A doença de Parkinson (DP) é uma doença progressiva em que ocorre a degeneração dos neurônios dopaminérgicos da substância negra, causando diminuição da neurotransmissão dopaminérgica, as principais manifestações clínicas da doença de DP são rigidez, tremor durante o repouso, bradicinesia, instabilidade postural, marcha festinada, déficit de equilíbrio e do controle postural (TAKEICHI, JESUS, 2011).

Por ser uma doença progressiva o tratamento deve ocorrer a longo prazo, com o passar do tempo os exercícios realizados durante a fisioterapia se tornam monótonos, dessa forma com o objetivo de proporcionar melhora funcional através da atividade física é também promover motivação ao tratamento desses paciente a realidade virtual vem sendo empregada pelos fisioterapeutas (VIEIRA *et al.*, 2014).

A Síndrome de Down (SD) é uma doença genética causada pela trissomia do cromossomo 21. Os pacientes com SD costumam apresentar características físicas específicas que se caracteriza por face arredondada, boca pequena, base do nariz alargada, protrusão da língua e hipotonia generalizada. Outras alterações comumente observadas nesses pacientes incluem o déficit de equilíbrio, dificuldade em realizar os ajustes posturais e lentidão em executar tarefas e reagir aos estímulos. A realidade virtual se mostra eficaz também em pacientes com SD, uma vez que propicia melhora no equilíbrio e controle postural além de servir como um recurso incentivador de atividade física nesses pacientes (SANTOS *et al.*, 2013).

A Paralisia Braquial Obstétrica (PBO) se refere à lesão do plexo braquial que ocorre durante o trabalho de parto, resultando em dano no membro superior acometido. O plexo braquial é formado pelas raízes nervosas que vão de C 5 a T 1 tendo como função promover a inervação dos membros superiores, a lesão desse plexo provoca prejuízo motor e sensitivo no membro acometido, a utilização da realidade virtual tem se mostrado eficaz no tratamento desses pacientes proporcionando estímulos diversos que vão ajudar no processo de aprendizagem motora (RODRIGUES *et al.*, 2012).

Após uma lesão neurológica o paciente precisa passar por um processo de reaprendizagem motora. Um processo no qual o indivíduo adquire novas informações e é capaz de armazená-las em forma de novas memórias. Este tipo de aprendizagem se fortalece através da repetição das tarefas aprendidas que pode ser proporcionada através dos jogos utilizados pelo uso do Nintendo Wii (SARDI, SCHUSTER, ALVARENGA, 2012).

DISCUSSÃO

Segundo o estudo realizado por (SEGALA, OLIVEIRA, BRAZ, 2014) o uso da realidade virtual na reabilitação possibilita a participação ativa dos pacientes em diferentes esportes e a execução de atividades funcionais em diferentes situações promovendo assim a inclusão e interação de pacientes com diferentes deficits.

A Reabilitação virtual pode ser empregada no tratamento de diferentes patologias neurológicas como Acidente Vascular Encefálico (SOUZA *et al.*, 2011; GONGOLO, 2011; SARDI, SHUSTER, ALVARENGA, 2012) Traumatismo

Crânio Encefálico e Paralisia Cerebral (BÔAS et al., 2013) que levam como comprometimento a hemiparesia, nesses estudos a reabilitação com o Nintendo Wii promoveu melhora das habilidades do membro superior, da força muscular, da amplitude de movimento e conseqüentemente melhora da funcionalidade.

Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Rodrigues e colaboradores (2012), que avaliaram os efeitos da utilização do Nintendo Wii no tratamento de um paciente com Paralisia Braquial Obstétrica, foram realizadas 15 sessões com duração de 60 minutos por um período de 6 semana, durante as sessões foram aplicados jogos do Mario Kart e do Wii Sports.

Em outros estudos foi possível observar a eficácia do tratamento com o Nintendo Wii associado à Fisioterapia convencional no equilíbrio de pacientes com Paralisia Cerebral e Doença de Parkinson (TAKEICHI, JESUS, 2011; ABDALLA et al., 2010).

Da mesma forma resultados importantes na melhora do equilíbrio estático e dinâmico foram encontrados em uma paciente com ataxia cerebelar submetida somente ao tratamento com o Nintendo Wii com a utilização de jogos do Wii Fit que priorizavam o treino de equilíbrio (SCHIAVINATO et al., 2011).

Segundo o estudo de Pavão e colaboradores (2013), o uso da realidade virtual proporciona aos pacientes com Paralisia Cerebral estímulos que possibilitam a exploração da base de suporte através de movimentos realizados em todas as direções, um fator importante para a manutenção da estabilidade e do equilíbrio.

De acordo com (SANTOS et al., 2013) a utilização do Nintendo Wii se mostra benéfica no tratamento de pacientes com Síndrome de Down, pois possibilitam melhora do equilíbrio além de se mostrar como um recurso incentivador de atividade física em indivíduos sedentários.

Mendes (2012) realizou um estudo com 16 pacientes com Doença de Parkinson e 11 idosos saudáveis para investigar a aprendizagem através do Nintendo Wii, foi observado que os pacientes apresentaram deficiência na aprendizagem em alguns jogos, mostrando que este déficit depende da demanda cognitiva que é exigida na execução de alguns dos jogos.

A reabilitação virtual também se aplica ao tratamento de pacientes com Doença de Parkinson, em um estudo foram selecionados 6 pacientes, ambos receberam tratamento com os jogos do Wii Sports, com duração de 30 minutos durante 18 sessões. Foi possível observar que os pacientes apresentaram melhora do

equilíbrio, amplitude de movimento e consequente melhora na qualidade de vida (SILVA *et al.*, 2013). Estudos recentes mostram que além de benefícios motores no tratamento de pacientes com Doença de Parkinson a realidade virtual proporciona também motivação durante a terapia (VIEIRA *et al.*, 2014).

Deutsch e colaboradores (2008) realizaram o estudo com uma criança com diagnóstico de Paralisia Cerebral, e obtiveram resultados satisfatórios com a aplicação dos jogos do Wii Sports promovendo melhora no controle postural, na distribuição de peso nos membros inferiores, no comportamento e na aprendizagem da criança.

De acordo com o estudo de Cruz (2012), três pacientes que sofreram AVE foram submetidos ao atendimento com Nintendo Wii, no total foram realizadas 20 sessões com duração de 15 minutos cada, todos os pacientes obtiveram melhora na distribuição de peso, equilíbrio e mobilidade demonstrando sua eficácia no tratamento desses pacientes.

Segundo um estudo feito por Paratella (2011), o Nintendo Wii pode ser utilizado de forma complementar na reabilitação dos pacientes neurológicos, uma vez que este atua como recurso lúdico na reabilitação neurológica promovendo também recuperação da função motora.

A literatura relata inúmeros benefícios do Nintendo Wii na reabilitação dos pacientes neurológicos, entretanto devem ser realizados novos estudos com o intuito de averiguar a confiabilidade do uso desse recurso na reabilitação neurológica (CARVALHO, 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários estudos relatam a eficácia do uso da reabilitação virtual através do Nintendo Wii no tratamento de diferentes patologias neurológicas, proporcionando não só benefícios motores, mas também atuando como fator motivacional no tratamento. Entretanto novas pesquisas devem ser realizadas com uma amostra maior de participantes para confirmar a confiabilidade do seu uso na reabilitação dos pacientes neurológicos.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, T. C. R.; PRUDENTE, C. O. M.; RIBEIRO, M. F. M.; SOUZA, J. D. S. Análise da evolução do equilíbrio em pé de crianças com paralisia cerebral submetidas a reabilitação virtual, terapia aquática e fisioterapia tradicional. **Revista Movimenta**, Goiânia, v. 3, n. 4. 2010.

BÔAS, A. V.; FERNANDES, W. L. M.; SILVA, A. M.; SILVA, A. T. Efeito da Terapia Virtual na Reabilitação Motora do Membro Superior de Crianças Hemiparéticas. **Revista Neurociências**, Minas Gerais, v. 21, n. 4, 2013.

CARVALHO, E. O. R. D. **Eficácia da realidade virtual no tratamento de crianças com paralisia cerebral: revisão sistemática**. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Terapia Ocupacional, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

CRUZ, S. I. D. O. **Nintendo Wii®: uso terapêutico no controlo postural em indivíduos que sofreram um Acidente Vascular Cerebral**. 115 f. Mestrado em Fisioterapia - Escola superior de tecnologia da saúde de Lisboa, Lisboa, 2012.

DEUTSCH, J. E.; BORBELY, M.; FILLER, J.;HUHN, K.; GUARRERA-BOWLBY, P. Use of a low-cost, commercially available gaming console (Wii) for rehabilitation of an adolescent with cerebral palsy. **PhysicalTherapy**, v. 88, n. 10, p. 1196- 207, 2008.

GONGOLO, M. D. C. **Avaliação dos aspectos físico-funcionais e de qualidade de vida em pacientes com Acidente Vascular Encefálico com limitação nos movimentos de punho que utilizam o vídeo game Nintendo Wii como terapia complementar**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – curso de Fisioterapia, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2011.

JUNIOR, R. S. M.; CARVALHO, R. J. D. P.; SILVA, E. B. D.; BASTOS, F. G. Efeito da reabilitação virtual em diferentes tipos de tratamento. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, Rio Grande do Sul, v.9, n.29, jul/set. 2011.

JUNIOR, R. S. M.; SILVA, E. B. D. Efetividade da reabilitação virtual no equilíbrio corporal e habilidades motoras de indivíduos com déficit neuromotor: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira Atividade Física e Saúde**, Pelotas, v. 17, n. 3, Jun. 2012.

LOPES, G. L. B.; YANO, K. M.; TAVARES, N. S. A.; REGO, I. A. D. O.; MARINHO, R. I.; DE MELO, L. P.; RIBEIRO, K. M. O. B. D. F.; CAVALCANTI, F. A. D. C. Influência do Tratamento por Realidade Virtual no Equilíbrio de um Paciente com Paralisia Cerebral. **Revista de Terapia Ocupacional da Universidade de São Paulo**, v. 24, n. 2, p. 121-126, maio/ago, 2013.

MENDES, F. A. D. S. **Aprendizado motor após treinamento baseado em realidade virtual na Doença de Parkinson: efeitos das demandas motoras e**

cognitivas dos jogos. 125 f. Tese (Doutorado programa de pós-graduação em Psicologia)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

MONTEIRO, C. B. M. **Realidade virtual na Paralisia Cerebral.** São Paulo: Plêiade, 2011.

PARATELLA, D. N. **A utilização do video-game Nintendo Wii na reabilitação de paciente com Acidente Vascular Encefálico (AVE).** 71 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Fisioterapia, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2011.

PAVÃO, S. L.; SOUSA, N. V. D. C.; OLIVEIRA, C. M.; CASTRO, P. C. G.; SANTOS, M. C. M. D. O ambiente virtual como interface na reabilitação pós-AVE: relato de caso. **Fisioterapia em movimento.** Curitiba, v. 26, n. 2, abr/jun, 2013.

RODRIGUES, B. S.; PAGNUSSAT, A. D.S.; CHIQUETTI, E. M. D. S. Efeitos da Realidade Virtual em Paciente Adulto com Paralisia Braquial Obstétrica. **Revista Neurociências,** Rio Grande do Sul, v. 20, n. 4, 2012.

SANTOS, J.; PÁDUA, A.; PARAIZO, M. F. N.; CAMPOS, D. Utilização do Nintendo Wii como recurso incentivador de atividade física em crianças com Síndrome de Down: estudo de caso. **Ensaio e Ciência,** v. 17, n. 1, p. 61-77, 2013.

SARDI, M. D.; SCHUSTER, R. C.; ALVARENGA, L. F. C. Efeitos da realidade virtual em hemiparéticos crônicos pós Acidente Vascular Encefálico. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde,** v. 10, n. 32, abr/jun, 2012.

SCHIAVINATO, A. M.; BALDAN, C.; MELATTO, L.; LIMA L. S. Influência do WiiFit no equilíbrio de paciente com disfunção cerebelar: estudo de caso. **Journal of the Health Sciences Institute.** v. 28, n. 1, p. 50-52, 2010.

SCHIAVINATO, A. M.; MACHADO, B. D. C.; PIRES, M. D. A.; BALDAN, C. B. Influência da Realidade Virtual no Equilíbrio de Paciente Portador de Disfunção Cerebelar-Estudo de Caso. **Revista Neurociências,** São Paulo, v. 19, n. 1, p. 119-127, 2011.

SEGALA, M.; OLIVEIRA, G. D. C.; BRAZ, M. M. Utilização do Nintendo Wii® como recurso terapêutico no tratamento da Paralisia Cerebral: uma revisão integrativa. **Saúde (Santa Maria),** Santa Maria, v. 40, n. 1, p. 17-22, 2014.

SILVA, M. Z.; BRACCIALI, L. M. P.; PEREIRA, A. G.; BRACCIALI, A. C. Efetividade da gameterapia no controle postural de uma criança com Paralisia Cerebral hemiplegica espástica. **In: VII encontro da associação brasileira de pesquisadores em educação especial,** Londrina, 2011.

SILVA, C. R.; RODRIGUES, S. G.; FERNANI, D. C. G. L.; PACAGNELLI, F. L.; LIMA, R. A. D. O. Influência da Wii reabilitação no equilíbrio estático de adolescente com hemiparesia: estudo de caso. **Colloquium Vitae,** v. 4, n. 1, p. 62-67, 2012.

SILVA, F. D. D.; POLESE, J. C.; ALVARENGA, L. F. C.; SCHUSTER, R. C. Efeitos da Wiireabilitação na Mobilidade de Tronco de Indivíduos com Doença de Parkinson: Um Estudo Piloto. **Revista Neurociências**, v. 21, n.3, p. 364-368, 2013.

SOUSA, F. H. Uma revisão bibliográfica sobre a utilização do Nintendo® Wii como instrumento terapêutico e seus fatores de risco. **Revista Espaço Acadêmico**, Maringá, v. 11, n.123, p. 155-160, 2011.

SOUZA, L. M. D.; PAIM, C. D. R. P; IMAMURA, M; ALFIERI, F. M. Uso de um ambiente de realidade virtual para reabilitação de acidente vascular encefálico. **Acta Fisiatra**, São Paulo, v. 18, n. 4, p. 217-221, 2011.

TAKEICHI, D. M.; JESUS, F. A. M. D. **Treino de equilíbrio nos pacientes com Doença de Parkinson utilizando o console Nintendo Wii®**. 52 f. Monografia (Graduação) – Curso de fisioterapia, Universidade São Francisco, Bragança Paulista, 2011.

VIEIRA, G. D. P.; DE ARAUJO, D. G. H.; LEITE, M. A. A.; ORSINI, M.; CORREA, C. L. Virtual reality in physical rehabilitation of patients with Parkinson's disease. **Revista brasileira de crescimento e desenvolvimento humano**, v.24, n.1, p. 31-41, 2014.

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE ELETRODO FIXO E ELETRODO MÓVEL (CANETA) NO FORTALECIMENTO PERINEAL

*Fabiana da Silveira Bianchi Perez **

*Adson Ferreira Rocha***

*Luciana Roberta Tenório Peixoto****

*Nathalia Cristina Rosa*****

*Andressa Ribeiro da Costa ******

*Cristiano Jacques Miosso Rodrigues Mendes******

Os costumes, a vida cotidiana, as inter-relações familiares mudam rapidamente e de igual monta a formação individual. As pessoas tornam-se, a cada geração, mais cultas, receptivas a novidades, tolerantes e sensíveis. Em consonância a essas situações os pais trabalham mais, possuem uma vida mais estressante, ficam menos tempo em casa e conseqüentemente com seus filhos.

As crianças por sua vez realizam mais atividades para preencher o tempo no qual os pais estão ausentes. Dessa forma, precocemente, as crianças começam a freqüentar escolinhas e a participar de diversas atividades sociais, culturais e esportivas. Para melhor adaptar a essas atividades, os pais recorrem à praticidade para ajudar no cuidado com seus filhos, tais como comidas, bebidas e acessórios industrializados. Um auxílio muito utilizado pelos pais é a frauda descartável

* Graduada em Fisioterapia pela Universidade Estadual de Goiás (UEG), pós graduada em Fisioterapia Hospitalar pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), Mestre em Ciências Médicas pela Universidade de Brasília (UnB), Doutora em Ciências Médicas pela Universidade de Brasília (UnB).

**Graduado em Engenharia Biomédica pela Universidade de Brasília (UnB), mestre em Engenharia Elétrica pela Universidade de Brasília (UnB), doutor em Engenharia Biomédica pela University of Texas at Austin.

*** Graduada em Fisioterapia pela Escola de Ciências Médicas de Alagoas. Mestre em Ciências Médicas pela Universidade de Brasília (UnB), Doutora em Ciências Aplicadas em Saúde pela Universidade Brasília (UnB).

****Graduada em Fisioterapia pela Faculdade Alfredo Nasser, Pós Graduanda em Fisioterapia Traumatológica com Ênfase em Terapias Manuais pelo CDCCS.

***** Graduada em Fisioterapia pela Universidade Estadual de Goiás (UEG).

***** Professor Adjunto da Universidade de Brasília (UnB).

caracterizado como um ótimo recurso destinado à contenção de fezes e urina eliminadas pelas crianças incontinentes.

Todas as pessoas nascem sem a continência urinária e fecal, no entanto a somatória do desenvolvimento neuropsicomotor aos estímulos familiares adequados é como aprendizado para aquisição do controle esfíncteriano mais fácil, natural e na época certa. Atraso no estabelecimento do controle esfíncteriano é considerado patológico quando a criança com idade igual ou superior a cinco anos não o possui, sendo denominado de enurese.

A alta incidência da enurese noturna presente nas crianças, e em adultos, em especial idosos, é preocupante uma vez que esta patologia é um dos mais frustrantes distúrbios infantis sendo que estas frustrações tornam-se maiores com a maturidade. Vários problemas psíquicos podem surgir da enurese tais como a inferioridade, incompetência, vergonha e, principalmente, a baixa estima, mas estas não são as únicas dificuldades encontradas, a enurese também provoca transtornos no núcleo familiar que se sente estressado, impotente e ainda necessita renegociar os espaços e funções familiares, independente da idade, pois a enurese altera as finanças da família ao impor maiores gastos com fraudas, terapias, medicamentos, mobílias entre outras despesas. Há então uma oneração do orçamento familiar além do maior dispêndio de tempo e cuidados com o adulto ou a criança enurética. (ROTTA et al,2005).

Há várias maneiras de se evitar, prevenir ou mesmo tratar as disfunções perineais não importa a idade. Esta pesquisa é referente à técnica de eletroestimulação no fortalecimento dos músculos do períneo no intuito de prevenir as disfunções do mesmo, contudo esta técnica é contra-indicada para pacientes neurológicos com alteração, sensitivo – motora, em especial a eletroestimulação perineal com eletrodos intracavitários por poder causar lesões sem que o terapeuta nem o paciente percebam. Mas estes pacientes passam por vários problemas sociais e psicológicos devido à alteração neurológica que por si só traz preconceitos da população, e deles mesmos em relação às incontinências esfíncterianas (urinária e fecal) que os isolam da sociedade.

Desde o início da humanidade as pessoas se preocupam com a saúde perineal. Nascemos sem o controle dos esfíncteres uretral e anal, mas na infância torna-se importante aprender a controlar a micção e a evacuação. Estas funções

segundo (CANADIAN PEDIATRIC SOCIETY, 2015) devem ser controladas, pela maior parte das crianças ocidentais, entre os dois e quatro anos. A Sociedade Brasileira de Urologia estabelece a idade de 05 anos para o controle da micção, após essa data a incontinência urinária é tratada como uma patologia.

A sexualidade é uma forma de energia que motiva a procura do amor, do contato, da ternura e da intimidade, influenciando pensamentos, sentimentos, ações e interações. Na puberdade e maturidade além do controle miccional e fecal surge os desejos sexuais e a necessidade de se relacionar com outra pessoa sexualmente (MONCHAUX, 2015)

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a satisfação sexual parte inseparável da condição de saúde. Sendo a falta desta ocasiona constante tensão e mau humor, depressão, insônia, dentre outros problemas (MEDEIROS et al, 2004). O American College of Obstetricians and Gynecologists em 2015 reinformou a normatizou em 1995 onde os padrões de resposta sexual em: desejo, provocação, orgasmo e resolução. A pesquisa ECOS (Estudo do Comportamento Sexual) mostrou que as principais queixas femininas na relação sexual foram: a falta de desejo sexual (34,6%) e a dificuldade na obtenção de orgasmo (29,3%). 45% das mulheres ainda relataram o medo de não conseguirem satisfazer o parceiro e 21,1% queixaram de dor durante a relação (ABDO et al, 2009).

A sensação de pressão intravaginal sentida durante o ato sexual é papel da musculatura do assoalho pélvico ao se contrair. Ela pode ser contraída involuntariamente (orgasmo) ou voluntariamente. (LATORRE, 2015). A contração voluntária pode ser trabalhada ou treinada, mas a involuntária não. Caso a mulher não consiga realizar adequadamente esta contração não obterá e/ou nem proporcionará satisfação plena.

Durante a gestação a mulher sofre significativas alterações físicas e hormonais, a progesterona atua na uretra e a relaxina, nos músculos do assoalho pélvico, reduzindo a pressão máxima de fechamento uretral e favorecendo a perda de urina. O assoalho pélvico, devido ao crescimento uterino no período gravídico, sofre uma sobrecarga maior, reduzindo seu tônus e sua força muscular e as alterações anatômicas que ocorrem como a hipermobilidade de colo vesical e deficiência do mecanismo esfínteriano geram incontinência urinaria de esforço, a

qual pode ser transitória. O parto pode ocasionar danos no tecido conjuntivo e nervoso gerando perda do suporte uretral e enfraquecimento na contratilidade perineal. A cabeça fetal acarreta afecções pélvicas como incontinência urinária e fecal pela pressão e distensão exercida nos músculos do assoalho pélvico. O parto normal pode gerar lesões no períneo devido ao uso de fórceps, da episiotomia ou peso elevado do recém nascido. Já que quando seccionada ou estirada demasiadamente a musculatura esquelética tem sua função danificada (MORENO, 2004).

Da mesma forma que as mulheres os homens também necessitam controlar o esfíncter uretral e anal e os músculos perineais. No intuito de realizar adequadamente, fisiológica e socialmente falando, as funções miccionais, fecais e sexuais. Sendo igual para eles o que o American College of Obstetricians and Gynecologists normatizou em 1995 os padrões de resposta sexual em: desejo, provocação, orgasmo e resolução. O períneo deve estar íntegro, sem lesões e o homem sem alterações neurológicas ou psicológicas para que ocorra o ciclo de ativação da resposta sexual masculina: libido, ereção, orgasmo e satisfação sexual. O pênis deve estar relaxado para permitir a entrada de sangue arterial nos corpos cavernosos após estímulos excitatórios recebidos, a pressão do sangue arterial causa um intumescimento e crescimento peniano. Fechamento das veias penianas evitando o efluxo sanguíneo. Depois temos a ejaculação e o orgasmo fases em que os músculos perineais isquiocavernoso e bulboesponjoso comprimem as bases dos tecidos eréteis penianos provocando a saída do sêmen para o exterior. Sendo assim quando por motivos de traumas cirúrgicos como a prostatectomia, alterações hormonais, psicológicas ou neurológicas exemplo, a lesão medular, que dificultam a ação dos músculos do períneo podendo causar disfunções sexuais e miccionais no homem.

Os idosos também sofrem com disfunções do períneo, sendo do senso comum acreditar natural e fisiológico a pessoa a partir dos 60 anos apresentar incontinências urinária, fecal e distúrbios sexuais. É uma fase de grandes alterações orgânicas, psicológicas e fisiológicas.

Segundo Masoro (1999), o envelhecimento é como um estágio de degeneração do organismo, que inicia após o período reprodutivo de forma geral,

tecidos, ossos, órgãos, nervos, células, o que inclui os músculos perineais. Porém como diz Flourens (apud Canguilhem) a maioria dos homens morre de doenças; muito poucos morrem de velhice, propriamente dita. Sendo na verdade estas disfunções perineais uma doença que pode ser prevenida, evitada mesmo para os idosos. Concordando com Canguilhem (1978) e discordando da crença popular “um velho saudável não é apenas uma ficção de poeta.”

Uma das técnicas mais utilizadas na fisioterapia para acelerar um fortalecimento muscular é a eletroterapia, porém não se utiliza em lesados medulares, assim, a pesquisadora procurou uma idéia rápida e eficaz desenvolvendo um eletrodo externo e móvel, similar a uma caneta, o qual consegue estimular os pontos de contração do músculo permitindo esta visualização. E o terapeuta determina a intensidade da corrente pela contração escrotal ou peniana e não pela sensibilidade do paciente como é feito nos pacientes sem lesão medular.

O atual estudo compara a utilização do eletrodo móvel e o eletrodo fixo, convencional, no intuito de verificar se há realmente diferença entre o resultado da aplicação de um ou outro eletrodo em relação a outros pacientes que não lesado medular.

O períneo situa-se inferior à cavidade pélvica, estrutura ósteo-articular que apresenta a função de proteger os órgãos da cavidade pélvica e atua como ponto de fixação para os músculos perineais e do membro inferior. Sendo separado desta cavidade pélvica pelo diafragma da pelve, o qual é formado pelos músculos levantadores do ânus e pelos músculos isquiococcígeos e suas fâscias de revestimento. Anatomicamente o períneo é um conjunto muscular em forma de losango limitado pela sínfise púbica anteriormente, pelas tuberosidades isquiáticas lateralmente e pelo cóccix posteriormente. (CHIARAPA; CACHO; ALVES, 2007; CANADIAN PEDIATRIC SOCIETY, 2008;

Estes músculos ocluem a pelve e fornecem suporte para as vísceras pélvicas quando há aumento de pressão intra-abdominal em ações fisiológicas como tossir, evacuar, sorrir, pegar peso, gravidez, o parto e o ato sexual.

Quando a contração dos músculos do assoalho pélvico não é eficaz temos as disfunções perineais como incontinências urinárias e fecais, disfunções sexuais e

transtornos psicossociais. Porém a resistência perineal é obtida por um nódulo compacto, fibromuscular no plano mediano, 1,5 cm em frente à margem anal, com vários músculos convergindo em sua direção. Tal estrutura serve de apoio e sustentação para todo o corpo do períneo e é conhecido como centro tendíneo do períneo (LATORRE, 2015). E para que ocorram contração e relaxamento normais destes músculos perineais é necessário que a inervação dos mesmos esteja preservada, e principalmente quando as pessoas apresentam alguma disfunção na contração-relaxamento do períneo para tratar ou reeducar esta musculatura esta inervação deve estar intacta, principalmente para a utilização da técnica de eletroestimulação muscular. Como este trabalho é sobre o uso da eletroterapia para fortalecer o períneo, se faz necessário falar da inervação destes músculos. Os nervos destinados ao períneo são ramos dos 2º, 3º e 4º nervos sacrais e as vezes do 1º e do 5º, nervo podendo formado pela união de dois ramos do plexo sacral é de onde origina-se a maior parte da inervação do períneo (os nervos retais inferiores destinados ao músculo esfíncter externo do ânus e os nervos perineais, que se dividem em superficial, cutâneo e sensitivo e um ramo profundo que inerva todos os músculos do períneo) (LATORRE, 2015).

O músculo perineal em especial o músculo levantador do ânus é uma mistura heterogênea composta por fibras musculares do tipo I vermelhas ou lentas e fibras musculares do tipo II brancas ou rápidas. A primeira é mais recrutada em atividades que precisam de contração mais prolongada como caminhar, ou manter o tônus dos músculos do assoalho pélvico, possuem mais mioglobinas e mitocôndrias, o que gera energia aeróbica levando a uma demora maior para fadigar. A segunda é recrutada principalmente nos aumentos de pressão intra-abdominal, em situações de esforço como tossir. Possuem uma grande potência em períodos curtos, são fibras de velocidade, e de força extra, logo fadigam mais facilmente. A contração voluntária do períneo realizada pela mulher trabalha principalmente fibras lentas – tipo I na qual necessita de um recrutamento assíncrono e gasta um maior tempo de treino para fadigar, já a contração através da eletroestimulação trabalha predominantemente fibras rápidas- tipo II ,devido a sua disposição periférica e esta precisa de um recrutamento sincrônico e a fadiga se instala mais rapidamente. Moreno (2004)

Para a eletroestimulação recrutar fibras musculares, a ponto de fadigar

e posteriormente ganhar força, a estrutura muscular deve ser recrutada pela corrente causando a contração muscular. E a contração de um músculo ocorre com o deslizar das fibras musculares como resposta normal a um estímulo nervoso. As contrações musculares podem ser divididas em contração reflexa, ato involuntário de movimento muscular, mas de músculos somáticos voluntários; contração tônica a qual é mantida mesmo quando o músculo está relaxado, esta ajuda na manutenção da postura, ou na continência passiva no caso do períneo, mantém, por exemplo, a urina na bexiga sem que percebamos; contração fásica isotônica dividida em concêntrica igual a encurtamento muscular e excêntrica alongamento do músculo contrário ao que se contrai e contração fásica isométrica não encurta nem alonga, mantém o comprimento muscular, mas com uma tensão maior que o tônus muscular (AGNE, 2009).

O músculo para responder a ação de contrair é composto de tecido contrátil entrelaçado com tecido não contrátil. Os elementos contráteis do músculo são as fibras musculares e cada uma delas é formada por miofibrilas que é composta de sarcômeros, que se apresentam em série. Estes são a unidade contrátil da miofibrila e é composto de pontes transversas de actina e miosina que se sobrepõe. É o sarcômero que dá a capacidade para o músculo contrair-se e relaxar-se. Na contração os filamentos de actina e miosina (proteínas) deslizam juntos e o músculo se encurta. Quando relaxa as pontes transversas se separam levemente, e o músculo retorna ao seu comprimento de repouso (GALHARDO; KATAYAMA, 2007).

Segundo Agne (2009) e Marques (2008), a eletroestimulação vem sendo abordada desde a antiguidade. Há relatos sobre o uso de eletroestimulação desde o ano de 2750 a.C. no antigo Egito, onde a estimulação era feita por meio do uso de descargas de peixes elétricos, encontrados no Rio Nilo. Galeno (200- 130 a.C.) e o médico Scribonius Largus (10 a.C. e 54 d.C.) indicavam peixe elétrico para os pacientes portadores de gota, pois a descarga elétrica do peixe era analgésica. Luigi Galvani em 1791 publicou um tratado sobre a ação da eletricidade no movimento muscular sendo considerado o início da eletrocinética com Galvani e Faraday. Duchene (1806-1875) referiu pela primeira vez os pontos motores dos músculos, na obra eletrofisiologia dos movimentos, pontos possíveis de serem estimulados eletricamente, advento de extrema importância para os profissionais que utilizam da eletricidade para ganhar força muscular, já que o eletrodo deve ficar sobre estes

pontos motores. E o início da eletroestimulação para aumentar a força e massa muscular, que utilizamos o princípio nesta pesquisa, ocorreu no fim da década de 60 na Rússia com o fisiologista Kotz.

O tratamento da incontinência urinária recursos fisioterápicos têm sido utilizados desde a década de 40 com as teorias de Arnold Kegel para continência através de fortalecimento muscular com exercícios e desde então vários estudos vêm sendo realizados no intuito de comprovar a cientificidade de recursos fisioterápicos como a eletroterapia e o biofeedback, (Berghmans, 2006).

A eletroterapia vem sendo a melhor indicada em patologias perineais como a incontinência urinária de esforço ou mista que apresentam uma fraqueza acentuada dos músculos perineais e verifica-se a necessidade de trabalhar e fortalecer esta musculatura do assoalho pélvico.

Segundo Marques (2008), entre os diferentes recursos fisioterapêuticos disponíveis, a eletroestimulação vem sendo utilizada há cerca de 30 anos com bons resultados, principalmente através de eletrodos intracavitários. Modotte *et al.* (1999), apresenta em suas pesquisas melhora ou cura entre 60% a 90%, mas para alcançar eficácia no tratamento depende da escolha do eletrodo, do tipo de onda, da amplitude selecionada, do tipo de ciclo, pulsos e frequência previamente determinada.

Os eletrodos móveis existentes, são apenas condutores de energia, podem ser manualmente colocados para localizar e tratar pontos motores, pontos e trajetos dolorosos. Podem ser pontiagudos ou tipo caneta, ou os eletrodos especiais para aplicação endocavitário – intravaginal, intra-retal e intra-oral.

Também existem eletrodos fixos de borracha impregnada com partículas de carbono, os quais são flexíveis e reutilizáveis, mas precisam de um meio condutivo, carbogel, para impedir irritações e até mesmo queimaduras na pele, sendo fixos por tiras adesivas

Os metálicos revestidos com esponja umedecida, auto- adesivos e os de sucção. Sendo os eletrodos componentes indispensáveis numa técnica eletroterápica, por serem os responsáveis na administração dos estímulos elétricos produzidos pelo eletroestimulador aos tecidos biológicos. Estes variam conforme o

tipo de corrente a ser utilizada se é de baixa e média frequência, variando conforme a composição do material do eletrodo, pressão exercida sobre a pele, do tamanho do eletrodo, do sistema que tem que estimular, do volume do músculo, do tamanho da área, da técnica de aplicação e do tipo (se são fixos ou móveis) (BISSCHOP, DETAL, 2001).

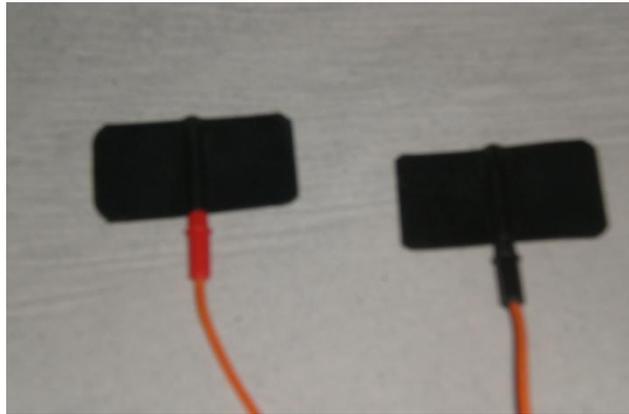


Figura 1: Eletrodo Fixo. Fonte: Próprio autor, 2015

Até o presente momento o posicionamento dos eletrodos para o tratamento de patologias urinárias vinha sendo utilizado preferencialmente em espaços intracavitários através da estimulação do nervo pudendo. Embora os tratamentos conservadores ofereçam poucos efeitos colaterais, alguns autores chamaram atenção em seus estudos para os efeitos indesejáveis encontrados na eletroestimulação intravaginal: dor, sensações desagradáveis e incontinência fecal. Yamanischi et al., (2000) e Sand et al., (1995) encontraram efeitos colaterais como irritação vaginal, infecções e dor em 14 das 28 pacientes estimuladas em sua pesquisa.

Além disso, a recomendação das empresas fabricantes é de que eletrodos intracavitários sejam de uso individual, o que aumenta o custo do tratamento tornando-o pouco acessível a serviços públicos ou a população de menor poder aquisitivo. Constitui um procedimento desconfortável, principalmente para o tratamento em homens, e inviável em crianças e mulheres sem atividade sexual prévia. Justamente por esses inconvenientes, alguns pesquisadores começaram a

investigar diferentes localizações de eletrodos, que não intracavitários, para a realização da eletroestimulação.

Embasando-se nisto o estudo proposto tenta detectar o melhor eletrodo de superfície na aplicação da corrente no períneo com a finalidade curativa ou de melhora das patologias instaladas e principalmente a prevenção, através do fortalecimento do músculo sadio. Lembrando que para a estimulação de superfície, extracavitária, os eletrodos precisam ser de um mesmo tamanho, e seguindo as leis da eletricidade quanto maior o campo do eletrodo mais espalhada estarão às cargas elétricas e mais superficialmente estimularão o tecido muscular, e quanto menor o diâmetro do eletrodo mais concentrada estarão às cargas elétricas necessitando assim de uma dosagem menor de corrente para alcançar o mesmo resultado do eletrodo maior, em relação à contração muscular, por isso que o eletrodo móvel desenvolvido pela autora desta pesquisa tem o formato de uma caneta e o eletrodo utilizado para estimular o músculo é a ponteira da caneta, ou seja, diâmetro menor do que os dos eletrodos convencionais sendo mais fácil a acomodação ao períneo e estimula mais profundamente e mais intensamente a fibra muscular com uma intensidade de corrente menor do que a necessária pelos outros eletrodos convencionais. Agne (2009)



Figura 2: Eletrodo Caneta (Móvel). Fonte: Própria autora, 2015

Além disso, na aplicação da corrente com eletrodos de superfície deve-se observar a temperatura ambiente para que não ocorra sudorese excessiva podendo desprender o eletrodo ou diluir o gel do eletrodo de carbono causando desconforto físico ao paciente, a pele por si só gera resistência a corrente, sendo preciso observar se não está muito ressecada, o que aumenta a resistência natural, e nunca colocar o eletrodo sobre feridas devido ao fato de gerar grande desconforto a quem recebe a eletroestimulação, pela redução de resistência a valores mínimos ou mesmo inexistente. O excesso de gordura subcutânea aumenta muito a resistência à passagem da corrente, precisando fixar mais firmemente os eletrodos a pele, e a

pilosidade também aumenta esta resistência sendo necessário removê-los com o cuidado de não lesionar a pele durante a remoção dos mesmos. Já que a maioria das mulheres e homens apresenta muita pilosidade em região de genitais externos (AGNE, 2009).

Mas, vários estudiosos vêm pesquisando a eletroestimulação no períneo. E todos concordam que para vencer a resistência cutânea, conhecida como impedância cutânea deve-se aumentar a frequência da corrente, logo resistência cutânea é inversamente proporcional a frequência dos impulsos elétricos. E para se obter o mesmo resultado de estímulo elétrico no músculo utilizando uma frequência baixa ao invés de uma alta é necessário incrementar a intensidade (mA), o que gera desconforto e as vezes interrupção do estímulo em certas ocasiões, como citado por (AGNE, 2009).

A intensidade da corrente é o estabelecimento da dosagem ou dosimetria, energia a ser empregada em uma porção de tecido (cm^2) suficiente para estimular esse sistema biológico sem saturá-lo ou lesá-lo. E para não lesionar se deve verificar fatores intervenientes como uso de medicação, placas metálicas, gestação, obesidade, queimadura, marca-passo entre outros. O que leva a uma variação nas dosagens em relação a diferentes pacientes. E no caso de buscarmos uma forte contração muscular com o intuito de fortalecimento e aumento de volume é necessário utilizar uma corrente de baixa frequência efetiva com impulsos adequados dentro de um esquema fisiológico respeitando as fases da eletroestimulação como rampas de subida e descida, tempo de sustentação (ON), e tempo de repouso (OFF), além do tempo total de estimulação, repetição dos ciclos e resistência ao movimento. Os tecidos suportam cargas reduzidas de energia as quais devem ser suficientes para produzir os potenciais de membrana e a dosagem empregada dependerá também do tamanho do eletrodo escolhido para a terapia (AGNE, 2009).

Segundo Godec et al., 1975, Nielsen et al., 1992, Okada et al., 1999 e Yamanishi et al., 2000, muitos destes estudos sobre a eletroestimulação utilizaram a FES (Estimulação Elétrica Funcional) como tipo de corrente e procuraram definir quais seriam os diferentes parâmetros elétricos ou protocolos ideais para o tratamento da incontinência urinária devido à bexiga hiperativa, como estes estudiosos esta pesquisa também utilizará o FES como corrente estimulatória do períneo.

Os parâmetros elétricos são várias características de corrente elétrica possíveis que o terapeuta define no gerador de corrente e que deverá ser suficiente para desencadear um potencial de ação. A “dose” de corrente é influenciada pela “amplitude” (ou intensidade, medida em miliampere) e pela “duração de pulso” (T), que em tecidos nervosos íntegros, costumam ser de alguns microssegundos. Essa relação amplitude x duração de pulso é denominada reobase (ou amplitude mínima para ativar um tecido específico) x cronaxia (ou duração mínima de um estímulo para ativar um tecido excitável) e obedece a uma ordem de ativação: primeiro são ativadas as fibras sensitivas de maior diâmetro como de tato e pressão, depois as fibras motoras e por último as fibras dolorosas (WALSH, 1997).

A técnica FES tem como base a produção da contração através da estimulação elétrica, que despolariza o nervo motor, produzindo uma resposta sincrônica em todas as unidades motoras do músculo. Este sincronismo promove uma contração eficiente, mas é necessário treinamento específico, a fim de evitar a fadiga precoce que impediria a utilização funcional do método com o objetivo de reabilitação.

Não é possível a obtenção de um movimento funcional de um membro paralisado por um simples pulso elétrico, se faz necessário uma série de estímulos com uma duração correta, seguidos por outros com uma apropriada frequência e repetição. Esta seqüência de estímulos recebe o nome de trem de pulsos. Um período entre dois trens de pulso e o tempo de repouso deve ser observado, a fim de evitar a fadiga na fase de condicionamento muscular ou para permitir o controle das contrações musculares e se obterem movimentos úteis à locomoção, ou outra atividade funcional do indivíduo.

A forma do trem de pulsos pode ser retangular, porém fases de ascensão e descida mais inclinadas possibilitam uma contração muscular com características mais biológicas, se o tempo de subida do pulso for muito lento, a fibra nervosa sofre um processo de acomodação de membrana e pode não responder, apesar da intensidade da corrente satisfatória. No programa de recuperação funcional, além da forma do trem de pulsos, as características individuais de cada pulso devem ser determinadas, a fim de se obter o efeito terapêutico.

A FES permite uma entrada seletiva repetitiva aferente até o sistema nervoso central a qual ativa não só a musculatura local como também os mecanismos reflexos. Sendo estes necessários para a reorganização da atividade

motora e movimentos que estão prejudicados devido à lesão dos neurônios motores superiores”. Além disso, a eletroestimulação funcional leva a um aumento generalizado dos potenciais elétricos até chegar ao equilíbrio dos pulsos excitatórios e inibitórios, estimulando os motoneurônios desativados, enquanto o paciente tem a oportunidade de experimentar conscientemente o “movimento normal” e, com a repetição, reaprender o movimento. Assim modula-se o tônus. E no caso do músculo perineal a sua modulação corresponde no controle das necessidades urológicas, proctológicas e sexuais.

Este estudo foi conduzido na Clínica Cerei localizada em Goiânia - Goiás, Brasil. A qual tem um serviço multidisciplinar de reabilitação composto por fisioterapeutas, psicólogo, fonoaudiólogo, nutricionista e terapeuta ocupacional. Com atendimentos em várias áreas da saúde sendo a uroginecológica (que trata do assoalho pélvico feminino e masculino) a de maior demanda de pacientes. Com salas apropriadas para cada especialidade, ou seja, as salas de uroginecologia são de atendimento individualizado com banheiro privativo necessário para tratamento ou para a aplicação do protocolo. Sala equipada com aparelhos de eletroterapia posicionados ao lado da maca, local onde o paciente que é submetido à sessão de fisioterapia posiciona-se deitado.

Este estudo está previsto de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas envolvendo seres humanos (Resolução 196/196, do Conselho Nacional de Saúde). As pacientes concordaram em apresentar-se como voluntárias da pesquisa, estas concordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), criado pela autora.

Os participantes desta pesquisa foi um grupo de mulheres (média de idade 37,5 anos e desvio padrão de 7,65) escolhidas de acordo com a avaliação de um questionário para inclusão ou exclusão. Sendo que estas deveriam ser vinculadas à instituição Cerei, com idade entre 25 e 50 anos, sem nenhuma cirurgia de correção de patologias do assoalho pélvico, sedentárias, que não estivessem em tratamento medicamentoso a não ser anticoncepcional, com vida sexual ativa, estando na mesma faixa etária reprodutiva, não obesa e aceitaram participar da pesquisa de forma voluntária.

Para a realização da pesquisa foram utilizados: Questionário avaliativo de inclusão e exclusão da anamnese, ficha de avaliação fisioterapêutica, termo de consentimento livre esclarecido, materiais de uso individual - como papel toalha

para a maca, preservativo sem lubrificante para cobrir a sonda de pressão vaginal, luvas e máscara para a terapeuta e auxiliar, papel toalha para a paciente se limpar e para a terapeuta retirar o preservativo da sonda ao final de cada sessão, veste com abertura posterior, materiais de assepsia (álcool 70% líquido e sabão antisséptico) para higienizar a maca antes e após cada sessão e lavar os eletrodos fixos, respectivamente, os materiais fixos são a maca, cunha de posicionamento para posicionar a voluntária em posição ginecológica, computador, impressora, papel chamex, pasta para arquivar prontuários das participantes da pesquisa, aparelho NEURODYN EVOLUTION e NEURODYN RUBY da empresa Ibramed – Br, eletrodos de superfície de borracha, eletrodo caneta, sonda de borracha para mensurar a pressão vaginal, seringa para inflar a sonda com a mesma pressão para todas as mulheres, carbogel para lubrificar os eletrodos, fita crepe para fixar os eletrodos e cadeira giratória para a terapeuta.

A alocação das mulheres incluídas na pesquisa após responderem o questionário de inclusão e exclusão, ocorreu de forma aleatória, com direcionamento cego para um dos dois grupos A ou B conforme a sua chegada. Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, foram submetidas à avaliação ginecológica e da força perineal através do aparelho de Biofeedback Neurodyn Evolution da Ibramed, Br. o qual estava acoplado a um computador com softwer para captar e registrar a pressão exercida pelo músculo vaginal da paciente a sonda vaginal do aparelho. Sonda esta introduzida na vagina da mulher após ser revestida com preservativo não lubrificado, lubrificado externamente na hora do exame com carbogel. O dispositivo mediu a máxima e mínima pressão vaginal alcançada pela contração voluntaria do períneo no início e final de cada sessão. Lembrando que a sonda foi inflada com uma seringa depois de introduzida na vagina com 20 ml de ar e a paciente encontrava-se posicionada em decúbito dorsal com membros inferiores sobre uma cunha de posicionamento em rotação externa, para isolar a ação dos músculos adutores. Vestidas com a veste ginecológica, sem calcinha, para permitir a avaliação genital. Após a avaliação a paciente foi submetida ao protocolo do grupo A ou B conforme sua inclusão.

O protocolo experimental consistiu em dois procedimentos diferentes, apenas pelo tipo de eletrodo utilizado, na aplicação da eletroestimulação nos dois grupos de indivíduos preservando a conduta da avaliação da força perineal antes e após cada aplicação de eletroterapia. No grupo A as participantes foram submetidas

a sessões de eletroestimulação nos músculos do assoalho pélvico pelo eletrodo móvel (caneta). Os estímulos foram em cinco pontos em torno do intróito vaginal formando um arco que iniciava de um lado da virilha e finalizava do outro lado passando pela região púbica ao centro do arco. Assim conseguiu-se estimular cinco pontos motores de diferentes músculos do períneo pela movimentação do eletrodo móvel durante os trinta minutos de terapia. O aparelho neste intervalo de tempo trinta minutos, estipulado para a duração de cada terapia gera setenta impulsos elétricos. Assim temos quatorze impulsos por ponto muscular nos trinta minutos de terapia ao dividir 70 impulsos por 30 minutos, ficando o eletrodo móvel seis minutos em cada ponto, tempo calculado dividindo 30 minutos de terapia por 5 pontos no períneo.

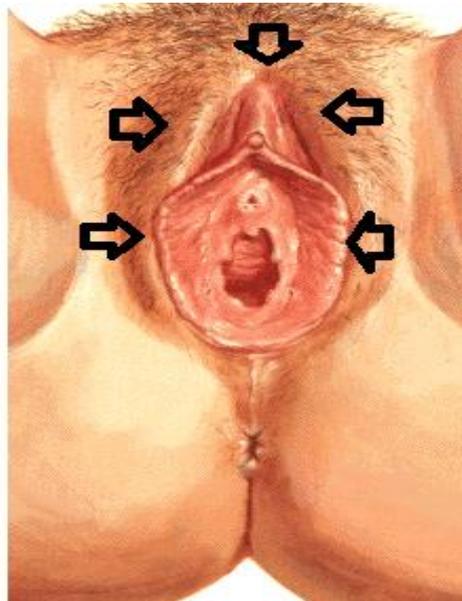


Figura 3: Pontos estimulados no Grupo A (eletrodo caneta). Fonte: Netter (2011) modificado pelo próprio autor, 2015.

As participantes do grupo B foram submetidas à eletroestimulação por eletrodo fixo em quatro pontos do períneo ficando dispostos em forma de cruz, região púbica e centro-tendíneo os do 1^o cabo e região inguinal bilateral próximos aos grandes lábios os eletrodos do 2^o cabo, estimulando simultaneamente os quatro pontos com setenta impulsos durante os trinta minutos de terapia.

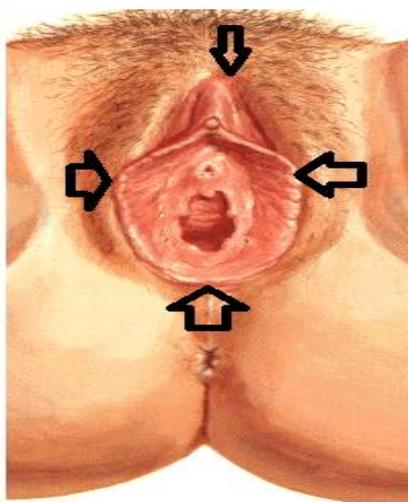


Figura 4: Pontos estimulados no grupo B (eletrodo fixo).Fonte: Netter (2011) modificado pelo próprio autor.

O equipamento Neurodyn Ruby (Ibramed, Br) foi configurado da seguinte forma para ambos os grupos: Corrente tipo FES síncrono de baixa frequência em KHz, com a seguinte envoltória: Frequência R:20 Hz; Período T: 50 us; Rise= 07s, On= 10s, Decay= 03s, Off= 05s, Tempo= 30min. A intensidade da corrente foi ajustada de acordo com a sensibilidade de cada paciente desde que conseguisse alcançar o limiar motor sem acionar o estímulo doloroso em miliampere. Associado a esta terapia utilizou-se o aparelho Neurodyn Evolution (Ibramed, Br), através da sonda de pressão vaginal simultaneamente à eletroterapia para verificar uma pressão vaginal antes e outra após a eletroterapia com intuito de observar ganho ou perda de pressão do músculo perineal com a aplicação deste protocolo. A frequência da FES foi escolhida devido a sua ampla utilização na literatura (CANADIAN PEDIATRIC SOCIETY, 2008; MARQUES, 2008; MASORO, 1999; MONCHAUX, 2007) . A participante do estudo realizou um total de 12 sessões, realizadas duas vezes por semana num tempo de 30 minutos a sessão.



Figura 5: NEURODYN RUBY – IBRAMED BR. Fonte: Próprio autor, 2015.



Figura 6: NEURODYN EVOLUTION – IBRAMED BR. Fonte: Próprio autor, 2015.

Em um total de vinte e oito mulheres distribuídas quatorze no grupo A (eletrodo caneta) quatorze no grupo B (eletrodo fixo) conseguimos alcançar resultados significativos utilizando o T-Test pareado na análise das pressões iniciais das sessões 1 e 12 das voluntárias do grupo A e o mesmo com as do grupo B.

Podemos observar um desempenho melhor do tratamento executado nos sujeitos do grupo A em comparação ao grupo B quando comparamos as pressões

iniciais. Se observarmos os demais resultados vemos que o tratamento A passa a ter efeito a partir da sessão 8 (com exceção da sessão 9 que teve um p mais elevado ($p=0,07$)). As sessões 8,10, 11 e 12 do grupo A possuem um valor de $p>0,05$.

Quando comparamos as sessões finais o tratamento A passa a ter efeito a partir da sessão 10 enquanto que o tratamento B (para as pressões finais) passam a ter efeito a partir da sessão 7. No entanto vemos que tanto para a pressão inicial quanto para a pressão final, o efeito do tratamento A é mais duradouro: verificar que as comparações entre as demais sessões mostram mais valores com um $p<0,05$ para o grupo A. Também podemos ver isso pelo valor inicial da pressão já que a capacidade de manter a pressão alta já no início da sessão é maior em A.

Comparando os dados na tabelas do documento Teste-t pressões.xls: 9 Graus de Liberdade, $\alpha<0.05$:

Grupo A (Pressão final) Comparação entre a sessão 1 e a sessão 12: $p<0,05$ (há diferença entre as medidas das duas sessões) ($t= -2.647$)

Grupo B (Pressão final) Comparação entre a sessão 1 e a sessão 12: $p>0,05$ (não há diferença entre as medidas das duas sessões) ($t= -2.110$)

Grupo A (Pressão inicial) Comparação entre a sessão 1 e a sessão 12: $p<0,05$ (há diferença entre as medidas das duas sessões) ($t= -2.925$)

Grupo B (Pressão inicial) Comparação entre a sessão 1 e a sessão 12: $p>0,05$ (não há diferença entre as medidas das duas sessões) ($t= -0.987$)

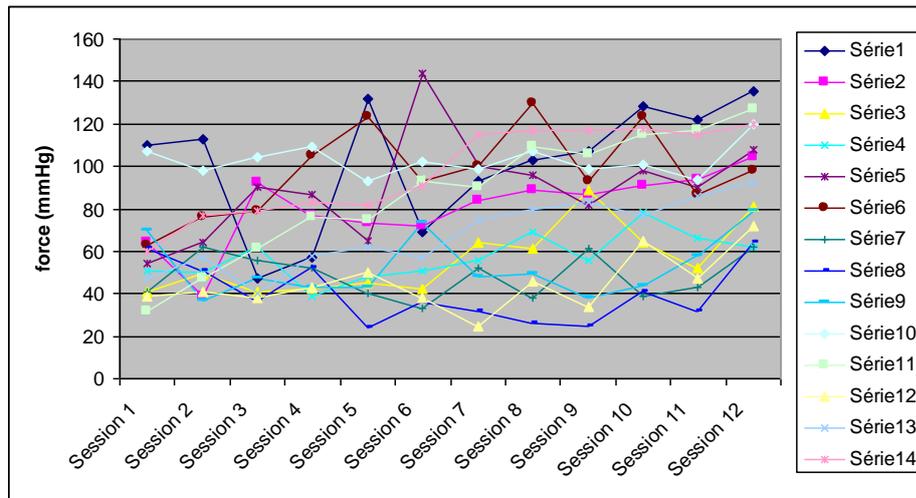


Figura 7: Pressões das 14 voluntárias nas 12 sessões do Grupo A. Fonte: Próprio autor, 2015.

Aqui podemos visualizar um gráfico com todas as pressões das 14 voluntárias nas 12 sessões. O eixo x abscissa temos os números das sessões e no eixo Y ordenada observamos os valores das pressões iniciais de cada sessão do grupo A.

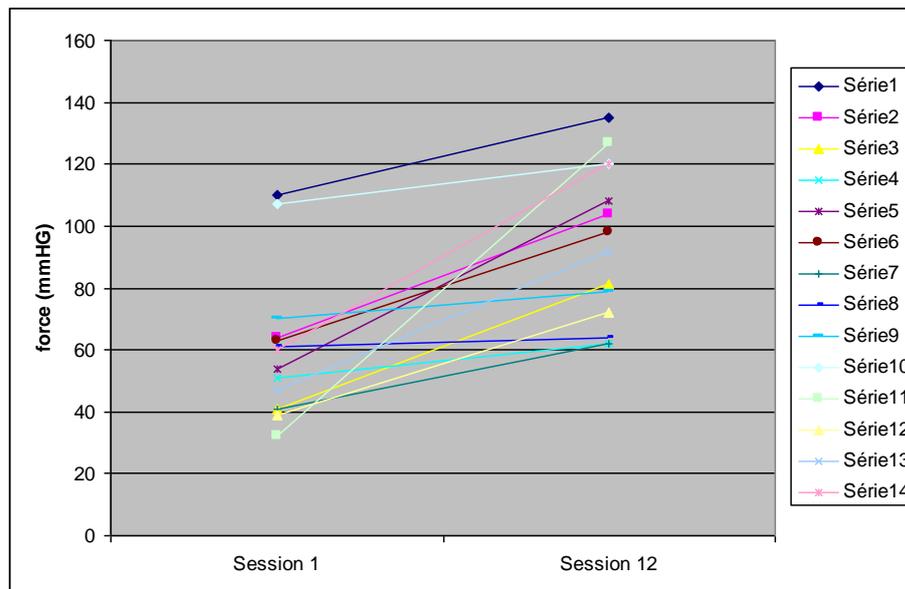


Figura 8: Pressão inicial das 14 voluntárias nas 12 sessões do Grupo A. Fonte: Próprio autor, 2015.

E neste gráfico, visualizamos somente os valores de pressão inicial da primeira e da décima segunda sessões do grupo A mostrando claramente que todas as pressões cresceram.

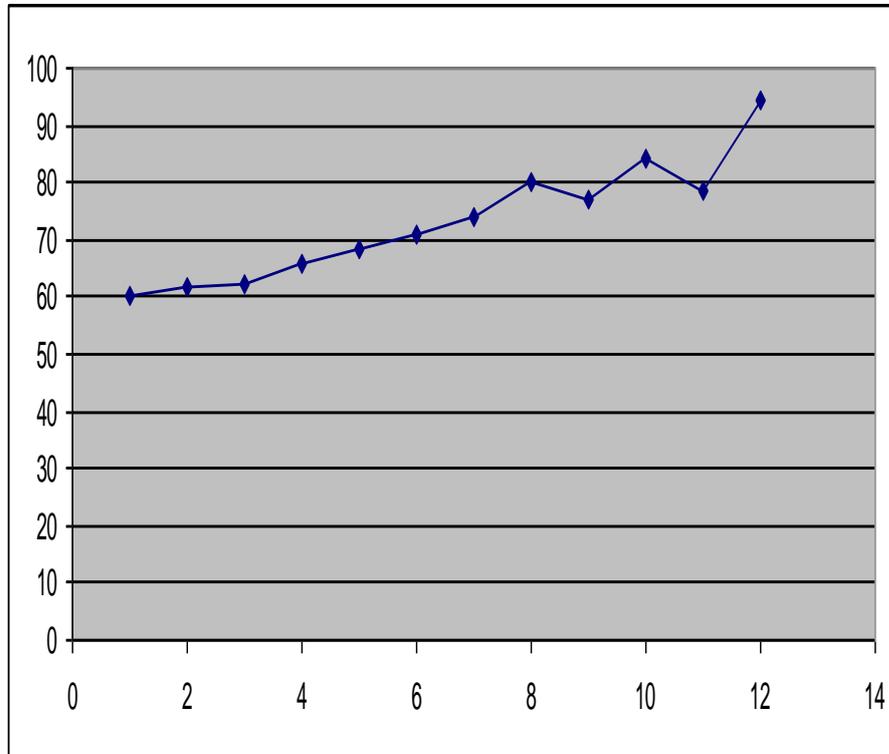


Figura 9: Pressão mediana das 14 voluntárias do Grupo A. Fonte: Próprio autor, 2015.

Dados confirmados ao verificar a pressão mediana das 14 mulheres em função da sessão em que o gráfico demonstra claro crescimento das pressões.

O $p=0.00015$ no grupo A como resultado do T-TEST significa uma resposta estatisticamente significativa na melhora da pressão perineal após utilização da eletroestimulação com o eletrodo caneta.

O Teste-T pareado mostrou que a modificação na pressão perineal após utilização do eletrodo fixo, porém com $p=0,17$ não podemos considerar uma alteração significativa. Talvez se aumentar-se-ia o valor do resultado deste teste se aumentássemos o número de voluntárias ou o número de sessões.

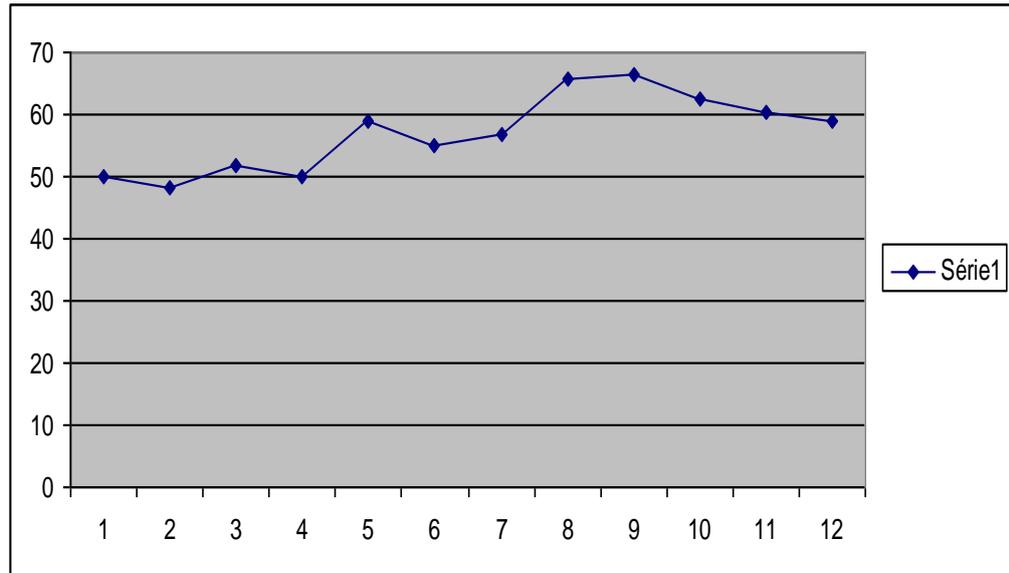


Figura 10: Média da Pressão das 12 sessões do Grupo B. Fonte: Próprio autor

E no grupo B, ao verificarmos a média da pressões durante as 12 sessões podemos detectar aumento, mas não estatisticamente significativo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados sugerem que o eletrodo móvel é mais eficaz em relação ao eletrodo fixo, quando se considera o ganho de pressão muscular do períneo, tendo em conta um protocolo semelhante em relação ao tempo e a administração da corrente diferindo apenas no fato de que para o eletrodo móvel, cada ponto tem 14 impulsos estimulados durante a terapia de trinta minutos versus setenta impulsos para cada um dos quatro pontos durante o mesmo tempo de terapia do eletrodo fixo.

Os resultados mostram que podemos supor uma possível tendência de redução do tempo de terapia quando utilizado o eletrodo móvel em relação ao fixo. Podendo facilitar para o terapeuta e paciente reduzindo o tempo entre terapia e alta, pelo ganho de força muscular mais rápido do que com os eletrodos convencionais, além da redução dos custos financeiros para o paciente, o qual permanece menos tempo em tratamento.

REFERÊNCIAS

- AGNE, EDUARDO. JONES. *Eu sei Eletroterapia*, Santa Maria: Pallotti, 2009.
- BERGHMANS B. The role of the pelvic physical therapist. *Acta Urol Esp*, 2006. 30:110-22.
- BISSCHOP, G., DETAL, F. *Eletrofisioterapia*. Livraria Santos Editora, 2001.
- BRASIL, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1272&id_pagina=1> acesso em 10 de janeiro de 2011.
- CANGUILHEM, GEORGES. *O normal e o patológico*. Rio de Janeiro, Forense Universitária. 1978
- CASTRO,R.A.ARRUDA,R.M.,TAKANO,C.C.,GIRÃO,M.J.B.C.,SARTORI,M.G.,BARACAT,E.C., LIMA,G.R. Tratamento da incontinência urinária com eletroestimulação. In: *Gineco.Obstet.Atual*. v.7. n.4, abr.1998. p49-50.
- CHIARAPA, T.R., CACHO, D.P.,ALVES, A.F.D. Tratamento Fisioterápico. In: *Incontinência urinária Feminina: Assistência Fisioterapêutica e Multidisciplinar*. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2007. cap.7. p.148-153.
- Community Paediatrics Committee, Canadian Paediatric Society. **Toilet learning: Anticipatory guidance with a child-oriented approach**. Publicado na Internet em Fev/2008. Acesso em 12 abr 2015.
- GALHARDO,C.,KATAYAMA,M. Anatomia e fisiologia do trato urinário inferior feminino. In:Chiarapa,T.R.,Cacho,D.P.,Alves,A.F.D. *Incontinência urinária Feminina: Assistência Fisioterapêutica e Multidisciplinar*. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2007.
- GODEC C, CASS AS, AYALA GF. Bladder inhibition with functional electrical stimulation. *Urolog*, 1975. 6:663-6.
- LATORRE, G.F.S. **A importância no desempenho sexual**. 2002. Disponível em: <<http://perineo2.vilabol.uol.com.br/sex.htm>> Acesso em: 28 outubro 2015.
- MARQUES, A.A. *A estimulação do nervo tibial posterior no tratamento da bexiga hiperativa*. Unicamp. Campinas,S.P: [s.n.], 2008.
- MASORO, EDWARD J. *Challenges of biological aging*. Nova York, Springer Publishing Company. 1999

MEDEIROS, M.W.; BRAZ, M. M.; BRONGHOLI, K. **Efeitos da fisioterapia no aprimoramento da vida sexual feminina.** *Fisioterapia Brasil*, Rio de Janeiro, v. 5, n. 3, p. 88-193, mai/jun 2004.

MODOTTE, W.P., MOREIRA, E.C.H., PASCON, A.M., DIAS, R., PASCOTINI, C., FILHO, C.I.S., BRAGA, M.A. Incontinência urinária – trabalho conservador. In: *ginecol.Obstet.Atual.* v.8. n.6, 1999. p.6-13

MONCHAUX, M. C. **Sexualidade humana.** (2000). Disponível em: <http://www.deb.min.edu.pt/didatic2000/SEXUALIDADE.htm>> Acesso em: 12 abril 2007.

MORENO, ADRIANA L. *Fisioterapia em Uroginecologia*, Barueri, SP, Manole, 2004.

NIELSEN M, SAMUELSSON SM. Maximal electrical stimulation of patients with frequency, urgency and urge incontinence. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1992. 71:629-31.

OKADA N, IGAWA Y, NISHIZAWA O. Functional electrical stimulation for detrusor instability. *Int Urogynecol J*, 1999. 10:329-35.

ROTTA, ANA HELENA et al. A enurese em crianças e seus significados para suas famílias: abordagem qualitativa sobre uma intervenção profissional em saúde. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*. Recife, v.5 n.3, jul./set. 2005.

SAND PK, RICHARDSON DA, STASKIN DR, SWIFT SE, APPEL RA, WHITMORE KE et al. Pelvic floor electrical stimulation in treatment of genuine stress incontinence a multicenter placebo-controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*: 1995. 173:72-9.

Sociedade Brasileira de Urologia. **Enurese: Diagnóstico e Tratamento.** Acesso em 15 abr. 2008. Disponível em <http://www.projetodiretrizes.org.br/6_volume/18-EnureseDiagTrat.pdf>.

THE AMERICAN CONGRESS OF OBSTETRICIANS AND GINECOLOGISTS. Print All District VII Spring Newsletter. Disponível em <<http://www.acog.org/About-Spring-Newsletter>> Acesso em 21 de junho de 2015

WALSH D. *TENS Clinical Applications and Related Theory.* Churchill Livingstone. Nova York: 1997. 167p.

YAMANISH T, YASUDA K, HATTORI T, SUDA S. Randomized, double-blind study of electrical stimulation for urinary incontinence due to detrusor overactivity. *Urology*. 2000. 55:353-7.

EFEITOS DA TOXICIDADE AGUDA DO HERBICIDA ROUNDUP® SOBRE A MORFOLOGIA HEPÁTICA DO GUARU (*Poecilia vivipara*)

*Joana Cristina Neves de Menezes Faria*¹

*José Carlos Seraphin*²

*Ana Paula Rezende dos Santos*³

*Michelle Furquim Leão*³

*Simone Maria Teixeira de Sabóia-Morais*³

INTRODUÇÃO

Desde que o homem, deixou a vida nômade, ele iniciou então o hábito de cultivar, com intuito de produzir e armazenar os alimentos para dali retirar seu sustento e o de sua família. A fim de evitar as surpresas que a natureza poderia lhe causar, quando esta por algum motivo ou outro não lhe fornecesse a caça e a pesca (Soares; Porto, 2007).

Essa busca constante por mais alimentos foi o que tornou a agricultura uma atividade “desbravadora”, tendo como conseqüência a derrubada de florestas e a degradação de variados biomas. Os ambientes foram então modificados a fim de ceder lugar à insaciável produção de alimentos, sem que fosse dada nenhuma orientação conservacionista para preservação destes ecossistemas, que estavam e que ainda estão em franco processo de devastação (Barbosa; Nascimento, 1994).

Devido a essa exploração desordenada para formação de espaços agricultáveis, nas últimas décadas tanto o solo quanto os recursos hídricos foram degradados, no propósito de aumentar a produtividade agrícola. Em resposta a isso, não demoraram a surgir às conseqüências, tais como: a baixa fertilidade do solo e o aparecimento de agentes nocivos às plantas, resultado de um desequilíbrio ecológico fomentado pelo próprio homem (Silveira *et al.*, 2001; Jacques, 2003).

¹ Docente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - Campus Aparecida de Goiânia. Mestre em Biologia, área de Concentração: Biologia Celular e Molecular (UFG).

² Instituto de Matemática e Estatística - Universidade Federal de Goiás (IME-UFG)

³ Laboratório de Comportamento Celular, Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Goiás. (LCC-UFG).

Dessa forma, pesquisas realizadas por Stone e Moreira (2000), Rodrigues *et al.*, (2005), identificaram a necessidade de técnicas de cultivo que considerasse os impactos ambientais causados por essas plantações, entre as quais se enquadra o sistema do plantio direto (PD) – prática que causa menor desgaste do solo, reduzindo, assim, os efeitos nocivos do processo de erosão dos solos e sedimentação dos recursos hídricos. Nessa técnica, o meio ambiente sofreria um menor grau de agressão, pois a palhada que permanece no solo após o processo de dessecação auxilia na prevenção dos processos erosivos, além de ser fonte de nutrientes, aumentando a microbiota do solo (Stone; Moreira, 2000; Silveira *et al.*, 2001; Jacques, 2003). Embora em PD, o controle de pragas, doenças e ervas daninhas seja feito geralmente com agrotóxicos, confirmando o maior consumo desses, quando comparada com os métodos mais rudimentares.

A utilização dos agroquímicos e sua aplicação pela comunidade rural e urbana tornaram-se um fator preocupante, pois nem sempre os usuários dos defensivos agrícolas fazem seu preparo e seu uso do modo correto, como é descrito nas especificações do produto. Esses produtos são geralmente conhecidos como micropoluentes, formados por variedade de substâncias químicas e possuem ação biocida, ou seja, foram criados para matar, exterminar e combater as pragas do meio agrícola (Veiga, 2007).

Os impactos ambientais provocados pelo uso dos pesticidas podem ocorrer segundo a capacidade de permanência dos mesmos por mais tempo que o necessário para executarem sua verdadeira ação, atingindo o ecossistema como um todo através da contaminação dos solos, cursos d'água, atmosfera e alimentos (Ruegg, 1987). Tudo isto pode trazer conseqüências danosas e até irreversíveis não só a quem manipula tais produtos, como também ao meio ambiente, onde esses agrotóxicos podem ser eliminados.

Os herbicidas são os tipos mais utilizados, pois eles são largamente empregados em culturas agrícolas, terrenos florestais, jardins e campos. São muitas vezes, aplicados em ambientes lênticos como lagos para controlar o crescimento exagerado de algas, plantas submersas, flutuantes ou emergentes (Spadotto, 1996; Aguiar *et al.*, 2001; Amarante *et al.*, 2002; Tsui; Chu, 2003).

Dentre os vários tipos de herbicidas, destacam-se aqueles de amplo espectro de ação, como é o caso dos não-seletivos. O Roundup[®] glifosato [N-(fosfonometil) glicina] é classificado como herbicida não-seletivo, sistêmico e pós-emergente citado como o mais vendido em todo o mundo, em diferentes formulações, produzido por distintas indústrias de agroquímicos (Amarante *et al.*, 2002). O Roundup[®], entre outros herbicidas, foi formulado para ser tóxico e biocida, isto é, para eliminar algumas espécies, de seres vivos, cuja ação é danosa aos interesses de lucro dos seres humanos. Por isso, tem sido comum o uso de modelos biológicos em biomonitoração ambiental, a fim de identificar se houve ou não contaminação dos ecossistemas por herbicidas.

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo e dentre os grupos de vertebrados mais representados, os peixes ocupam o 1º lugar. A utilização de peixes como modelo biológico em pesquisas tem aumentado desde a década de 60, comparando-se a outros vertebrados. Por apresentarem grande diversidade de espécies e habitarem regiões distintas, em ecossistemas com diferentes condições bióticas e abióticas, constituem fonte de matéria experimental, bastante utilizada em diferentes ramos das atividades de pesquisa biológica (Bolis *et al.*, 2001).

Segundo Winkaler *et al.* (2001) os peixes respondem ao estresse provocado pelos poluentes de diversas formas, seja em níveis de alterações na organização biológica, fisiológica, morfológica, ou até mesmo no seu crescimento e no processo reprodutivo. Assim as repostas provenientes deste estado de estresse, podem ser utilizadas para identificar sinais iniciais de danos aos peixes, chamadas de biomarcadores, sendo excelentes ferramentas para monitorar a qualidade do meio aquático.

Os testes de toxicidade em organismos aquáticos vêm sendo utilizados como ferramenta eficaz para avaliação, predição ou detecção dos efeitos dos poluentes sobre os organismos vivos. O modelo teste utilizado neste estudo *Poecilia vivipara* (Blochii; Schneider, 1801) é um peixe teleósteo, caracterizado como eurialino e possui moderada sensibilidade as alterações ambientais. É um espécime neotropical com fecundação interna e apresenta dimorfismo sexual (Sabóia-Morais *et al.*, 1999).

O fígado dos peixes, e de outros vertebrados, tem importante atuação no

controle de várias funções vitais como: armazenamento e biotransformação das substâncias obtidas pela corrente sanguínea e sistema portal. Sendo também um órgão de atividade metabólica muito intensa. Assim, apresenta-se muito sensível a contaminantes ambientais, pois muitos destes se acumulam no tecido hepático, podendo este órgão ser considerado um bom indicador de saúde para o peixe (Au, 2004).

Neste sentido esse estudo, visa determinar a concentração letal média (CL50) do herbicida Roundup[®] no *Poecilia vivipara*, com o intuito de identificar as possíveis alterações no comportamento tecidual e celular e avaliar as eventuais modificações morfológicas. Foi descrito o detalhamento da histoarquitetura do fígado, com particular enfoque na disposição geral do tecido hepático para permitir uma avaliação morfofuncional entre as células que compõem este órgão.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta do material e manutenção dos animais em cativeiro.

Os modelos testes utilizados no experimento foram adquiridos na Piscicultura da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás (UFG) – Campus II (16° 35' 37"S e 49° 16' 50" W). Os espécimes foram submetidos à aclimatação por 72 horas em aquários de 40 litros com oxigenação, temperatura, amônia e pH controlados, com ciclo de 12 horas claro / 12 horas escuro e alimentados uma vez ao dia com ração Alcon Gupies (Alcon Basic Ltda, Santa Catarina, Brasil).

Produto químico (produto teste)

O herbicida Roundup[®] (C₃H₈NO₅P) utilizado no experimento é fabricado pela Monsanto do Brasil S/A e registrado no Ministério da Agricultura e do Abastecimento sob o nº 898793. Neste trabalho, utilizou-se uma solução aquosa concentrada composta por sal de isopropilaminada N(fosfometil) glicina, numa concentração de 480g/L. Sendo que 360g/L é o equivalente em glifosato, de classe toxicológica IV, ou seja, este agroquímico é considerado pouco tóxico.

Cálculo da Concentração letal média (CL50) do Roundup®.

Os testes de toxicidade iniciaram-se com a mensuração da concentração letal média (CL50, 96h) do Roundup®. Esse valor foi determinado pelo programa estatístico Spearman Karber-Programa (USA EPA). Para tanto, os espécimes coletados aleatoriamente do tanque de manutenção foram divididos em 5 grupos experimentais contendo 6 peixes adultos cada, perfazendo um total de 30 peixes. Os aquários continham 4 litros de água decolorada com diferentes concentrações do herbicida (0, 15, 25, 35 e 45µl/L por litro d'água), durante um período total de 96 horas.

Exposição aguda do Roundup® e processamento do material biológico.

Após o cálculo da CL50 (96h), realizou-se a exposição aguda de 20 peixes por 24 horas nas concentrações 0, 15, 25, e 35µl/L do herbicida Roundup® por litro de água. Para obtenção dos tecidos, os animais foram sacrificados por decapitação, em seguida o fígado foi dissecado para análise morfológica e histoquímica. Os materiais biológicos submetidos à fixação por imersão em formalina neutra a 1% e Karnovsky foram processados para inclusão em paraplast e historesina, respectivamente. Parte das amostras inclusa em paraplast foi seccionada com 3 µm de espessura, e posteriormente os cortes corados com hematoxilina e eosina (HE). A segunda parcela, após a inclusão em historesina e secção com 1 µm de espessura, foi corada com Azul de Toluidina pH 8,5 (AT). Para as análises histoquímicas utilizaram-se as reações de Periodic Acid Schiff (PAS) e PAS + Amilase salivar (PAS + AM) para detecção de glicoproteínas neutras ou glicogênio, e a reação de Feulgen (F) para identificação de DNA. As lâminas de todos os procedimentos histológicos e histoquímicos foram analisadas e fotografadas no fotomicroscópio (Olympus-CH 30).

Os procedimentos efetuados, estudados e analisados, foram aceitos e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás com parecer consubstanciado e protocolado sob nº 126.

RESULTADOS

Concentração letal média (CL50)

Estimou-se que a CL50 foi de 26,61µl de Roundup® por litro de água, em peixes expostos por 96 horas (Tabela 1).

Tabela 1: Concentração letal média de Roundup® para *Poecilia vivipara*

Concentração µl/L Roundup®	Número animais expostos	Mortalidade 96 horas
00.00	6	0
15.00	6	1
25.00	6	2
35.00	6	5
45.00	6	6

Foi mensurado o índice de mortalidade dos peixes expostos em 24 horas (exposição aguda). Os animais dos grupos controle, 15 e 25µl/L apresentaram após o experimento 0% de mortalidade, embora para o último grupo os peixes encontravam-se extremamente alterados. E no tratamento de 35µl/L houve 80% de mortes dos indivíduos.

Alterações teciduais e celulares

Grupo controle: Os hepatócitos apresentaram-se distribuídos em cordões hepáticos regulares a partir da veia central de forma homogênea, com presença de sinusóides, hemácias nucleadas, citoplasma basófilo, núcleo com cromatina descondensada e nucléolo evidente (Fig. 1). Grupos tratados: apresentaram alterações celulares (Figs. 2 – 8) acentuadas conforme o aumento das concentrações experimentais, confirmando o alto potencial tóxico do herbicida Roundup® (Quadro 1).

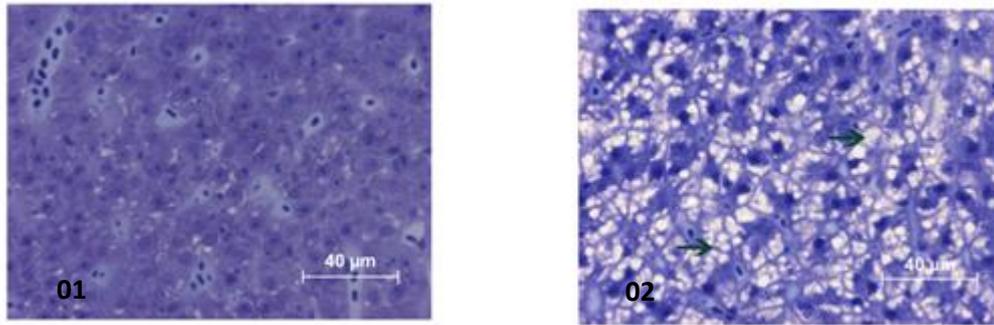


Fig. 1: Fotomicrografia do grupo controle, mostrando a disposição geral dos hepatócitos (Azul de Toluidina pH 8,5; Barra = 40 µm). **Fig. 2:** Secção do fígado com hepatócitos parcialmente vacuolizados (setas finas) quando tratados por 15µL/L de Roundup® (Azul de Toluidina pH 8,5; Barra = 40 µm).

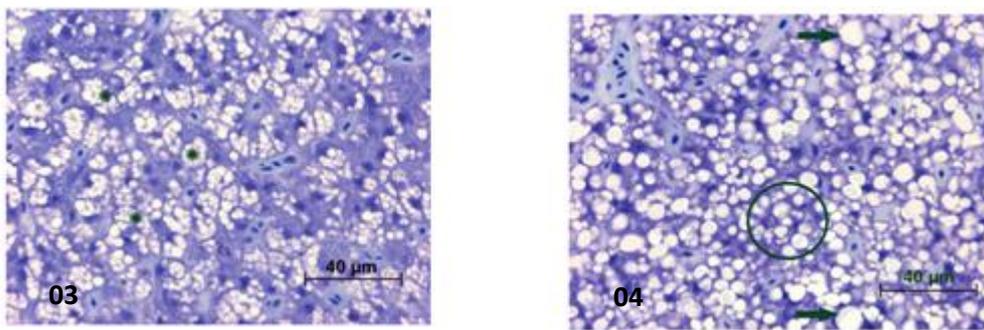


Fig. 3: Parênquima hepático exposto à concentração de 25µL/L de Roundup® com intensa vacuolização celular (estrelas) (Azul de Toluidina pH 8,5; Barra = 40 µm). **Fig. 4:** Região intermediária do fígado com hepatócitos extremamente vacuolizados (setas largas) e presença de vesículas lipídicas (círculo) que são volumosas e por vezes ocupam todo o citoplasma celular expostos em 35µL/L de Roundup® (Azul de Toluidina pH 8,5; Barra = 40 µm).

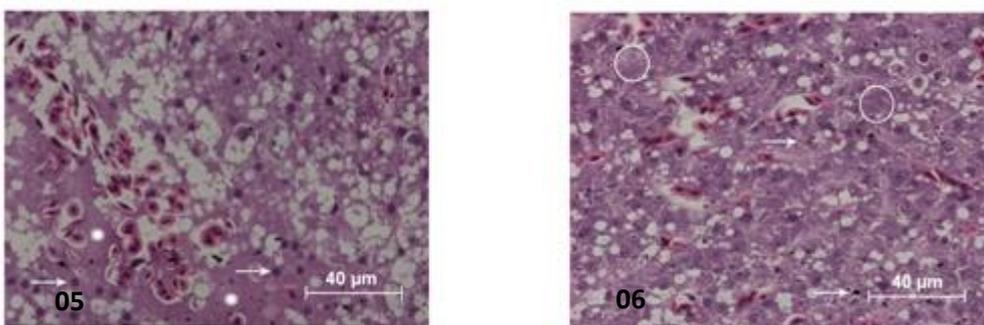


Fig. 5: A fibrose (estrelas) é uma reação observada em várias regiões do fígado de animais expostos a 25µL/L de Roundup®, além da presença de hepatócitos com núcleos picnóticos bem evidentes (setas finas brancas) como demonstrado na fotomicrografia (HE; Barra = 40 µm). **Fig. 6:** A necrose extensa envolvendo vários grupos de hepatócitos (círculos brancos) em material exposto a 25µL/L de Roundup® apresentando hemosiderina (setas finas brancas) distribuída no fígado (HE; Barra = 40 µm).

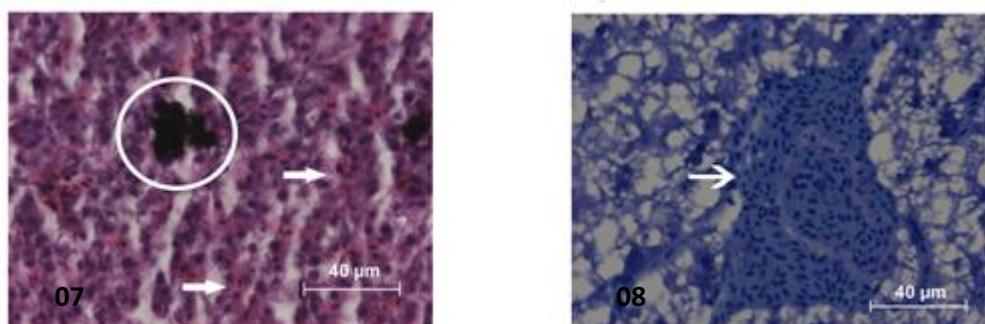


Fig. 7: Nas proximidades de vasos são encontrados melanomacrófagos (círculo) em animais expostos a 15µL/L de Roundup® e evidentes focos hemorrágicos observados (setas largas brancas) (HE; Barra = 40 µm). **Fig. 8:** Nota-se na fotomicrografia aumento da distribuição de hemácias no interior dos vasos, por isso estes estão congestionados de sangue (seta) nos grupos 15µL/L de Roundup® (Azul de Toluidina pH 8,5; Barra = 40 µm).

Quadro 1- Resultado das alterações celulares e teciduais - grupos tratados.

Alterações celulares \ Concentrações experimentais	15µL/L	25µL/L	35µL/L
Vacuolização	+	++	+++
Inclusões lipídicas	+	++	+++
Vascularização intensa	+	++	+++
Focos hemorrágicos	+	++	+++
Melano-macrófago	+	++	+++
Foco eosinofílico	+	++	++
Núcleos picnóticos	+	++	+++
Fibrose	-	+	+
Infiltrado leucocitário	-	+	+
Necrose	-	++	+++

Legenda: (-) ausente; (+) leve, < 25% das secções; (++) moderado, 25-50% das secções; (+++) severo, > 50% das secções.

Diante das reações observadas no órgão estudado podem-se classificar as respostas celulares e teciduais como de Classe I quando houve modificações suaves que marcavam uma resposta celular e tecidual mais tênue, é o caso observado na exposição à concentração 15 µl/L. Classe II quando as alterações celulares e teciduais já caracterizavam uma ação tóxica mais intensa, com comprometimento parcial de certas regiões celulares e teciduais o que foi observado em fígados de animais expostos a 25 e 35 µl/L e, por fim aqueles de Classe III, nos quais a severidade dos casos torna irreversíveis os danos celulares e teciduais e neste caso os animais vão a óbito como na concentração de 35 µl/L.

Análise histoquímica

As células do fígado dos grupos controle e 15 µl/L apresentaram reatividade positiva e uniforme ao PAS. Os hepatócitos do grupo 25 µl/L tinham citoplasma menos homogêneo e as reações positivas foram esparsas, uma vez que as células estavam muito vacuolizadas. Foram observadas regiões sem a marcação específica e com formação de espaços intracelulares que se acentuaram no grupo de 35 µl/L.

Para todos os grupos foi notada uma reação positiva ao PAS com amilase salivar, confirmando a presença de glicogênio no citoplasma dos hepatócitos.

A reação de Feulgen usada para identificação de material genético indicou positividade, apenas no grupo 35 µl/L, com a presença de micronúcleo evidente ao longo do tecido hepático.

DISCUSSÃO

O uso do peixe *Poecilia vivipara* para o presente estudo, é justificado, por apresentar moderada sensibilidade, ter alta taxa de fecundidade e reprodução, ser nativo, de pequeno porte e fácil manutenção nos aquários experimentais em pequenos espaços. Tais características permitem ampliar o espectro de informações importantes sobre o efeito do Roundup[®] no peixe, onde foram observadas respostas morfológicas satisfatórias nos ensaios toxicológicos.

A concentração letal média (CL50, 96h) é um dado preliminar que oferece uma avaliação acerca da toxicidade de um agrotóxico aos peixes e outros organismos. A CL50 (96h) do herbicida Roundup® para o peixe *Poecilia vivipara*, calculada neste trabalho, foi de 26,61 µl/L que corresponde a 9,5µg/L, concentração capaz de levar os peixes a morte. Para o CONAMA (Resolução nº 357, 2005) a concentração máxima permitida de glifosato em corpos d'água é de 65µg/L. Observa-se então, que o valor de CL50 encontrado para o espécime testado neste trabalho é muito aquém do permitido pela legislação ambiental atual. Embora sabe-se que, não é liberado nos corpos d'água e na lavoura o glifosato *in natura* e sim ele associado ao agroquímico como um todo que é o Roundup®, o qual além do glifosato possui em sua formulação o surfactante, para o qual estudos de Cox, (1998) relatam ser muito mais tóxico que o próprio glifosato. Contudo, os dados laboratoriais apresentados buscaram avaliar como este composto que é largamente utilizado na agricultura brasileira e mundial, poderia atuar em tecidos e células de animais aquáticos, se ele atingisse mananciais próximos de lavouras.

Apesar de ter se apresentado como componente tóxico, pelas informações contidas no rótulo do produto, o Roundup® foi caracterizado como de classe toxicológica IV, sendo considerado pouco tóxico, embora os resultados encontrados neste estudo indiquem alta toxicidade do mesmo para o modelo-teste (guaru). Com o intuito de se averiguar e comparar as alterações promovidas pelo Roundup® nos hepatócitos, foi de suma importância o conhecimento da morfofisiologia deste órgão.

No fígado dos animais do grupo controle, ou seja, não exposto ao Roundup® averigou-se o aspecto regular dos hepatócitos, confirmando o seu padrão de normalidade descrito também para diversas espécies tais como: *Hoplias malabaricus* (Lemes; Braccini, 2004), *H. lacerdae* (Cruz *et al.*, 2005), *Oreochromis niloticus* (Vicentini *et al.*, 2005) e *Oligosarcus jenynsii* (Petcoff *et al.*, 2006), *Poecilia vivipara* (Vigário; Sabóia-Morais, 2014). Nestes o fígado é caracterizado por dividir-se em lóbulos irregulares, com os hepatócitos apresentando formas hexagonais e segundo Rocha *et al.* (1997), se diferenciando entre espécies de acordo com a idade, o sexo, a nutrição e os aspectos sazonais.

Para os espécimes adultos usados neste trabalho, a distribuição típica dos hepatócitos observada no grupo não tratado com o herbicida é descrita com uma organização cordonal ao redor dos sinusóides que se irradia de uma veia central. Estes dados estão em consonância com os descritos por Petcoff *et al.* (2006) para a espécie *Oligosarcus jenynsii*. Essas características morfológicas do fígado do guaru são indicativas do estado de bem estar do peixe nas condições de laboratório.

Os hepatócitos dos guarus se apresentavam homogêneos, com citoplasma rico em lipídeos e glicogênio, e com grande núcleo esférico, central ou sub-central, contendo cromatina frouxa e nucléolo evidente. Por vezes observou-se mais de um nucléolo por núcleo e hepatócitos binucleados, tal como foi descrito para *O. niloticus* por Figueiredo – Fernandes *et al.* (2007). O comportamento das células supracitadas que constituem a estrutura hepática do guaru foi analisado quando os animais foram expostos a concentrações de Roundup®. Por isso, estudos que identifiquem as reações teciduais e celulares frente a agentes agressores podem ser utilizados como parâmetro para identificação e controle de qualidade do meio ambiente.

Os estudos e as análises realizados neste trabalho sugerem uma relação positiva entre a exposição do peixe *Poecilia vivipara* ao herbicida Roundup® e a ocorrência de alterações histopatológicas no fígado deste animal. Os dados expostos por Szarek *et al.* (2000), confirmam também que após exposição de *Cyprinus carpio* ao Roundup®, puderam verificar alterações histopatológicas no fígado. Portanto, o Roundup® seria o agente interveniente das respostas celulares e teciduais adversas verificadas em diferentes espécies.

O fígado de peixes, como de outros animais, apresenta uma função ímpar, pois é o principal órgão com ação detoxificante nos vertebrados. Pode metabolizar ou acumular substâncias tóxicas, a fim de impedir que outros órgãos mais vulneráveis sejam atingidos (Matos *et al.*, 2007). Porém devido a sua função, esse órgão também é alvo da ação tóxica das substâncias e, sofre várias alterações morfológicas e fisiológicas, que poderão inclusive prejudicar sua função vital caso a exposição seja feita a agente de efeito cumulativo. Ou mesmo, seja sujeito a uma exposição crônica, ou ainda a substâncias que possam promover em exposição

aguda, efeitos tão tóxicos, com modificações irreversíveis que possam levar o animal a morte por alterações irrecuperáveis das células e dos tecidos.

Por isso, o fígado é caracterizado como um órgão biomarcador da poluição ambiental, pois os hepatócitos são considerados o primeiro alvo da toxicidade de uma substância, e neles é possível identificar diversas alterações, quando o mesmo encontra-se em situações de estresses (Zelikoff, 1998).

A histoarquitetura dos hepatócitos de guaru mostrou-se extremamente alterada nos grupos de 25 e 35µl/L, isto é, houve hipertrofia dos hepatócitos e mudança na localização dos mesmos. As lesões histopatológicas analisadas no fígado de *Prochilodus lineatus* expostos ao inseticida Dipterec 500[®] (Trichlorfon) confirmaram a migração lateral do núcleo dos hepatócitos (Rodrigues *et al.*, 2001). E em *Oreochromis niloticus* tratados com herbicida diquate verificou-se também a hipertrofia dos hepatócitos (Henares *et al.*, 2008). Os dados expostos dialogam com estudo em *Poecilia reticulata* exposto ao glifosato (Souza, *et al.*, 2013a).

Entre as diversas alterações diagnosticadas durante toda experimentação com guarus, a vacuolização dos hepatócitos estava presente em todos os grupos tratados, mostrando-se mais evidente nos grupos de 25 e 35µl/L. De acordo com Santos *et al.* (2004), Blazer *et al.* (2007), Dyk *et al.* (2007) esta resposta celular sugere a presença de regiões com acúmulo de inclusões lipídicas e glicogênio, ou a combinação de agentes tóxicos com os lipídios intracitoplasmáticos. Por isso, indica-se que um pré-distúrbio na fisiologia do animal, poderá levar a bioacumulação dos produtos químicos no tecido e como consequência a dificuldade de degradação destes agentes agressores.

É válido ressaltar que houve correlação entre o aumento do processo de vacuolização dos hepatócitos dos guarus em relação aos valores crescentes de concentrações do herbicida testado. E este mesmo resultado é também relatado por Matos *et al.* (2007) ao expor *Oreochromis niloticus* ao pesticida carbaryl e por Dyk *et al.* (2007) que avaliou as mudanças histológicas do fígado de *O. mossambicus* após a exposição em cádmio e zinco. Expressando então, que a resposta celular pode ter relação direta com o tempo de exposição e com os níveis de doses ou concentrações utilizadas para um dado poluente ambiental.

A vasodilatação observada nos sinusóides e vasos de maior calibre associada com aumento do número de hemáceas no interior dos vasos sanguíneos, a congestão dos sinusóides e a presença de focos hemorrágicos foi observado em todos os grupos experimentais dos guarus. Estes dados estão em consonância com os obtidos por Albinati *et al.* (2007) que realizaram a exposição aguda de *Leporinus macrocephalus* ao herbicida Roundup[®]. Estas alterações poderão estar relacionadas às lesões no tecido hepático ou a uma reação patológica (Santos *et al.*, 2004). Isto significa um alto grau de comprometimento tecidual em virtude do rompimento dos capilares e conseqüentemente da migração dos eritrócitos para diversas regiões entre os hepatócitos.

Um grupo especial de macrófagos, os melano-macrófagos (MMCs), variam em tamanho e número dependendo da espécie e da saúde do peixe (Agius; Roberts, 2003). Estas são células que podem sofrer mudanças adaptativas em condições variadas tais como alterações climáticas sazonais ou exposição à xenobióticos (Grassi *et al.*, 2007).

Os MMCs foram predominantemente encontrados nos grupos de 25 e 35µl/L de exposição. Estes dados são semelhantes aos descritos por Raldúa *et al.* (2007) ao analisar em *Barbus graellsii* e *Alburnus alburnus* a agressividade do metil-mercúrio sobre hepatócitos destes animais. Lemes e Braccini (2004) sugerem que os MMCs estejam envolvidos no armazenamento, realocação e reciclagem de componentes férricos de eritrócitos danificados. Assim, pode-se inferir que devido a crescente vasodilatação encontrada nos grupos expostos às concentrações de 25 e 35µl/L de Roundup[®], houve como conseqüência a alteração e comprometimento de vários eritrócitos o que provocou o aumento dos MMCs e a diminuição da hemossiderina. Sendo este último presente no grupo de 15µl/L de exposição.

Notou-se a presença de focos eosinofílicos em animais expostos a 15µl/L, sendo estes mais evidentes nos grupos de 25 e 35µl/L. Focos eosinofílicos são áreas arredondadas e irregulares, provenientes do aumento do estado de eosinofilia nas células quando comparadas a hepatócitos vizinhos. A presença desses focos é justificada como um estágio pré-neoplásico reconhecidos em fígado de peixes (Blazer *et al.*, 2007). Ao se considerar esta reação, supõe-se que o efeito citotóxico

do Roundup[®] nas concentrações citadas seja tão intenso que em exposição crônica possa levar ao desenvolvimento de carcinoma.

Em todas as concentrações testadas no presente estudo foi possível perceber a presença de núcleos picnóticos. Em pesquisas realizadas com *Hoplias malabaricus* (traíra) frente à privação alimentar, averigou-se que os hepatócitos com alterações nucleares caracterizadas como cariopicnose, são de fato, resultantes da atrofia nuclear (Rios *et al.*, 2007). Diante disto, é possível concluir que estas reações nucleares em guarus e em outros modelos animais são um indicativo da diminuição da atividade metabólica dessas células, que acabam levando à sua completa ociosidade. Reações promotoras da diminuição metabólica seriam respostas a agentes tóxicos em virtude da degradação dos componentes celulares, constituindo-se então como uma das primeiras manifestações celulares irreversíveis.

O aumento da deposição de fibras colágenas foi detectado nos grupos tratados de 25 e 35µl/L. Este estado de fibrose hepática foi verificado em uma diversidade de organismos, dentre eles suíno, perus e outros ao serem expostos às doses letais de aflatoxinas (Cullen; Newberne, 1994). Infere-se que tal característica esteja correlacionada com o processo de proliferação dos hepatócitos e dos ductos biliares (Grassi *et al.*, 2007). Portanto, tal dado confirma o estado de anormalidade tecidual presente no parênquima hepático do organismo do guaru frente ao herbicida Roundup[®].

Nas concentrações de 25 e 35µl/L a estrutura hepática apresentou no interior dos sinusóides um infiltrado leucocitário. Segundo Noreña-Barroso *et al.* (2004), Santos *et al.* (2004); tal resposta sugere a ocorrência de um possível processo inflamatório. E então serve como um dos parâmetros de estimativa do nível de estresse celular que uma espécie apresente quando exposta a um agente tóxico.

A evolução do processo de necrose foi registrada nos grupos de 25 e 35µl/L e pode levar à lesão celular irreversível e conseqüentemente a morte celular. Esta anormalidade é considerada uma alteração qualitativa importantíssima e de melhor representatividade, quando comparada às estruturas celulares do grupo controle (Figueiredo – Fernandes *et al.*, 2006). Isto é, os focos necróticos em um tecido representam um estado de afecção desordenado e ocorrem quando as células estão

aparentemente lisadas, faltando quase toda sua organização interna. Por isso, ao se detectar um acentuado processo de necrose tecidual, supõe-se que houve uma perda de eficiência desempenhada pelo fígado e conseqüentemente isso pode levar a morte do animal.

A maior parte dessas alterações foi classificada conforme o fator de importância (FI), para permitir o conhecimento prévio de tais situações encontradas no modelo biológico estudado em *Hoplias malabaricus* (traíra) segundo Rios *et al.* (2007). Considera-se com baixo FI a mudança na histoarquitetura dos hepatócitos e dos ductos biliares, vacuolização, depósitos intracelulares e presença de melanomacrófagos. Como intermediário FI tem sido diagnosticado a presença dos núcleos picnóticos, fibrose e infiltração leucocitária. E por fim, com alto FI a necrose. É possível estabelecer estes parâmetros para as reações observadas no fígado do guaru quando expostos as concentrações crescentes de Roundup[®]. Uma vez que, quando a concentração aumentava, tornavam-se mais intensas e mais severas as respostas celulares e teciduais. O reflexo disto se dá também nas análises dos componentes químicos que constituem as células.

Por meio da análise dos hepatócitos utilizando o PAS e PAS + amilase salivar tanto o grupo controle quanto os tratados apresentaram positividade, indicando a presença de glicoproteínas neutras e glicogênio, respectivamente. Estudos histoquímicos também foram realizados por Domeneghini *et al.* (2005) em tubo digestivo de *Anguilla anguilla* L. para analisarem os glicoconjugados provenientes da secreção de células caliciformes. Kozaric *et al.* (2008) estudaram o desenvolvimento do trato digestivo na larva de bagre (*Silurus glanis* L.) para tanto, também utilizaram a identificação de glicoconjugados por meio da metodologia citada. Assim deduz-se que esta metodologia clássica é adequada para se detectar presença e alteração de glicoconjugados em diversas células, entre elas os hepatócitos.

Micronúcleos evidenciados no grupo de 35µl/L revelaram uma ação genotóxica do Roundup[®] para o peixe estudado. Essas estruturas nucleares podem variar em função da época, do tipo de poluente envolvido e entre as espécies de peixes consideradas (Palhares; Grisólia, 2002). Segundo Grisólia (2002), ao testar e comparar a freqüência de micronúcleos em eritrócitos de peixes e camundongos

expostos a ciclofosfamida, mitomicina C e vários pesticidas dentre eles o Roundup[®], pode-se perceber um alto grau de características mutagênicas nos peixes em relação aos camundongos. Assim, os estudos têm mostrado que os testes de micronúcleos em peixes são eficientes para detecção da sensibilidade destes animais quando expostos aos poluentes aquáticos.

Nos peixes, os testes de micronúcleo são geralmente baseados em eritrócitos, embora as brânquias e o fígado também tenham sido utilizados (Palhares; Grisólia, 2002; Souza, *et al.*, 2013b). Neste estudo então, foi identificada ao longo do tecido hepático a presença dessas deformidades nucleares, sugerindo então o início de formação tumoral no órgão estudado. Dessa forma, propõe-se que os testes de micronúcleos em peixes sejam efetuados diversas vezes em um dado tratamento, a fim de mensurar a frequência de evolução e o prognóstico dos mesmos.

Pelas avaliações histopatológica e histoquímica do fígado de *Poecilia vivipara*, percebe-se que as alterações encontradas estão relacionadas à ação do herbicida Roundup[®]. Por isso, esse órgão foi considerado como alvo principal dos contaminantes e poluentes aquáticos.

CONCLUSÃO

A liberação e o uso indiscriminado de agrotóxicos e a conseqüente contaminação de mananciais, interferem na sobrevivência e bem-estar dos peixes. Esse estudo qualifica o guaru (*P. vivipara*) como biomonitor das alterações físico-químicas em ambientes aquáticos.

REFERÊNCIAS

- AGIUS, C; ROBERTS, R.J. (2003). Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *Journal of Fish Disease*. 26:489-509.
- AGUIAR, D.C.R; HONRADO, H.R.R; CORREIA, R.B. Intoxicação em peixes por pesticidas utilizados na agricultura. Lisboa: FMV-UTL, 2001.

ALBINATI, A. C. L; MOREIRA, E. L. T; ALBINATI, R. C. B; CARVALHO, J.V; SANTOS, G. B; LIRA, A. D. (2007). Toxicidade aguda do herbicida Roundup® para piaçu (*Leporinus macrocephalus*). Revista Brasileira de Saúde Prod. An. 8:184-192.

AMARANTE, O.P.J; SANTOS, T.C.R; BRITO, N.M; RIBEIRO M.L. (2002). Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação. Química Nova. 25:254-257.

AU, D.W.T. (2004). The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. Marine Pollution Bulletin. 48:817-834.

BARBOSA, A.S; NASCIMENTO, I.V. (1994). Cultura e ambiente em áreas do sudoeste de Goiás. In: Pinto, M.N. (Ed.), Cerrado: caracterização, ocupação e perspectiva, 2ª ed. Editora da Universidade de Brasília, Brasília – DF, pp. 75-108.

BLAZER, V.S; FOURNIE, J.W; WOLF, J.C; WOLFE, M.J. (2007). Manual for the Microscopic Diagnosis of Proliferative Liver and Skin lesions in the Brown Bullhead (*Ameiurus nebulosus*). Disponível em: <http://www.pibpac.org/wp-content/uploads/2012/06/2007-Manual-for-the-Microscopic-Diagnosis-of-Proliferative-Liver-and-Skin-Lesions-in-Brown-Bullhead_Part1.pdf>. Acesso: 25 jan. 2008.

BOLIS, C.L; PICCOLELLA, M; DALLA VALLE, A.Z; RANKIN, J.C. (2001). Fish as model in pharmacological and biological research. Pharmacological Research. 44: 265-280.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2006. **Resolução nº357** de 17 de março de **2005**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama>>. Acesso: 08 julh. 2007.

COX, C. Glyphosate Herbicide Factsheet. 2004. Journal of Pesticides a Reform, 24:10-15.

CULLEN, J.M; NEWBERNE, P.M. (1994). Acute hepatotoxicity of aflatoxins. In: David, E., John, G. (Eds.), The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance. Academic Press, Inc, pp. 3-26.

CRUZ, C; FUJIMOTO, R.Y; LUZ, R.K; PORTELLA, M.C; MARTINS, M.L. (2005). Toxicidade aguda e histopatologia do fígado de larvas de trairão (*Hoplias lacerdae*) expostas á solução aquosa de formaldeído a 10%. Pesticidas: revista ecotoxicol. e meio ambiente. 15:21-28.

DOMENEGHINIA, C; ARRIGHIA, S; RADAELLIB, G; BOSIA, G; VEGGETTIC, A. (2005). Histochemical analysis of glycoconjugate secretion in the alimentary canal of *Anguilla anguilla* L. Acta histochemica. 106:477-487.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A; FERREIRA-CARDOSO, J; GARCIA-SANTOS, S; MONTEIRO, S.M; CARROLA, J; MATOS, P; FONTAÍNHAS-FERENDAS,

A. (2007). Histopatological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. *Pesq. Vet. Bras.* 27:103-109.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A; MONTEIRO, R; REIS-HENRIQUES, A; ROCHA, E. (2006). Effects of the fungicide Mancozeb on Liver Structure of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*: assessment and Quantification of Induced Cytological Changes Using Qualitative Histopathology and the Stereological Point-Sampled Intercept Method. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 76:249-255.

GRASSI, T.F; PIRES, P.W; BARBISAN, L.F; PAI-SILVA, M.D; SAID, R.A; CAMARGO, J.L. (2007). Liver lesions produced by aflatoxins in *Rana catesbeiana* (bullfrog). *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 68: 71-78.

GRISOLIA, C.K. (2002). A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. *Mutation Research.* 518:145-150.

HENARES, M.N.P; CRUZ, C; GOMES, G.R. (2008). Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do herbicida diquat na brânquia e no fígado da tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Acta Sci. Biol. Sci. Maringá.* 30:77-82.

JACQUES, A.V.A. (2003). A queima das pastagens naturais: efeito sobre o solo e a vegetação. *Ciência Rural.* 33:177-181.

KOZARIC, Z; KUZIR, S; PETRINEC, Z; GJURCEVIC, E; BOZIC, M. (2008). The development of the digestive tract in larval european catfish (*Silurus glanis* L.). *Anat. Histol. Embryol.* 37:141-146.

LEMES, A. S; BRACCINI, M. C. (2004). Descrição e Análise Histológica das Glândulas Anexas do Trato Digestório de *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1794), (teleostei, erythrinidae). *Revista Biodiversidade Pampeana.* 2:33-41.

MATOS, P; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A; PEIXOTO, F; CARROLA, J; ROCHA, E. (2007). Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to carbaryl. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 89:73-80.

NORENA-BARROSO, E; SIMÁ-ÁLVAREZ, R; GOLD-BOUCHOT, G; ZAPATA-PÉREZ, O. (2004). Persistent organic pollutants and histological lesions in Mayan catfish *Ariopsis assimilis* from the Bay of Chetumal, México. *Mar. Environ. Res.* 48:263-269.

PALHARES, D; GRISÓLIA, C.K. (2002). Comparison between the micronucleus frequencies of kidney and gill erythrocytes in tilapia fish, following mitomycin C treatment. *Genetics and Molecular Biology.* 25:281-284.

PETCOFF, G. M; DÍAZ, A. O; ESCALANT, A. H; GOLDEMBERG, L. (2006). Histology of the liver of *Oligosarcus jenynsii* (Ostariophysi, Characidae) from Los Padres Lake, Argentina. *Iheringia, Série Zool.* 96:205-208.

RÁLDUA, D; DIEZ, S; BAYONA, J.M; BARCELÓ, C. (2007). Mercury levels and liver pathology in feral fish living in the vicinity of a mercury cell chlor-alkali factory. *Chemosphere.* 66:1217-1225.

RIOS, F. S; DONATTI, L; FERNANDES, M. N; KALININ, A. L; RANTIN, F. T. (2007). Liver histopathology and accumulation of melano-macrophage centers in *Hoplias malabaricus* after long-term food deprivation and re-feeding. *Journal of Fish Biology.* 71:1393-1406.

ROCHA, E; MONTEIRO, R.A.F; PEREIRA, C.A. (1997). Liver of the brown trout, *Salmo trutta* (Teleostei, Salmonidae): a stereological study at light and electron microscopic levels. In: Petcoff, G.M., Díaz, A.O., Escalante, A.H., Goldemberg, A.L. (Ed.), *The Anatomical Record*, pp. 317-328.

RODRIGUES,. F.A.C;WEBER, O.L.S; DORES, E.F.G.C; KLAUTAU-GUIMARÃES, M.N; TIDON, R., GRISÓLIA, C.K. (2005). Ecogenotoxicologia dos agrotóxicos: Avaliação comparativa entre ecossistema agrícola e área de proteção ambiental. *Pesticidas: revista de ecotoxicol. e meio ambiente.* 15:73-84.

RODRIGUES, E.L; RANZANI-PAIVA, M.J.T; PACHECO, F.J; VEIGA, M.L. (2001). Histopathologic lesions in the liver of *Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae_ exposed to a sublethal concentration of the organophosphate insecticide Dipterex 500[®](Trichlorfon). *Acta Scientiarum.* 23:503-505.

RUEGG, E.F; PUGA, F.R; SOUZA, M.C.M; ÚNGARO, M.T.S; FERREIRA, M.S; YOKOMIZO, Y; ALMEIDA, W.F. (1987). Impactos dos agrotóxicos sobre o ambiente e a saúde. In: MARTINE, G., GARCIA, R.C. (Ed.), *Os impactos sociais da modernização agrícola.* São Paulo: Caetés.

SABÓIA-MORAIS, S.M.T; SANTOS, S.C; CARNEIRO, C.E.A; SILVA, R.M; PIRES, D. R; ARAÚJO, E.J.A; MORAIS, J.O.R. (1999). Evaluation of the effects of extracts of Cerrado plants of gill cells of guppies *Poecilia vivipara* used as biomonitors. *Acta Microsc.* 8:351-358.

SANTOS, A. A; RANZANI-PAIVA, M. J. T; FELIZARDO, N. N; RODRIGUES, E. L. (2004). Análise histopatológica de fígado de Tilápia-do Nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. *B. Inst. Pesca.* 30:141-145.

SILVEIRA, P.M; SILVA, O.F; STONE, L. F. (2001). Efeitos do preparo do solo, plantio direto e de rotações de cultura sobre o rendimento e a economicidade do feijoeiro irrigado. *Rev. Agropecuária brasileira.* 36:257-265.

- SOARES, W.L; PORTO, M.F. (2007). Atividade agrícola e externalidade ambiental: Uma análise à partir do uso de agrotóxicos no cerrado. *Rev. Ciências e Saúde Coletiva*. 12: 131-143.
- SOUZA, F. J; PIRES, F. S; GRISÓLIA, C. K; SABÓIA-MORAIS, S. M. T. (2013a). Toxicological effects of a glyphosate-based formulation on the liver of *Poecilia reticulata*. *Current Topics in Toxicology*, v. 9, p. 81-91, 2013.
- SOUZA, F. J; SOUSA, CC . N; DA SILVA, C. C; SABÓIA-MORAIS, S. M. T; GRISÓLIA, C. K, (2013b). Mutagenicity and Genotoxicity in gill erythrocyte cells of *Poecilia Reticulata* exposed to a Glyphosate Formulation. *Bulletin Of Environmental Contamination and Toxicology*. 91:583-587.
- SPADOTTO, C.A. Uso de agrotóxicos no Brasil e riscos ambientais. Viçosa, MG: SBSC: UFV, DPS, 1996. p. 855-865.
- STONE, L.F; MOREIRA, J.A.A. (2000). Efeito de sistemas de preparo do solo no uso da água e na produtividade de feijoeiro. *Rev. Pesquisa Agropecuária brasileira*. 35:835-841.
- Szarek, J; Siwicki, A; Andrejewska, A; Terch-Majeswska, E; Banaszkiwcz, T. (2000). EFFECTS OF THE HERBICIDE ROUNDUP ON THE ULTRASTRUCTURAL PATTERN OF HEPATOCYTES IN CARP (CYPRINUS CARPIO). *MARINE ENVIRONMENTAL RESEARCH*. 50:263-66.
- TSUI, M.T.K; CHU, L.M. (2003). Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere*. 52:1189-1197.
- VAN DYK, J.C; PIETERSE, G.M; VAN VUREN, J.H.J. (2007). Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safet*. 66:432-440.
- VEIGA, M.M. (2007). Agrotóxicos: eficiência econômica e injustiça socioambiental. *Ciências & Saúde Coletiva*. 12:145-152.
- VICENTINI, C. A; FRANCESCHINI-VICENTINI, I. B; BOMBONATO, M. T. S; BERTOLUCCI, B; LIMA, S. G., SANTOS, A. S. (2005). Morphological Study of the Liver in the Teleost *Oreochromis niloticus*. *Internacional Journal of Morphology*. 23:211-216.
- VIGÁRIO, A. F; SABÓIA-MORAIS, S. M. T. (2014) Effects of the 2,4-D herbicide on gills epithelia and liver of the fish *Poecilia vivipara*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34: 232-239.
- WINKALER, E.U; SILVA A.G; GALINDO, H.C; MARTINEZ, C.B.R. (2001). Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Scientarium*. 23:507-514.

ZELIKOFF, J.T. (1998). Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian setinel species: predictive value form mammals? *Toxicology*. 129:63-71.

**EFEITOS COMPORTAMENTAIS, HISTOPATOLÓGICOS E
HISTOQUÍMICOS NAS BRÂNQUIAS DO PEIXE *Poecilia vivipara* APÓS
EXPOSIÇÃO AGUDA AO HERBICIDA ROUNDUP®**

*Joana Cristina Neves de Menezes Faria*¹

*José Carlos Seraphin*²

*Thiago Lopes Rocha*³

*Simone Maria Teixeira de Sabóia-Morais*³

INTRODUÇÃO

O comércio mundial de agrotóxicos cresce anualmente, tendo como grande problemática a poluição ambiental. O uso crescente e indiscriminado desses produtos tem gerado preocupações quanto ao lançamento inadequado desses compostos no ambiente (Luchini, 2003; Armas *et al.*, 2005). Os agrotóxicos possuem caráter tóxico, uma vez que ao serem manipulados de forma errônea podem trazer graves conseqüências ao homem e aos organismos vivos.

Os resíduos de agrotóxicos tendem a ser um perigo para todos os ecossistemas, pois os processos físicos, químicos e biológicos utilizados no tratamento desses resíduos nem sempre são eficazes. Ao contrário, algumas vezes, os produtos de degradação dessas substâncias podem tornar-se mais tóxicos que os compostos originais (Luchini, 2003). Nesse sentido, observa-se que o efeito cumulativo destas substâncias causa reações nocivas dentro da cadeia alimentar, da teia alimentar e acaba por envolver ecossistemas e, às vezes, os biomas em complexa rede de impacto ambiental.

¹ Docente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - Campus Aparecida de Goiânia. Mestre em Biologia, área de Concentração: Biologia Celular e Molecular (UFG).

² Instituto de Matemática e Estatística - Universidade Federal de Goiás (IME-UFG)

³ Laboratório de Comportamento Celular, Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Goiás. (LCC-UFG).

Dentre os variados tipos de ecossistemas, o meio aquático destaca-se como ambiente extremamente vulnerável a diversos contaminantes. A água constitui-se num dos elementos essenciais para a sobrevivência dos organismos. O fato da água estar contaminada por agrotóxicos indica que os demais elementos vivos e não-vivos do ecossistema também possam ser afetados por tais agentes poluentes (Santos; Banzatto, 1998).

A poluição dos sistemas aquáticos superficiais e subterrâneos por agrotóxicos tem crescido e gerado grandes preocupações entre os cientistas, principalmente quando a água é usada para consumo humano (Dores; Lamônica-Freire, 2001; Lourencetti *et al.*, 2005). Assim, torna-se necessário o monitoramento dos recursos hídricos, principalmente em locais próximos a regiões agrícolas e aqueles que constituem fontes primárias de água potável (Sanchez *et al.*, 2003).

Para tanto, a ecotoxicologia pode ser usada como fonte de dados significantes, que representam a base para o desenvolvimento de testes de toxicidade (Santos; Banzatto, 1998). Os ensaios de toxicidade aguda ou crônica são realizados em intervalos de tempos variados, podendo ser de curto ou longo período de tempo em relação ao ciclo de vida do espécime.

Os testes de toxicidade, que utilizam peixes como biomonitores, surgiram nas décadas de 20 e 30, a fim de melhorar o entendimento sobre os efeitos dos agentes químicos nos representantes de vida aquática. Os testes de toxicidade aguda, por exemplo, simulam em laboratório, uma condição ambiental na qual o organismo é exposto, durante um período máximo de 96 horas, as concentrações variadas de um agente tóxico (Machado, 1999). Além disso, é importante ressaltar que diversos estudos (Rodrigues *et al.*, 2001, Barse *et al.*, 2006, Van Dyk *et al.*, 2007) mostram a importância dos ensaios toxicológicos tanto nas análises histopatológica quanto no diagnóstico macroscópico das desordens comportamentais no animal frente a poluentes ambientais.

Dentre a variedade de agentes poluentes presentes no meio ambiente, o herbicida Roundup[®], glifosato N-(fosfonometil) glicina, tem grande importância por possuir ampla utilização em todo o mundo, mais precisamente no Estado de Goiás, e ocupar lugar de destaque no mercado agropecuário. Caracteriza-se por ser um herbicida não seletivo, sistêmico, pós-emergente, utilizado no controle de ervas

daninhas anuais e perenes, monocotiledôneas ou dicotiledôneas, em culturas de arroz irrigado, cana-de-açúcar, café, citros, maçã, milho, pastagens, soja (plantio direto ou indireto), fumo, uva e soqueira entre várias outras culturas (Amarante-Júnior *et al.*, 2002).

Os peixes são os vertebrados mais antigos e diversos. Eles ocupam grande variedade de habitats, tanto em água salgada quanto em doce, vivem em vários tipos climáticos, desde o frio dos mares polares até os quentes recifes tropicais, e em profundidades diferenciadas, ou seja, em águas superficiais e nas profundezas dos oceanos, onde as pressões são intensas. Espécies de peixes têm sido utilizadas como modelos em experiências laboratoriais e de campo, pois são de fácil manuseio e se adaptam às condições de laboratório. Historicamente, as vantagens econômicas e a grande diversidade de espécies têm favorecido o uso dos peixes para os estudos nas diversas áreas biológicas (Dennis, 1989; Bolis *et al.*, 2001).

O *Poecilia vivipara* (Blochii; Schneider, 1801) é um peixe neotropical, eurialino, conhecido pelo nome vulgar de guaru, pertencente à ordem Cyprinodontiformes, à família Poeciliidae (Hrbek *et al.* 2007). Essa espécie possui fecundação interna realizada pela nadadeira anal modificada do macho, denominada de gonopódio, vive desde as condições de água doce até água salobra, e possui ampla distribuição geográfica (Rocha *et al.*, 2010).

O guaru é um peixe de pequeno porte, de fácil manipulação laboratorial, e possui moderada sensibilidade quando expostos as variações ambientais, tais como, impactos causados por metais pesados (Araújo *et al.*, 2001), por extratos de plantas do Cerrado (Silva *et al.* 2003) e pelo herbicida 2,4-D (Vigário; Sabóia-Morais, 2014) e glifosato (Rocha *et al.*, 2015). Nessas análises ecotoxicológicas, as brânquias destacam-se como órgãos-alvo para avaliação da poluição aquática (Zodrow *et al.*, 2004; Camargo; Martinez, 2007).

As brânquias são os primeiros órgãos afetados por poluentes, pois são pontos de contato direto do peixe com a água. Essas estruturas auxiliam na manutenção da homeostase, especialmente em aspectos relacionados à respiração, osmorregulação, equilíbrio iônico e excreção de compostos nitrogenados (Diaz *et al.*, 2005). Dentre as células que constituem o epitélio branquial, destacam-se as células ricas em mitocôndrias (CRMs), que realizam balanço iônico entre a água e o

plasma sanguíneo, e as células secretoras de muco (CMs), as quais têm importante papel na proteção contra patógenos e substâncias tóxicas (Sabóia-Morais *et al.* 1999, Araújo *et al.*, 2001).

Tendo em vista a grande poluição do ambiente aquático por muitos agrotóxicos, o presente trabalho visa estudar os efeitos da toxicidade aguda do herbicida Roundup® no comportamento animal e em células branquiais do peixe *Poecilia vivipara*. Tal estudo tem por finalidade averiguar as respostas comportamentais, celulares e teciduais das brânquias de peixes frente à poluição aquática por agrotóxicos, e gerar informações que poderão ser utilizadas, futuramente, na criação e na implementação de tecnologias e estratégias metodológicas que contribuam para maior qualidade de vida e conservação do meio ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e manutenção dos espécimes em cativeiro

Os modelos biológicos, utilizados na experimentação, foram obtidos na Piscicultura da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás (UFG) – Campus II (16° 35' 37" S e 49° 16' 50" W). Após o transporte dos espécimes para o Laboratório de Comportamento Celular (LCC/UFG), os peixes foram aclimatados por um período total de 72 horas em aquários de 40 litros, com controle da oxigenação, temperatura de 26 °C, amônia de zero (0) ppm e pH 6,9, com ciclo de 12 horas claro / 12 horas escuro, e alimentados uma vez ao dia com ração Alcon Guppies (Alcon Basic Ltda, Santa Catarina, Brasil).

Herbicida testado

O herbicida Roundup® (C₃H₈NO₅P) utilizado no teste toxicológico é fabricado pela Monsanto do Brasil S/A e registrado no Ministério da Agricultura e do Abastecimento sob o nº 898793. Neste trabalho, utilizou-se uma solução aquosa concentrada composta para o sal de isopropilaminada N-(fosfometil) glicina, numa concentração de 480g/L. Sendo que 360g/L dessa solução é o equivalente em

glifosato. O herbicida pertence à classe toxicológica IV, ou seja, esse agroquímico é considerado pouco tóxico.

Bioensaios

Os espécimes coletados aleatoriamente do tanque de manutenção foram divididos em quatro (4) grupos experimentais, contendo cinco (5) peixes adultos cada. A exposição aguda dos peixes foi realizada em 24 horas nas concentrações 0 (zero), 15 (53% CL50, 96h), 25 (94% CL50, 96h), e 35 (132% CL50 96h) µl/L do herbicida Roundup[®] por litro de água. O monitoramento das anormalidades comportamentais foi feito em intervalos de tempo, desde o tempo zero (início da exposição) e após 2, 4, 8, 12 e 24 horas, com intuito de identificar, por exames macroscópicos, as possíveis características anátomo-patológicas e o índice de mortalidade. As mudanças comportamentais nos peixes foram observadas segundo critérios estabelecidos pelo Laboratório de Comportamento Celular – ICB – UFG.

Preparação do material

Os animais, após a exposição aguda ao Roundup[®], foram mortos por decapitação. Os segundos e terceiros arcos branquiais foram dissecados, e parte das amostras foi fixada por imersão em formalina neutra e inclusa em paraplast. Cortes com 3 µm de espessura foram corados com hematoxilina e eosina (HE), e outras secções foram submetidas às seguintes reações histoquímicas para glicoconjugados: Periodic Acid Schiff (PAS), PAS + Amilase salivar (PAS + AM), PAS + Acetilação (PAS + Acet), PAS + Acetilação + Saponificação (PAS + Acet + Sap), Alcian Blue (AB) pH 2,5, AB + Metilação (AB + Met), AB + Metilação + Saponificação (AB + Met + Sap), e PAS + AB pH 2,5.

Um segundo conjunto formado pelos primeiros arcos branquiais de cada animal foi fixado por imersão em solução de Karnovsky e incluso em historesina, de acordo com as especificações do fabricante (LEICA). Após a obtenção de secções com 1 µm de espessura, o material foi corado com Azul de Toluidina pH

8,5 (AT). As lâminas de todos os procedimentos histológicos e histoquímicos foram analisadas e fotografadas no fotomicroscópio (Olympus-CH 30).

Todos os procedimentos descritos acima foram avaliados, aceitos e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Hospital das Clínicas, da Universidade Federal de Goiás, com parecer consubstanciado e protocolado sob nº 126.

RESULTADOS

Comportamento animal

Neste estudo avaliou-se o comportamento dos peixes *Poecilia vivipara*, submetidos às várias concentrações de Roundup®. As características do comportamento animal foram diagnosticadas segundo descrição de manifestações evidentes apresentadas pelos espécimes tratados (Quadro 1).

Quadro 1. Alterações comportamentais do *P. vivipara* exposto ao herbicida Roundup®

Desordens comportamentais	<i>Características evidentes observadas macroscopicamente durante o experimento.</i>
Irritabilidade	<i>Inicialmente o peixe se apresenta incomodado pela mudança do ambiente no qual foi inserido. Dessa forma, ele responde a tais alterações com mudança na sua coloração e com natação rápida e brusca.</i>
Perda de sentido, direção e balanço durante a natação	<i>Momento no qual o espécime possui natação desordenada, sem direção, sentido e equilíbrio.</i>
Falta de interesse pela ração	<i>Após algumas horas de exposição, o indivíduo recebe no seu recipiente experimental a ração, e nota-se que o mesmo não mostra nenhuma atração pelo alimento.</i>
Perda do mecanismo de fuga	<i>O animal perde a resposta de defesa, não reconhece a presença do perigo que o envolve. “Ao se colocar pinça ou bastões de vidro limpos na proximidade, o peixe permanece parado, sem responder a essa situação”.</i>
	<i>O peixe apresenta estado de letargia, ou seja, sem movimentação e com pupila dilatada, sabendo que esse processo pupilar pode ser</i>

Midríase	<i>produzido por alguns tóxicos.</i>
Choques contra a parede do aquário e evasão	<i>Por estar em estado de estresse causado pelo ambiente, ele tenta fugir, e dessa forma, ele se choca contra a parede do recipiente ou pula fora do aquário.</i>
Contorção	<i>Finalmente, o indivíduo apresenta alto grau de alteração, onde já não demonstra capacidade de movimentação, localiza-se apenas no fundo do aquário, e quando tenta se reerguer, fica rodando sem direção.</i>

Grupo controle: Peixes com comportamento não alterado, apresentando livre natação, socialização, alimentação regular. Todos os animais sobreviveram durante o experimento.

Grupo 15µl/L: Observou-se irritabilidade nos peixes, a partir de 4 horas até o final do período de exposição. Não houve mortalidade para esta concentração.

Grupo 25µl/L: Em 2 horas de exposição, os peixes apresentaram irritabilidade. Nos demais intervalos de tempo, as anormalidades tornaram-se mais evidentes, ou seja, houve perda de sentido, direção e balanço durante a natação, falta de interesse pela ração e perda do mecanismo de fuga. O grupo não apresentou casos de mortes, embora os peixes estivessem bastante alterados.

Grupos 35µl/L: Todas as respostas observadas na concentração anterior estiveram presentes, embora, no período de exposição desse grupo, foram detectados efeitos de anormalidade mais acentuados. Os espécimes apresentaram também comportamentos anormais de midríase, choques contra a parede do aquário e contorções. Esse grupo possuiu elevado índice de mortalidade durante o experimento, ou seja, após o período de 4 horas de exposição houve a morte de 4 peixes.

Durante todo período experimental, os animais foram observados a fim de averiguar alterações fisiológicas externas ou macroscópicas. Após 4 horas de exposição ao Roundup[®], todos os peixes encontravam-se estáticos, com pouca movimentação. Os peixes de 35µl/L apresentaram sinais de vasodilatação e hemorragia na nadadeira caudal. Além desses parâmetros, a análise anátomo-

patológica detectou vesícula biliar aumentada, na coloração verde escura nos peixes dos grupos de 25 e 35µl/L. Observou-se também intensa hemorragia nas brânquias do grupo de 35µl/L, alterações na pigmentação do tegumento dos peixes de todos os grupos experimentais e modificação da coloração hepática, com vasodilatação e aumento do seu tamanho.

Análise morfológica

Grupo controle: As brânquias assemelham-se às daquelas dos demais teleósteos, sendo constituídas por quatro arcos branquiais, situados de cada lado da cavidade opercular. Apresentaram morfologia geral íntegra, com regiões diferenciadas em rastelo, arco e filamentos, sendo que esses últimos eram formados por pequenas expansões numerosas, as lamelas branquiais (Fig. 1). O epitélio de revestimento do arco e das regiões interlamelares dos filamentos era do tipo pavimentoso estratificado, onde há presença de células indiferenciadas em contato com a superfície basal, células neuroepiteliais, células pavimentosas, células ricas em mitocôndrias (CRMs), células mucosas (CMs) do tipo I no ápice do filamento, do tipo II e III na região intermediária e base dos filamentos e do tipo IV no rastelo branquial. As lamelas mantiveram sua curvatura natural, e eram recobertas por epitélio pavimentoso simples. Os filamentos apresentaram disposições organizadas e possuíam ampla distribuição de vasos sanguíneos, formando um extenso eixo capilar no seu interior. O suporte das brânquias é feito por tecido osteóide. Já o eixo dos filamentos é mantido por cartilagem hialina. Nesse também se observou a presença de músculos estriados esqueléticos.

Grupos tratados: Os peixes apresentaram alterações celulares acentuadas (Figs 2 a 4) conforme o aumento das concentrações experimentais, afirmando o alto potencial tóxico do herbicida Roundup[®] (Quadro 2).

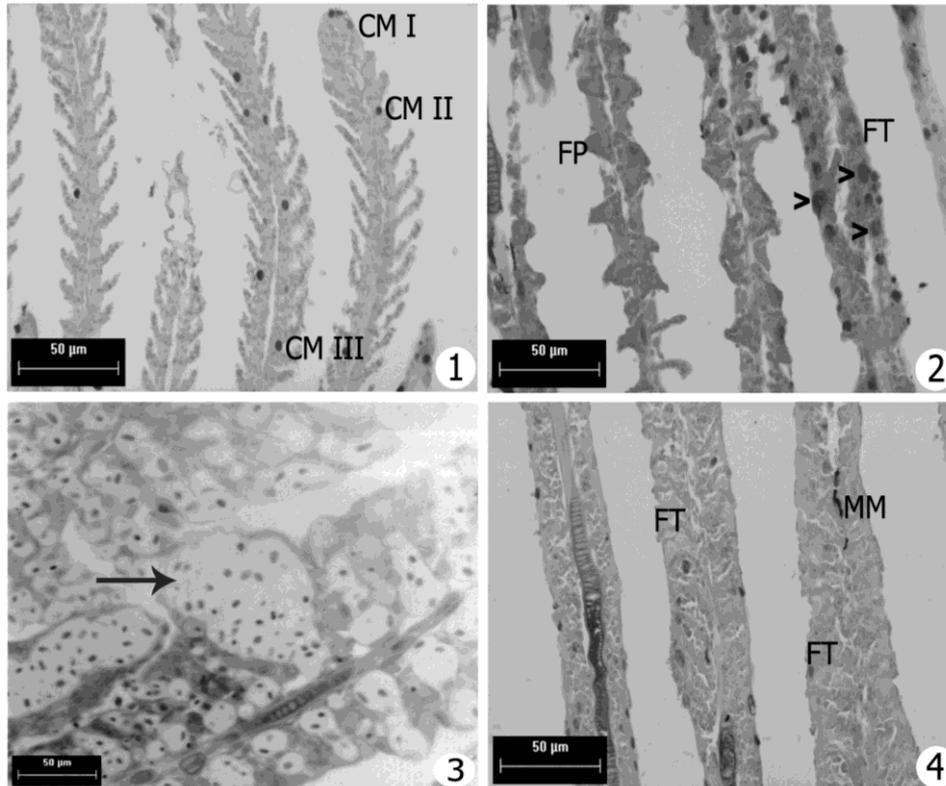


Fig.1: Fotomicrografia do grupo controle, mostrando a disposição geral das lamelas brânquias e evidente células mucosas dos tipos I, II e III (PAS; Barra = 20 µm). **Fig. 2:** Região intermediária da lamela branquial com fusão lamelar parcial (FP), fusão lamelar total (FT) e hipertrofia das células mucosas (cabeças de seta) expostos em 15µL/L de Roundup® (PAS; Barra = 20 µm). **Fig. 3:** Nota-se na fotomicrografia aumento da distribuição de hemácias no interior dos vasos entre as lamelas secundárias, por isso estes estão congestionados de sangue, representando um aneurisma lamelar (seta) no grupo de 25µL/L de Roundup® (Azul de Toluidina pH 8,5; Barra = 40 µm). **Fig. 4:** A fusão lamelar total extensa presente no filamento branquial (FT) em material exposto a 35µL/L de Roundup® apresentando melano-macrófagos (MM) distribuídos no interior da lamela primária (PAS + AB_{2,5}; Barra = 20 µm).

Quadro 2. Análise histopatológica das brânquias do *P. vivipara* exposto ao Roundup®.

Alterações histológicas / Grupos tratados	15µL/L	25µL/L	35µL/L
Espessura irregular do epitélio	+	++	+++
Presença de células mucosas nas lamelas secundárias	-	-	-
Excessiva secreção de muco	+	++	+++
Hipertrofia e hiperplasia do epitélio interlamelar	++	++	+++
Fusão parcial na base ou no topo das lamelas secundárias adjacentes	+	-	-

Fusão completa das lamelas secundárias adjacentes	+	++	+++
Alteração da curvatura das lamelas secundárias	++	++	+++
Dilatação na base da lamela secundária	++	+++	+
Dilatação e trombose no ápice das lamelas branquiais	+++	+++	+
Aneurisma lamelar	++	++	++
Proliferação de melano-macrófagos	+	++	++
Núcleo picnótico	-	-	-
Necrose	-	-	-

Legenda: (-) ausente; (+) leve, < 25% das secções; (++) moderado, 25-50% das secções; (+++) severo, > 50% das secções

Estudo histoquímico

Grupo controle: As análises histoquímicas clássicas para glicoconjugados indicaram que as CMs dos filamentos e rastelos branquiais são fortemente PAS reativas e A.B pH 2,5 fortemente positivas. Ao associar PAS + AB, foi possível verificar que há muitas CMs dos tipos I, II e III fortemente PAS reativas. Entretanto, observaram-se CMs do tipo IV em três períodos distintos de atividade funcional: o primeiro apenas fortemente PAS reativo; o segundo com moderada reação ao PAS + AB, corando-se de roxo; e o terceiro fracamente AB pH 2,5 positivo. Nas reações de PAS + AM, observou-se alta reatividade nas CMs dos tipos I, II e III, e reação moderada nas CMs do tipo IV.

Grupo tratado 15 µl/L: As CMs dos tipos II e III são fortemente PAS reativas, e as CMs dos tipos I e IV possuem reação moderada ao PAS. As CMs apresentaram moderada reatividade em todos os tipos celulares para AB pH 2,5. Nas reações de PAS + AB, foi possível verificar que há muitas CMs dos tipos I, II e III fortemente PAS reativas e outras moderadamente reativas ao PAS + AB, corando-se de roxo. As demais CMs do tipo I tinham reação moderada ao AB pH 2,5. A maioria das CMs do tipo IV foram apenas PAS reativas e as outras AB pH 2,5 positivas ou possuíam moderada reatividade aos dois métodos corando-se de

roxo. Ao associar PAS + AM verificou-se reação moderada para todos os tipos celulares.

Grupo tratado 25 µl/L: Os espécimes desse grupo apresentaram CMs hipertróficas, com moderada reação ao PAS. Sendo predominante a presença das CMs dos tipos I e IV. Todos os tipos de CMs apresentaram moderada reatividade para AB pH 2,5. Ao unir PAS + AB, foi possível verificar muitas CMs dos tipos I, II e III fortemente PAS reativas, uma parcela pequena das CMs dos tipos II e III possuíam reação moderada ao AB pH 2,5 e outras moderadamente reativas ao PAS + AB, corando-se de roxo. As CMs do tipo IV apresentaram reatividade semelhante ao grupo de 15 µl/L. Em PAS + AM todas as CMs possuíam uma reação moderada.

Grupo tratado 35 µl/L: Diagnosticou-se a presença de maior quantidade de CMs hipertróficas em relação aos grupos anteriores. Todos as CMs possuíam baixa reatividade ao PAS e uma reação moderada ao AB pH 2,5. Ao associar PAS + AB, verificou-se que a maioria das CMs dos tipos I, II e III são fracamente PAS reativas, e as demais ou possuíam reação fraca ao AB pH 2,5 ou tiveram moderada reatividade aos dois métodos, corando-se de roxo. Para essa reação as CMs do tipo IV não foram visualizadas. Nas reações de PAS + AM as CMs dos tipos I, II e III apresentaram baixa reatividade e as CMs dos tipos IV não foram visualizadas. Em todos os grupos experimentais, as reações de reversão foram positivas, confirmando as respostas celulares evidenciadas sem metilação e sem acetilação (Quadro 3).

Quadro 3: Análise histoquímica dos tipos de CMs branquiais do *P. vivipara* exposto a diferentes concentrações do Roundup®, expressas em µl/L.

	0	15	25	35	0	15	25	35	0	15	25	35	0	15	25	35
	I	I	I	I	II	II	II	II	III	III	III	III	IV	IV	IV	IV
PAS	+++	++	++	+	+++	+++	++	+	+++	+++	++	+	+++	++	++	+
PAS+AMILASE	+++	++	++	+	+++	++	++	+	+++	++	++	+	++	++	++	x

PAS+ACET	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PAS+ACET+SAP	+++	++	++	+	+++	+++	++	+	+++	+++	++	+	+++	++	++	x
A.B_{2,5}	+++	++	++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	++
A.B_{2,5}+MET	++	++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	++	+++
A.B_{2,5}+MET+SAP	+++	++	++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	++
PAS+A.B_{2,5}	+++	++	++	+	+++	++	++	++	+++	++	++	+	++	++	++	x

Legenda: (x) não visualizado; (-) não reativo; (+) baixa reatividade; (++) moderada reatividade; (++++) alta reatividade

DISCUSSÃO

O presente estudo colabora com informações as quais confirmam a relevância de se estabelecer parâmetros em modelo animal com intuito destes serem utilizados como bioindicadores da qualidade ambiental. Os peixes vêm sendo utilizados de forma crescente como modelos biológicos para detecção de poluentes aquáticos (Patrício *et al.*, 2002; Boock; Machado Neto, 2005). Tais estudos justificam o uso desses animais por apresentarem respostas evidentes ao estresse, provocado pelos poluentes de diversas formas, como comportamentais, morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares.

As alterações em níveis celulares, histológicos e comportamentais são importantes ferramentas para a ecotoxicologia, pois possuem baixo custo para seu diagnóstico e fornecem dados anteriores às modificações no crescimento e na reprodução animal (Winkaler *et al.* 2001). Alterações semelhantes foram observadas para diversas espécies de peixes expostos ao Roundup® (Szarek *et al.*, 2000; Albinati *et al.*, 2007; Gluszczak *et al.*, 2006; Langiano; Martinez, 2008). Todas ,essas estão em consonância com a proposta realizada no presente estudo pois, o emprego dessas metodologias forneceram além de dados consistentes, a possibilidade de cálculo indicando-as como de custo moderado para o monitoramento das ações adversas do herbicida Roundup® em guarus.

A utilização do herbicida Roundup[®] como composto de análise experimental para as mais variadas espécies de peixes é justificada por esse produto apresentar amplo espectro de utilização em todo mundo, seu baixo custo para os usuários, além da sua eficácia como dessecante (Souza *et al.*, 2006). É válido ressaltar que, segundo informações descritas no rótulo, esse produto é considerado pouco tóxico, ou seja, de classe toxicológica IV, apesar dos resultados obtidos neste estudo indicarem alta toxicidade para o guaru.

O uso do peixe *P. vivipara* se deve a múltiplas características apresentadas por esse modelo biológico testado, tais como moderada sensibilidade as variantes ambientais, ser nativo, de pequeno porte e fácil manutenção nos aquários experimentais em pequenos espaços, permitindo enriquecer as informações sobre as ações do Roundup[®] em organismos de vida aquática. Dessa forma, esse trabalho qualifica o guaru (*P. vivipara*) como biomonitor das alterações físico-químicas em ambientes aquáticos experimentais.

A exposição aguda do guaru ao Roundup[®] promoveu alterações em relação ao comportamento animal, sendo que, essas modificações são doses dependentes. As alterações comportamentais observadas, tais como irritabilidade, perda de sentido, direção e balanço durante a natação, mídriase, choques contra a parede do aquário, perda do mecanismo de fuga e falta de interesse pela ração, permitem sugerir que esses são os primeiros diagnósticos macroscópicos apresentados pelos guarus expostos ao herbicida. Essas modificações podem ser interpretadas como respostas da interação de processos fisiológicos com estímulos ambientais sendo, desta forma, uma ferramenta eficiente para detecção de contaminantes relacionados a efeitos tóxicos.

A intensidade de mudanças comportamentais está intimamente relacionada com a toxicidade do produto. As modificações comportamentais observadas em guarus expostos ao Roundup[®] assemelham-se às descritas por Henares *et al.*, (2007) em *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) após ação agressora do herbicida diquate. Os mesmos comportamentos foram observados por Fernandez-Vega *et al.*, (2002) em *Anguila anguila* (Linnaeus, 1758) tratados com tiobencarbe.

As modificações comportamentais do guaru, frente ao herbicida testado, são reflexos das mudanças histopatológicas de órgãos-alvo. As anomalias nas brânquias

podem ter causado reações de hipoxia, dificuldade de realização de trocas gasosas e disfunções na osmorregulação, prejudicando, assim, as funções vitais desempenhadas por esse órgão e, conseqüentemente, alterando o comportamento animal (Begum *et al.*, 2006). Dessa forma, sugere-se que estudos comparativos entre respostas comportamentais e histopatológicas sejam realizados, pois as mesmas estão interligadas e refletem a complexidade dos efeitos tóxicos dos agrotóxicos.

As brânquias são os primeiros órgãos afetados quando os peixes são expostos a agentes tóxicos. Isto porque a superfície branquial corresponde à metade da área superficial corpórea e está em contato direto com o meio externo (Cengiz 2006; Garcia-Santos *et al.*, 2007). Além disso, as brânquias desempenham funções vitais, tais como fluxo de oxigênio, gás carbônico, eletrólitos, água, amônia e íons hidrogênio entre o sangue do peixe e o seu meio externo (Winkaler *et al.*, 2001).

Para estudos ecotoxicológicos, as brânquias são consideradas órgãos biomonitores em situações de estresse ambiental para os organismos aquáticos, e tem sido bastante estudadas em várias espécies (Erkmen; Kolankaya 2000; Breseghelo *et al.*, 2004, Souza *et al.*, 2013, Vigário; Sabóia-Morais, 2014, Rocha *et al.*, 2015). No presente trabalho, as respostas histopatológicas branquiais dos guarus expostos ao herbicida Roundup[®] diferenciam claramente os animais do grupo controle em relação aos animais dos grupos tratados nos aspectos macroscópicos, teciduais e celulares.

As brânquias no *P. vivipara* do grupo controle apresentaram aspecto normal, com arranjo do arco branquial regular e lamelas secundárias com ângulo da curvatura adequada. Entretanto, os espécimes expostos ao herbicida mostraram algumas alterações histológicas evidentes, indicando alto efeito tóxico do produto teste para o guaru.

Diagnosticou-se nas brânquias dos guarus expostos ao Roundup[®] desorganização da estrutura lamelar, perda da curvatura da lamela secundária ou enrijecimento da mesma, presentes em todos os grupos expostos, embora houvesse comprometimento maior dessas estruturas no grupo de 35 µl/L. Essas alterações celulares e teciduais também foram observadas em *P. vivipara* exposto ao 2,4-D (Vigário, 2005), e para *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) coletados em

ribeirão urbano contaminado (Camargo; Martinez, 2007). Dessa maneira, sugere-se que tais alterações sejam respostas fisiológicas dos peixes para a manutenção da homeostase em situações ambientais desfavoráveis, como aqueles contaminados com agentes tóxicos.

O epitélio interlamelar dos guarus tratados com Roundup[®] para todas concentrações apresentava-se proliferado e com espessura irregular. Segundo Garcia-Santos *et al.* (2007), a exposição do *O. niloticus* ao cádmio provocou o espessamento do epitélio, conduzindo a fusão parcial ou total das lamelas branquiais. Assim, provavelmente essas modificações sejam causadas pela hipertrofia e hiperplasia das células epiteliais, gerando, dessa forma, prejuízos nas trocas gasosas do epitélio interlamelar, levando o animal a óbito.

As lamelas secundárias dos espécimes tratados apresentaram-se fusionadas, mostrando-se mais acentuadas no grupo de 35 µl/L. A fusão lamelar é uma resposta celular de fácil representatividade quando comparada ao grupo controle e tem sido descrita e diagnosticada em várias espécies tratadas com diferentes poluentes químicos (Erkmen; Kolankaya, 2000; Zodrow *et al.*, 2004; Nero *et al.*, 2006; Guimarães *et al.*, 2007). Ao se considerar essa reação, propõe-se que essa mudança tecidual seja um mecanismo de defesa que reduz a superfície respiratória branquial, e que isso propiciará dificuldades de difusão do herbicida para o interior do sistema respiratório do peixe. Em contrapartida, é provável que haja prejuízos na hematose para o animal exposto ao herbicida.

Além disso, observou-se em guarus expostos que algumas lamelas estavam fusionadas totalmente, desde a base até o ápice, e outras apenas parcialmente, ou seja, o ápice das lamelas adjacentes encontrou-se ligado. Essa última gera uma estrutura lamelar em forma de “V” evidenciada apenas no grupo de 15 µl/L. Provavelmente, a fusão total das lamelas seja causada pela proliferação do epitélio interlamelar, visto que, esse se apresentou mais espesso e alcança o ápice das lamelas secundárias. Entretanto, as causas da fusão parcial ainda são pouco conhecidas.

Em todas as concentrações testadas no presente estudo, foi possível perceber dilatação na base e no ápice das lamelas secundárias, grande quantidade de hemácias no interior do eixo vascular das lamelas, vasodilatação no seio venoso

central e crescente proliferação de melano-macrófagos (MMCs). Alguns focos hemorrágicos e grânulos de hemosiderina foram identificados dispersos ao longo do epitélio branquial apenas no espécime de 35 µl/L. Dados semelhantes foram encontrados em tilápia (*O. niloticus*) expostas ao sulfato de cobre por (Figueiredo-Fernandes *et al.*, 2007). Para Garcia-Santos *et al.* (2007), o processo de vasodilatação das lamelas, deve-se às dificuldades respiratórias manifestas pelo peixe. Dessa maneira, infere-se que o diagnóstico observado em guarus, possa levar a um processo de hemorragia aguda e que este estado de anormalidade possa ser irreversível a sobrevivência do peixe.

Os MMCs apresentaram dispersos nas regiões apicais e intermediárias no interior de alguns filamentos e principalmente na base dos filamentos branquiais. A presença dessas células, também conhecidas como grupo especial de macrófagos, está relacionada a condições de estresse ambiental e são responsáveis por capturar e degradar fragmentos ou mesmo células como resposta a processos de alteração dessas aos agentes irritantes (Agius; Roberts, 2003). Neste sentido, a intensa vasodilatação, seguida do rompimento dos eritrócitos com liberação dos grânulos de hemosiderina, gerou a proliferação dos MMCs a fim de que os mesmos capturem, degradem e armazenem os resíduos celulares deteriorados.

O processo de aneurisma lamelar foi registrado em todos os grupos experimentais. A crescente disposição dos aneurismas entre as lamelas secundárias ao longo de todo filamento branquial está relacionada com aumento das concentrações do Roundup[®], ou seja, essa alteração é dose-dependente. Esse comportamento tecidual foi encontrado em várias espécies sobre diferentes condições ambientais (Winkaler *et al.*, 2001; Cerqueira; Fernandes, 2002; Martinez *et al.*, 2004, Cengiz, 2006) e pode levar ao comprometimento da funcionalidade das brânquias, implicando assim em graves distúrbios funcionais no peixe (Simonato *et al.*, 2008). Diante disso, sugere-se que o aneurisma lamelar é um grave sinal de patologia em peixes e deve ser originário do aumento do fluxo sanguíneo e vasodilatação no interior das lamelas secundárias, seguido do rompimento do sistema de célula pilar. Nesse sentido, é possível concluir que efeitos histopatológicos nas brânquias afetam as funções vitais exercidas por esse órgão.

É válido ressaltar que à medida que a concentração do Roundup® aumentava a maioria das respostas celulares e teciduais nos guarus, tornavam-se mais intensas e mais severas. O reflexo disso se dá também nas análises dos componentes químicos que constituem as células mucosas (CMs) presentes no arco branquial. No *P. vivipara* as CMs se distinguem em quatro tipos celulares, quanto à composição dos grânulos citoplasmáticos e localização (Sabóia-Morais *et al.*, 1996).

Por meio do emprego das metodologias de histoquímicas clássicas, foi possível diagnosticar que as CMs de todos os peixes tratados pelo Roundup® possuíam grupamentos de muco neutro, ácidos e por vezes os dois componentes químicos na mesma região do tipo celular, provavelmente estavam presente no interior do mesmo grânulo celular. Conforme os peixes eram expostos a maiores concentrações, o muco tornava-se mais rico em grupamentos ácidos. O muco ácido é mais denso, por isso atribui-se a ele a maior capacidade de proteção e lubrificação artificial, quando as células mucosas destes órgãos são expostas a agentes tóxicos (Beamish, 1972; Zieske; Bernstein, 1982).

Dessa forma, a excessiva secreção de muco contendo componentes ácidos carboxilados e/ou sulfatados pelas CMs pode estar relacionada à formação de uma barreira mais eficiente para a proteção do epitélio branquial contra a ação tóxica do herbicida. Essa barreira se deve ao aumento da viscosidade do muco que impede a difusão dos agentes poluentes dissolvidos na água.

O muco liberado pelas CMs, além da ação protetora contra agentes tóxicos, desempenha funções de lubrificação da superfície epitélio, proteção contra desidratação, patógenos e participa dos processos de osmorregulação (Diaz *et al.*, 2001, 2005). A hipersecreção de muco foi observada principalmente pelas CMs dos tipos I e IV em guarus expostos a 25 e 35 µl/L. Talvez porque essas células estejam localizadas no ápice do filamento branquial e no rastelo branquial, regiões que estavam em maior contato com a água proveniente do meio externo.

O presente trabalho através das análises comportamentais, histopatológicas e histoquímicas das brânquias qualifica o *P. vivipara* como bioindicador das alterações ambientais experimentais, em especial aquelas causadas por poluição dos ambientes aquáticos por agrotóxicos. Os peixes, quando expostos a agentes tóxicos, alteram seu comportamento animal, a organização celular e tecidual das brânquias.

Dessa maneira, as análises do tecido branquial são importantes ferramentas para os estudos de toxicologia aquática.

CONCLUSÕES

As análises da presente investigação demonstram correlação direta entre a exposição aguda do *P. vivipara* ao herbicida Roundup® e as desordens no comportamento animal e as alterações histopatológicas e celulares das brânquias. Neste sentido, a poluição do ambiente aquático por agrotóxicos pode gerar lesões nos órgãos vitais dos peixes, resultando em disfunções fisiológicas, com conseqüente morte dos organismos aquáticos.

REFERÊNCIAS

- AGIUS, C.; ROBERTS, R.J. (2003). Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *Journal of Fish Disease* 26:499-509.
- ALBINATI, A.C.L; MOREIRA, E.L.T; ALBINATI, R.C.B; CARVALHO, J.V; SANTOS, G.B; LIRA, A.D. (2007). Toxicidade aguda do herbicida Roundup® para piauçu (*Leporinus macrocephalus*). *Revista Brasileira de Saúde Prod.* An. 8:184-192.
- AMARANTE-JÚNIOR, O.P; SANTOS, T.C.R; BRITO, N.M., RIBEIRO M.L. (2002). Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Química Nova* 25:589-593.
- ARAÚJO, E.J.A; MORAIS, J.O.R; SOUZA, P.R; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. (2001). Efeito de poluentes químicos cumulativos e mutagênicos durante o desenvolvimento ontogenético de *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). *Acta Scientiarum* 23:391-399.
- ARMAS, E.D; MONTEIRO, R.T.R; AMÂNCIO, A.V; CORREA, R.M.L; GUERCIO, M.A. (2005). Uso de agrotóxicos em cana-de-açúcar na Bacia do Rio Corumbataí e o risco de poluição hídrica. *Química Nova* 25:975-982.
- BARSE, A.V; CHAKRABARTI, T.; GHOSH, T.K., PAL, AK; JADHAO, S.B. (2006). One-tenth dose LC₅₀ of 4-*tert*-butylphenol causes endocrine disruption and metabolic changes in *Cyprinus carpio*. *Pesticide Biochemistry & Physiology* 86:172-179.

BEAMISH, R.J. (1972). Lethal pH for White sucker *Catostomus comersoni* (Lacépede). Trans. Am. Fish, p. 335-358. In: BRESEGHELO, L; CARDOSO, M.P; BORGES-DE-OLIVEIRA, R; COSTA, M.F; BARRETO, J.C.B; SABÓIA-MORAIS, S.M.T; YAMADA, A.T. (Ed.), Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.

BEGUM,G; VENKATESWARA, R.J; SRIKANTH, K. (2006). Oxidative stress and changes in locomotor behavior and gill morphology of *Gambusia affinis* exposed to chromium, p. 83-92. In: Gluszcak, L; Miron, D.S; Crestani, M; Fonseca, M.B; Pedron, F.A; Duarte, M.F; Vieira, V.L.P. (Ed.), Ecotoxicology Environmental Safety.

BOOCK, M.V; MACHADO NETO, J.G. (2005). Estudos sobre a toxicidade aguda do oxiclureto de cobre para o peixe *Poecilia reticulata*. B. Inst. Pesca 31:29-35.

BOLIS, C.L; PICOLELLA, M; DALLA VALLE, A.Z; RANKIN, J.C. (2001). Fish as model in pharmacological and biological research. Pharmacological Research 44:265-277.

BRESEGHELO, L; CARDOSO, M.P; BORGES-DE-OLIVEIRA, R; COSTA, M.F., BARRETO, J.C.B; SABÓIA-MORAIS, S.M.T; YAMADA, A.T. (2004). Efeitos do fluoreto de sódio no epitélio da brânquia do peixe Guaru (*Poecilia vivipara*). Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science 41:274-280.

CAMARGO, M.M.P; MARTINEZ, C.B.R. (2007). Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. Neotropical Ichthyology 5:327-336.

CENGIZ, E. (2006). Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. Environmental Toxicology and Pharmacology 22:200-204.

CERQUEIRA, C.C.C; FERNANDES, M.N. (2002). Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. Ecotoxicology and Environmental Safety 52:83-91.

COUTINHO, C.F.B; MAZO, L.H. (2005). Complexos metálicos com o herbicida glifosato: Revisão. Química Nova 28:1038-1045.

DENNIS, A. (1989). "Fish as model systems." Science 246:1-13.

DIAZ, A.O; GARCIA, A.M; DEVINCENTI, C.V; GOLDEMBERG, A.L. (2001). Mucous cells in *Micropogonias furnieri* gills: Histochemistry and ultrastructure. Anatomy Histology Embryology 30:135-139.

DIAZ, A.O; GARCIA, A.M; GOLDEMBERG, A.L. (2005). Glycoconjugates in the branchial mucous cells of *Cynoscion guatucupa* (Cuvier, 1830) (Pisces: Sciaenidae). *Scientia Marina* 69:545-553.

DORES, E.F.G.C; LAMONICA-FREIRE, E.M. (2001). Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de casos: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso: análise preliminar. *Química Nova* 24:27-36.

ERKMEN, B; KOLANKAYA, D. (2000). Effects of water quality on epithelial morphology in the gill of *Capoeta tinca* living in two tributaries of Kizilirmak River, Turkey. *Environmental Contamination and Toxicology* 64:418-425.

FERNANDEZ-VEGA, C; SANCHO, E; FERRANDO, M.D; ANDREU, E. (2002). Thiobencarb-induced changes in acetylcholinesterase activity of the fish *Anguilla anguilla*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 72:55-63.

GARCIA-SANTOS, S; MONTEIRO, S.M; CARROLA, J; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A. (2007). Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. *Arq. Bras Méd. Vet. Zootec.* 59:376-381.

GLUSCZAK, L; MIRON, D.S; CRESTANI, M; FONSECA, M.B; PEDRON, F.A; DUARTE, M.F; VIEIRA, V.L.P. (2006). Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). *Ecotoxicology Environmental Safety* 65:237-241.

GUIMARÃES, A.T.B; SILVA DE ASSIS, H.C; BOEGER, W. (2007). The effect of thichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68:57-62.

HENARES, M.N.P; CRUZ, C; GOMES, G.R; PITELLI, R.A; MACHADO, M.R.F. (2008). Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do diquate na brânquia e no fígado da tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). *Acta Sci. Biol. Sci.* 30:78-82.

HRBEK, T; SECKINGER, J; MEYER, A. (2007). A phylogenetic and biogeographic perspective on the evolution of poeciliid fishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43:986-998.

LANGIANO, V.C; MARTINEZ, C.B.R. (2008). Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C.* 147:222-231.

LOURENCETTI, C; SPADOTTO, C.P; SANTIAGO-SILVA, M; RIBEIRO, M.L. (2005). Avaliação do potencial de contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: comparação entre métodos de previsão de lixiviação. *Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente* 15:1-14.

- LUCHINI, L.C. (2003). Comportamento de herbicidas no ambiente aquático. Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Proteção Ambiental, Instituto Biológico. Disponível em: http://www.geocities.com/~esabio/agua/comportamento_de_herbicidas.htm. Atualizada em 25 nov. de 2003. Acesso em 15/15/2007.
- MACHADO, M.R. (1999). Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. Artigo de Revisão. UNIPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde. 1:63-76.
- MARTINEZ, C.B.R; NAGAE, M.Y; ZAIA, C.T.B.V; ZAIA, D.A.M. (2004). Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Bras. J. Biol. 64:797-807.
- NERO, V; FARWELL A; LEE, L.E.L; MEER, T.V; MACKINNON, M.D; DIXON, D.G. (2006). The effects of salinity on naphthenic acid toxicity to yellow perch: Gill and liver histopathology. Ecotoxicology and Environmental Safety 65:252-264.
- PATRÍCIO, F.C; RIGITANO, R.L.O; GOUVÊA, A.V; FRANCO, A.A. (2002). Toxicidade do inseticida-nematicida aldicarbe às espécies de peixes *Brachydanio rerio* (HAMILTON-BUCHANA, 1822) e *Orthospinus franciscensis* (EIGENMANN, 1929). Ciênc. Agrotec. 26:385-391.
- ROCHA, T.L; CARVALHO, R; YAMADA, A.T; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. (2010). Morphologic analysis of developmental phases and gill ontogenesis in neotropical species *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) exposed to different salinities. Zoologia (Curitiba): an international journal for zoology. 27:554-562.
- ROCHA, T.L ; SANTOS, A.P.R. ; YAMADA, A.T; SOARES, C.M.A; BORGES, C.L; BAILÃO, A.M; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. (2015). Proteomic and histopathological response in the gills of *Poecilia reticulata* exposed to glyphosate-based herbicide. Environmental Toxicology and Pharmacology. 40:175-196.
- RODRIGUES, E.L; RANZANI-PAIVA, M.J.T; PACHECO, F.J; VEIGA, M.L. (2001). Histopathologic lesions in the liver of *Prochilodus lineatus* (Pisces Prochilodontidae) exposed to a sublethal concentration of the organophosphate insecticide Dipterex 500®(Trichlorfon). Acta Scientiarum 23:503-505.
- SABÓIA-MORAIS, S.M.T; HERNANDEZ-BLAZQUES, F.J; MOTA, D.L., BITTENCOURT, A.M. (1996). Mucous cell types in the branchial epithelium of the euryhaline fish *Poecilia vivipara*. Journal of Fish Biology 49:545-548.

- SABÓIA-MORAIS, S.M.T; SANTOS, S.C; CARNEIRO, C.E.A; SILVA, R.M; PIRES, D. R; ARAÚJO, E.J.A; MORAIS, J.O.R. (1999). Evaluation of the effects of extracts of Cerrado plants of gill cells of guppies *Poecilia vivipara* used as biomonitors. *Acta Microsc.* 8:351-358.
- SANCHES, S.M; SILVA, C.H.T.P; CAMPOS, S.X; VIEIRA, E.M. (2003). Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. *Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente* 13:53-58.
- SANTOS, M. M; BANZATTO, D. A. (1998). Influência de herbicidas em macrófitas aquáticas. *Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira* 33:1-15.
- SILVA, L.D; NASCIMENTO, V; SANTOS, S.C; MORAIS, J.O.R; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. (2003). Análise morfológica das células do cloro de *Poecilia vivipara* expostas a frações da folha e da casca do caule de *Caryocar brasiliensis*. *Acta Scientiarum: Biological Sciences* 25:195-201.
- SIMONATO, J.D; GUEDES, C.L.B; MARTINEZ, C.B.R. (2008). Biochemical, physiological, and histological changes in the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to diesel oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 69:112-120.
- SOUZA, T.A; MATTA, M.H.R; MONTAGNER, E; ABREU, A.B.G. (2006). Estudo de recuperação de glifosato e AMPA derivados em solo utilizando-se resinas nacionais. *Química. Nova* 29:1372-1376.
- SOUZA, F. J; SOUSA, CC . N; DA SILVA, C. C; SABÓIA-MORAIS, S. M. T; GRISÓLIA, C. K. (2013b). Mutagenicity and Genotoxicity in gill erythrocyte cells of *Poecilia Reticulata* exposed to a Glyphosate Formulation. *Bulletin Of Environmental Contamination and Toxicology.* 91:583-587.
- SZAREK, J; SIWICKI, A; ANDRZEJEWSKA, A; TERECH-MAJESWSKA, E; BANASZKIEWICZ, T. (2000). Effects of the herbicide RoundupTM on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (*Cyprinus carpio*). *Marine Environmental Research* 50:263-266.
- VAN DYK, J.C; PIETERSE, G.M; VAN VUREN, J.H.J. (2007). Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66:432-440.
- VIGÁRIO, A.F. Análise do comportamento celular e animal do peixe (*Poecilia vivipara*) sob efeito agudo do herbicida ácido 2,4 – diclofenoxiacético (2,4 –D). Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular)-Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.

VIGÁRIO, A. F; SABÓIA-MORAIS, S. M. T. (2014) Effects of the 2,4-D herbicide on gills epithelia and liver of the fish *Poecilia vivipara*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34: 232-239.

ZIESKE, J.D; BERNSTEIN, L.A. (1982). Modification of cell surface glycoprotein: Addition of fucosyl residues during epidermal differentiation, p. 626-631. In: Breseghelo, L; Cardoso, M.P; Borges-de-Oliveira, R; Costa, M.F; Barreto, J.C.B; Sabóia-Morais, S.M.T; Yamada, A.T. (Ed.), *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*.

ZODROW, J.M; STEGEMAN, J.J; TANGUAY, R.L. (2004). Histological analysis of acute toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in zebrafish. *Aquatic Toxicology* 66:25-38.

WINKALER, E.U, SILVA A.G; GALINDO, H.C; MARTINEZ, C.B.R. (2001). Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum* 23:507-514.

MORFOMETRIA NAS BRÂNQUIAS E NO FÍGADO DO *Poecilia vivipara* EXPOSTO AO HERBICIDA ROUNDUP®

*Joana Cristina Neves de Menezes Faria*¹

*José Carlos Seraphin*²

*Thiago Lopes Rocha*³

*Simone Maria Teixeira de Sabóia-Morais*³

INTRODUÇÃO

A classe Pisces possui muitos representantes em mares, lagos, lagoas, rios e estuários. Estes animais possuem grande importância econômica, exercem papel crucial na cadeia alimentar dos ecossistemas aquáticos, e o estudo da sua biologia os descreve como capazes de suportar variações naturais de temperatura, pressão, salinidade, entre outras (Bolis *et al.*, 2001). Entretanto, alterações químicas nas águas, decorrentes da contaminação aquática pelo uso indiscriminado de defensivos agrícolas, podem levá-los a desenvolver comportamentos celulares e teciduais diferenciados, que são de fato, respostas a agentes tóxicos.

Dentre os agrotóxicos, destacam-se os herbicidas não-seletivos como Roundup® original glifosato N-(fosfometil) glicina, que é o mais utilizado em todo mundo em áreas agrícolas e urbanas (Souza *et al.*, 2006; Albinati *et al.*, 2007). Por isso, tem sido realizados bioensaios toxicológicos em inúmeras espécies de vida aquática, em especial nos peixes (Cerqueira; Fernandez, 2002; Fernández-Vega *et al.*, 2002; Cengiz, 2006; Camargo; Martinez, 2007; Guimarães *et al.*, 2007; Vigário; Sabóia-Morais, 2014), para monitoramento da poluição aquática.

¹ Docente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - Campus Aparecida de Goiânia. Mestre em Biologia, área de Concentração: Biologia Celular e Molecular (UFG).

² Instituto de Matemática e Estatística - Universidade Federal de Goiás (IME-UFG)

³ Laboratório de Comportamento Celular, Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Goiás. (LCC-UFG).

Os guarus (*Poecilia vivipara*) são teleósteos capazes de responderem às condições adversas do meio, tais como diferentes níveis de salinidade (Gomes-Jr; Monteiro, 2007) e de poluição (Araújo *et al.*, 2001; Breseghelo *et al.*, 2004; Vigário, 2005), modificando o comportamento celular em alguns órgãos mais susceptíveis à ação do meio ambiente, tais como as brânquias e o fígado (Zodrow *et al.*, 2004; Nero *et al.*, 2006 a,b; Cengiz, 2006; Camargo; Martinez, 2007; Simonato *et al.*, 2008). A adaptação gradativa das respostas celulares dos guarus, resultante da ação do herbicida testado em laboratório, implica em modificações estruturais que poderão ser detectadas do ponto de vista morfométrico.

O estudo morfométrico é realizado com objetivo de diminuir a imprecisão e a subjetividade dos resultados morfológicos diagnosticados (Mandarim-De-Lacerda, 1995). Por isso, o ideal para avaliações por meio da morfometria é a determinação do delineamento dos objetivos a serem estudados no ensaio, a escolha da amostragem que seja estatisticamente representativa e ainda o uso de testes estatísticos para interpretação dos resultados obtidos.

Com o objetivo de estabelecer parâmetros de análises serão realizadas metodologias clássicas para estudo da morfologia dos órgãos-alvos em guarus, e a comparação das medições celulares e teciduais obtidas entre os grupos experimentais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os peixes foram coletados na Piscicultura da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás (UFG) – Campus II (16° 35' 37" S e 49° 16' 50" W) e transportados ao Laboratório de Comportamento Celular (LCC) no Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Goiás (UFG). Os espécimes foram aclimatados por um período total de 72 horas em aquários de 40 litros, com controle da oxigenação, temperatura de 26 °C, amônia de zero (0) ppm e pH 6,9, com ciclo de 12 horas claro / 12 horas escuro, e alimentados uma vez ao dia com ração Alcon Gupies (Alcon Basic Ltda, Santa Catarina, Brasil).

O herbicida Roundup[®] (C₃H₈NO₅P) testado é fabricado pela Monsanto do Brasil S/A e registrado no Ministério da Agricultura e do Abastecimento sob o n° 898793. Utilizou-se uma solução aquosa concentrada composta para o sal de isopropilaminada N-(fosfonometil) glicina, numa concentração de 480g/L, sendo que 360g/L dessa solução é o equivalente em glifosato. O herbicida pertence à classe toxicológica IV, ou seja, é considerado pouco tóxico.

Nos ensaios biológicos foram escolhidos vinte indivíduos aleatoriamente do tanque de manutenção e divididos em quatro (4) grupos experimentais, contendo cinco (5) peixes adultos cada. A toxicidade aguda foi feita em 24 horas nas concentrações variadas 0, 15 (53% CL₅₀, 96h), 25 (94% CL₅₀, 96h), e 35 (132% CL₅₀ 96h) µl/L do herbicida Roundup[®] por litro de água.

Os espécimes após a exposição aguda ao Roundup[®] foram sacrificados por decapitação. Em seguida, os primeiros arcos branquiais da porção esquerda de cada animal, foram dissecados e fixados por imersão em solução de Karnovsky e inclusos em historesina, de acordo com as especificações do fabricante (LEICA). Depois da obtenção de secções com 1 µm de espessura, o material foi corado com Azul de Toluidina pH 8,5 (AT).

Para análise das medidas morfométricas do fígado foi mensurado a densidade volumétrica dos hepatócitos (DVH) com o uso de um campo específico, a partir da contagem do número de células hepáticas com nucléolo evidente na porção central do parênquima hepático. Para estudo da brânquia foi escolhido como campo de análise apenas a região intermediária, sendo feito as medições das alturas do epitélio interlamelar (AEI) de três lamelas branquiais dispostas do filamento branquial e calculado a área da região intermediária do filamento branquial (AFB). É válido ressaltar que as brânquias do *P. vivipara* assemelham-se àquelas dos demais teleósteos, sendo compostas por quatro arcos branquiais, situados de cada lado da cavidade bucal. Em cada arco branquial temos uma fileira de filamentos branquiais que se distinguem em regiões apical, intermediária e basal (Sabóia-Morais *et al.*, 1996), onde esses subdividem-se em lamelas branquiais ou secundárias. Na presente análise foi feito a escolha de apenas um arco branquial mais externo em relação ao opérculo por estar mais em contato com meio externo e

uma região do filamento branquial para análise, ou seja, a intermediária sendo considerada de maior reatividade metabólica (Silva *et al.*, 2003).

Em cada animal dos grupos de 0, 15 e 25 µl/L foram utilizadas três lâminas com cinco cortes, perfazendo um total de 15 seções por animal e 75 por grupos experimentais. Dentre os cinco cortes histológicos do fígado presentes em cada lâmina por animal foi feita a escolha de um deles apenas, de forma aleatória. Dessa forma, obteve-se 45 imagens para o estudo morfométrico das células do fígado. Para as brânquias além da seleção da seção, também foi feita a escolha de dois filamentos branquiais, obtendo-se então o total de 90 imagens para a análise morfométrica desse órgão. No grupo de 35 µl/L não foi possível a análise morfométrica, ou seja, para esta concentração houve apenas um peixe sobrevivente para análise, por ter sido exposto a uma concentração além da CL₅₀ determinada para o *P. vivipara* exposto ao herbicida Roundup® (CL₅₀ = 26,61 µl/L).

As investigações feitas no microscópio fotônico (LEICA DMLB - USA) acoplado ao sistema de captura de imagens utilizaram as objetivas de 40X para o fígado, 20X para as brânquias pelo programa Image Pro-Plus 6.0 (Microsoft® Window 32-bit systems Window® XP Professional). As análises dos dados obtidos, variáveis DVH, AEI, AFB foram realizadas com base a Análise de variância (ANOVA) e no teste de comparação de médias Tukey usando o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Os resultados das variáveis: densidade volumétrica dos hepatócitos (DVH), altura do epitélio interlamelar (AEI) e área do filamento branquial (AFB) para os tratamentos 0, 15 e 25 µl/L estão representados na Tabela 1 e nos Gráficos 1, 2 e 3 respectivamente.

Tabela 1. Valores médios da Densidade volumétrica dos hepatócitos (DVH) com nucléolo evidente, da altura do epitélio interlamelar (AEI) e da área no filamento branquial (AFB) em guarus expostos a diferentes concentrações do herbicida Roundup®

Concentrações	DVH*	AEI	AFB*
µl/L	(nº cel/ obj. 40X)	(µm)	(µm ²)
0	138 (a)	5,3 (a)	1,8 (a)
15	91 (b)	10,9 (b)	2,1 (b)
25	80 (b)	12,8 (c)	2,1 (b)
CV (%)	16,1	29,3	11,4
DMS 5% (Tukey)	15,1	1,8	0,1

*Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si.

Gráfico 1: Densidade volumétrica dos hepatócitos com nucléolo evidente em guarus expostos nas concentrações de 0, 15 e 25 µl/L do herbicida Roundup®

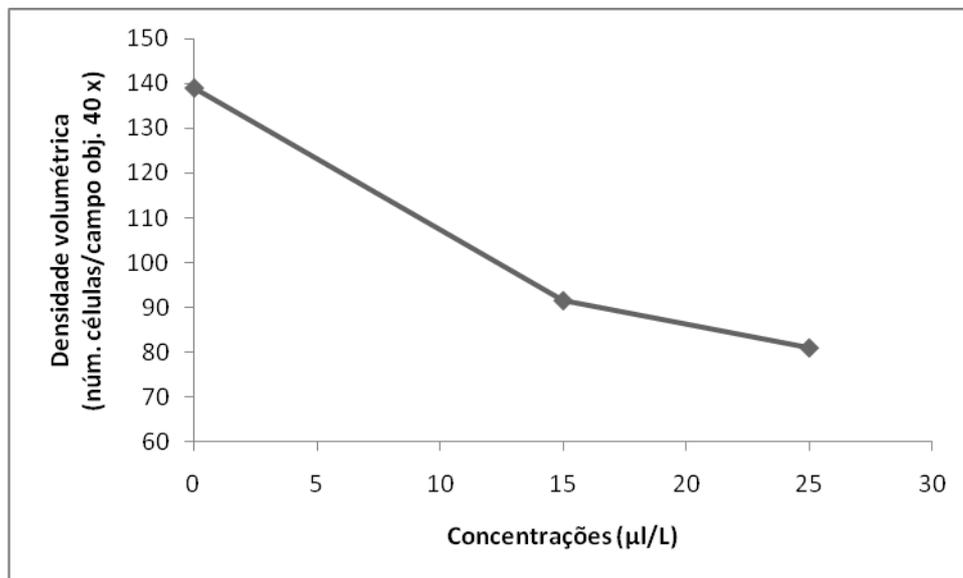
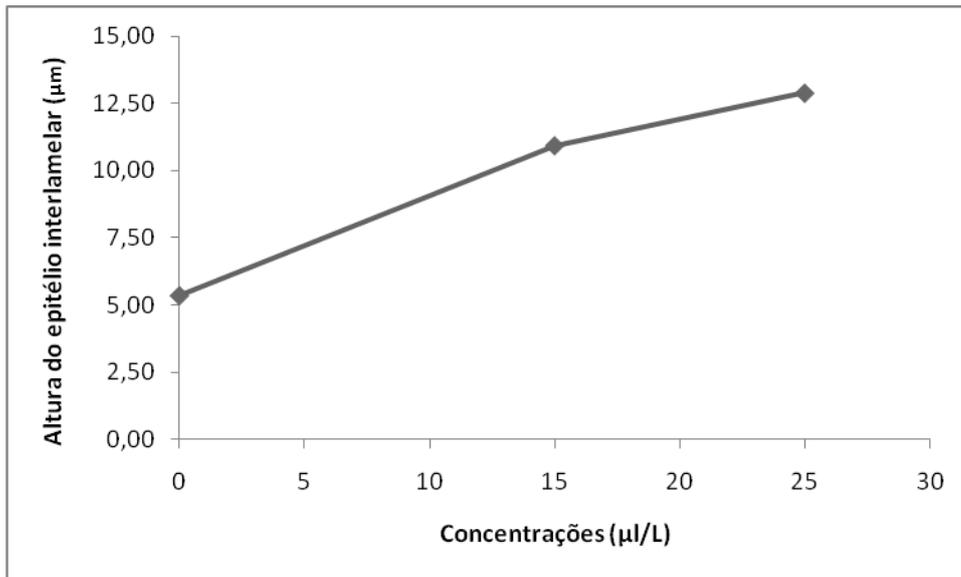
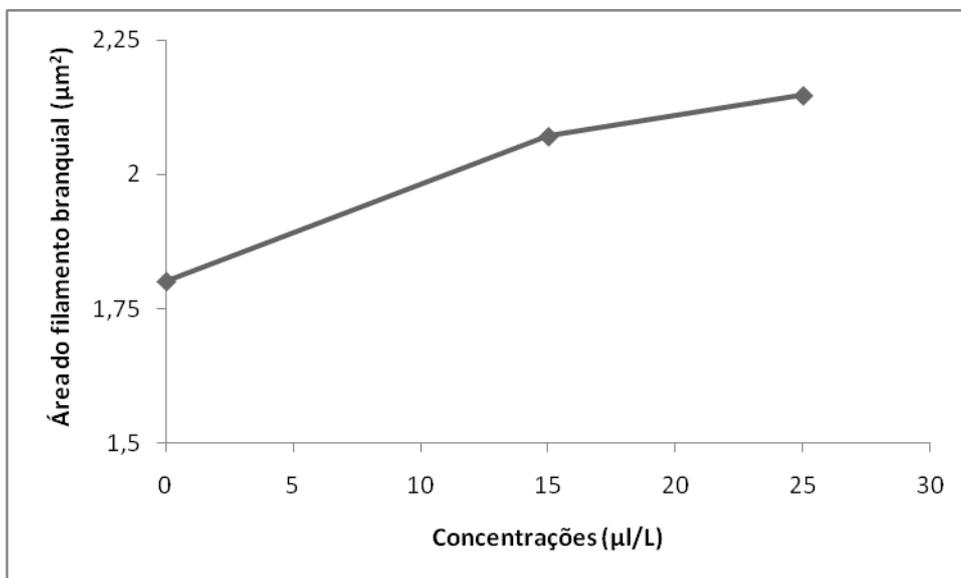


Gráfico 2: Altura do epitélio interlamelar nos peixes grupos de 0, 15 e 25 $\mu\text{L/L}$ do Roundup[®]**Gráfico 3:** Área do filamento branquial nos peixes grupos de 0, 15 e 25 $\mu\text{L/L}$ do Roundup[®]

No parênquima hepático dos animais do grupo controle, verificou-se a presença de muitos hepatócitos com nucléolo evidente, quando comparado aos grupos tratados. Os grupos tratados não apresentaram diferenças, pois os mesmos se comportaram de forma semelhante. A morfologia do fígado desses grupos foi caracterizada pela presença de muitos vacúolos entre os hepatócitos.

Nas lamelas secundárias do epitélio branquial, observou-se diferença na espessura do epitélio interlamelar entre todos os grupos experimentais ($p < 0,05$), apresentando crescimento segundo o aumento da concentração do herbicida.

Para a área do filamento branquial, notou-se diferentes valores crescentes entre os grupos controle e experimentais. Porém para essa variável os grupos tratados apresentaram características semelhantes. No grupo controle, entre as lamelas secundárias, verificavam-se espaços nítidos entre as mesmas. Nos grupos tratados, esse espaço foi perdido, com presença de uma massa celular que unia as lamelas.

DISCUSSÃO

Para se analisar os efeitos nocivos de inúmeros poluentes químicos em organismos aquáticos utilizam-se várias metodologias. Dentre essas, os estudos quantitativos por meio da morfometria, é uma ferramenta eficiente que pode ser usada para infinitos objetivos como: medidas de áreas (superfícies), pesos, volumes, comprimentos, ângulos, diâmetros, perímetros entre outros, a fim de enriquecer o diagnóstico das alterações histopatológicas em órgãos-alvos (Mandarim-De-Lacerda, 1995). Nesse sentido, o presente estudo vem a somar informações que confirmam a verdadeira relevância de se estudar as anormalidades morfológicas através dos instrumentos morfométricos.

Esse estudo conjunto da morfologia e da morfometria tem por finalidade enriquecer os resultados observados, a fim de se ter uma precisão maior das anormalidades histopatológicas. Dessa forma vários estudos (Hughes et al. 1986; Saroglia et al., 2002; Nero et al., 2006 a, b) têm usado tais formas de investigação como ponto de partida para as análises ecotoxicológicas, embora as práticas de ambas se diferenciam. É importante ressaltar que nenhuma delas substitui a outra, mas sim há uma complementação de dados a serem interpretados com maior chance de conclusão clara e objetiva.

Dessa forma foi possível observar no presente estudo modificações nas estruturas celulares e teciduais no fígado e nas brânquias de *Poecilia vivipara* frente ao Roundup[®], dentre elas, o crescente processo de vacuolização entre os

hepatócitos, a desorganização do filamento branquial, marcada pela espessura irregular do epitélio interlamelar e conseqüentemente a fusão das lamelas secundárias. Todas essas mudanças foram identificadas pelo uso da morfologia básica e logo, analisadas por meio da morfometria, com intuito de relacionar os resultados obtidos em ambas às formas de investigação. Tais metodologias foram utilizadas por Silva *et al.*, 2003; Nero *et al.*, 2006 a,b; Figueiredo-Fernandes *et al.*, 2006; Figueiredo-Fernandes *et al.*, 2007 ao analisarem diferentes estruturas em órgãos-alvos de distintas espécies de peixes.

As anormalidades no fígado dos grupos tratados pelo Roundup[®], como a presença de vacúolos dispersos no parênquima hepático, inclusões lipídicas e focos necróticos, eram evidentes e conforme o aumento da concentração elas se tornavam mais acentuadas. Assim, sugere-se, que o processo de vacuolização, o acúmulo de lipídeos no citoplasma dos hepatócitos e regiões de necrose diagnosticadas na morfologia geral do fígado, possam ter causado perda das estruturas celulares e conseqüentemente morte celular. Sendo assim tais características morfológicas justificam as diferenças obtidas na densidade volumétrica dos hepatócitos (DVH) observados entre os grupos tratados com o herbicida e não tratado. Para Vigário (2005); Souza *et al.*, (2013), todas essas anormalidades no fígado de *P. vivipara* significam uma resposta ao estresse celular proveniente da ação irritante do herbicida 2,4-D, e ao glifosato, respectivamente.

Comparando as brânquias dos peixes submetidos às concentrações de 0, 15 e 25 µl/L ao herbicida Roundup[®], observou-se crescimento na altura do tecido entre as lamelas secundárias decorrente do aumento da espessura do epitélio interlamelar nas concentrações de 15 e 25 analisados em relação ao grupo 0, representados pelos valores (AEI). Isto causou a elevação no comprimento total do filamento branquial dos guarus e é indicativo que seja proveniente da hiperplasia e hipertrofia das células presentes no epitélio branquial, conforme os resultados descritos por Nero *et al.* (2006 a,b).

Entre as concentrações 0 e 15 e 0 e 25 µl/L foram averiguados crescimento na área do filamento branquial (AFB), essa característica é resultado do processo crescente de fusão lamelar total, proveniente da proliferação do epitélio interlamelar nos peixes tratados com Roundup[®]. Tais resultados estão em

consonância com descrito por Saroglia *et al.* (2002), ao observar aumento na área da superfície respiratória em peixes (*Dicentrarchus labrax*), cultivados sob hipóxia.

Confrontando todos os resultados morfológicos dos guarus obtidos na exposição aguda do herbicida Roundup® com o grupo controle, ficou evidenciada uma inversão de dados e a relação dose-dependente para tais alterações. O número de hepatócitos com nucléolo evidente nos grupos tratados era menor, a altura do epitélio interlamelar e área do filamento branquial dos grupos expostos tinham maiores valores. Todas essas modificações celulares e teciduais possivelmente trarão prejuízos na funcionalidade dos órgãos-alvos analisados e conseqüentemente o comprometimento da vida do animal pela toxicidade do herbicida. Isso reforça a posição de diversos autores (Szarek *et al.*, 2000; Albinati *et al.*, 2007; Gluszczak *et al.*, 2006; Langiano; Martinez, 2008) ao testarem em peixes o herbicida Roundup® e por recomendarem cuidado no seu uso indiscriminado.

De maneira geral, percebe-se que a exposição aguda do *P. vivipara* ao herbicida Roundup® compromete a morfologia dos órgãos-alvos. Como as alterações morfológicas interferem diretamente nos processos fisiológicos, ainda é implícito o verdadeiro impacto ambiental dessa substância, necessitando realizarem-se estudos interdisciplinares, para avaliarmos bem estar da fauna aquática.

REFERÊNCIAS

ALBINATI, A. C. L.; MOREIRA, E. L. T.; ALBINATI, R. C. B.; CARVALHO, J.V; SANTOS, G. B; LIRA, A. D. (2007). Toxicidade aguda do herbicida Roundup® para piauçu (*Leporinus macrocephalus*). Revista Brasileira de Saúde Prod. An. 8:184-192.

ARAÚJO, E.J.A; MORAIS, J.O.R; SOUZA, P.R; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. (2001). Efeito de poluentes químicos cumulativos e mutagênicos durante o desenvolvimento ontogenético de *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). Acta Scientiarum. 23:391-399.

BOLIS, C.L; PICCOLELLA, M; DALLA VALLE, A.Z; RANKIN, J.C. (2001). Fish as model in pharmacological and biological research. Pharmacological Research. 44:265-277.

BRESEGHELO, L; CARDOSO, M.P; BORGES-DE-OLIVEIRA, R; COSTA, M.F; BARRETO, J.C.B; SABÓIA-MORAIS, S.M.T; YAMADA, A.T. (2004). Efeitos do fluoreto de sódio no epitélio da brânquia do peixe Guaru (*Poecilia vivipara*). Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. 41:274-280.

CAMARGO, M.M.P; MARTINEZ, C.B.R. (2007). Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. Neotropical Ichthyology. 5:327-336.

CENGIZ, E. (2006). Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. Environmental Toxicology and Pharmacology. 22:200–204.

CERQUEIRA, C.C.C; FERNANDES, M.N. (2002). Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 52:83-91.

FERNANDEZ-VEGA, C.; SANCHO, E.; FERRANDO, M.D.; ANDREU, E. (2002). Thiobencarb-induced changes in acetylcholinesterase activity of the fish *Anguilla anguilla*. Pestic. Biochem. Physiol. 72:55-63.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A; FERREIRA-CARDOSO, J.V; GARCIA-SANTOS, S; MONTEIRO, S.M; CARROLA, J; MATOS, P; FONTAÍNHAS-FERENDAS, A. (2007). Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. Pesq. Vet. Bras. 27:103-109.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A; MONTEIRO, R; REIS-HENRIQUES, A; ROCHA, E. (2006). Effects of the fungicide Mancozeb on Liver Structure of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*: assessment an Quantification of Induced Cytological Changes Using Qualitative Histopathology and the Stereological Point-Sampled Intercept Method. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 76:249-255.

GLUSCZAK, L; MIRON, D.S; CRESTANI, M; FONSECA, M.B; PEDRON, F.A; DUARTE, M.F; VIEIRA, V.L.P. (2006). Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). Ecotoxicology Environmental Safety. 65:237-241.

GUIMARÃES, A.T.B; SILVA DE ASSIS, H.C; BOEGER, W. (2007). The effect of thichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 68:57-62.

- GOMES-JR, J. L; MONTEIRO, L.R. (2007). Size and fecundity variation in populations of *Poecilia vivipara* Block & Schneider (Teleostei; Poeciliidae) inhabiting an environmental gradient. *Journal of Fish Biology*. 71:1799–1809.
- HUGHES, G.M., PERRY, S.F., PIIPER, J. (1986). Morphometry of the gills of the elasmobranch *Scyliorhinus stellaris* in relation to body size. *Journal experimental Biology*. 121:27-42.
- LANGIANO, V.C; MARTINEZ, C.B.R. (2008). Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 147:222–231.
- MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Métodos quantitativos em morfologia. EDUERJ, 1995.
- NERO, V; FARWELL, A; LISTER, A; VAN DER KRAAK, G; LEE, L.E.J; VAN MEER, T; MACKINNON, M.D; DIXON, D.G. (2006a). Gill and liver histopathological changes in yellow perch (*Perca flavescens*) and goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water. *Ecotoxicology and Environmental Safet*. 63:365-377.
- NERO, V; FARWELL A; LEE, L.E.L; MEER, T.V; MACKINNON, M.D; DIXON, D.G. (2006b). The effects of salinity on naphthenic acid toxicity to yellow perch: Gill and liver histopathology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 65:252-264.
- SABÓIA-MORAIS, S.M.T; HERNANDEZ-BLAZQUES, F.J; MOTA, D.L; BITTENCOURT, A.M. (1996). Mucous cell types in the branchial epithelium of the euryhaline fish *Poecilia vivipara*. *Journal of Fish Biology*. 49: 545-548.
- SARÓGLIA, M; TEROVA, G; DE STRADIS, A; CAPUTO, A. (2002). Morphometric adaptations of sea bass gills to different dissolved oxygen partial pressures. *Journal Fish Biology*. 60:1423-1430.
- SILVA, L.D; NASCIMENTO, V; SANTOS, S.C; MORAIS, J.O.R; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. (2003). Análise morfométrica das células do cloro de *Poecilia vivipara* expostas a frações da folha e da casca do caule de *Caryocar brasiliensis*. *Acta Scientiarum: Biological Sciences*. 25:195-201.
- SIMONATO, J.D; GUEDES, C.L.B; MARTINEZ, C.B.R. (2008). Biochemical, physiological, and histological changes in the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to diesel oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 69:112-120.
- SOUZA, T.A; MATTA, M.H.R; MONTAGNER, E; ABREU, A.B.G. (2006). Estudo de recuperação de glifosato e AMPA derivados em solo utilizando-se resinas nacionais. *Quimica. Nova*. 29:1372-1376.

SOUZA, F. J; PIRES, F. S; GRISÓLIA, C. K; SABÓIA-MORAIS, S. M. T. (2013a). Toxicological effects of a glyphosate-based formulation on the liver of *Poecilia reticulata*. *Current Topics in Toxicology*, v. 9, p. 81-91, 2013.

SZAREK, J; SIWICKI, A; ANDRZEJEWSKA, A; TERECH-MAJESWSKA, E; BANASZKIEWICZ, T. (2000). Effects of the herbicide RoundupTM on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (*Cyprinus carpio*). *Marine Environmental Research*. 50:263-266.

VIGÁRIO, A.F. Análise do comportamento celular e animal do peixe (*Poecilia vivipara*) sob efeito agudo do herbicida ácido 2,4 – diclofenoxiacético (2,4 –D). Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular)-Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.

VIGÁRIO, A. F; SABÓIA-MORAIS, S. M. T. (2014) Effects of the 2,4-D herbicide on gills epithelia and liver of the fish *Poecilia vivipara*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34: 232-239.

ZODROW, J.M; STEGEMAN, J.J; TANGUAY, R.L. (2004). Histological analysis of acute toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in zebrafish. *Aquatic Toxicology*. 66:25-38.

ALTERAÇÕES PROLIFERATIVAS E NEOPLÁSICAS EM PRÓSTATA CANINA

Mariana Batista Faleiro *

Lorena Cardoso Cintra *

Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura *

Morfofisiologia e enfermidades da próstata canina

No cão, a próstata representa a única glândula sexual acessória, compondo-se por órgão retroperitoneal músculo-glandular, ovóide e bilobulado, que circunda a uretra proximal¹. Localiza-se caudal à bexiga, ventral ao reto e dorsal à sínfise púbica (JOHNSTON et al., 2001; LEROY et al., 2013), podendo variar de posição a depender da idade, distensão da bexiga e enfermidades envolvendo a glândula (BARSANTI e FINCO, 1997) (Figura 1A). Sua principal função é a produção do líquido prostático, que atua como meio de transporte, proteção e nutrição para os espermatozóides durante a ejaculação (CARTEE et al., 1993). Além disso, auxilia no metabolismo da testosterona em diidrotestosterona (BARSANTI e FINCO, 1997).

A próstata canina possui dois lobos, separados por um septo medial de tecido fibroso (JOHNSTON et al., 2001; LEROY et al., 2013). Esses lobos subdividem-se em lóbulos, contendo glândulas túbulo-alveolares ramificadas (ácinos), recobertas por epitélio colunar simples (CARTEE et al., 1993), sustentadas por delicado estroma e que se estendem desde sua abertura no ducto uretral até a cápsula fibromuscular prostática, a qual limita e protege o parênquima glandular (JOHNSTON et al., 2001; LAI et al., 2008). O epitélio glandular prostático é composto por dois tipos celulares, as células epiteliais secretoras colunares altas e as células epiteliais da camada basal, estas localizadas ao longo da membrana basal.

* Escola de Veterinária e Zootecnia. Setor de Patologia. Universidade Federal de Goiás (EVZ-UFG)

O estroma consiste de fibroblastos e células musculares lisas, envolvidos em colágeno, com vasos sanguíneos e nervos (BARSANTI e FINCO, 1997; LAI et al., 2008) (Figura 1B). As doenças prostáticas representam um problema comum em cães adultos e idosos, semelhante ao que ocorre na próstata do homem (ANIDJAR et al., 2012; FONSECA-ALVES et al., 2012; KELLER et al., 2013). Dentre as enfermidades que acometem a próstata dos cães, destacam-se a hiperplasia prostática benigna (FONSECA-ALVES et al., 2010) (HPB), as prostatites (BARSANTI e FINCO, 1997; BENOIST et al., 1997), as lesões displásicas (FONSECA-ALVES et al., 2010) e o carcinoma prostático (PC) (LEAV et al., 2001; TOMAS et al., 2007; LAI et al., 2008; RODRIGUES et al., 2010; FALEIRO et al., 2013). Quanto às lesões displásicas da próstata, consideradas pré-malignas, destacam-se a neoplasia intraepitelial prostática (PIN) (WATERS e BOSTWICK, 1997a; RODRIGUES et al., 2010) e a atrofia inflamatória proliferativa (PIA) (TOLEDO et al., 2010; FALEIRO et al., 2013).

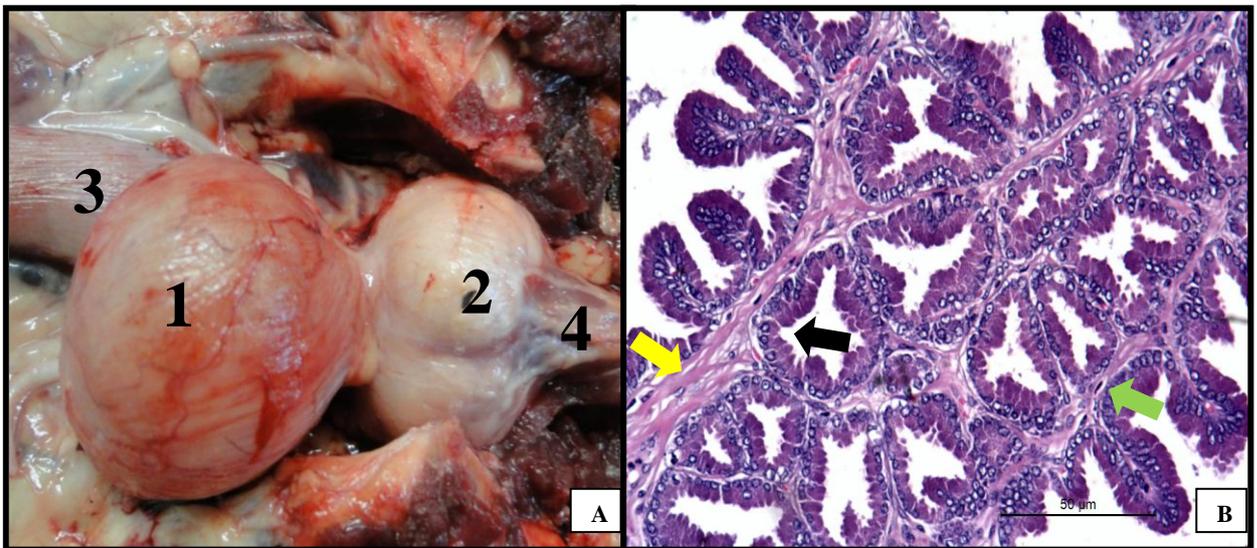


Figura 1 - A) Vista ventral da cavidade pélvica canina. 1) Bexiga urinária; 2) próstata; 3) reto; 4) uretra. B) Fotomicrografia da histomorfologia normal da próstata canina. Glândula túbulo-alveolar ramificada (ácinos), recobertas por epitélio colunar simples (seta preta). Lúmen glandular (asterisco), estroma de sustentação fibromuscular (seta amarela) e célula basal (seta verde). HE, 200x. Fonte: Faleiro, 2014

A caracterização diagnóstica das prostatopatias caninas é um constante desafio, uma vez que a similaridade dos sinais nas diferentes enfermidades e a substancial possibilidade de ocorrência concomitante de duas ou mais alterações limitam diagnósticos precisos, somado ao fato da inexistência de testes bioquímicos apropriados para a espécie, como biomarcadores de detecção precoce de

enfermidades como HPB e câncer. Ressalte-se que à exceção da prostatite aguda, cães com doenças prostáticas são comumente assintomáticos (CARTEE et al., 1993; BARSANTI e FINCO, 1997; SMITH, 2008).

Similaridades em relação à ocorrência natural e influência hormonal no desenvolvimento das afecções prostáticas, principalmente HPB (LEAV et al., 2001), PIN (WATERS e BOSTWICK, 1997a), PIA (TOLEDO et al., 2010) e PC (LAI et al., 2008), têm feito do cão modelo experimental para o estudo de algumas dessas prostatopatias na glândula humana (WATERS e BOSTWICK, 1997a; LEAV et al., 2001; ANIDJAR et al., 2012; KELLER et al., 2013), contribuindo para o conhecimento médico e médico-veterinário acerca das doenças prostáticas nessas espécies. Considerando essas similaridades e o contexto do estudo, apresentam-se a seguir as enfermidades relacionadas aos objetivos desta pesquisa.

Hiperplasia prostática benigna (HPB)

A hiperplasia prostática benigna (HPB) é a prostatopatia mais comum no cão (KLAUSNER et al., 1994) e está associada ao envelhecimento e a desequilíbrios hormonais envolvendo a testosterona, a diidrotestosterona (DHT) e o estrogênio (BARSANTI e FINCO, 1997; LEAV et al., 2001; FONSECA-ALVES et al., 2010). A HPB no cão envolve preferencialmente o componente epitelial e ocorre de forma difusa (JUNIEWICZ et al., 1994; SMITH, 2008), enquanto no homem costuma ser estromal e nodular (KLAUSNER et al., 1994). Apesar disso, o cão é a única espécie não humana que desenvolve HPB espontaneamente, o que reforça sua utilização como modelo experimental para essa doença no homem (KLAUSNER et al., 1994; SCIARRA et al., 2002).

Em decorrência do desequilíbrio entre andrógenos prostáticos, há alteração da interação entre estroma e epitélio, havendo resposta das células epiteliais aos fatores de crescimento produzidos pelas células estromais. Observa-se tanto aumento no número de células (hiperplasia), quanto aumento no tamanho das mesmas (hipertrofia) (SMITH, 2008). Essa alteração resulta em descontrole na proliferação, migração e morte celular, sendo um dos fatores que contribuem para o desenvolvimento da HPB (KLAUSNER et al., 1994). Quanto ao padrão histológico da HPB canina há dois tipos bem caracterizados, a hiperplasia glandular, com proliferação das células secretoras; e hiperplasia complexa, com hiperplasia

glandular intercalada a focos de atrofia. Neste último, há proliferação dos elementos estromais em associação a áreas atróficas ou de ácinos dilatados, císticos e preenchidos por material eosinofílico (JUNIEWICZ et al., 1994; KLAUSNER et al., 1994; FONSECA-ALVES et al., 2010) (Figura 2).



Figura 2 - Fotomicrografia da próstata canina com HPB cística. Evidenciação de ácinos acentuadamente dilatados (asterisco vermelho), irregulares e proliferação estromal adjacente (asterisco preto). HE, 200x. Fonte: Faleiro, 2014

Embora a HPB possa ocorrer concomitantemente a lesões potencialmente pré-malignas, como a PIN e PIA, e malignas, como o PC (SCIARRA et al., 2002; Di SILVERINO et al., 2003), é improvável que a HPB represente lesão pré-neoplásica (De MARZO et al., 1999).

Atrofia inflamatória proliferativa (PIA)

O termo atrofia inflamatória proliferativa, do inglês *proliferative inflammatory atrophy* (PIA), foi proposto para designar focos de epitélio glandular proliferativo com o aspecto morfológico de atrofia focal simples e inflamação concomitante (De MARZO et al., 1999). A atrofia da próstata é identificada pela redução no volume glandular e estroma pré-existent, sendo caracterizada em dois padrões, difuso e focal. A forma difusa resulta da diminuição de andrógenos

circulantes e envolve a próstata como um todo, de maneira relativamente uniforme. Ao contrário, a atrofia focal não se relaciona unicamente à diminuição de andrógenos circulantes e ocorre como áreas de epitélio atrófico intercaladas com áreas de epitélio de aspecto normal e são proliferativas, sendo que a ampla maioria associa-se à inflamação, de maneira que essas lesões podem se originar em um cenário de estresse oxidativo aumentado, possivelmente derivado das células inflamatórias próximas (De MARZO et al., 1999; De MARZO et al., 2006; SFANOS e De MARZO, 2012).

A inflamação é sugerida como fator etiológico capaz de incitar a carcinogênese por causar dano celular e no genoma, promover a substituição celular e criar um microambiente rico em radicais livres tóxicos, ácido aracdônico, proteases, citocinas e fatores de crescimento que elevam a replicação celular, antiapoptóticos e a angiogênese (PALAPATTU et al., 2004; WAGENLEHNER et al., 2007). Portanto, no que refere à carcinogênese, a inflamação pode atuar como agente iniciador, via efeitos genotóxicos, ou como agente promotor, via efeitos citotóxicos (PLATZ e De MARZO, 2004). Ainda, segundo Nonomura et al. (2011) e Sfanos e De Marzo (2012), a inflamação crônica em tecidos benignos prediz o desenvolvimento de câncer de alto grau (com escore de Gleason entre 7-10).

Sugar (2006) e Tomas et al.(2007) sugerem que na PIA ocorre equilíbrio entre proliferação e perda celular por mecanismos que não os apoptóticos, uma vez que nessas lesões há proliferação, mas não há perda celular por apoptose, e mesmo assim não há crescimento em volume. Ainda, acreditam em injúria celular direta e que as células lesadas caem no lúmen glandular e são eliminadas no ejaculado ou capturadas por macrófagos. Além disso, inferem que o epitélio em regeneração suprime a morte celular programada, ao menos temporariamente, para substituir as células perdidas, fato que poderia explicar a expressão aumentada de *B-cell lymphoma/leukemia-2* (Bcl-2) nas células secretoras da PIA, resultando em níveis muito baixos de apoptose e embasando o conceito de que a PIA é uma lesão regenerativa. Ainda, os fatores de crescimento poderiam estar sendo liberados tanto pelas células epiteliais lesadas quanto pelas células inflamatórias presentes.

Há vários critérios para que se considere uma lesão pré-maligna, como a relação epidemiológica, a presença anterior ao câncer, assemelhanças morfológicas e a proximidade ou equivalência às suas características de malignidade (VIS e VAN DER KWAST, 2001). A PIN é considerada a lesão precursora mais provável do carcinoma prostático invasivo por atender a tais critérios (VIS e VAN DER KWAST, 2001). Apesar da PIA também ser apresentada como lesão prostática pré-maligna, destaca-se que Anton et al. (1999) e Billis e Magna (2003), não encontraram associações entre a atrofia prostática e câncer. Já Wang et al. (2009) observaram que 70% das lesões de PIN e 28% das de PC eram margeadas por PIA. Com isso, concluíram sobre a evidência direta entre as lesões e mostraram transições morfológicas entre PIA e PIN, e PIA e PC na próstata humana. Além disso, muitos focos de PIA compartilham alterações fenotípicas, genotípicas e moleculares com PIN e PC, podendo esses focos compor o principal alvo de transformação neoplásica (BILLIS, 1998; ANTON et al., 1999; BILLIS e MAGNA, 2003; VAN LEENDERS et al., 2003; WANG et al., 2009).

Putzi e De Marzo (2000) avaliaram a relação entre PIA, PIN e adenocarcinoma prostático em humanos e observaram concomitância entre PIA e PIN, PIA e PC, e PIN e PC, sendo as combinações de topografia variada, observando-se desde lesões adjacentes a distantes. Dessa forma, os autores acreditam que embora não caracterize regra, a PIA pode representar um precursor da PIN e/ou do PC, embora assumam que a relação topográfica não seja prova definitiva dessa proposta. Enfatizam ainda que nem todas as lesões de PIN ou pequenas lesões de PC estão associadas à atrofia, assim como nem todas as lesões atróficas são precursoras de PIN ou PC.

Segundo Palapattu et al. (2004), a PIA compreende resposta das células epiteliais prostáticas normais a um microambiente de estresse, e regiões individuais de PIA que são inábeis em debelar o dano oxidativo ao genoma podem progredir para PIN ou PC. Assim, as células epiteliais da PIA são possíveis alvos de transformação neoplásica, passando ou não por PIN, o que significa dizer que dão origem ao PC indireta ou diretamente. Contudo, alguns tumores parecem se desenvolver diretamente da PIN enquanto outros ocorrem sem evidência de lesões precursoras (VAN LEENDERS et al., 2003; WANG et al., 2009).

Em cães, alguns autores estudaram a relação da PIA com a evolução do PC (RODRIGUES et al., 2010; TOLEDO et al., 2010; CROCE et al., 2011; FALEIRO et al., 2013; FONSECA-ALVES et al., 2013). Di Santis (2007) caracterizou morfológicamente e imunofenotipicamente a PIA e a PIN, validando o potencial pré-maligno dessas lesões na próstata do cão. Rodrigues et al. (2010) embora não tenham examinado o aspecto proliferativo da PIA, encontraram imunomarcagem para cicloxigenase-2 (COX-2) e fator de crescimento transformador beta (TGF- β) em quantidade intermediária entre o tecido normal e o PC, concluindo tratar-se de lesão pré-neoplásica, já que o aumento na expressão desses reguladores de atividades celulares é observado em processos neoplásicos.

Toledo et al. (2010), com base nos critérios de De Marzo et al. (2006) e Di Santis (2007), propuseram a subdivisão da PIA canina de acordo com o grau de inflamação adjacente aos focos atróficos, sendo discreta, quando há poucas células inflamatórias e estas são esparsas em sua maioria; moderada, quando há agregados de células inflamatórias sem destruição tecidual ou formação de folículos ou nódulos linfoides (Figura 3A); e acentuada, quando da presença de agregados confluentes de células inflamatórias com destruição tecidual ou formação de folículos ou nódulos linfoides (Figura 3B).

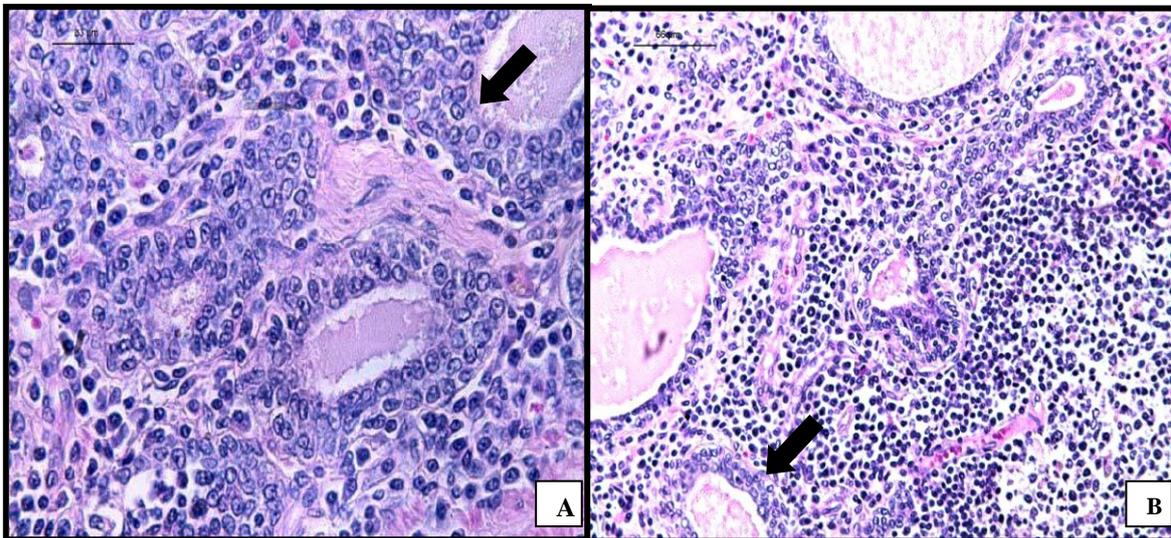


Figura 3 - Fotomicrografia de próstata canina com foco de atrofia inflamatória proliferativa (PIA). A)PIA cominfiltrado inflamatório mononuclear intersticial (asterisco) e atipias epiteliais com mais de uma camada de células epiteliais (seta), citoplasma marcadamente reduzido, núcleos aumentados e nucléolos evidentes (PIA-moderada), HE, 400x; B) Atrofia acinar, dupla camada de células epiteliais (seta) e infiltrado inflamatório mononuclear intersticial (asterisco) (PIA-acentuada), HE, 200x. Fonte: Toledo et al.(2010)

Croce et al., (2011) avaliaram a expressão imunoistoquímica de óxido nítrico sintase 2 (NOS-2), COX-2, p53 e Glutathione S-transferase pi 1 (GSTP-1) em focos de PIA e PC canino e concluíram que o aumento na expressão de NOS-2, COX-2 relaciona-se ao estresse oxidativo, muitas vezes gerado pelo infiltrado inflamatório, podendo o epitélio prostático ser foco de alteração genética e transformação neoplásica. Ainda, a expressão aumentada do GSTP-1 poderia conferir certa proteção ao dano oxidativo ao tecido prostático.

Faleiro et al. (2013) avaliaram a expressão imunoistoquímica das metaloproteinases de matriz 2 e 9 (MMP-2 e MMP-9) e receptor de ativador de plasminogênio tipo uroquinase (uPAR) na próstata canina com PIA e concluíram que a inflamação influencia positivamente a atividade dessas enzimas. Com isso, ocorre maior atividade proteolítica na matriz extracelular (MEC), possivelmente contribuindo para a remodelação e o processo de invasão tumoral e metástase. Essa idéia é reforçada nos achados de Toledo (2012), que observou maior expressão de inibidor tecidual de metaloproteinase-1 (TIMP-1) no tecido prostático com PIA, PIN e PC e menor expressão de TIMP-2, demonstrando o desequilíbrio dessas proteínas nos focos de PIA, o que contribui com a remodelação tecidual e possível grau de invasão tumoral e metástase.

Rodrigues et al. (2010) ao analisar a expressão gênica de COX-2 e estudar as células da camada basal pela marcação imunoistoquímica de p63 na PIA e no PC canino, observaram maior expressão gênica de COX-2 no estroma em relação às células epiteliais, e aumento da proliferação e redução da apoptose das células secretoras na PIA e no PC. O mesmo ocorreu com as células basais na PIA, que apresentaram maior índice proliferativo e menor taxa de apoptose. Ainda, sendo a expressão de COX-2 na PIA maior no compartimento estromal, revela o importante papel dessa enzima na carcinogênese prostática canina.

Fonseca-Alves et al. (2013) analisaram por imunoistoquímica a expressão de c-myc, NKX3.1, E-caderina e p63 no tecido prostático canino com HPB, PIA e PC, e observaram que a expressão de c-myc eleva-se nos casos de PC e PIA em comparação ao tecido prostático normal. A proteína NKX3.1 apresentou-se reduzida em 94,75% dos casos de PC e em 100% dos de PIA em comparação ao tecido normal. Ainda, a expressão de E-caderina apresentou menor expressão nos

tecidos com PC em relação aos com PIA e normal, bem como a expressão de p63 foi maior em PC e PIA do que no tecido normal. Dessa forma, demonstram que a carcinogênese do tecido prostático canino pode estar relacionada com a proliferação de células basais, ganho de função de c-MYC e perda da expressão da proteína NKX3.1 e E-caderina, bem como potencial envolvimento das células basais no desenvolvimento da PIA para PC.

Em um estudo da expressão gênica de ErbB1, ErbB2, CDKN1A, CDKN1B e TP53 e imunohistoquímica de EGFR (Her1), Her2 (c-erbB-2), p21, p27 e p53 em próstata caninas com PIA e PC, Faleiro (2014), constatou que o EGFR e Her2 atuam nas lesões de PIA e PC, com ação importante do receptor Her2, sugerindo que esses receptores estão envolvidos na carcinogênese e no desenvolvimento tumoral da próstata canina. Também concluiu que p21 e p27 quando super expressos na próstata canina com lesões pré-malignas e malignas desempenham ação no controle da proliferação celular, possivelmente atuando como fator de proteção na evolução da PIA para PC, e no desenvolvimento do PC, mesmo na presença de p53 alterada. Ainda, Faleiro (2014) inferiu que em decorrência do imunofenótipo semelhante nas glândulas com PIA, PIN e PC no que se refere aos reguladores da progressão do ciclo celular, é possível reiterar o potencial pré-maligno da PIA e PIN na próstata canina.

Neoplasia intraepitelial prostática (PIN)

Inicialmente, o termo displasia foi utilizado para designar alterações não usuais no epitélio glandular prostático e diferenciá-las de lesões inquestionavelmente benignas e de proliferações verdadeiramente neoplásicas, e abrangia várias alterações, como as de natureza atrófica, inflamatória e metaplásica, além de hiperplasias atípicas glandulares e intraductais (BOSTWICK e BRAWER, 1987). Em 1986, McNeal e Bostwick (1986) propuseram que a displasia intraductal na próstata humana poderia representar uma lesão pré-maligna, constituindo-se no precursor biológico direto do PC. O termo neoplasia intraepitelial prostática (PIN) foi proposto por Bostwick e Brawer (1987) e endossado consensualmente por Drago et al. (1989), com o intuito de substituir termos sinônimos como displasia intraductal, hiperplasia atípica acinar, hiperplasia com alterações malignas, marcada

atipia e displasia ducto acinar, unificando a terminologia PIN para designar as alterações displásicas intraepiteliais da próstata humana (BOSTWICK , 1995).

A PIN é observada em mais de 85% dos casos de PC e em 43% de forma contígua às lesões prostáticas benignas da próstata humana (McNEAL e BOSTWICK, 1986; BOSTWICK, 1995), sendo que estudos acerca do comportamento biológico dessa lesão comprovaram seu aspecto pré-maligno (McNEAL e BOSTWICK, 1986; BOSTWICK e BRAWER, 1987; DRAGO et al., 1989; BOSTWICK , 1995; JONIAU et al., 2005).

Os mecanismos de proliferação e diferenciação celular estão alterados na PIN, pois são observadas células basais atípicas, com potencial proliferativo, migrando para o compartimento secretor, enquanto no tecido normal ou hiperplásico a capacidade proliferativa é restrita à camada basal (Di SANTIS, 2007; RODRIGUES et al., 2010). Com a indiferenciação celular, tende a ocorrer perda gradativa das células basais, facilitando a extensão da lesão para o estroma e sua transformação em carcinoma invasivo, com aumento da atividade proliferativa, neovascularização, instabilidade genética e variação na quantidade de DNA (McNEAL e BOSTWICK, 1986; BOSTWICK , 1995).

Histologicamente, a PIN consiste de alterações nos ductos ou ácinos, geralmente multifocais. A lesão pode ser de baixo grau (LGPIN) ou de alto grau (HGPIN). Focos de LGPIN caracterizam-se por ductos ou ácinos com epitélio hiperplásico, condensado e irregular, com marcada variação do tamanho nuclear. Núcleos alongados, hiper cromáticos e pequenos nucléolos podem estar presentes. A HGPIN é semelhante à LGPIN, porém a alta celularidade e a estratificação celular são mais evidentes e a variação do volume nuclear entre as células é menor, pois a maioria possui núcleo aumentado. Nucléolo proeminente e frequentemente múltiplo é uma característica da HGPIN. Além disso, a membrana basal do epitélio da próstata humana apresenta-se íntegra e a lesão apresenta crescimento lento (BOSTWICK , 1995) (Figura 4).

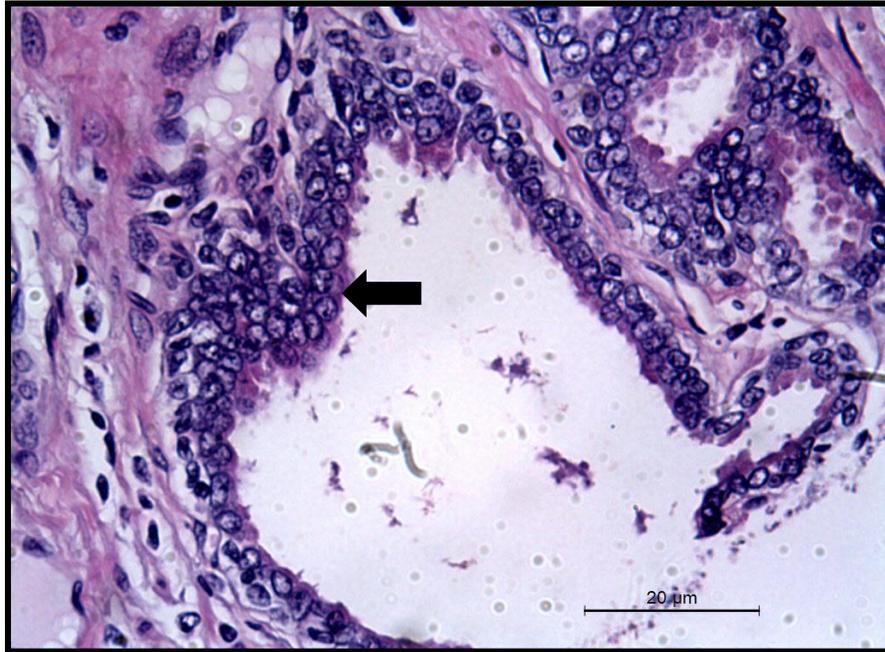


Figura 4 - Fotomicrografia de próstata canina com foco de PIN. Epitélio acinar estratificado e displásico, com variação do tamanho nuclear, nucléolo evidente e perda de diferenciação citoplasmática (seta). HE, 400x. Fonte: Faleiro, 2014

O primeiro relato mencionando PIN em cães descreve a presença da lesão em 19 (66%) de 29 glândulas com diagnóstico de adenocarcinoma (WATERS e BOSTWICK, 1997a). As características histológicas da PIN na próstata canina são similares àsquelas descritas na glândula humana (WATERS e BOSTWICK, 1997 b), a exceção da continuidade da camada de células basais, a qual no cão é naturalmente descontínua (WATERS e BOSTWICK, 1997a).

Assim como Waters e Bostwick (1997 b), que observaram incidência de 55% de PIN em cães idosos e não castrados sem que apresentassem evidências clínicas de câncer, Di Santis (2007) observou 12,5% de PIN canina nas mesmas condições. No entanto, Aquilina et al. (1998) observaram PIN em 72% dos animais com PC. Os autores consideraram a frequente associação entre PIN e adenocarcinoma um forte indicativo de que a PIN compreenda lesão pré-maligna. Apesar da incidência da lesão ter sido baixa nos animais sem câncer prostático, os mesmos acreditam que a lesão possa ter sido subestimada pelo fato de se ter avaliado apenas uma amostra do tecido prostático desses animais. Ainda segundo esses autores (WATERS e BOSTWICK, 1997b; AQUILINA et al., 1998), a prevalência da PIN em cães e humanos é influenciada pela idade e por andrógenos

testiculares, constituindo a única espécie não humana em que a PIN se desenvolve espontaneamente.

A PIN nas próstatas canina e humana apresenta-se de forma semelhante no que diz respeito à morfologia e associação com o câncer (BOSTWICK, 1995; WATERS e BOSTWICK, 1997b). Assim, a próstata canina é apontada como modelo para a determinação dos fatores que regulam a aparente progressão do epitélio benigno para PIN, e deste para o carcinoma invasivo (WATERS e BOSTWICK, 1997a; WATERS e BOSTWICK, 1997b).

Carcinoma prostático (PC)

As neoplasias da próstata canina são comumente epiteliais malignas, de estrutura glandular ou acinar (WINTER, LOCKE e PENNINCK, 2006), sendo o adenocarcinoma e o carcinoma indiferenciado os tipos histológicos mais comuns (WATERS et al., 1996; WINTER, LOCKE e PENNINCK, 2006). Nos cães, os PC são raros, de baixa prevalência e relatados com maior frequência em animais adultos e idosos (JUNIEWICZ et al., 1994; LEROY e NORTHRUP, 2009), oposto ao que ocorre no homem, para o qual o PC é a forma mais comum de câncer e a segunda causa de óbito entre os homens (ANIDJAR et al., 2012; KELLER et al., 2013). Vale destacar que a lesão é extremamente rara em qualquer outra espécie animal (COFFEY, 2001; LEROY e NORTHRUP, 2009).

A maioria dos PC no homem e no cão apresenta padrão intra-alveolar e morfologia heterogênea, variando de pequenos focos de células relativamente bem diferenciadas a camadas de células anaplásicas, lembrando carcinoma de células renais claras ou carcinoma de células transicionais (EPSTEIN e MURPHY, 1997; LEROY e NORTHRUP, 2009) (Figura 5). Em associação aos focos de PC canino é possível encontrar focos de HBP, dilatação glandular e inflamação supurativa ou linfoplasmocitária significativa (BARSANTI e FINCO, 1997). Os PC no homem são classificados de acordo com o sistema de Gleason, em que escores são atribuídos aos tumores com base na diferenciação arquitetônica, padrões de crescimento em relação ao estroma e atipias nucleares das células em amostras coradas em HE, tornando o sistema um bom indicador da progressão e evolução clínica da doença (HUMPHREY, 2004). Padrões semelhantes aos observados no

sistema Gleason foram encontrados nas neoplasias da glândula canina, mas sem significado prognóstico, restringindo sua utilização na rotina diagnóstica (LAI et al., 2008).

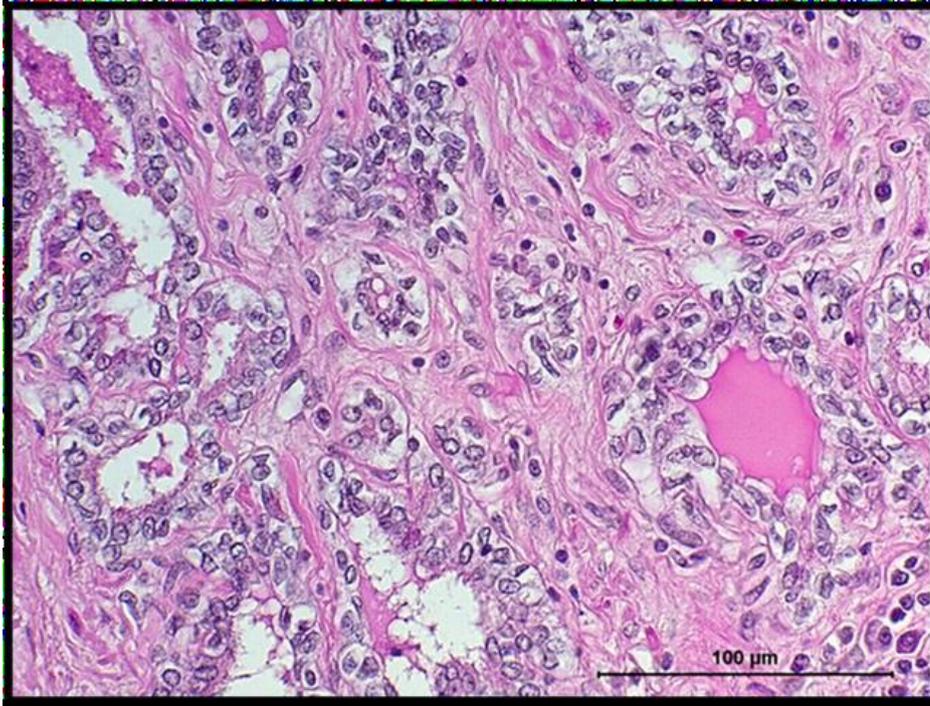


Figura 5 - Fotomicrografia de carcinoma prostático canino. Áreas de proliferação celular com atípias e perda da conformação acinar. HE, 400x. Fonte: Faleiro, 2014

Acredita-se que o PC na espécie humana tem início em lesões pré-malignas, a exemplo das displasias, em que as células sofrem alterações substanciais, diferem-se das normais e adquirem características proliferativas e de dominância sobre as células adjacentes⁵⁶. Nesse contexto, postula-se que a fase inicial do PC corresponda à PIN de alto grau (BOSTWICK e BRAWER, 1987; JONIAU et al., 2005; De MARZO et al., 2006), encontrada em 82% dos PC invasivos e em 43% das glândulas de homens acima de 50 anos sem sinais de câncer (McNEAL e BOSTWICK, 1986). No cão, a ocorrência da PIN de alto grau com PC concomitante foi relatada entre 30-72% dos casos (AQUILINA et al. 1998; MADEWELL et al., 2004). Em contraste, na ausência de PC, a PIN foi encontrada em 3% dos casos por Madewell et al. (2004) e não relatada por Aquilina et al. (1998).

É sabido que o PC no homem está associado a mutações em genes prostáticos susceptíveis, como TP53 e ErbB2, juntamente a defeitos somáticos em genes como NKX3.1, C-MYC, ErbB1, PTEN, CCND1, CDKN1B, CDKN1A e o gene receptor de andrógeno (De MUGA et al., 2010) (AR). Já em cães, pouco se conhece sobre a patogênese molecular e origem dos PC (LEROY e NORTHRUP, 2009). De acordo com Leroy e Northrup (2009), não foram identificadas mutações somáticas predispondo os cães ao maior risco para o desenvolvimento de PC, mas Winkler et al. (2006) afirmam que há anormalidades cromossômicas no PC canino. Entretanto, Ganem et al. (2007) destacam que não se pode afirmar se essas anormalidades cromossômicas no PC humano ou canino são causa ou consequência da transformação neoplásica.

Fatores endógenos e exógenos têm sido considerados predisponentes ao risco do desenvolvimento do PC humano, incluindo histórico familiar, raça, idade e fatores nutricionais (LEROY e NORTHRUP, 2009; FALEIRO, et al., 2013), o que não se extrapola aos cães e dificulta a identificação das alterações genéticas associadas ao processo (LEROY e NORTHRUP, 2009). Devido à natureza agressiva da neoplasia e da falta de um teste de identificação de cães com PC em estágio inicial, metástases são observadas em aproximadamente 80% dos casos e localizadas preferencialmente nos linfonodos pélvicos, ilíacos internos e externos, até corpos vertebrais, sistema esquelético e pulmões (TESKE et al., 2002; LEROY e NORTHRUP, 2009; KELLER et al., 2013).

No cão considera-se espontânea a etiologia do PC, mas não há dúvidas quanto ao envolvimento hormonal (BONKHOF et al., 1999). Johnston et al. (2001) relataram que a depleção andrógênica pós-orquiectomia resulta em involução de lesões proliferativas prostáticas benignas, mas não de PC. Nesse sentido, Bell et al. (1991) estudaram o comportamento biológico do PC em cães castrados e não castrados. Observaram metástases em 89% dos animais e curiosamente as lesões pulmonares prevaleceram nos cães orquiectomizados. Além disso, o tipo histológico observado com maior frequência foi o adenocarcinoma pouco diferenciado. Por isso, sugere-se que o PC seja mais agressivo nos cães castrados, mesmo considerando que os não castrados são mais susceptíveis a doenças prostáticas (BELL et al. (1991; BRYAN et al., 2007).

Para Teske et al. (2002), a castração favorece a progressão do processo neoplásico. Já Mahapokai et al. (2000) descreveram que o aumento no número de células basais na próstata de animais castrados sugere que os PC mais agressivos possam ter origem nessas células, visto que as mesmas são andrógeno-independentes, sobrevivem e proliferam ativamente na ausência desses hormônios. Interessante que Garnick (1997) também apresenta a possibilidade da vasectomia aumentar o risco de PC na espécie humana. Já Swinney (1998) apresentou duas hipóteses de etiologia para a PC em cães orquiectomizados: 1) as células envolvidas no tumor são hormônio-independentes; 2) as neoplasias sofrem influências de hormônios extratesticulares, como os produzidos na adrenal.

Para Pylkkänen et al. (1996), diferenças significativas entre o PC humano e canino, como baixa incidência, longo período de latência e grau de resposta hormonal descartam o cão como modelo prático para a carcinogênese prostática humana. Contudo, Waters e Bostwick (1997a), Madewellet al. (2004), Lai et al. (2008), Leroy e Northrup (2009), Anidjar et al. (2012) e Keller et al. (2013) apontaram semelhanças relevantes entre as espécies, incluindo desenvolvimento embrionário, anatomia macroscópica e microscópica, desenvolvimento em idade avançada, concomitância com focos de PIN, localização anatômica e propensão para metástases ósseas que, segundo os autores, fazem do cão modelo experimental adequado para o estudo do PC humano.

REFERÊNCIAS

- ANIDJAR, M.; SCARLATA, E.; CURY, F.L.; ROCHA, J.; HAMEL, L.; LUZ, M.; CHEVALIER, S. Refining the orthotopic dog prostate cancer (DPC)-1 model to better bridge the gap between rodents and men. *The Prostate, New York*, v. 72, n. 7, p. 752-761, 2012.
- ANTON, R. C.; KATTAN, M. W.; CHAKRABORTY, S.; WHEELER, T. M. Postatrophic hyperplasia of the prostate: Lack of association with prostate cancer. *American Journal of Surgery Pathology, New York*, v. 23, n. 8, p. 932-936, 1999.
- AQUILINA, J. W.; MCKINNEY, L.; PACELLI, A.; RICHMAN, L. K.; WATERS, D. J.; THOMPSON, I.; BURGHARDT, J. R.; BOSTWICK, D. G. High grade prostatic intraepithelial neoplasia in military working dogs with and without prostate cancer. *The Prostate, New York*, v. 36, p. 189-193, 1998.

- BARSANTI, J.; FINCO, D. R. Moléstias prostáticas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C, editors. Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato. 4. ed. São Paulo: Manole, 1997. Cap. 128, v.2, p.2294-2325.
- BELL, F. W.; KLAUSNER, J. S.; HAYDEN, D. W.; FEENEY, D. A.; JOHNSTON, S. D. Clinical and pathologic features of prostatic adenocarcinoma in sexually intact and castrated dogs: 31 cases (1070-1987). *Journal of American Veterinary Medicine Association*, Schaumburg, v. 199, n.11, p. 1623-1630, 1991.
- BENOIST, S.; PANIS, Y.; PANNEGEON, V.; SOYER, P.; WATRIN, T.; BOUDIAF, M.; VALLEUR, P. Can failure of percutaneous drainage of postoperative abdominal abscesses be predicted? *The American Journal of Surgery*, New York, v.184, n. 2, p. 148-153, 2002.
- BILLIS, A. Prostatic atrophy: An autopsy study of a histologic mimic of adenocarcinoma. *Modern Pathology*, Baltimore, v. 11, n. 1 p. 47-54, 1998.
- BILLIS, A.; MAGNA, L. A. Inflammatory atrophy of the prostate. Prevalence and significance. *Archives of pathology & laboratory medicine*, Chicago, v. 127, n. 7, p. 840-844, 2003.
- BONKHOFF, H.; FIXEMER, T.; HUSICKER, I.; REMBERGER, K. Estrogen receptor expression in prostate cancer and premalignant prostatic lesions. *American Journal of Pathology*, Bethesda, v. 155, n. 2, p. 641-647, 1999.
- BOSTWICK, D. G.; BRAWER, M. K. Prostatic intra-epithelial neoplasia and early invasion in prostate cancer. *Cancer*, Philadelphia, v. 59, p. 788-94, 1987.
- BOSTWICK, D. G. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia: the most likely precursor of prostate cancer. *Cancer*. Philadelphia, v.75, n.7, p. 1823- 1836, 1995.
- BRYAN, J. N.; KEELER, M. R.; HENRY, C.J.; BRYAN, M.E.; HAHN, A. W.; CALDWELL, C. W, A population study of neutering status as a risk factor for canine prostate cancer. *The Prostate*, New York, v. 67, n. 1, p. 1174-1181, 2007.
- CARTEE, R. E.; HUDSON, J. A.; FINN-BODNER, S. Ultra-sonografy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Philadelphia, v.23, n.2, p.345-377, 1993.
- COFFEY, D.S. Similarities of prostate and breast cancer: evolution, diet, and estrogens. *Urology*, Secaucus, v. 57, n. 4A, p. 31-38, 2001.
- CROCE, G. B.; RODRIGUES, M. M. P.; FALEIRO, M. B. R.; De MOURA, V. M. B. D.; LAUFER-AMORIM, R. Óxido nítrico, GSTP-1 e p53: qual o papel desses biomarcadores nas lesões prostáticas do cão? *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 63, n. 6, p. 1368-1376, 2011.
- DE MARZO, A. M.; MARCHI, V. L.; EPSTEIN, J. I.; NELSON, W. G. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: Implications for prostatic carcinogenesis. *The American Journal of Pathology*, Bethesda, v.155, n.6, p.1985-1992, 1999.
- DE MARZO, A. M.; PLATZ, E. A.; EPSTEIN, J. I.; ALI, T.; BILLIS, A.; CHAN, T. Y.; CHENG, L.; DATTA, M.; EGEVAD, L.; ERTOY-BAYDAR, D.; FARRE, X.; FINE, S. W.; ICZKOWSKI, K. A.; ITTMANN, M.; KNUDSEN, B. S.; LODA, M.; LOPEZ-BELTRAN, A.; MAGI-GALLUZZI, C.; MIKUZ, G.; MONTIRONI, R.; PIKARSKY, E.; PIZOV, G.; RUBIN, M. A.; SAMARATUNGA, H.; SEBO, T.; SESTERHENN, I. A.; SHAH, R. B.; SIGNORETTI, S.; SIMKO, J.; THOMAS, G.;

- TRONCOSO, P.; TSUZUKI, T. T.; VAN LEENDERS, G. J.; YANG, X. J.; ZHOU, M.; FIGG, W. D.; HOQUE, A.; LUCIA, M. S. A working group classification of focal prostate atrophy lesions. *American Journal of Surgical Pathology*, New York, v.30, n.10, p.1281-1291, 2006.
- DE MUGA, S.; HERNÁNDEZ, S.; AGELL, L.; SALIDO, M.; JUANPERE, N.; LORENZO, M.; LLORETA, J. Molecular alterations of EGFR and PTEN in prostate cancer: association with high-grade and advanced-stage carcinomas. *Modern Pathol.* 2010;23(5),703-712.
- Di SANTIS, G. W. Padrão histopatológico, perfil imunoistoquímico e potencial pré-maligno das lesões displásicas da próstata canina. 124 f. Tese, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, 2007.
- DI SILVERINO, F.; GENTILE, V.; DE MATTEIS, A.; MARIOTTI, G.; GIUSEPPE, V.; LUIGI, P.A.; SCIARRA, A. Distribution of inflammation, premalignant lesions, incidental carcinoma in histologically confirmed benign prostatic hyperplasia: a retrospective analysis. *European Urology*, Basel, v.43, n.2, p.164-175, 2003.
- DRAGO, J. R.; MOSTOFI, F. K.; LEE, F. Introductory remarks and workshop summary. *Urology*, New York, v. 34 (suppl), p. 2-3, 1989.
- EPSTEIN, J. I.; MURPHY, W. M. Diseases of the prostate gland and seminal vesicles. In: Murphy, W.M. (Ed.), *Urological Pathology*. W.B. Saunders, Philadelphia, 1997, p. 188-226.
- FALEIRO, M. B. R.; CROCE, G. B.; TOLEDO, D. C.; RODRIGUES, M. M. P.; BATISTA, A. C.; DAMASCENO, A. D.; LAUFER-AMORIM, R.; De MOURA, V. M. B. D. Matrix metalloproteinases 2 and 9 expression in canine normal prostate and with proliferative disorders. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 43, n. 6, p. 1037-1043, 2013.
- FALEIRO, M. B. R. Expressão de receptores de EGF, inibidores e reguladores do ciclo celular em lesões proliferativas da próstata canina. 2014. 103 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.
- FONSECA-ALVES CE, FALEIRO MB, LAUFER-AMORIM R, DE MOURA VMBD. Prostatic histological evaluation in adult not castrated dogs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 62, p. 10-29, 2010.
- FONSECA-ALVES, C. E.; CORRÊA, A. G.; SANTOS-JUNIOR, H. L.; ELIAS, F.; COSTA, S. S.; De MOURA, V. M. B. D. Prostatic abscess in dogs: Report of 15 cases. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 3, p. 1157-1164, 2012.
- FONSECA-ALVES, C. E.; RODRIGUES, M. M. P.; De MOURA, V. M. B. D.; ROGATTO, S. R.; LAUFER-AMORIM, R. Alterations of C-MYC, NKX3.1, and E-Cadherin Expression in Canine Prostate Carcinogenesis. *Microscopy Research Technique*, Inglaterra, v. 76, p. 1250-1256, 2013.
- GANEM, N. J.; STORCHOVA, Z.; PELLMAN, D. Tetraploidy, aneuploidy and cancer. *Current Opinion in Genetics and Development*, London, v. 17, n. 2, p. 157-162, 2007.

- GARNICK, M. B. Prostate cancer. *Scientific American*, New York, v. 10, p. 01-12, 1997.
- HUMPHREY, P. A. Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Modern Pathology*, Baltimore, v. 17, p. 292-306, 2004.
- JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. R.; OLSON, P. M. S. Sexual differentiation and normal anatomy the dog. In: *Canine and Feline*. Philadelphia:WB Saunders, 2001, 592p.
- JONIAU, S.; GOEMAN, L.; PENNING, J.; VAN POPPEL, H. Prostatic intraepithelial neoplasia(PIN): Importance and clinical management. *European Urology*, Basel, v. 48, n. 3, p.379-385, 2005.
- JUNIEWICZ, P. E.; BERRY, S. J.; COFFEY, D. S.; STRANDBERG, J. D.; EWING, L. L. The requirement of the testis in establishing the sensitivity of the canine prostate to develop benign prostatic hyperplasia, *The Journal of Urology*, Hagerstown, v. 152, n. 3, p. 996-1001, 1994.
- KELLER, J. M.; SCHADE, G. R.; IVES, K.; CHENG, X.; ROSOL, T. J.; PIERT, M.; SIDDIQUI, J.; ROBERTS, W. W.; KELLER, E. T. A novel canine model for prostate cancer. *The Prostate*, New York, v. 73, n. 9, p. 952-959, 2013.
- KLAUSNER, J. S.; BELL, F. W.; HAYDEN, D. W.; JOHNSTON, S. D.; LUND, E. M. Recent developments in the diagnosis and treatment of BPH and prostatic carcinoma. *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine*, Lakewood, p.547-548, 1994.
- LAI, C. L.; VAN DEN HAM, R.; VAN LEENDERS, G.; VAN DER LUGT, J.; MOL, J. A.; TESKE, E. Histopathological and immunohistochemical characterization of canine prostate cancer. *The Prostate*, New York, v. 68, n. 5, p. 477-488, 2008.
- LEAV, I.; SCHELLING, K. H.; ADAMS, J. Y.; MERK, F. B.; ALROY, J. Role of canine basal cells in prostatic post natal development, induction of hyperplasia, sex hormone stimulated growth and the ductal origin of carcinoma. *The Prostate*, New York, v. 47, n. 1, p. 149-163, 2001.
- LEROY, B. E.; NORTHRUP, N. Prostate cancer in dogs: Comparative and clinical aspects. *The Veterinary Journal*, London, v. 180, n. 2, p. 149-162, 2009.
- LEROY, C.; CONCHOU, F.; LAYSSOL-LAMOUR, C.; DEVIERS, A.; SAUTET, J.; CONCORDET, D.; MOGICATO, G. Normal Canine Prostate Gland: Repeatability, Reproducibility, Observer-Dependent Variability of Ultrasonographic Measurements of the Prostate in Healthy Intact Beagles. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, London, v. 42, n. 5, p. 355-361, 2013.
- MADEWELL, B.R.; GANDOUR-EDWARDS, R.; DEVERE WHITE, R.W. Canine prostatic intraepithelial neoplasia: is the comparative model relevant? *The Prostate*, New York, v. 58, n. 3, p. 314-317, 2004.
- MAHAPOKAI, W.; XUE, Y.; VAN GARDEREN, E; VAN SLUIJS, F.J.; MOL, J.A.; SCHALKEN, J.A. Cell kinetics and differentiation after hormonal induced prostatic hyperplasia in the dog *The Prostate*, New York, v. 44, n. 1, p. 40-48, 2000.

- MCNEAL, J.E.; BOSTWICK, D.G. Intraductal dysplasia: a premalignant lesion of the prostate. *Human pathology*, New York, v.17, n. 1, p.64-71, 1986.
- NONOMURA, N.; TAKAYAMA, H.; NAKAYAMA, M.; NAKAI, Y.; KAWASHIMA, A.; MUKAI, M.; NAGAHARA, A.; AOZASA, K.; TSUJIMURA, A. Infiltration of tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. *BJU International*, Nova Zelandia, v. 107, n. 12, p. 1918-1922, 2011.
- O'SHAUGHNESSY, J. A.; KELLOFF, G. J.; GORDON, G. B.; DANNENBERG, A. J.; WAUN, K. I.; HONG, W. K.; FABIAN, C. J.; SIGMAN, C. C.; BERTAGNOLLI, M. M.; STRATTON, S. P.; LAM, S.; NELSON, W. G.; MEYSKENS, F. L.; ALBERTS, D. S.; FOLLEN, M.; RUSTGI, A. K.; PAPADIMITRAKOPOULOU, V.; SCARDINO, P. T.; GAZDAR, A. F.; WATTENBERG, L. W.; SPORN, M. B.; SAKR, W. A.; LIPPMAN, S. M.; VON HOFF, D. D. Treatment and prevention of intraepithelial neoplasia: An important target for accelerated new agent development. *Clinical cancer research*, Philadelphia, v. 8, n. 2, p. 314-346, 2002.
- PALAPATTU, G. S.; SUTCLIFFE, S.; BASTIAN, P. J.; PLATZ, E. A.; DE MARZO, A. M.; ISAACS, W. B.; NELSON, W. G. Prostate carcinogenesis and inflammation: emerging insights. *Carcinogenesis*, Oxford, v.26, n.7, p.1170- 1181, 2004.
- PLATZ, E. A.; De MARZO, A. M. Epidemiology of inflammation and prostate cancer. *The Journal of Urology*, Baltimore, v. 171, n. 2, p. S36-S40, 2004.
- PUTZI, M. J.; DE MARZO, A. M. Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology*, Secaucus; v. 56, n. 5, p. 828-832, 2000.
- PYLKKÄNEN, L.; MÄKELÄ, S.; SANTTI, R. Animal models for the pre neoplastic lesions of the prostate. *European Urology*, Basel, v. 30, n. 2, p. 243-248, 1996.
- RODRIGUES, M. M. P.; Di SANTIS, G. W.; De MOURA, V. M. B. D.; AMORIM, R. L. COX-2 and TGF- β expression in proliferative disorders of canine prostate. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, Belo Horizonte, v. 3, p. 31-36, 2010.
- SCIARRA, A.; VORIA, G.; MARIOTTI, G.; GENTILE, V.; PASTORE, A.; DI SILVERINO, F. Histopathological aspects associated with the diagnosis of benign prostatic hyperplasia: Clinical implications. *Urologia Internationalis*, Basel, v. 69, n. 4, p. 253-262, 2002.
- SFANOS, K. S.; De MARZO, A.M. Prostate cancer and inflammation: the evidence. *Histopathology*, Oxford, v. 60, p. 199-215, 2012.
- SMITH, J. Canine prostatic disease: A review of anatomy, pathology, diagnosis, and treatment. *Theriogenology*, Stoneham, v. 70, n. 3, p. 375-383, 2008.
- SUGAR, L. M. Inflammation and prostate cancer. *The Canadian Journal of Urology*, (CJU), St. Laurent, Quebec, v.13, n.1, suplemento 1, p.46-47, 2006.
- SWINNEY, G. R. Prostatic neoplasia in five dogs. *Australian veterinary journal*, Brunswick, v.76, n.10, p.669-674, 1998.

- TESKE E.; NAAN, E. C.; VAN DIJK, E. M.; VAN GARDEREN, E.; SCHALKEN, J. A. Canine prostate carcinoma: epidemiological evidence of an increased risk in castrated dogs. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Ireland, v. 197, p. 251-255, 2002.
- TOLEDO, D. C.; FALEIRO, M. B. R.; RODRIGUES, M. M. P.; Di SANTIS, G. W.; AMORIM, R. L.; De MOURA, V. M. B. D. Histomorphological characterization of proliferative inflammatory atrophy in canine prostate. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 40, p. 1372-1377, 2010.
- TOLEDO, D. C. Expressão de fator de crescimento transformador β e inibidores teciduais de metaloproteinasas 1 e 2 em próstatas caninas normais e com lesões proliferativas. [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia; 2012. [acesso 5 set 2014]. Disponível em: <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tde/883>.
- TOMAS, D.; KRUSLIN, B.; ROGATSCH, H.; SCHAFER, G.; BELICZA, M.; MIKUZ, G. Different types of atrophy in the prostate with and without adenocarcinoma. *European Urology*, Basel, v.51, n.1, p.98-104, 2007.
- VAN LEENDERS, G. J. L. H.; GAGE, W. R.; HICKS, J. L.; VAN BALKEN, B.; AALDERS, T. W.; SCHALKEN, J. A.; DE MARZO, A. M. Intermediate cells in human prostatic epithelium are enriched in proliferative inflammatory atrophy. *American Journal of Pathology*, Bethesda, v.162, n.5, p.1529-1537, 2003
- VIS, A. N.; VAN DER KWAST, T. H. Prostatic intraepithelial neoplasia and putative precursor lesions of prostate cancer: A clinical perspective. *BJU (British Journal of Urology) International*, Oxford, v. 88, n. 2, p. 147-157, 2001.
- WAGENLEHNER, F. M.; ELKAHWAJI, J. E.; ALGABA, F.; BJERKLUND-JOHANSEN, T.; NABER, K. G.; HARTUNG, R.; WEIDNER, W. The role of inflammation and infection in the pathogenesis of prostate carcinoma. *BJU Internatinal*, Oxford, v. 100, n. 4, p. 733-737, 2007.
- WANG, W.; BERGH, A.; DAMBER, J. E Morphological Transition of Proliferative Inflammatory Atrophy to High-Grade Intraepithelial Neoplasia and Cancer in Human Prostate. *The Prostate*, New York, v. 69, n. 13, p.1378- 1386, 2009.
- WATERS, D. J.; BOSTWICK, D. G. Prostatic intraepithelial neoplasia occurs spontaneously in the canine prostate. *Journal of Urology*, Hagerstown, v. 157, n. 2, p.713-716 1997a.
- WATERS, D.J., BOSTWICK, D.G. The canine prostate is a spontaneous model of intraepithelial neoplasia and prostate cancer progression. *Anticancer Research*, Athens, v.17, n. 3A, p.1467-1470, 1997b.
- WATERS, D. J.; PATRONEK, G. J.; BOSTWICK, D. G.; GLICKMAN, L. T. Comparing the age at prostate cancer diagnosis in humans and dogs *Cancer Inst*, v. 88, n. 22, p. 1686-1687, 1996.
- WINKLER, S., REIMANN-BERG, N., MURUA, E. H., LOESCHKE, S., EBERLE, N., HOINGHAUS, R., NOLTE, I., BULLERDIEK, J. Polysomy 13 in a canine prostate carcinoma underlining its significance in the development of prostate cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, New York, v. 169, n. 2, p. 154-158, 2006.

WINTER, M. D.; LOCKE, J. E.; PENNINCK, D. G. Imaging diagnosis-urinary obstruction secondary to prostatic lymphoma in a young dog. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, Raleigh, v. 47, n. 6, p. 597-601, 2006.

ESTRATÉGIA DIDÁTICA PARA O ENSINO DE BOTÂNICA NO ENSINO FUNDAMENTAL II: CONSTRUÇÃO DE UM JARDIM VERTICAL COM PLANTAS MEDICINAIS

*Naiany Nogueira de Oliveira*¹

*Maria Tereza Faria*²

INTRODUÇÃO

O ensino de Ciências e Biologia na maioria das escolas do Brasil persistem a serem restritas as aulas expositivas tradicionais (COSTA; MARINHO, 2010). Nesse contexto insere-se também o ensino da Botânica, área específica da Biologia, onde as informações são muitas e se tornam cada vez mais complexas com o desenvolvimento científico e tecnológico (MELO *et al.*, 2012).

De acordo com os Parâmetros Curriculares Nacionais (PCNs) os estudos botânicos devem abordar a classificação, anatomia e fisiologia comparada, além das interações existentes no ambiente ao redor e as complexas interações estabelecidas ao longo do tempo evolutivo (BRASIL, 2006). A necessidade de se desenvolver saberes práticos importantes para a cidadania também é focada.

Desde a Educação Básica ao Ensino Superior o ensino de Botânica tem preocupado diversos autores, apontando uma necessidade de melhoria nesta área (BARRADAS; NOGUEIRA, 2000; SENICIATO; CAVASSAN, 2004; KINOSHITA *et al.*, 2006, SILVA *et al.*, 2009; TOWATA *et al.*, 2010; COSTA; MARINHO, 2010).

Observa-se principalmente nas escolas de Educação Básica, a não utilização de metodologias de ensino que façam com que os alunos tenham maior contato com os vegetais e sejam mais participativos em aula, causando assim, uma apatia por parte desses pelo conteúdo de Botânica como para qualquer outro em Ciências (ARRUDA; LABURÚ, 1996; CICILLINI, 2002; CECCANTINI, 2006).

¹ Pós-graduada do curso de Especialização em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia (ETAEB) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. ² Professora Titular do curso de Ciências Biológicas- Licenciatura- Faculdade Araguaia; Professor orientador do Curso de Especialização em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia (ETAEB- UFG).

Em convergência, Kinoshita *et al.* (2006) afirmam que um dos fatores que levam a este desinteresse é a má formação de alguns professores, que estão despreparados para atuarem como mediadores do conhecimento e planejar aulas em que os alunos tenham uma participação mais ativa no processo de ensino - aprendizagem. Outras dificuldades é a falta de equipamentos tecnológicos ou a precariedade dos mesmos e a não utilização de locais adequados para realização dessas aulas (CARMO, OLIVEIRA, 2007).

Corroborando, Güllich (2006) relata que alguns professores preocupados em melhorarem o ensino Botânico têm buscado alternativas para minimizar as dificuldades encontradas. A redescoberta e a utilização de metodologias como: aulas de campo em jardins, aulas práticas no laboratório, organização de horta na escola e oficinas de aprendizagem, podem ilustrar experiências bem sucedidas de ensino.

Assim, Silva *et al.* (2006) acordam que para ter sucesso no processo de ensino-aprendizado nesta área o professor tem que explorar conteúdos de forma interessante e instigante, reunir os repertórios de vivências dos alunos e buscar a conscientização para com os bens da natureza.

O contato direto com as plantas pode ser o meio mais eficaz para a construção do conhecimento e sensibilização dos alunos de maneira a proporcionar a religação destes com o ambiente natural (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Alguns trabalhos relatam que a utilização de plantas medicinais como recurso didático pode ser um excelente meio para a compreensão dos conteúdos relacionados à Botânica. Vilholi Júnior (2009 p.6) argumenta que:

O Ensino de Botânica, quando desenvolvido por meio de atividades que utilizem instrumentos e saberes cotidianos, possibilita uma aprendizagem mais eficaz, pois o contato do aluno com o objeto de estudo de sua realidade o envolve muito mais do que em aulas convencionais em que, geralmente, a ênfase é o conteúdo abordado teoricamente.

Vilholi Júnior (2009) ainda comenta que na área de ensino de Botânica pode-se trabalhar a temática ambiental em que se discute a importância da existência das plantas para o homem deixando evidente a necessidade de se fazer a sua preservação e com isso desenvolver junto com os alunos uma conscientização de ações preservadoras do meio ambiente. Além disso, deve-se mostrar também

como é a sua influência para a vida natural e como ocorre seu equilíbrio com os elementos da natureza.

Com outra abordagem metodológica para a prática de ensino no âmbito escolar, Arruda & Laburu (1996) afirma que uma prática educacional envolvendo uma junção entre o saber etnobotânico com o saber científico na formação escolar, pode encurtar o distanciamento dos conhecimentos populares e científicos, e com isso dar qualidade ao ensino visando uma aprendizagem significativa.

Essa lógica também é considerada por Kovalski & Obara (2013, p. 914) que afirmam:

Ao trabalhar com a temática plantas medicinais na escola, é importante estabelecer a associação entre os diferentes saberes que fazem parte deste conteúdo, pois acreditamos que é pelo diálogo entre as diferentes formas de conhecimento que se pode chegar a uma aprendizagem significativa sobre o tema.

O conteúdo trabalhado nas perspectivas apontadas pelos autores exige do docente uma compreensão mais significativa do assunto e para isso ele deve utilizar diversas fontes de pesquisas para ampliar o seu conhecimento e buscar fazer uma transposição didática. Para que isso seja alcançada é preciso à utilização também de recursos pedagógicos adequados, conforme Neta *et. al.* (2012, p. 02):

Os materiais didáticos são ferramentas fundamentais para os processos de ensino e aprendizagem. O jogo didático caracteriza-se como uma importante e viável alternativa para auxiliar em tais processos, por favorecer a construção do conhecimento ao aluno, que quando recebe a proposta de aprender de uma forma mais interativa e divertida, torna-se mais entusiasmado, resultando em um aprendizado significativo.

A alternativa comentada pela autora é relevante, pois, com essa metodologia com a utilização de materiais didáticos diversificados, pode haver uma interação do conteúdo teórico com o prático fazendo com o conhecimento se torne mais dinâmico, aumentando com isso a participação e interesse dos alunos. Além disso, Figueiredo (2009) sugere como métodos de ensino da área de Botânica, o desenvolvimento de seminários que discutem assuntos atuais relacionados a esta área que vão além do conteúdo curricular para favorecer o aprendizado do aluno.

No que se referem ao contexto teórico do ensino das plantas medicinais Soares (2009) propõe que ao trabalhar a temática sobre as plantas medicinais, o professor deve sempre esclarecer quanto a sua importância socioeconômica e a sua efetividade no tratamento de doenças em comparação com muitos medicamentos

com a mesma finalidade farmacêutica. Além disso, deve ser enfatizado que as plantas medicinais possuem efeitos distintos como comenta Sousa (2013, p. 13):

As plantas consideradas medicinais são aquelas cujos metabólitos secundários, que são substâncias de defesa e adaptação ao meio, expressam efeitos em organismos animais e de outros vegetais. Podem ser benéficas ou expressar toxicidade.

Conforme a autora, o docente deve destacar no decorrer de sua prática de ensino informações importantes e precisas sobre as plantas medicinais ou qualquer outra temática da área do estudo dos vegetais para que o aluno compreenda o conhecimento que está sendo apresentado.

A constituição da qualidade do ensino realizada pelo docente está relacionada com os procedimentos metodológicos que ele utiliza na sua práxis didática e está interligado com a sua formação profissional que é muito mais ampla como comenta Cruz *et al.* (2009, p. 02) que:

A atualização dos professores está sujeita, muitas vezes, a geração entre pesquisadores e professores, o que ocorre por meio de cursos de atualização, sendo que esses dependem do interesse das escolas e do oferecimento das informações pelas instituições de pesquisa”. Contudo, é preciso também que o docente também tenha o interesse de se atualizar e aprimorar as suas práticas de ensino visando à formação escolar do aluno.

Nessa perspectiva referente à formação do aluno Oliveira *et al.* (2007, p. 480) discorrem que:

Os alunos só se transformam em pesquisadores em um contato bem planejado com a natureza, de forma a perceber que ela não é apenas mais um tema ou capítulo do livro didático. O aluno deve ser levado a se enxergar desde cedo como parte do meio ambiente. Muitas vezes, conteúdos fragmentados são vistos sem que sejam feitas as devidas conexões, levando em conta somente a sequência do livro didático.

Portanto, o docente deve romper com o tradicionalismo educacional e buscar formas de ensinar que induza ao aluno a pesquisar e a desenvolver sua criticidade e criatividade.

Depois do exposto, fica claro a necessidade de se buscar novas alternativas para melhorar o ensino de Botânica. Com esta perspectiva, este trabalho teve como objetivo construir um jardim vertical com plantas medicinais e perceber as contribuições desta estratégia didática para o ensino–aprendizagem de Botânica, além disso mostrar que os conteúdos de Botânica podem sim ser aprendidos de forma significativa quando realizados fora do ambiente de sala de aula,

promovendo a motivação e a participação dos alunos através da construção do conhecimento de maneira contextualizada e divertida.

METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado entre os meses fevereiro e março de 2015, na Escola Estadual Dona Gercina Borges Teixeira, a atividade foi desenvolvida com 17 alunos de ambos os sexos, com idade entre 11 a 14 anos do ensino fundamental do 6º ano, na cidade de Porangatu-Goiás, onde seus responsáveis assinaram um termo de consentimento autorizando a participação dos estudantes neste trabalho.

Inicialmente foi aplicado um questionário, para analisar o conhecimento prévio dos alunos sobre plantas medicinais. O questionário encontra-se contém 08 perguntas referentes às plantas medicinais, analisando, quais conhecem, qual a importância, e o interesse por essas plantas. Após, aplicação do questionário, foram selecionadas 10 espécies de plantas medicinais (Açafrão- *Crocus sativus* L.; Alecrim- *Rosmarinus officinalis* L.; Arruda- *Ruta graveolens* L.; Babosa- *Aloe vera* L.; Boldo- *Plectranthus barbatus* Andr.; Erva cidreira- *Melissa officinalis* L.; Gengibre- *Zingiber officinale*; Hortelã Gordo- *Coleus amboinicus* Lour.; Hortelãzinha- *Mentha spicata* L.; Mastruz- *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants, onde foram trabalhadas durante seis aulas teóricas, expondo através de apresentação de slides, os nomes científicos corretos, a morfologia, os princípios ativos, além da sua importância para o homem (Fig. 1. 1-2).

Em seguida realizou-se uma atividade onde os alunos desenharam o corpo humano em cartolina, posteriormente receberam a orientação para colagem das plantas com o uso de fita adesiva, nos órgãos as quais atuassem terapeuticamente, fomentando assim aulas mais contextualizadas e abordando diversos conteúdos como o corpo humano (Fig.1. 3-4).

Optou-se por trabalhar a teoria antes da atividade prática por entender que é necessário um embasamento teórico para melhor compreensão sobre os assuntos que seriam vistos na prática, valorizando as vivências dos alunos. Após as aulas o mesmo questionário foi aplicado para comparação das informações prévias e adquiridas com as atividades. Finalizando as atividades, os alunos construíram um jardim vertical no pátio da escola, ocorreu à preparação da terra com o adubo ,posteriormente cortaram ao meio dez garrafas pet, totalizando vinte “vasos” e

fizeram o plantio de duas espécies de cada planta medicinal trabalhadas em sala de aula, em que foi possível trabalhar temas como: consciência ecológica, sustentabilidade na reutilização de materiais recicláveis, além de desenvolvendo nos alunos o gosto pelo ambiente escolar, através da criação de espaços aprazíveis, e devidamente sustentáveis (Fig. 1. 5-6; Fig. 2. 1-4).



Figura 1. Etapas do desenvolvimento e conclusão da construção do jardim didático (1-6). Fotos: Oliveira, N.N.

RESULTADOS

Durante as aulas observou-se que o interesse dos alunos foi grande, pois houve muitos questionamentos e comentários, agregando mais valor às atividades propostas. Onde 90 % dos alunos trouxeram de seu cotidiano suas experiências, por exemplo “*Eu já bebi chá desse matinho*”, ou “*Minha mãe me deu um chá para sarar a garganta*”.

Comparando o pré e o pós-questionário analisou-se que os alunos compreenderam grande parte das temáticas apresentadas: plantas medicinais e sustentabilidade. Também ficou explícito que o conhecimento adquirido não ficou apenas com eles, mas que comentaram com os familiares sobre o que aprenderam sobre as plantas, demonstrando assim o porquê de se trabalhar de maneira diferenciada botânica dentro das escolas.

Afirmaram residir em zona urbana 100% dos entrevistados, onde apenas 20% já tinha escutado falar sobre plantas medicinais e 80% nunca tinha ouvido falar. Durante o levantamento 10% dos alunos confirmaram ter em suas residências plantas medicinais, 12% disseram que nunca tinham utilizados essas plantas com fins terapêuticos, em contra partida 78% afirmaram o uso dessas plantas como esse propósito. Diante dos dados obtidos percebe-se que a maior parte dos alunos mesmo não conhecendo as plantas medicinais faz o uso, pois seus responsáveis utilizam para a cura de enfermidades, entretanto os mesmos não os informam o porquê do uso e finalidade.

Outro dado importante obtido na pesquisa refere-se o motivo pelo qual o aluno optou pelo uso da planta: 10% afirmaram não possuir condições financeiras, 30% que a farmácia seria longe de sua residência, e 30% disseram que o remédio natural fazia menos mal a saúde e os demais optaram por outros motivos, no entanto, todos afirmaram a importância de se saber sobre as plantas medicinais.

Os resultados obtidos através de gravação demonstrou um trabalho satisfatório onde alunos puderam criar seu próprio depoimento como:

Aluno A: “[...] O projeto de plantas medicinais foi muito bom para mim porque antes de fazer esse projeto eu não sabia o que era plantas medicinais e não sabia nem plantar, aí nos veio para escola a professora ensinou a gente a plantar as plantas e ensinou quais são as plantas medicinais isso eu aprendi com as plantas

medicinais, exemplo a hortelãzinha que eu não sabia, o hortelã gordo.”

Aluno B: “[...] Quando eu tive a aula da tia Naiany aprendi muito sobre as plantas medicinais tinha algumas plantas que eu não usava e agora eu uso, gostei muito do projeto”.

Aluno C: “[...] Eu aprendi que no projeto e bom porque pode ajudar com as plantas e cada planta tem um principio ativo, ai cada planta pode ajudar, eu conhecia só algumas, não conhecia todas”.

No entanto, com o desenvolvimento do projeto os alunos obtiveram conhecimentos além do esperado, tais como: a morfologia da planta, onde o contato direto com o vegetal permitiram a análise da raiz, do caule e da folha e o tipo de solo utilizado para o plantio das ervas medicinais, permitindo que o ensino aprendizagem acontecesse de maneira satisfatória.



Figura 2. Montagem do jardim didático com plantas medicinais no pátio da Escola Estadual Dona Gercina Borges Teixeira, Porangatu-Go, com os alunos do sexto ano fundamental. Fotos: Oliveira, N.N.

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo científico relataram a perspectiva do conhecimento relativo às plantas medicinais que envolvem a estrutura curricular das instituições de ensino com base no seu contexto didático pedagógico e a relação

com conhecimento empírico dos discentes.

De acordo com Cruz *et al.* (2009) na maioria das escolas do Brasil o ensino de Ciências e Biologia permanecem restritos as aulas expositivas tradicionais, sendo uma realidade encontrada de maneira geral, onde somente os professores podem reverter essa situação com aulas atrativas e motivadoras.

Deste modo, o projeto desenvolvido foi uma maneira estratégica de romper com o tradicionalismo do ensino de botânica em que propôs através do contato direto com as plantas medicinais, estabelecer um vínculo do conhecimento teórico e prático tendo em vista a qualidade do ensino e aprendizagem, com isso, os alunos que relataram que não possuíam conhecimentos os adquirissem de modo diferenciado. Além disso, esse tipo de atividade pedagógica facilita a utilização, de “práticas decorativas” e ineficientes de absorção passiva dos conteúdos (COSTA; MARINHO, 2010).

As informações coletadas apontaram que com a execução do projeto houve uma mudança de percepção dos alunos, onde relataram que o conhecimento adquirido poderia ser de grande importância em sua vida, podendo ser utilizado no seu dia-a-dia para cuidar de sua saúde e de seus familiares, além disso, esta informação não poderia ser obtida fora do contexto escolar, o que evidencia a importância deste.

Alguns trabalhos relatam que a utilização de plantas medicinais como recurso didático pode ser um excelente meio para a compreensão dos conteúdos relacionados à Botânica (ZANDONATO, 2007; CRUZ *et al.*, 2009; NETA *et al.*, 2012; SOUZA, 2009).

A qualidade do ensino aplicado com esta temática abordada e respectivamente a condição de satisfação relatada pelos alunos evidenciam a importância do aspecto metodológico adotado, contudo, a diversificação de espaço para a prática desta pesquisa contribuiu para este processo e proporcionou dinamismo com o conhecimento e interatividade com os alunos que demonstraram participativos.

Ainda neste contexto Araújo *et al.* (2012), consideram a aprendizagem como um processo que supõe considerar espaços para além das salas de aulas, ou seja, utilizar diferentes ambientes de ensino e suas respectivas estratégias, de forma a possibilitar aos educandos uma visão multidisciplinar do conteúdo tratado.

Aulas práticas que associem o conteúdo da botânica ministrado em sala

com o cotidiano dos alunos pode apresentar certas dificuldades, mas a utilização de práticas dentro do conteúdo da botânica é de extrema importância, pois se ocorre dificuldade por parte dos professores em passar esse conteúdo devido à insegurança, muito maior será a dificuldade dos alunos em aprender esse conteúdo sem nenhuma associação com o dia-a-dia (OLIVEIRA, 2012).

Os jardins, de uma maneira geral, representam um espaço de lazer e prazer. Através deste espaço, é possível experimentar sensações diferentes e entrar em contato com a natureza em sua mais exuberante expressão, estes aspectos foram observados como significativos com o envolvimento dos alunos com a proposta de ensino aplicada.

Corroborando Oliveira *et al.* (2012), o jardim didático é uma importante ferramenta pedagógica, pois permite uma maior motivação por parte dos docentes e discentes, como também pela possibilidade de entendimento e utilização de exemplos vivenciados no dia a dia.

O jardim didático difere dos jardins comuns em sua proposta, ele deixa de ser apenas uma área de lazer para se tornar, além disso, uma ferramenta de ensino (BORGES; PAIVA, 2009).

Alguns estudos relatam que o jardim didático pode ser utilizado como um fator de associação com o dia-a-dia e como uma forma de visualização real das características morfológicas das espécies botânicas e de sua importância para o homem, tornando-o uma verdadeira ferramenta didática.

Neste sentido, Tertulino & Rodrigues (2010) enfatizam ainda que a utilização do jardim apresenta-se como uma ótima ferramenta didática, pois ela vislumbrará o melhor aproveitamento do conteúdo da botânica.

Com base nos resultados adquiridos, a prática de ensino desenvolvida possibilitou uma forma de ensinar o conteúdo de botânica a partir da criação de um jardim vertical com plantas medicinais, abrangendo diferentes perspectivas de ensino como a reutilização de materiais e os componentes que compõe os vegetais.

Dutra & Güllich, (2014) afirmam em sua pesquisa, que o jardim didático é um recurso metodológico que auxilia no processo de ensino-aprendizagem, e que pode abordar diferentes assuntos de uma maneira lúdica e espontânea.

CONCLUSÃO

No que diz respeito ao uso do Jardim como ferramenta didática afirmamos que pode ser considerado uma forma de ensino não formal por ser uma atividade organizada fora do sistema regular de ensino (sala de aula). As atividades práticas contribuíram significativamente para o ensino aprendizagem em botânica. O jardim didático revelou ser uma maneira de resolver a insignificância da disciplina de Botânica, pois as aulas tornaram-se mais atrativas motivando os alunos na ampliação do conhecimento requerido nos currículos do ensino dos vegetais.

Vale ressaltar que a apatia dos alunos pelo estudo dos vegetais, foi minimizada, com isso a união das aulas teóricas e práticas despertou um maior interesse através da análise e observação, em material concreto e vivo, obtendo um contato direto com a natureza, além do aprendizado de reaproveitamento de garrafas PET, que deixam de ser rejeitados em locais inadequados e adquiriram a responsabilidade social em relação ao meio ambiente.

No decorrer da realização do projeto foi possível evidenciar algumas considerações que permitiram resgatar a utilização das plantas medicinais para minimizar os problemas de saúde, que há tempos estão deixando de fazer parte do cotidiano popular, verificando a importância do cultivo das plantas medicinais para o ser humano e em relação à biodiversidade existente na comunidade vegetal.

A proposta pedagógica tem como finalidade a participação ativa do aluno, na combinação às atividades de acordo com os níveis de desenvolvimento cognitivo dos educandos e na inserção da vivência cotidiana nas aulas. Contudo, os projetos de ensino rompem a regra, ao mobilizar a investigação de conflitos e situações do dia-a-dia, e podem fortalecer o aprendizado escolar contribuindo na formação do indivíduo.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, J. N., GIL, A. X., GHEDIN, E., SILVA, M. F. V. **O uso de espaços não formais para a aprendizagem de botânica na licenciatura em ciências biológicas.** 2º SIMPÓSIO EM EDUCAÇÃO EM CIÊNCIAS NA AMAZÔNIA VII SEMINÁRIO DE ENSINO DE CIÊNCIAS NA AMAZÔNIA, 2012.

ARRUDA, S. M.; LABURÚ, C. E. **Considerações sobre a função do experimento no ensino de Ciências.** Pesquisa em Ensino de Ciências e Matemática, v. 5, p. 14-24, 1996.

BARRADAS, M. M.; NOGUEIRA, E. **Trajetória da Sociedade Botânica do Brasil em 50 anos. Resgate da memória dos seus congressos.** Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, p. 167, 2000.

BRASIL. Secretaria de Educação Fundamental. Parâmetros Curriculares Nacionais: Ciências Naturais. Brasília: MEC/SEF, p. 136, 2006.

BORGES, T. A; PAIVA, S. R. de. **Utilização do jardim sensorial como recurso didático.** Revista Metáfora Educacional – versão on-line. n.7; dez./2009.

CARMO-OLIVEIRA, R. **Iniciativas para o Aprimoramento do Ensino de Botânica.** In: BARBOSA, L. M.; JUNIOR, N. A. S. (Org.). **A Botânica no Brasil: pesquisa, ensino e políticas públicas ambientais.** 58º Congresso Nacional de Botânica. Anais São Paulo: Sociedade Botânica do Brasil, p. 677, 2007.

CICILLINI, G. A. **Conhecimento Científico e Conhecimento Escolar: aproximações e distanciamentos.** In: CICILLINI, G. A.; NOGUEIRA, S. V. (Org.) **Educação Escolar: políticas, saberes e práticas pedagógicas.** Uberlândia: Edufu, 2002, p. 37- 84.

COSTA, J. D. DA.; MARINHO, M. G. V. **Utilização de Plantas Medicinais como Recurso didático para o Ensino de Ciências e Biologia.** IV encontro de a docência da UFRCG, 2010. Disponível: <www.editorarealize.com.br/.../Poster_idinscrito_682_e87b21e8fae9864d>. Acesso: 24. Nov. 2015.

CRUZ, L. P.; FURLAN, M. R.; JOAQUIM, W. M. **O Estudo de Plantas Medicinais no Ensino Fundamental: Uma Possibilidade Para o Ensino da Botânica.** 2009. VII Enpec - Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências. Florianópolis-SC: 2009. Disponível em: <<http://posgrad.fae.ufmg.br/posgrad/viienpec/pdfs/270.pdf>> Acesso em: 05 de Nov. de 2014.

DUTRA, A. P.; GÜLLICH, R. I. C. **A Botânica e suas metodologias de ensino.** 2014. Disponível em: <www.sbenbio.org.br/wordpress/wp-content/uploads>. Acesso 21 de junho de 2015.

FIGUEIREDO, J. A. **O Ensino De Botânica Em Uma Abordagem Ciência, Tecnologia e Sociedade.** 2009. Dissertação de Mestrado (Ensino de Ciências e Matemática). Pontífica Universidade Católica de Minas Gerais. Belo Horizonte-MG, 2009. Disponível em: <http://www.biblioteca.pucminas.br/teses/EnCiMat_FigueiredoJA_1.pdf> Acesso em: 08 de Nov. de 2014

GÜLLICH, R. I. C. **As práticas de ensino de Botânica e a SBB.** In: MARIATH, J. E.; SANTOS, R.P. (Org.). **Os avanços da Botânica no início do século XXI:**

morfologia, fisiologia, taxonomia, ecologia e genética. Conferências Plenárias e Simpósios do 57º Congresso Nacional de Botânica. Anais... Porto Alegre: Sociedade Botânica do Brasil, p. 756, 2006.

KINOSHITA, L. S.; TORRES, R.B.; TAMASHIRO, J.Y., FORNI-MARTINS, E.R. **A Botânica no Ensino Básico: Relatos de uma experiência transformadora.** RiMa, São Carlos, p. 162. 2006.

KOVALSKI, M. L.; OBARA, A. T. **O Estudo da Etnobotânica das Plantas Medicinas na Escola.** Universidade Estadual de Maringá (UEM), Revista Ciências Educacionais, vol. 19, nº 4. Bauru-SP: 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-73132013000400009&script=sci_arttext> Acesso em: 07 de Nov. de 2014

MELO, A.; ABREU, F.F.; ANDRADE, A.B.; ARAÚJO, M.I.O. **A aprendizagem de botânica no ensino fundamental: dificuldades e desafios.** Scientia Plena, v. 8, n. 10, 2012.

NETA, M. et. Al.; **Estratégia Didática Para o Ensino de Botânica Utilizando Plantas da Medicina Popular.** 2012. V Congresso Norte-Nordeste de Pesquisa e Inovação. Maceió-AL: 2012. Disponível em: <<http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/connepi/CONNEPI2010/paper/view/1350/896>> Acesso em: 12 de Dez de 2014.

OLIVEIRA, A. L. DE.; OBARA, A. T.; RODRIGUES, M. A. **Educação Ambiental: Concepções e Práticas de Professores de Ciências do Ensino Fundamental.** 2012. Revista Eletrônica de Enseñanza de Las Ciencias vol. 6, nº 3. Universidade de Maringá, Maringá-PR: 2007. Disponível em: <http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/2010/artigos_teses/Ciencia/Dissertacoes/132.pdf> Acesso em: 11 de Dez de 2014.

OLIVEIRA, S. A. **A formação do professor de biologia e o conteúdo de Botânica ensinado nas escolas de Jequié.** (Monografia de Graduação). UESB/Jequié, 2007.

SENICIATO, T.; CAVASSAN, O. **Aulas de campo em ambientes naturais e aprendizagem em ciências – Um estudo com alunos do ensino fundamental.** Ciência e educação (UNESP), Bauru, vol.10, n. 1, p.133-147, 2004.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V. J. **O professor, o aluno e o conteúdo no Ensino de Botânica.** Educação, Santa Maria, vol. 3, n.1, p. 3167– 80, 2006.

SILVA, P G. P; CAVASSAN, O.; SENICIATO, T. **Os ambientes naturais e a didática das Ciências Biológicas.** In: Caldeira, A. M. A.; Nabuco, E. S. N. (org). **Introdução à didática.** São Paulo: Escrituras, p. 289-303, 2009.

SOARES, M. A. A. **Levantamento Etnobotânico das Plantas Mediciniais Utilizadas Pela População do Município de Gurinhém-Paraíba.** 2009. Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA. Revista Homem, Espaço e Tempo.

João Pessoa-PB: 2009. Disponível em:
<http://www.uvanet.br/rhet/artigos_setembro_2009/plantas_medicinais.pdf>
Acesso em: 06 de Dez. de 2014.

SOUSA, B. M. N. C. **Percepção de Crianças Sobre Plantas Medicinais em Ambiente Escolar de Educação Infantil e Ensino Fundamental em Florianópolis, SC.** 2013. Relatório de Estágio (Graduação em Agronomia). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis-SC: 2013. Disponível em:
<<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/117143/Bruna%20Maria%20Nocetti%20Costa%20Sousa.pdf?sequence=1>> Acesso em: 05 de Dez. de 2014.

TERTULINO, L.; RODRIGUES, N. **Implantação de um jardim didático como ferramenta educacional para turmas do ensino regular e proeja do IFRN, Campus Zona Norte.** Congressos, 2010.

TOWATA, N.; URSI, S.; SANTOS, D. Y. A. C. **Análise da percepção dos licenciados sobre o ‘ensino de botânica na educação básica’.** Revista da SBenBio, vol. 03, p.1603-1612, 2010.

VILHOLI JÚNIOR, A. J. **Contribuições dos Saberes Sobre Plantas Medicinais Para o Ensino de Botânica na Escola da Comunidade Quilombola Furnas do Dionísio, Jaraguari, MS.** 2009. Ensino de Ciências (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS: 2009. Disponível em:
<http://www.ppec.ufms.br/Dissertacoes/Dissertacao_Airton_Jose_Vinholi_Junior.pdf> Acesso em 12 de Nov. de 2014.

ZANDONATO, J. A. F. **Ervas medicinais.** Instituto BioMa, Sandovalina, 2007

DOCUMENTÁRIOS COMO RECURSOS DIDÁTICOS NO ENSINO DE BIOLOGIA: UMA ESTRATÉGIA PARA BUSCAR MELHORAR O APRENDIZADO DOS ALUNOS

*Mario Honorato Pinheiro Neto*¹

*Maria Tereza Faria*²

INTRODUÇÃO

É consenso na literatura da área de Ensino de Biologia a discussão de que mesmo com os avanços da Ciência e das tecnologias, na maioria das escolas do Brasil persistem a ser restritos as aulas expositivas tradicionais (COSTA; MARINHO, 2010) ou, seja, ao modelo tradicional com um professor ativo e estudantes passivos em sala de aula (KRASILCHICK, 2009).

Castelo (1985, p. 2) argumenta ainda que:

“Com o progresso científico avançado em ritmo extremamente acelerado, o velho ensino, baseado na transmissão de conhecimentos, deixou de ser eficaz, pois esses conhecimentos adquiridos na escola, ao fim de dez anos têm muito pouco valor, já foram substituídos por noções mais novas.”

Complementando a Biologia traz consigo uma rica lista de novos vocábulos, de termos latinizados, que na interpretação da/do estudante, não passa de “decoreba” sem utilidades futuras, induzindo a um desconforto ou desinteresse pelo conteúdo (KRASILCHICK, 2008).

De acordo com as Diretrizes Curriculares de Biologia (BRASIL, 2006):

“O estudo das Ciências Biológicas deve possibilitar a compreensão de que a vida se organizou através do tempo, sob a ação de processos evolutivos, tendo resultado numa diversidade de formas sobre as quais continuam atuando as pressões seletivas. Esses organismos, incluindo os seres humanos, não estão isolados, ao contrário, constituem sistemas que estabelecem complexas relações de interdependência. O entendimento dessas interações envolve a compreensão das condições físicas do meio, do modo de vida e da organização funcional interna próprios das diferentes espécies e sistemas biológicos. Contudo, particular atenção deve ser dispensada às relações estabelecidas pelos seres humanos, dada a sua especificidade. Em tal abordagem, os conhecimentos biológicos não se dissociam dos sociais, políticos, econômicos e culturais.”

¹ Acadêmico do curso de Ciências Biológicas – Licenciatura - Faculdade Araguaia

² Professora Titular do curso de Ciências Biológicas- Licenciatura- Faculdade Araguaia-GO; Professor orientador do Curso Especialização em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia (ETAEB- UFG).

Entretanto na sua maioria os estudantes não conseguem compreender e relacionar os conteúdos vistos em sala de aula com o cotidiano, por vários fatores, mas cabe destaque a metodologia empregada e a formação do professor, têm exercido uma forte influência no ensino-aprendizado de Biologia (AQUINO; BORGES, 2009).

Junior e Barbosa (2009), afirmam que:

“Atualmente, nos deparamos com um número acelerado e crescente de descobertas científicas e muitas dessas descobertas englobam o campo da biologia. Dessa forma, os professores de biologia e de disciplinas correlatas ficam encarregados de estarem continuamente em atualização e sincronia com toda essa dinâmica científica. Porém, o que vai determinar o aprendizado do aluno, em todos os níveis do ensino, em detrimento de conteúdos decorados que são esquecidos após as avaliações, são as formas didáticas que os professores da referida área do saber irão utilizar.”

Neste contexto é fundamental que as/os docentes pensem sobre a importância de reconstruir as suas práticas em sala de aula, não simplesmente a “ação pela ação”, mas desenvolvendo habilidades e competências que permitem a representação e comunicação, investigação e compreensão, em como a contextualização sociocultural dos diferentes conteúdos que integram a disciplina de Biologia (REICHMANN; SCHIMIN, 2008).

Várias tecnologias midiáticas podem ser empregadas como recursos didáticos nas atividades educativas, tais como computadores, internet, tv, fotos, imagens, filmes, documentários, entre outras. No entanto, cabe ao educador selecionar o tipo de recurso adequado para determinada atividade ou conteúdo escolhido para ser estudado Duso (2009, p. 7).

O mesmo autor complementa,

[...] é preciso ter cuidado especial na seleção das atividades, conteúdos e do programa da disciplina que serão veiculadas em determinado tipo de mídia. Por outro lado, esses conhecimentos precisam estar comprometidos com o perfil dos estudantes e com os objetivos previstos. É preciso refletir se eles servirão apenas para a aquisição e/ou reprodução dos conhecimentos e habilidades ou se oferecerão condições para a produção de novos conhecimentos e posicionamento crítico dos estudantes.

Corroborando Mendes (2010) discorre que as grandes vantagens dessas tecnologias são: o aumento na quantidade de fontes de pesquisas educacionais e a rapidez com que essas informações chegam ao estudante.

A Biologia é quase que totalmente explicada por imagens. A utilização de imagens nas aulas enriquece a aprendizagem, pois, permite que o aprendiz vincule

os conceitos científicos ao seu cotidiano. Como o aluno pode entender apenas em palavras as moléculas de DNA, os genes, as células, os tecidos, os órgãos entre outros? (REICHMANN; SCHIMIN, 2008).

O documentário pode ser considerado como recurso didático que pode responder este questionamento, uma vez que trabalha diretamente com imagens extraídas da realidade. Um documentário pode ser muito útil na introdução de um assunto, despertando a curiosidade e motivando os alunos a buscarem informações associadas à temática abordada na obra audiovisual (NAPOLITANO, 2004).

De acordo com Viana (2010),

[...] por muito tempo, a escola privilegiou o uso da língua escrita, mas a atualidade requer imagens, pois hoje o mundo é da imagem. A invasão da imagem mostra que o estímulo visual se sobrepõe no processo de ensino/aprendizagem, pois a cultura contemporânea é visual. O aluno é estimulado pelas histórias em quadrinhos, videogames, vídeos, telenovelas, cinema, jogos variados, inclusive do computador, documentários todos com apelos às imagens (VIANA, 2010, p.3).

Enfatizando, embora o documentário seja umas das tecnologias que se destacam como objeto de aprendizagem, os professores ainda apresentam dificuldades para incorporá-lo como um recurso educacional (VICENTINNI; DOMINGUES, 2008).

Capacitar-se continuamente para o desenvolvimento e a utilização de documentários, como uma possibilidade de enriquecimento do ensino, passa a ser crucial na formação do educador, pois vale ressaltar que este recurso não é um fim em si mesmo e necessita de material de apoio adequado e da atuação correta do professor, para atingir satisfatoriamente seus objetivos (LEITE *et al.*, 2003).

Corroborando para a Associação Nacional pela Formação dos Profissionais da Educação - ANFOPE (1998, p.5), a formação continuada,

[...] trata da continuidade da formação profissional, proporcionando novas reflexões sobre a ação profissional e os novos meios para desenvolver o trabalho pedagógico. Assim, considera-se a formação continuada como um processo de construção permanente do conhecimento e desenvolvimento profissional, a partir da formação inicial e vista como uma proposta mais ampla, de humanização, na qual o homem integral, unilateral, produzindo-se a si mesmo, também se produz em interação com o coletivo.

Em vista do exposto acima, o presente trabalho tendo a aula expositiva como referência, teve como objetivo avaliar o papel do documentário como ferramenta para o aprendizado do conteúdo de Biologia e sua contribuição no processo de ensino-aprendizagem mais dinâmico e participativo na área de Biologia.

Justifica-se a escolha do tema desta pesquisa, tendo em vista que, os dados disponíveis na literatura apontam que no ensino de Biologia, os documentários são recursos poucos utilizados e não explorado de modo adequado.

METODOLOGIA

TIPO DE PESQUISA

O presente estudo originou-se a partir de um desejo mutuo entre aluno e professor: realizar um curso de extensão de longa duração voltado para professores de Biologia, com o objetivo de oferecer subsídios aos professores em suas ações diárias em sala de aula, para acrescer a sua prática, levando a estes, novas possibilidades e recursos didáticos (documentários), associados a temáticas educacionais, mais especificamente envolvendo assuntos relacionados à Biologia. Assim num período de um ano foram selecionados cerca de 100 documentários disponíveis na *internet*, com este propósito.

Destes foram selecionados dois documentários: “Rise of Animals: Triumph of the vertebrates – A Ascensão dos Animais: O triunfo dos Vertebrados” e “Earth Making of Planet – A origem do Planeta Terra”.

A investigação teve o propósito de analisar a contribuição desses documentários no ensino-aprendizagem dos alunos do Curso de Ciências Biológicas-Licenciatura da Faculdade Araguaia (FARA) em sua formação de futuros docentes (onde participaram alunos do 2º a 8º período).

Acompanhada de uma abordagem qualitativa, a pesquisa teve como principal técnica de coleta de dados, o questionário aberto constituído por 8 questões.

GODOY (1995, p. 58), argumenta que:

“A pesquisa qualitativa não procura enumerar e ou medir os eventos estudados, nem emprega instrumental estatístico na análise dos dados. Parte de questões ou focos de interesses amplos, que vão se definindo à medida em que o estudo se desenvolve. Envolve a obtenção de dados descritivos sobre pessoas, lugares e processos pelo contato direto do pesquisador com a situação estudada.”

As perguntas foram elaboradas tendo como objetivo obter respostas que contemplassem as mais diversas abordagens acerca do uso e da importância dada aos documentários como recursos didático-pedagógicos pelos professores.

Para Freitas *et al.* (2008, p. 1) “quando se constrói um questionário, fabrica-se um captador, um instrumento que vai nos colocar em contato com aquele que responde”.

Para a aplicação do questionário foi necessário, também, providenciar dois documentos: uma “carta de aceite” para ser entregue a instituição na qual a pesquisa foi conduzida, ressaltando que todos os dados obtidos preservariam o anonimato dos sujeitos envolvidos, respeitando os valores éticos que permeiam esse tipo de trabalho. A pesquisa em questão cumpriu os requisitos da Resolução N°. 196/96, do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde (CNS/MS), que trata das diretrizes e normas regulamentadoras sobre pesquisas que envolvem seres humanos. Esta Resolução visa assegurar os direitos e deveres que dizem respeito à comunidade científica, aos sujeitos da pesquisa e ao Estado, incorporada pelos quatro princípios básicos da bioética: autonomia, não maleficência, beneficência e justiça (BRASIL, 1996). Sendo assim, foi elaborado um “termo de consentimento informado” e esse entregue a cada entrevistado para que o mesmo autorizasse o uso de suas respostas neste TCC.

A aplicação do questionário ocorreu em dois momentos: o primeiro foi com a exibição do documentário “Rise of Animals: Triumph of the vertebrates – A Ascensão dos Animais: O triunfo dos Vertebrados” na primeira amostra de documentários realizados pela Faculdade Araguaia, onde participaram alunos do 2º a 8º período.

No segundo momento com a exibição do documentário “Earth Making of Planet – Construindo o Planeta Terra”. Após aula ministrada sobre extinção na disciplina de Paleontologia com os alunos do 4º período do curso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram apresentados de acordo com cada item abordado no questionário.

A 1ª questão do questionário versou sobre o conteúdo dos documentários, se estavam relacionados com os conteúdos ministrados em sala de aula e qual a avaliação dos entrevistados a respeito do mesmo.

A resposta para essa questão mostrou que todos os entrevistados gostaram dos documentários, pois abordaram assuntos relacionados aos conteúdos de Biologia já explicados pelos professores em sala de aula. Isso pôde ser evidenciado em uma resposta do entrevistado:

“[...]” sim, gostei, achei bastante didático e completamente relacionado com tudo que já vimos em sala de aula.

De acordo com Silva *et al.* (2012) para que ocorra sucesso no emprego dos recursos didáticos em sala de aula é necessário, que o professor conheça seus alunos, para que ainda no planejamento de sua aula, ele possa escolher os recursos e propostas mais adequadas para aquele determinado perfil de aluno ou turma.

Corroborando Souza (2007),

“Utilizar recursos didáticos no processo de ensino-aprendizagem é importante para que o aluno assimile o conteúdo trabalhado” (SOUZA 2007, p.112-113).

Gomes (2013, p.9) alerta:

“O professor deve ficar atento à diversidade de análises e interpretações que um recurso midiático pode oferecer principalmente o uso de documentários/e ou filmes. É preciso que os professores antes de submeter o documentário aos alunos, veja primeiro, faça as anotações sobre os pontos mais importantes e só depois use o documentário em sala de aula. Um único recurso midiático, como por exemplo o documentário, pode ser objeto de várias interpretações.”

Nesta mesma perspectiva, Rivoltella (2005) menciona: uma metodologia de exibição de um documentário deve prever uma série de estratégias relativas à escolha destes, à preparação da sua apresentação, atividades a serem desenvolvidas, a condução do debate em sala, a exibição, os temas a serem tratados, pois este tipo de recurso pode infelizmente, muitas vezes ser utilizado como pretexto para o não desenvolvimento de atividades didáticas na escola (FANTIN, 2006). Isso pôde ser evidenciado em uma resposta de um dos entrevistados:

“[...]”pois, tem professores que passam um documentário para ocupar o tempo de aula”

É preciso saber utilizar de forma correta os recursos midiáticos em sala de aula, para que ele não se torne motivo de desculpas para não transmitir conhecimento teórico aos alunos (Gomes, 2013).

As respostas à segunda questão, “Como futuro professor de Biologia você utilizaria documentário como uma estratégia de ensino nas suas aulas?” mostrou também que 100% dos entrevistados gostaram dos documentários como estratégia de ensino:

“[...]” utilizaria sim, pois é uma forma de aplicar o conteúdo, de forma diferente, sem sair do

planejamento. São essas tecnologias que chamam a atenção dos alunos.

“[...]” sim porque acredito que mostrando na pratica através do documentário é mais fácil à compreensão.

“[...]” sim, pois a parte visual mostra de maneira mais fácil, ajudando o aluno a compreender melhor.

Coelho e Viana (2011) em seu estudo avaliaram o uso de documentários e/ou filmes no ensino superior e observaram que o uso destas estratégias em sala de aula podem tornar as aulas dinâmicas e o cotidiano escolar passa a ser menos cansativo para professores e alunos. Outro ponto importante é que documentários tornam os alunos mais interessados, pelo fato de a aula “fugir” do comum, mas esta deve sempre estar relacionada ao conteúdo programático da disciplina.

As mesmas autoras perceberam na mesma pesquisa que os professores que lecionam disciplinas ligadas diretamente a fenômenos da natureza e ao meio ambiente, conseguem mais facilmente relacionar conteúdos a documentários e/ou filmes e conseqüentemente utilizá-los para contextualizar fatos e acontecimentos. Em geral, a utilização de documentários em sala de aula como recurso didático é bem aceita no meio acadêmico pesquisado.

Arroio e Giordan (2006), também compartilham dessa afirmação quando argumentam que o uso de recursos audiovisuais para ensinar Ciências e/ou Biologia estimula o educando e pode ajudar o processo de ensino-aprendizagem.

Machado (2012) aguenta em sua pesquisa que este tipo de ferramenta pode ser usado como geradoras de debates, na esfera das ciências da natureza, no caso a Biologia, possibilitando a manifestação de reflexões em sala de aula, na medida em que se torna possível abordar conceitos biológicos já inseridos em sala de aula.

Oliveira e Dias Junior (2012) afirmam:

“Atualmente o professor precisa se adaptar às novas tecnologias e tirar o melhor proveito destas para facilitar a aprendizagem da criança e do adolescente, que nos dias de hoje usufrui com facilidade destes novos recursos, como documentários, tanto em casa, quanto na escola ou em locais públicos.”

Outras perguntas como: “Os documentários favorecem o seu aprendizado como conteúdo de Biologia e em sua opinião, é possível aprender biologia através de documentários?”

Todas as repostas mostram a uma boa aceitação da utilização de documentários:

“[...]” *de certa forma é um complemento a mais.*

“[...]” *sim, deste que sejam bem explicativos e estejam relacionados aos conteúdos desenvolvidos em sala de aula.*

“[...]” *é possível sim, com a presença de um professor mostrando e tirando dúvidas, trabalhar a parte visual facilita a compreensão dos conteúdos.*

“[...]” *sim, dependendo do professor, às vezes o documentário explica mais detalhadamente sobre o assunto, pois além de texto temos imagens, sons.....*

Nesta perspectiva, Peralta e Costa (2007) comentam que alguns professores reconhecem a eficiência do uso de recursos Tecnológicos como documentários, em sala de aula, porém raramente os usam e quando estes são utilizados os professores não levam em consideração o olhar crítico, a discussão, o debate e a motivação dos alunos presentes na análise para fundamentar o que é ensinado.

Verificando as respostas observou-se uma preocupação dos futuros docentes em relação as instalações precárias da maioria das instituições de ensino no país.

Esse resultado está em consenso com discussões da área, como as de Passou *et al.* (2010) onde observaram que maioria dos professores pesquisados, enfatizaram as deficiências na infraestrutura escolar, tanto das escolas públicas quanto das escolas privadas, sendo a falta de recursos materiais a resposta mais citada pelos docentes na sua pesquisa como sendo a maior dificuldade para o uso frequente de documentários nas escolas.

CONCLUSÃO

O ensino de Ciências e de Biologia é indispensável para a formação de cidadãos, sua atual importância é extrema, e tende a crescer ainda mais com o passar do tempo e com a evolução da ciência e da sociedade. Sendo assim, cabe ao professor, a função de desenvolver ao máximo, competências e habilidades no seu aluno, de forma interdisciplinar e transdisciplinar, porém, contextualizando e enfocando os conteúdos da Biologia.

Foi consenso entre os futuros docentes entrevistados, que o uso de recursos didáticos como os “documentários” é uma estratégia que pode contribuir significadamente com o ensino-aprendizagem em Biologia. Os documentários podem ser usados de várias maneiras para abordar um assunto, desde que seja muito bem planejada a sua utilização e combinado com outras ferramentas indispensáveis ao processo de ensino-aprendizagem.

Pelo exposto, a questão de pesquisa foi respondida. Resta agora, tentar promover a capacitação dos futuros professores para a utilização de documentários na sala de aula, já que a maior parte dos entrevistados considera importante a utilização de novas ferramentas no ensino de Biologia, mas não sabe como fazê-lo. Este é o desafio.

REFERÊNCIAS

- ANFOPE. Documentos Finais dos VI, VII, VIII e IX e X. Encontros Nacionais da Associação Nacional pela Formação dos Profissionais da Educação, 1992, 1994, 1996 e 1998.
- AQUINO, S.; BORGES, M. C. J. O ensino de Ciências e a importância da metodologia para a aprendizagem. Uma experiência vivida estágio na cidade de Fortim. In Simpósio de Pesquisa, 1. 2009. Aracati – CE. Anais... Aracati – CE: 2009. Disponível em: <<http://www.fvj.br/publicacoes /CIENCIAS. pdf.> > Acesso em: 21 de março de 2015.
- ARROIO, A.; GIORDAN, M. O vídeo educativo: aspectos da organização do ensino. Química Nova na Escola, n. 24, p. 8-11, nov. 2006.
- BRASIL, Lei Nº 9.394–Lei das Diretrizes e Bases da Educação Nacional, 20 de dezembro de 1996.
- BRASIL. Ministério da Educação. Parâmetros Curriculares Nacionais para o Ensino Médio (PCNEM) (Disciplina Biologia). Brasília: MEC, 2006.
- CASTELO, M. F. A didática na reforma do ensino. Rio de Janeiro: Francisco Alves. 2ª ed., 1985.
- COSTA, J. C.; MARINHO, M. DAS G. V. "Utilização de plantas medicinais como recurso didático para o ensino de Ciências e Biologia." IV encontro de iniciação à Docência da UFCG. Nordeste de Pesquisa e Inovação. Disponível: www.editorarealize.com.br/.../Poster_idinscrito_682_e87b21e8fae9864d. Acesso 30 out. 2015.
- COELHO, R. M. de F., VIANA, M. da C. V. A utilização de filmes em sala de aula um breve estudo no Instituto de Ciências Exatas e Biológicas da UFOP. Revista da Educação Matemática da UFOP. v.1, p.89 -97, 2011.
- DUSO, L. Uso de ambiente virtual de aprendizagem de temas transversais no ensino de ciências. Revista Brasileira de Educação Científica e Tecnológica, Porto Alegre, v. 2, n. 3, 17 p. dez. 2009.
- FANTIN, M. Mídia-educação: conceitos, experiências e diálogos Brasil Itália. Florianópolis, Cidade Futura, 2006.

FREITAS, H.C.L. Certificação docente e formação do educador: regulação e desprofissionalização. *Educação & Sociedade*, Campinas, v.24, n. 85, p. 1095-1124, dez. 2003.

FREITAS, A. C. DE O. Utilização de recursos visuais e audiovisuais como estratégia no ensino da biologia / Anne Caroline de Oliveira Freitas. Monografia (Graduação) – Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Curso de Ciências Biológicas a Distância, Beberibe, Ce., 2013.

GODOY, A. S. Introdução à pesquisa qualitativa e suas possibilidades. *Revista de Administração*, São Paulo, v. 35, n.2, p. 57-63, mar-abr, 1995.

JÚNIOR, A.N.S. BARBOSA, J, R. Repensando o ensino de ciências e de biologia na educação básica: o caminho para a construção do conhecimento científico e biotecnológico. *Democratizar*. v. III, n.1. 2008. Disponível em: http://www.faecetec.rj.gov.br/desup/images/democratizar/v3-n1/art_jane_arildo.pdf. Acesso em 11/2015.

KRASILCHIK, M. *Prática de Ensino de Biologia*. 4ª ed. São Paulo: Edusp, 2008.

LEITE, Lígia Silva (coord.). *Tecnologia educacional: descubra suas possibilidades na sala de aula*. Petrópolis RJ: Vozes, p.119, 2003.

MACHADO, H. M.; VIEIRA, S. V.; MEIRELLES, R.M.S.de. Uso do vídeo no ensino de biologia como estratégia para discussão e abordagens de temas tecnológicos. III encontro nacional de ensino de ciência da saúde e do meio o ambiente, Niterói -RJ, 2012.

MENDES, S. P. da S. *Formação Docente no Contexto das Novas Tecnologias: reflexos sobre as práticas pedagógicas dos professores das séries iniciais*. Teresina, 2010.

NAPOLITANO, M. *Como usar o cinema na sala de aula*. São Paulo: Contexto, 2004.

OLIVEIRA, N. M. de; DIAS JUNIOR, W. O uso do vídeo como ferramenta de ensino aplicada em biologia celular. *Enciclopédia Biosfera*, v. 8, p. 1788, 2012. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2012a/humanas/o%20uso.pdf>. Acesso em: 24 set. 2015.

PASSOU, A., MELO, W., ANDRADE, L., PEREIRA, R. *Fatores que influenciam na utilização de filmes como recurso didático pelos docentes de ciências*, 2010.

PERALTA, H.; COSTA, F. A. Competência e Confiança dos Professores no uso das TIC. *Revista de Ciência da Educação*, mai/ago, p. 77-86, 2007.

RIVOLTELLA, P. C. *Media education: fondamenti didattici e prospettive di ricerca*. Brescia: Editrice La Scuola, 2005.

REICHMANN, D.R.X. T.; SCHIMIN, E. S. *Imagens: contribuição para o ensino aprendizagem em Biologia*. Dia-a-Dia Educação: Portal Educacional do estado do Paraná. 27 p. 2008. Disponível em:

<<http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/1083-4.pdf>>. Acesso em: 27 de março de 2015.

SILVA, E. DE F. F. A linguagem imagética no ensino de Geografia. 2012. 105 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Geografia). –Universidade Estadual Paulista, Ourinhos, 2012.

SOUZA, S. E. O uso de recursos didáticos no ensino escolar. In: I ENCONTRO DE PESQUISA

EM EDUCAÇÃO, IV JORNADA DE PRÁTICA DE ENSINO, XIII SEMANA DE PEDAGOGIA DA UEM: “INFANCIA E PRÁTICAS EDUCATIVAS”. Maringá, PR, 2007. http://www.pec.uem.br/pec_uem/revistas/arqmudi/volume_11/suplemento_02/artigos/019.pdf>. Acesso em: 04 out. 2015.

VIANA, M. C. V., O Cinema na Sala de Aula e a Formação de Professores de Matemática. Mini-curso oferecido aos alunos do Curso de Matemática na UFRRJ. Dia de Atividades Acadêmico-Científico-Culturais. Seropédica- RJ.18 de maio de 2010.

VICENTINI, G. W.; DOMINGUES, M. J. C. S. O uso do vídeo como instrumento didático e educativo em sala de aula. Em: Encontro Nacional dos Cursos de Graduação em Administração (ENANGRAD). Anais, XIX ENANGRAD, Curitiba/PR. 2008.

***Marsypianthes chamaedrys* (LAMIACEAE), UMA PLANTA MEDICINAL
COM ATIVIDADE ANTIOFÍDICA: ANATOMIA FOLIAR E
HISTOQUÍMICA**

*Taís de Sousa Matias*¹

*Helena Dias Ferreira*²

*Maria Tereza Faria*³

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (WHO) afirma que cerca de 3,5 bilhões de pessoas de países em desenvolvimento confiam e fazem uso no tratamento à base de plantas medicinais. E em todo o mundo, aproximadamente 85% das pessoas são praticantes de sistemas tradicionais de cura a base de plantas e cerca de 25% dos medicamentos farmacêuticos são derivados químicos de vegetais (RAI *et al.*, 2000).

Lima (2010) afirma que:

“A utilização de plantas na cura de doenças não é recente. Pode ser que a utilização de plantas como medicamento seja tão antiga como a existência do próprio ser humano. Elas são bastante aceitas por questões históricas, culturais, econômicas ou simplesmente por serem produtos naturais e por isso existem programas de saúde que incentivam uso das plantas medicinais como complementares ao tratamento. Este acompanhamento é importante, pois, estas plantas possuem princípios ativos assim como os remédios industrializados e precisam que o seu uso seja eficaz e seguro”.

Estima-se que existam aproximadamente 250 mil espécies de plantas no mundo e que apenas 10% destas tenham sido avaliadas por algum método científico (Ministério do Meio Ambiente - MMA, 2014). No caso do Brasil, detentor de uma das maiores biodiversidades do planeta e rico na tradição do uso de plantas, faz com que a sua flora seja uma das mais abundantes fontes de novos produtos farmacêuticos, cosméticos e nutracêuticos (BRANDÃO, 2011).

¹ Acadêmica do curso de Ciências Biológicas – Licenciatura - Faculdade Araguaia.

² Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal.

³ Professora Titular do curso de Ciências Biológicas – Licenciatura - Faculdade Araguaia; Professor orientador do Curso Especialização em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia (ETAEB-UFG).

No Brasil, há milhares de espécies vegetais nativas ainda não estudadas. Muitas delas encontram-se em fase de extinção; outras, já foram extintas antes de serem conhecidas cientificamente (MMA, 2014).

Dentre as famílias com interesse medicinal, a família Lamiaceae é conhecida principalmente por seus óleos essenciais, presentes em tricomas glandulares distribuídos nas folhas e inflorescências. Além dessas substâncias há outros constituintes, que contribuem para suas reconhecidas propriedades antibacteriana, antifúngica, inseticida, antioxidante, dentre outras (HARLEY *et al.*, 2004).

A mesma possui distribuição cosmopolita, incluindo cerca de 7.500 espécies, agrupadas em 130 gêneros. No Brasil correm 6 gêneros e cerca de 350 espécies (LORENZI; MATOS, 2008), dentre as quais se destacam *Plectranthus*, *Salvia*, *Mentha* e *Ocimum* (LORENZI; SOUZA, 2008).

O gênero *Marsypianthes* Mart. ex Benth. pertence as Lamiaceae possui em torno de seis espécies (*M. arenosa* Brandegee, *M. burchellii* Epling, *M. chamaedrys* (Vahl) Kuntze, *M. foliolosa* Benth., *M. hassleri* Briq. e *M. montana* Benth.), que se distribuem na América Latina, desde o México, Guatemala e Porto Rico até Peru, Bolívia, Paraguai, Brasil e Noroeste da Argentina. Goiás é o centro de diversidade do gênero (HASHIMOTO, 2013), e, está representado por quatro espécies: *M. burchellii*, *M. chamaedrys*, *M. foliolosa* e *M. montana*. A origem do nome se dá graças ao formato do lóbulo inferior das flores, que se assemelha a uma bolsa marsupial, inflorescências em cimeiras, tipo monocásio (Fig. 1D) (MALLO; XIFREDA, 2004, PASTORE *et al.*, 2011, HASHIMOTO, 2013).

Dentre as espécies do gênero, *Marsypianthes chamaedrys* é mais estudada (Fig. 1A- E). Caracteriza-se por ser uma planta rasteira, aromática, que apresenta folhas simples, membranáceas, pecioladas, com flores violetas disposta em fascículos, conhecida popularmente como boiaca (do tupi, erva de cobra), hortelã-do-mato, mentrasto, bentônica-brava; sua principal utilização é como antídoto para picadas de serpentes e contra mordidas de mosquitos e pernilongos (RUPPELT *et al.*, 1990; PEREIRA *et al.*, 1992; MENEZES *et al.*, 1998a apud MAGALHÃES 2010). Alguns autores a descreve como antipirético, analgésica, antiespasmódica, carminativa (LORENZI; MATOS, 2008), moluscida (MENEZES *et al.*, 1999), antifibrinolítica (CASTRO *et al.*, 2003).

Há registros da sua utilização como antidiarreico pelos Tikunas, do Noroeste do Estado do Amazonas (HEINRICH, 1992 apud MALLO; XIFREDA, 2004). No Nordeste do Brasil, é chamada também de meladinha e alfavaca-de-cheiro, sendo utilizada como estimulante e antiespasmódica (SOUSA; FELFILI, 2006). Agra e colaboradores (2008) registraram a utilização da infusão da planta inteira como carminativa e digestiva; além de preparação de xarope das folhas para tratamento de bronquites e tosses (MAGALHÃES, 2010).

Estudos farmacológicos conduzidos aqui no Brasil confirmaram um novo composto denominado chamaedridiol encontrado na espécie (MENEZES *et al.*, 1998).

O estudo das plantas medicinais tem a finalidade de acrescentar rigor científico ao conhecimento popular e integrar diversas áreas do conhecimento (SILVA, 2010). Dentre as diversas metodologias de estudo, a morfoanatomia é uma ferramenta importante no controle de qualidade farmacognóstico, ao permitir a identificação correta da espécie (FIUZA *et al.*, 2010). Simultaneamente podem ser aplicados os testes histoquímicos para identificar diferentes classes de compostos e sua disposição na planta (MACIEL; PINTO, VEIGA-JR., 2002, FARIA, 2014).

Como relatado anteriormente, numerosas são as pesquisas acerca dos constituintes químicos e farmacológicos. A partir da pesquisa e análise bibliográfica sobre Lamiaceae, verificou-se a escassez de informações detalhadas em relação à caracterização anatômica de plantas do gênero *Marsypianthes*, e considerando a importância de parâmetros anatômicos para auxiliar na taxonomia e subsidiar informações para uma melhor identificação de espécies vegetais.

O objetivo do trabalho foi caracterizar anatomicamente as folhas de *M. chamaedrys*, visto a importância do uso desta planta como medicinal e futura matéria-prima para a fabricação de fitofármacos e fitoterápicos.



Figura 1. *M. chamaedrys* (Vahl) Kuntze. **A.** aspecto geral; **B.** Ramo inflorescência; **C.** detalhe da inflorescência; **D.** inflorescências em cimeiras, tipo monocásio; **E.** folhas, face adaxial, face abaxial respectivamente. Foto: M. T. Faria, 2015.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e identificação do material botânico

O material foi coletado em frente o ICB III (Instituto de Ciências Biológicas), localizado no campus samambaia da universidade Federal de Goiás, Vila Itatiaia, Goiânia, Goiás (Fig. 2).

A espécie foram identificadas taxonomicamente pelo Prof. Dr. Heleno Dias Ferreira. Uma exsicata do material vegetal está depositada no Herbário UFG (Universidade Federal de Goiás).

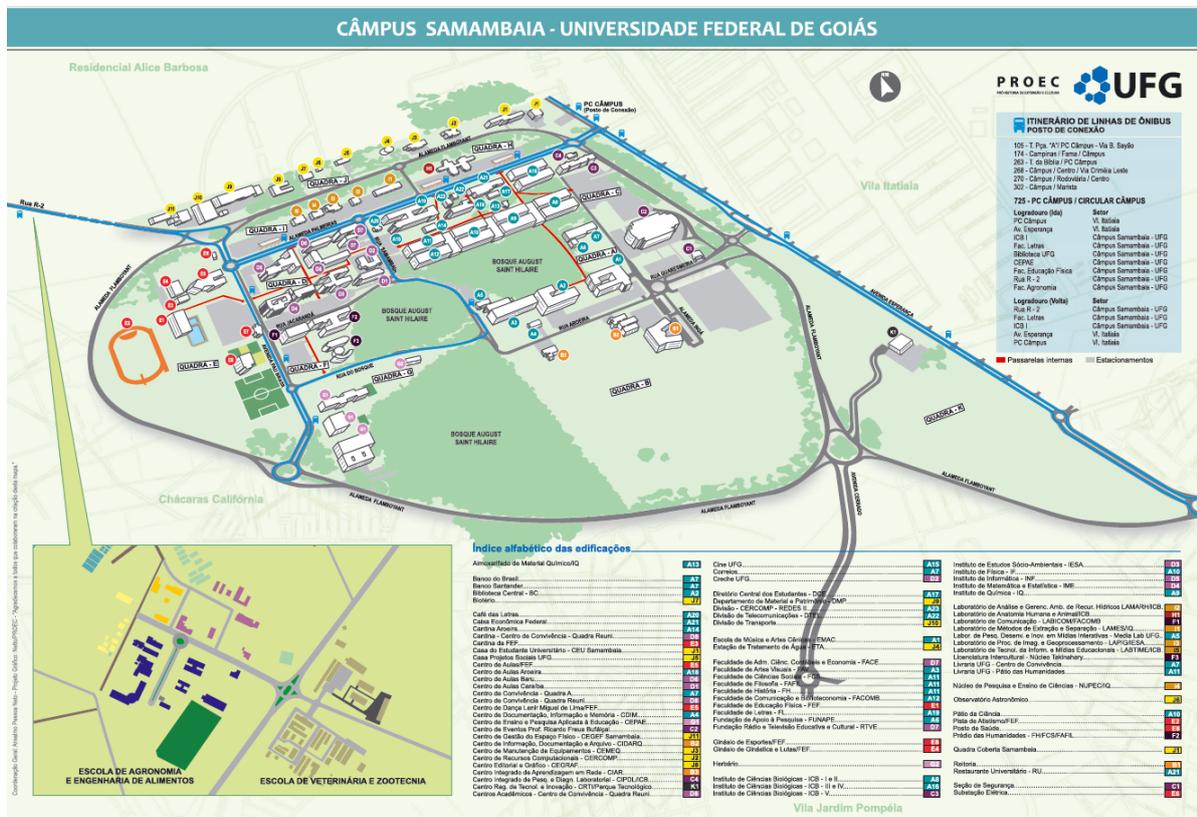


Figura 2. Mapa Universidade Federal de Goiás- Campus Samambaia (Site UFG).

Caracterização da arquitetura foliar

Foram diafanizadas 3 folhas de dois indivíduos coletados de *M. chamaedrys*, adotando-se a técnica Shobe e Lersten (1967), com modificações sugeridas por Fernandes (2007) e Faria (2014). O processo consistiu na utilização de esponja, água destilada e detergente (princípio ativo: linear alquil benzeno

sulfonato de sódio) para a limpeza das folhas, com o intuito de remover o excesso de cera e acelerar o processo da diafanização. As folhas frescas provenientes das coletas foram armazenadas em etanol 70%, até a remoção parcial de pigmentos.

Após o tratamento inicial, as folhas foram imersas em solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) a 20%, por 12h (por se tratar de material delicado). As amostras foram lavadas em água destilada de 5 a 10 vezes, até a remoção dos pigmentos e em seguida, transferidas para solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 20%, até a clarificação total.

O material foi lavado em água destilada e desidratado em série etanólica crescente de 70%, 80%, 90% e 100%, por 1h em cada solução. As folhas diafanizadas foram coradas com Safranina 1% alcoólica. O excesso de corante foi retirado com álcool 100%, até a diferenciação da tonalidade desejada. Seguiu-se após o tratamento com acetato de butílica-etanol 1:1 e a fixação da coloração com acetato de butílica puro. As folhas foram montadas entre placas de vidro de 3 mm de espessura, utilizando-se como meio de montagem o verniz vitral incolor (PAIVA *et al.*, 2006) da GP Arts ®. As placas foram secas em temperatura ambiente e quando necessário foi adicionado verniz vitral entre as mesmas para repor a retração do meio de montagem e diminuir a formação de bolhas.

As folhas montadas foram fotografadas em diferentes níveis de detalhamento utilizando uma câmera digital Sony Cyber Shot, modelo W-55 com resolução de 12 Megapixels. O registro das imagens das redes menores de nervuras e aréolas será obtido no fotomicroscópio LEICA DM 500. Todas as imagens foram tratadas digitalmente, através do programa computacional Photoshop 8.0.1 (Adobe Systems Corp. 2010). Para a análise e descrição dos padrões de venação foliar foram utilizados os tipos básicos definidos por Hickey (1974). Para a análise e descrição dos padrões de venação foliar foram utilizados o Leaf Architecture (1999) e Ellis *et al.* (2009), e os termos de acordo com Hickey (1974).

Caracterização anatômica da folha

Para a caracterização anatômica foram utilizados fragmentos da região mediana do pecíolo e da lâmina foliar (bordo, entre - nervura e nervura central) de três folhas totalmente expandidas, retiradas de ramos adultos de três indivíduos analisados, por espécie coletada.

As amostras foram fixadas em FAA₇₀ (Formol, ácido acético e álcool etílico 70%) por um período de 24h e posteriormente armazenadas em álcool etílico 70%. A confecção das lâminas histológicas foi realizada a partir de secções transversais e paradérmicas da lâmina foliar e secções transversais do pecíolo, obtidas a mão livre. As secções foram clarificadas com hipoclorito de sódio 6%, lavadas em água destilada e em seguida submetidas à dupla coloração com fucsina básica 0,1% e azul de Astra 0,3% na proporção 1:3, desidratadas em série etílica, diafanizadas em acetato de butila e montadas em resina sintética (Paiva *et al.* 2006).

Investigação histoquímica

As classes de metabólitos investigadas encontram-se descritas na Tabela 1. Secções controle foram realizadas simultaneamente, de acordo com a metodologia descrita nos protocolos.

As observações e documentações fotográficas do material foram realizadas em microscópio de luz modelo LEICA DM 500, os desenhos em fotomicroscópio modelo ZEISS-AXIOSKOP acoplado à câmara clara. As escalas que acompanham as ilustrações foram obtidas nas mesmas condições ópticas.

Tabela 1. Testes histoquímicos aplicados para detectar as principais classes de metabólitos presentes nos tricomas *M. chamaedrys* (Vahl) Kuntze.

	Grupos de metabólitos	Reação positiva	Reagente
<i>Lipídios</i>	Lipídios totais	vermelha	Sudan IV (Brundett <i>et al.</i> , 1991)
		laranja	Sudan III (Johansen, 1940) Steinmetz (Costa, 2001)
		Cinza a negro	Sudan black B (Jensen, 1962)
	Lipídios neutros e ácidos	Azul (ácidos) rosa (neutros)	Sulfado azul do Nilo (Cain, 1974)
<i>Terpenos</i>	Óleos essenciais e óleos-resinas	Azul (essência), vermelha (resina), violeta (essência+ resina)	Reagente de Nadi (David and Carde, 1964).

<i>Compostos Fenólicos</i>	Compostos fenólicos gerais	castanho-avermelhada	Dicromato de potássio (Gabe, 1968) Steinmetz (Costa, 2001)
		verde, purpura, azul, negro	Cloreto férrico III (Johansen, 1940)
<i>Proteínas</i>		Azul	Azul brilhante de coomassie (Fisher, 1968).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização morfológica da folha

M. chamaedrys apresenta folha membranácea, hirsuto-glandular (Fig. 3B), em ambas as faces; pecíolo 0,5–3,5 cm compr., densamente hirsuto-glandular, lâmina foliar 2–8,5 × 0,7–3,5 cm, estreita-oval ou elíptica, ápice agudo (Fig. 3A, A), base decurrente, assimétrica (Fig. 3A, B), margem serreada (Fig. 3A, M), nervuras proeminentes na face abaxial. O padrão de venação da lâmina foliar de *M. chamaedrys* é craspedódroma (as nervuras secundárias chegam às margens das folhas). A nervura central é proeminente em toda a extensão da folha, afilando-se em direção ao ápice. As nervuras secundárias que dela partem são ascendentes, opostas alternadas, em número seis a dez. A rede de nervuras terciárias é do tipo perpendicular, subdividida por veias quaternárias e de quinta grandeza, formando aréolas quadragonais com vênulas que se ramificam até duas veze, dicotômicas (Fig. 3C).

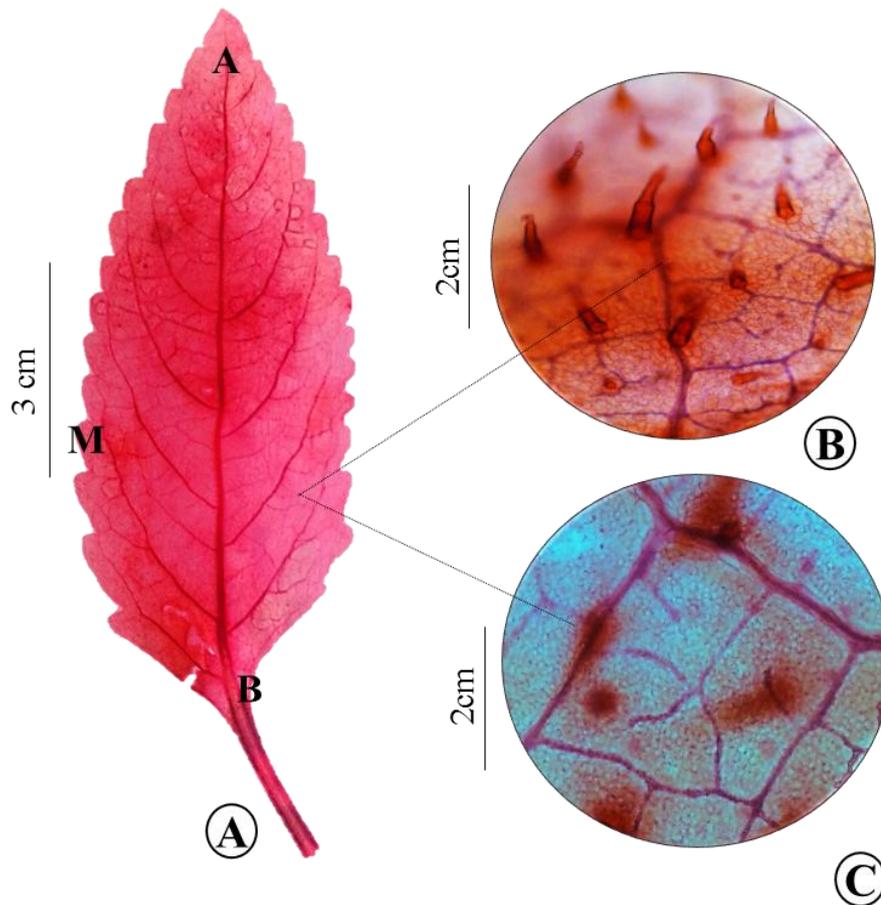


Figura 3. Aspectos da morfologia e venação foliar de *M. chamaedrys* (Vahl) Kuntze. A. aspecto geral da folha; B. detalhe da superfície adaxial, evidenciando tricomas tectores; C. detalhe da aréola, com vênulas dicotômicas.

O padrão de venação craspedódroma parece ser o mais comum encontrado em representantes de Lamiaceae (HICKEY, 1979; HICKEY; TAYLOR, 1991, HARLEY *et al.*, 2004; FARIA 2014), da mesma forma que ocorre na subseção *Gnidifoliae* da seção *Eriosphaeria* (RUDALL, 1986), corroborando com observado em *M. chamaedrys*.

Fonseca *et al.* (2007) e Judd *et al.* (2009) relatam que a morfologia das folhas sempre desempenhou papel importante na sistemática vegetal como todo, particularmente para caracterizar e identificar a taxa onde a variação nas estruturas florais não é informática.

Caracterização anatômica da folha

A folha *M. chamaedrys* é anfihipoestomática, com estômatos do tipo diacíticos (Fig. 4A - C), localizando-se levemente elevados em relação às demais células epidérmicas (Fig. 4A).

A epiderme é unisseriada com parede periclinal externa lisa e mais espessa do que a interna, revestida por uma cutícula lipídica delgada (Fig. 4A, cabeça de seta). As células epidérmicas são amplas, justapostas, de formato retangular e tamanhos variados em ambas as faces (Fig. 4A), sendo que as da face abaxial são menores.

A lâmina foliar em vista frontal apresenta epiderme com parede anticlinal ondulada na face adaxial (Fig. 4B, cabeça de seta) e sinuosa na abaxial (Fig. 4C, cabeça de seta).

Folha anfihipoestomática, como observado em *M. chamaedrys*, também foi descrito em *Cunila microcephala* Benth (TOLEDO *et al.*, 2004) e em espécies de *Hypenia* (Mart. ex Benth.) Harley (Faria, 2008, 2014).

Os estômatos em Lamiaceae podem ocorrer em uma ou em ambas as faces da lâmina foliar (METCALFE; CHALK, 1957, 1983), sendo as folhas anfiestomáticas em várias espécies de *Mentha*, em *Hyptis suaveolens* L. (Poit) (BOZANI *et al.*, 2007; BASÍLIO *et al.*, 2006, FARIA, 2014 respectivamente) ou em alguns casos ou hipoestomáticas em *Hyptis pectinata* (L.) Poit., *Plectranthus neochilus* Schltr., *Leonurus sibiricus* L., *Hyptis* sp. e *Hypenia inelegans* (Epling) Harley (DUARTE; LOPES, 2005; BASÍLIO *et al.*, 2006; DUARTE; LOPES, 2007; FERREIRA, 2009; FARIA, 2014). A variação observada indica que esta característica pode ser de utilidade para diferenciar gêneros e ou espécies de Lamiaceae.

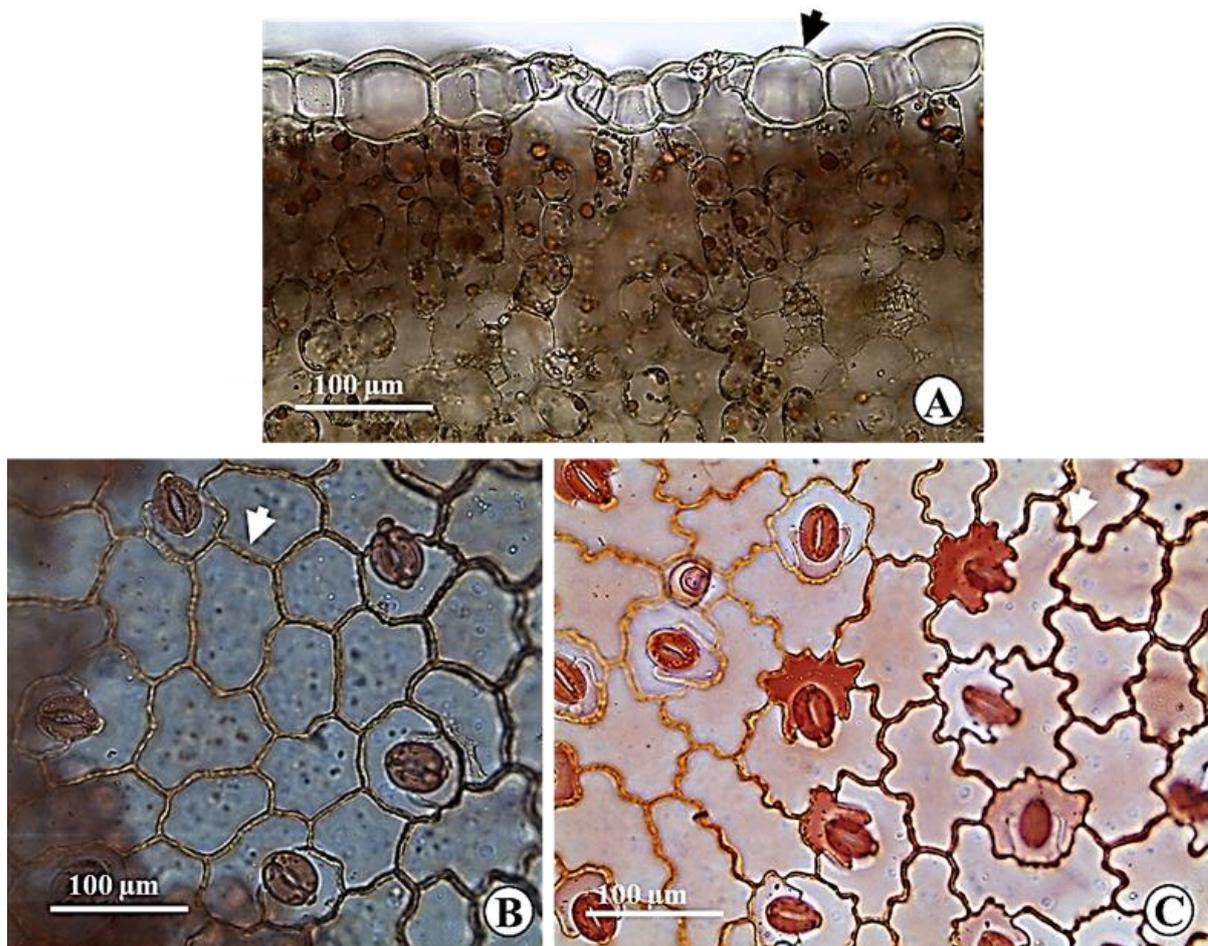


Figura 4. Secção transversal e paradérmicas da lamina foliar *M. chamaedrys* (Vahl) Kuntze. A. região do mesófilo, evidenciando, epiderme (ponta de seta); **B.** epiderme evidenciando parede anticlinais ondulada (ponta de seta); **C.** epiderme evidenciando parede anticlinais sinuosas (ponta de seta);

Inúmeros tricomas tectores, de tamanhos variados, ocorrem em toda a superfície foliar, podendo ser multicelulares (2 -7 células) e unisseriados, na maioria das vezes são levemente encurvados no ápice. Os tricomas tectores longos e com maior número de células ocorrem na face adaxial, ocupando toda a extensão da lâmina e os curtos concentram-se nas margens e sobre as nervuras de ambas as faces. Tricomas glandulares multicelulares do tipo capitado são vistos em ambas as faces da lâmina foliar, com maior número na face abaxial. Os tricomas capitados apresenta pedicelo curto e possui cerca de quatro células compondo a cabeça, onde encontra-se, geralmente, inserido em uma leve depressão, sendo que a cutícula se distende com o acúmulo do composto sintetizado no espaço subcuticular (Fig. 5A); pedicelo longo (2-8 células) com ou sem células de pescoço; cabeça secretora globulosa, ovoide, piriforme (Fig. 5 B-H).

Conforme citado por Metcalfe e Chalk (1979), é comum entre as espécies de Lamiaceae, a presença de vários tipos de tricomas na folha, sendo considerada uma característica de grande valor para a identificação taxonômica, como já observada em estudos com espécies de *Mentha* (MARTINS, 2002; DESCHAMPS *et al.*, 2006) e com espécies de *Cunila* (TOLEDO *et al.* 2004; XIFREDA; MALLO, 2006, KAYA *et al.*, 2006; POOL, 2006, FARIA 2014).

Com relação aos numerosos tricomas glandulares, Hay e Svoboda (1993) observaram que são os responsáveis pelo armazenamento e a síntese dos compostos (WERKER *et al.*, 1993).

Histoquímica

As principais substâncias químicas produzidas pelos tricomas glandulares observadas neste estudo foram compostos lipofílicos (Fig. 5 A-D), compostos fenólicos (Fig. 5G-H), terpenoides (óleos essenciais) (Fig. E-F).

Os compostos fenólicos estão associados às estratégias de defesa primária das plantas (Singleton e Rossi, 1965; Buchanam *et al.*, 2000; Bozan *et al.*, 2008) e atividades antibacterianas e antivirais (Kimura *et al.*, 1984). As espécies de *Hypernia*, apresentaram *reações* negativas para tanino, o que está de acordo com os resultados obtidos para *Plectranthus ornatus* (Ascensão *et al.*, 1999).

As plantas produzem diversos compostos lipofílicos, sendo já verificada atividade biológica bactericida, fungicida, antiviral, antiparasitária, inseticida, analgésica, entre muitos outros importantes, e são responsáveis pelas características aromáticas e condimentares da grande maioria das plantas (Cantrell *et al.*, 2001). De acordo com Fahn (2000), dentre as substâncias lipofílicas secretadas pelas plantas estão os lipídios, terpenos, sendo que óleos essenciais possuem grande variedade de terpenos.

De acordo com alguns autores a composição dos óleos essenciais pode ser importante como subsídio para a quimiotaxonomia: Vieira *et al.* (2001) analisando a composição química dos óleos essenciais de *Ocimum gratissimum*, identificou três quimiotipos distintos (eugenol, timol e geraniol), sendo associados as características morfológicas. Nogueira *et al.* (2008) com base na composição química dos óleos essenciais, separou em grupos distintos diferentes espécies *Hypericum*. Silvia *et al.*, (2011) e Faria *et al.*, (2012) analisando componentes

químicos dos óleos essenciais de espécies *Hypenia* ocorrentes no Cerrado, verificaram alto polimorfismo químico, bem como a separação das espécies em dois grupos quimicamente distintos.

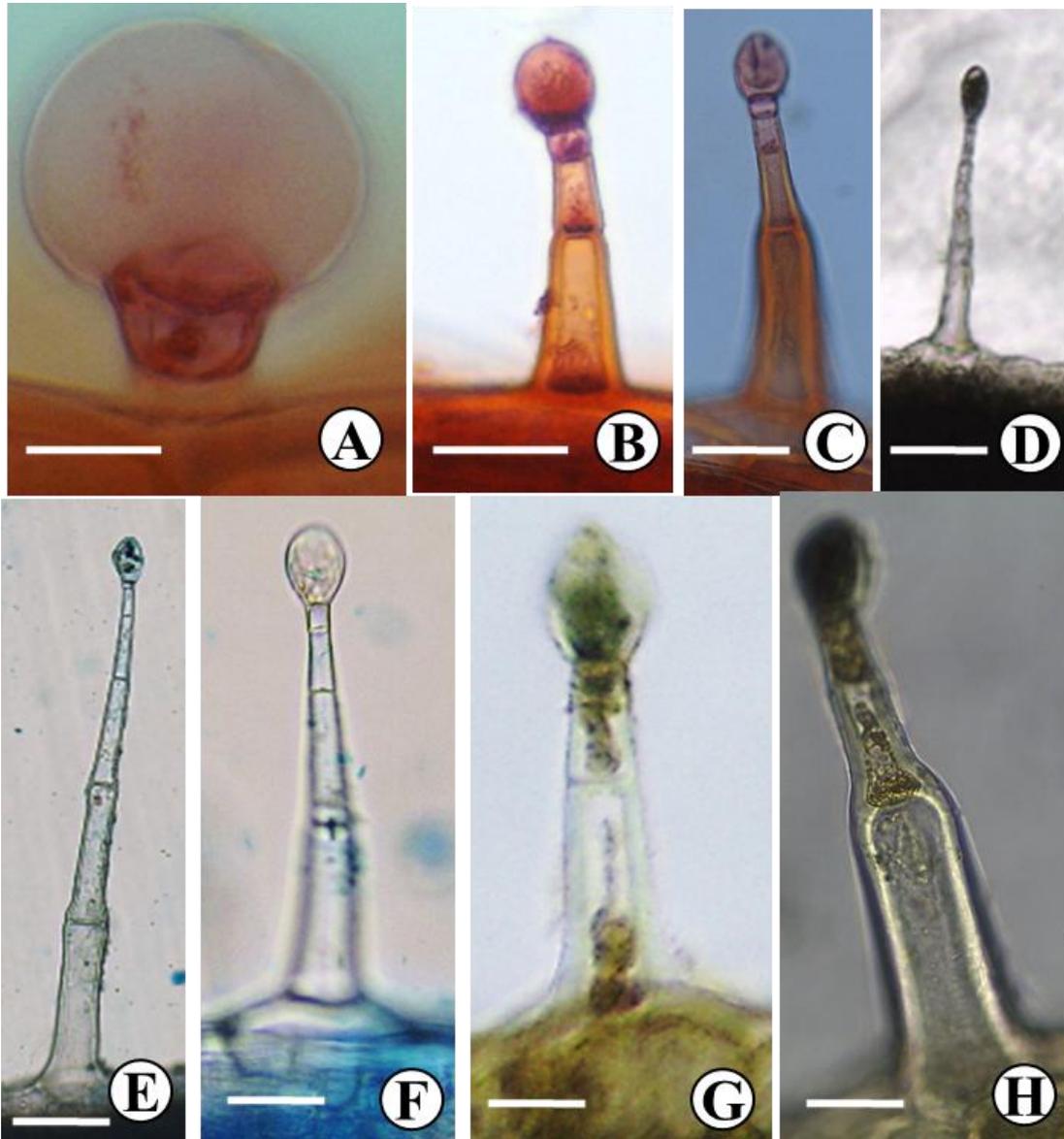


Figura 5. Testes histoquímicos. Reação positiva para lipídios, sudan III (A), sudan IV (B-C), sudan Black (D); reação positiva par óleos essências (terpenos), NADI (E-F); reação positiva para compostos fenólicos, cloreto férrico (G), sulfato ferroso (H).

O mesofilo é heterogêneo, dorsiventral, com uma a duas camadas de parênquima paliçádico e cerca de três camadas de parênquima lacunoso, observa-se gotículas lipídicas por toda sua extensão (Fig. 6A-B).

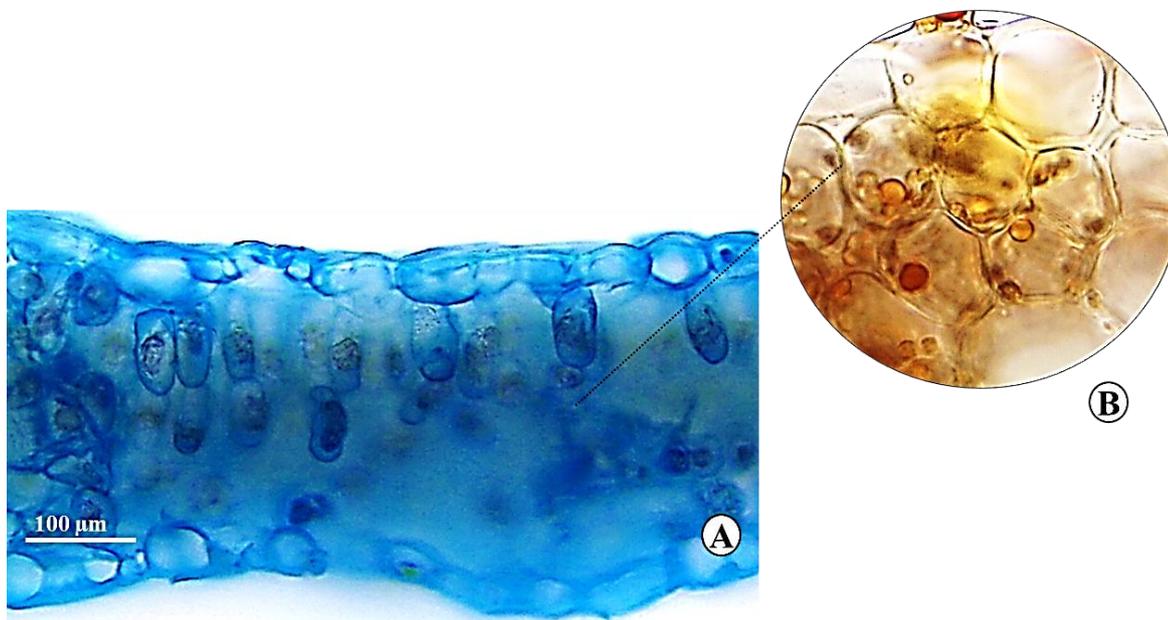


Figura 6. Secções transversais do mesofilo de *M. chamaedrys* (Vahl) Kuntze. **A.** Aspecto geral; **B.** detalhe das gotículas lipídicas.

O mesofilo dorsiventral é característico em várias espécies de Lamiaceae. Em *Hyptis* nas seções *Pachyphyllae* e *Eriosphaeria*, o mesofilo é constituído por uma camada de parênquima paliçádico e 1-3 camadas de parênquima esponjoso (RUDALL, 1986). Na seção *Mesosphaeria* há uma camada de parênquima paliçádico e o parênquima esponjoso apresenta 5-6 camadas em *H. pectinata* e 6-7 camadas em *H. suaveolens* (BASÍLIO et al., 2006), enquanto em *H. stricta* apresenta 4-5 camadas. A estratificação do parênquima esponjoso não permite separar as três espécies estudadas dentro da seção *Mesosphaeria*, mas permite separar esta seção das seções estudadas por Rudall (1986) e em *Hypenia* (Faria, 2008, 2014).

A nervura mediana possui formato côncavo-convexo (Fig. 7A), com células epidérmicas de tamanho menor nesta região da lâmina foliar, densamente pilosa com tricomas tectores entremeados por glandulares (Fig. 7B). Subjacentes à epiderme da face adaxial, encontram-se duas a quatro camadas de colênquima e

apenas duas camadas à face abaxial. O tecido vascular é colateral e está organizado em forma de arco aberto.

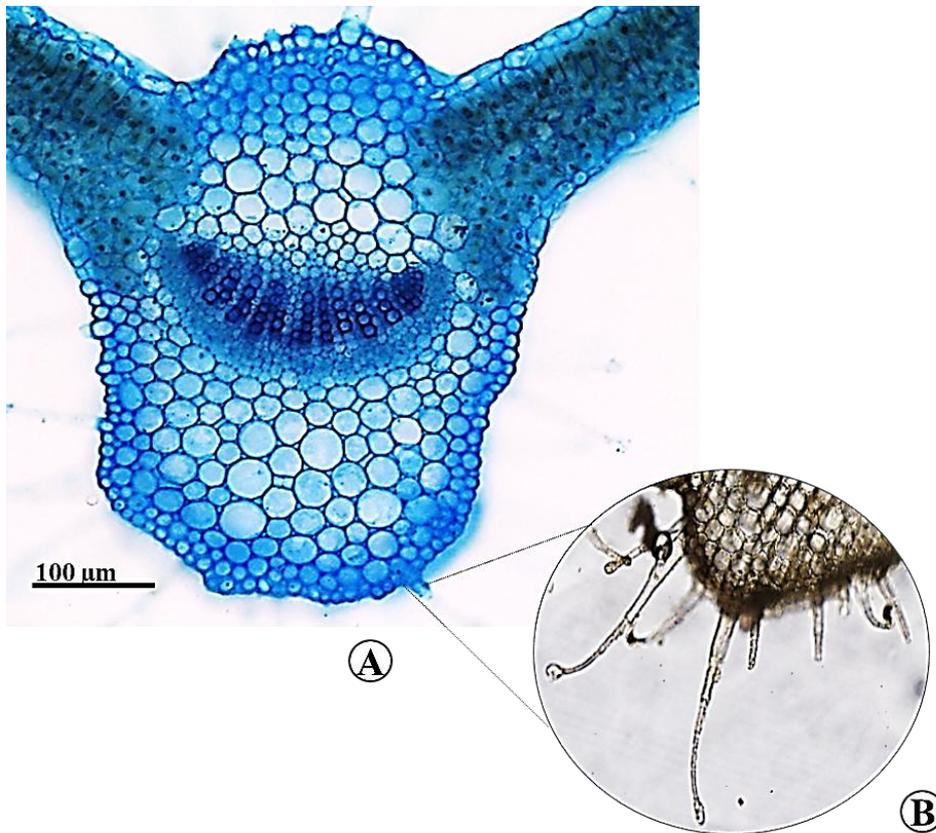


Figura 7. Secções transversais da nervura principal de *M. chamaedrys* (Vahl) Kuntze. **A.** aspecto geral, evidenciando contorno, côncavo-convexo; **B.** detalhe dos tricomas na superfície abaxial.

Pecíolo

O pecíolo em corte transversal exibe contorno biconvexo na face abaxial, formando duas costelas (Fig. 8A). A epiderme é unisseriada, com células de paredes delgadas. Tricomas tectores e glandulares, semelhantes aos descritos na lâmina foliar são observados na superfície epidérmica (Figuras 8B). O córtex é composto por colênquima descontínuo, com duas camadas de células na região da costela e uma camada por todo seu contorno. Subjacentes ao colênquima ocorrem cerca várias camadas de parênquima. O sistema vascular é do tipo colateral,

organizado em quatro feixes vasculares, dois centrais, maiores, com forma de arco aberto e dois feixes acessórios, menores, de formato cilíndrico anfigvaisais (Fig. 8A).

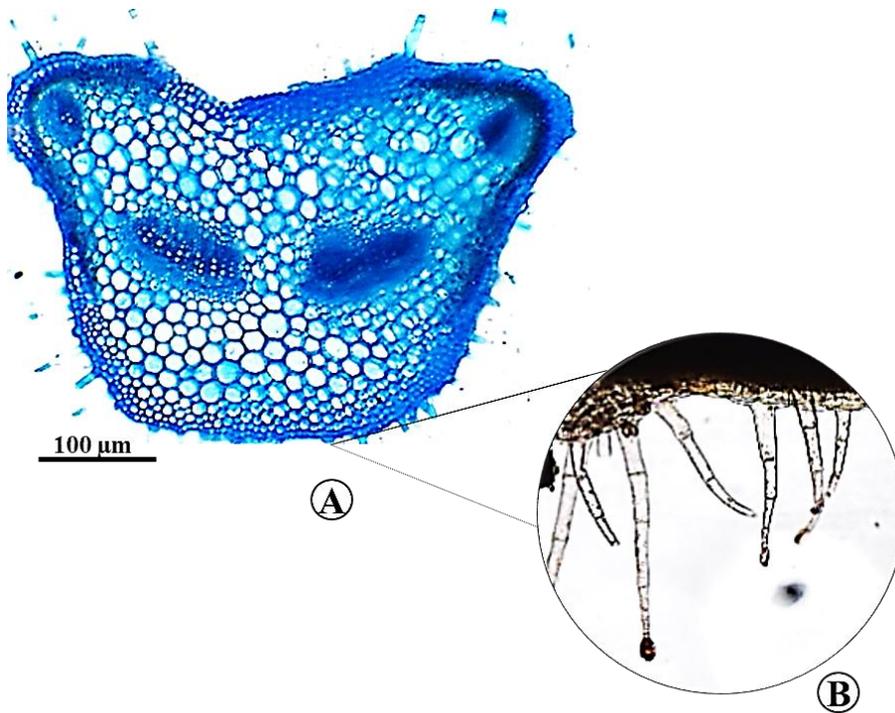


Figura 8. Secções transversais da região mediana do pecíolo de *M. chamaedrys* (Vahl) Kuntze. A. aspecto geral; D. detalhe dos tricomas tectores e glandulares na superfície abaxial.

O pecíolo apresenta características semelhantes encontrados pecíolos de espécies de Lamiaceae. Por exemplo: em *Hyptis stricta* apresenta pecíolo côncavo-convexo, assim como *H. pectinata* e *H. suaveolens*. Os feixes vasculares apresentam-se em arco com dois feixes auxiliares tanto em *H. stricta* quanto em *H. suaveolens* (BASÍLIO *et al.*, 2006).

Finalizando O tecido de suporte mecânico observado em *M. chamaedrys* é o colênquima, presente na lâmina foliar, pecíolo. Estas células de suporte são caracteres que normalmente estão relacionadas tanto ao hábito herbáceo quanto à ocorrência da planta em ambientes úmidos (EVERT, 2006), como é o caso da espécie em questão, que possui hábito herbáceo.

Os caracteres anatômicos da família Lamiaceae como estômatos diacíticos, mesofilo dorsiventral e pecíolo em secção transversal, com uma camada subepidérmica de colênquima restrito aos ângulos (METCALFE, 1988;

THEOBALD *et al.*, 1988; HARLEY *et al.*, 2004, FERREIRA, 2009 e FARIA, 2014) estão presentes em *M. chamaedrys*.

CONCLUSÕES

Caracteres anatômicos de valor diagnóstico em *M. chamaedrys* foram registrados no presente estudo, em especial os tricomas glandulares. Além disso, foram encontrados caracteres ordinários à família Lamiaceae, como tricomas tectores multicelulares e glândulas do tipo capitado; estômatos diacíticos. Estas informações são relevantes, pois auxiliam na identificação da espécie, contribuindo para o controle de qualidade da mesma, uma vez que a planta em questão é de uso medicinal.

Vale ressaltar a importância de se aprofundar na caracterização dos tricomas presentes em *M. chamaedrys*, com estudos micromorfológicos (microscopia de varredura), pois alguns aspectos importantes não conseguimos visualizar apenas com as técnicas anatômicas tradicionais.

REFERÊNCIAS

- ASCENSÃO, L. et al. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. *Ann. Bot.*, London, v. 84, n. 4, p. 437-447, 1999.
- BASÍLIO, J.L.D.; AGRA, M.F.; ROCHA, E.A.; LEAL, C.K.A.; ABRANTES, H.F. Estudo farmacobotânico comparativo das folhas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). *Acta Farmacêutica Bonaerense*, 25 (4): 518-525, 2006.
- BOZAN, B.; TOSUN, G, K.; OZCAN, D. Study of polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity. *Food Chem.* 109:426–430, 2008.
- BOZANI, N.E.; COSTAGUTA, M.; BARBOZA, G.E. Estudios anatómicos en especies de *Mentha* (Fam. Lamiaceae) de Argentina. *Arnaldoa*, 14 (1): 77 – 96, 2007.
- BRANDÃO, M. DAS G. L. Ensinando sobre plantas medicinais na escola. Museu de História Natural e Jardim Botânico da UFMG, Dataplant, 2011. Disponível; www.ceplamt.org.br/wp-content/uploads/2014/.../pag_1_pag_18-1.pdf. Acesso 25 out. 2015.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade do cerrado e pantanal: áreas e ações prioritárias para conservação. Brasília: MMA, 2007a. 540 p., il. Color. (Série Biodiversidade, 17). Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>. Acesso 28 out. 2015.
- BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. (Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists), 2000.

- CANTRELL, CL.; FRANZBLAU, S.G.; FISCHER, N. H. Antimycobacterial plant erpenoids. *Planta Med*, v. 67, p. 685-694, 2001.
- CASTRO, M. M.; MACHADO, S. R. Células e tecidos secretores. In: APPEZZATO da GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Editoras). *Anatomia Vegetal*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J. L.; ROSWALKA, L.; OLIVEIRA, M. C.; BIZZO, H. R.; ALQUINI, Y. Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquática* L. *Ciência e Natura*, v.28, p. 23-34, 2006.
- DUARTE, M.R.; LOPES, J.F. Morfoanatomia foliar e caulinar de *Leonurus sibiricus* L., Lamiaceae. *Acta farmacêutica bonaerense*, 24:(1): 68 -74, 2005.
- DUARTE, M.R.; LOPES, J.F. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* schltr., Lamiaceae. *Revista Brasileira de farmacognosia*, 17(4): 549 -556, 2007.
- ELLIS, B., D. C. DALY, L. J. HICKEY, J. D. MITCHELL, K. R. JOHNSON, P. WILF, S. L. WING. *Manual of Leaf Architecture*. New York, New York Botanical Garden Press, 2009.
- EVERT, R.F. 2006. *Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. John Wiley e Sons, New Jersey, 2006.
- FARIA, M.T. *Hypenia* (Marth. ex Benth.) Ocorrentes em Goiás e Distrito Feral: Taxonomia, Anatomia e Fitoquímica. Tese de doutorado, programa de pós-graduação em Botânica - Universidade de Brasília, 2014.
- FARIA, M.T. Morfologia, anatomia, histoquímica e fitoquímica de espécies do gênero *Hypenia* (Mart. ex Benth) R. Harley-Lamiaceae ocorrentes no Cerrado de Goiás. Dissertação de Mestrado, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade federal de Goiás, Goiânia, Goiás, p.205, 2008.
- FERNANDES, L. D. C. Morfologia, anatomia, histoquímica, e aspectos fisiológicos da lâmina foliar de espécies de *Clusia* (Clusiaceae). Dissertação de Mestrado, Universidade De Brasília, Brasília, 2007.
- FERREIRA, H.D. Morfologia, taxonomia, Filogenia, Anatomia Foliar e fitoquímicas de Espécies do Gênero *Hyptis* Jacq. (Labiatae) ocorrentes em Goiás e Tocantins. Tese de Doutorado, Instituto De Ciências Biológicas, Universidade Federal Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. 2009.
- FISHER, D.G. Morphology and Anatomy of the Leaf of *Coleus blumei* (Lamiaceae). *American Journal of Botany*, 72 (3): 392-406. Gabe, M. 1968.
- Techniques histologiques. Masson e Cie, Paris. 1985.
- FIUZA, T. S. et al. Estudos das folhas e caule de *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) Harley, Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 2, p.192-200, 2010.
- FONSÊCA, L.C.M.; PROENÇA, C.E.B.; GONÇALVES, E.G. Descrição do padrão de venação foliar em *Spathicarpa* Hook. (Araceae). *Acta Botânica Brasília* 21: 213-221. 2006.
- HARLEY, R. M. et al. Labiatae. In: KUBITZKI, K.; KADEREIT, J. W. Flowering Plants, dicotyledones: Lamiales except Acanthaceae including Avicenniaceae. The families and genera of vascular plants; 7. Springer – Verlag Berlin Heidelberg New York, 2004.
- HASHIMOTO, M.Y. Estudos taxonômicos do gênero *Marsypinathes* Marth. ex Benth. (Hyptidinae, Lamiaceae) no Brasil. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal da Universidade Federal de Goiás, como exigência parcial à obtenção do título de Mestre. 2013.

- HEINRICH, M. Economic botany of American Labiatae, en R. M. Harley & T. Reynolds (eds.) *Advances in Labiatae Science*: 475-488. Royal Botanic Gardens, Kew, 1992.
- HICKEY, L. J. Classification of the architecture of dicotyledons leaves. *Am. Jour. Bot. Bot.*, Lancaster, v. 60, n. 1, p. 17-33, 1973.
- HICKEY, L. J. & TAYLOR, D. W. The Leaf architecture of *Ticodendron* And The Application of foliar Characters In Discerning Its Relationships. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, p. 78:105-130, 1991.
- HICKEY, L. J. Classification de la arquitectura de las hojas de dicotiledóneas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 16(1/2), p. 1-26, 1974.
- HICKEY, L.J. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves. p. 25-39. In: Metcalfe, C.R.; Chalk, L. *Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem*. v.1. Clarendon Press, Oxford. 1979.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical Histochemistry: Principles and Practice*. W. H. Freeman e Co., San Francisco. 1962.
- JOHANSEN, D.A. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York. 1940.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E.A.; STEVENS, P.F. DONOGHUE, M.G. *Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético*. Porto Alegre, Artmed. 3ª ed. p. 492-494, 2009.
- KAYA, A.; DEMIRCI, B.; BASER, K.H.C. 2007. Micromorphology of glandular trichomes of *Nepeta congesta* Fisch. e Mey. var. *congesta* (Lamiaceae) and chemical analysis of the essential oils. *South African Journal of Botany*, 73: 29 - 34.2007.
- KIMURA, Y., OKUDA, H., OKUDA, T., HATANO, T., AGATA, I., ARICHI, S. Studies on the activities of tannins and related compounds. V. Inhibitory effects on lipid peroxidation in mitochondria and microsomes of liver. *Planta Medica*, Stuttgart, v.50, n.6, p.473-477, 1984.
- KRAUS, E.; ARDUIN. M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. EDUR, Rio de Janeiro. 1997.
- LEAF ARCHITECTURE WARKING Group. *Manual Of Leaf Architecture – Morphological Deception And Categorization Of Dicotyledonous And Net – Veined Monocotyledonous Angiosperms* Washington, DC. Department Of Paleobiology, Smithsonian Institution, 1999.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J.A. *Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas*.
- MACE, M.E.; HOWELL, C.R. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23: 99-108, 1974.
- MACE, M.E.; HOWELL, C.R. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23: 99-108, 1974.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C; VEIGA- JUNIOR, V. F. *Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares*. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.
- MAGALHARES, A. L. Avaliação do potencial anti-inflamatório de *Marsypianthes chamaedrys* (Vahl) kuntz (Lamiaceae) frente ao veneno de *Bothrops atrox*. Universidade Federal do Amazonas programa multiinstitucional de pós-graduação em biotecnologia, Manaus, 2010. <http://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/2240/1/Dissertacao%20Final%20Alcineide%20Magalhaes%202010.pdf>. Acesso em: 28 out. 2015.
- MAIA, V. 1979. *Técnica Histológica*. Atheneu, São Paulo. 1979.

- MALLO, A. C.; XIFREDA, C. C. Sobre das espécies de *Marsypianthes* (Lamiaceae, Ocimeae) del Noreste Argentino. *Darwiniana*, v. 2, n. 42, p. 201-206, 2004.
- MARTINS, M. B. G. Estudos de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura em folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha spicata x suaveolens* (Lamiaceae). *Bragantia*, v.61, p. 205-218, 2002.
- MENEZES, F. S.; BORSATTO, A. S.; PEREIRA, N. A.; MATOS, F. J. A.; KAPLAN, M. A. C. Chemical constituents from *Marsypianthes chamaedrys*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 70, n. 4, p. 7616, 1998a.
- MENEZES, F.S.; SABOIA, A.B.; PEREIRA, N.A.; MATOS, F.J.A.; BORSATTO, A.S.; KAPLAN, M.A.C. Chemical constituents from *Marsypianthes chamaedrys*. *Anais Academia Brasileira de Ciências*. 70: 4. 761-761. 1998.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons, leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Clarendon Press, Oxford. 560pp, 1957.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons., vol I. Systematic anatomy of the leaf and stem. 2a ed. Clarendon Press, Oxford. 276pp. 1979.
- NOGUEIRA, T.; MARCELO-CURTO, M.J.; FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; PEDRO, L.G.; RUBIOLO, P.; BICCHI, C. Chemotaxonomy of *Hypericum* genus from Portugal geographical distribution and essential oils composition of *Hypericum perforatum*, *Hypericum humifusum*, *Hypericum linarifolium* and *Hypericum pulchrum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 40-50. Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum, 2008.
- PAIVA, J. G. A.; CARVALHO, S. M. F.; MAGALHÃES, M. P. & GRACIANO-RIBEIRO, D. G. Verniz vitral incolor 500: uma alternativa meio de montagem ecologicamente viável. *Acta Botânica Brasílica*. 20(2), p. 257-264, 2006.
- PASTORE, J.F.B.; HARLEY, R.M.; FORREST, F.; PATON, A.J. & VAN DEN BERG, C. Phylogeny of the subtribe *Hyptidinae* (Lamiaceae tribe Ocimeae) as inferred from nuclear and plastid DNA. *Taxon* 60: 1317. 2011.
- PEREIRA, B.M.R.; GONÇALVES, L.C.; PEREIRA, N.A. Abordagem farmacológica de plantas recomendadas pela medicina folclórica como antiofídicas III–Atividade antiedematogênica. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 73, n.4, p. 8586, 1992.
- PIZZOLATO, T.D.; LILLIE, R.D. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 21: 56-64.1973.
- POOL, A. New Species of *Scutellaria* (Lamiaceae) from Mesoamerica. *Novon*, 16 (3): 388-403.2006.
- RAI, L. K.; PRASAD, P.; SHARMA, E. Conservation threats to some important medicinal plants of the Sikkin Himalaya. *Biological Conservation* v. 93 p. 27-33, 2000.
- RUDALL, P. Leaf anatomy of *Hyptis* sect. *Pachyphyllae* (Labiatae) and related species. *Kew Bulletin*, v. 41, p.1017-1025, 1986.
- RUPPELT, B. M.; GONÇALVES, L.C.; PEREIRA, N. A. Abordagem farmacológica de plantas recomendadas pela medicina folclórica como antiofídicas II Bloqueio da atividade na permeabilidade capilar e na letalidade do veneno de jararaca (*Bothrops jararaca*). *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 71, p.57-58, 1990.
- SHOBE, W. R.; LERSTEN, N. R. A technique for clearing and staining gymnosperm leaves. *Bot. Gaz.*, 128 (2):150-152, 1967.
- SILVA, J. G.; FARIA, M.T.; OLIVEIRA, E.R.; REZENDE, M. H.; RIBEIRO, D.G.; RIBEIRO, FERREIRA, H. D.; S. C. SANTOS, SERAPHIN, J.C.; FERRI,

- P.H. 2011. Chemotaxonomic significance of volatile constituents in *Hypenia* (Mart. ex Benth.) R. Harley (Lamiaceae). Journal Brazilian Chemical Society, v. 22: 955-960, 2011.
- SILVA, W. B. O lugar da farmacognosia na formação em farmácia: questões epistemológicas e suas implicações para o ensino. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, n. 2, p.289-294,
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic and phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic., v.16, p.144-158, 1965.
- SOUZA, C.D.; FELFILI, J.M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. Acta Botânica Brasílica, v.20, n.1, p.135-142, 2006.
- THEOBALD, W.L.; KRAHULIK, J.L.; ROLLINS, R.C. Trichome description and classification. p. 40-53. In: Metcalfe CR, Chalk L. Anatomy of the dicotyledons. v.1. Clarendon Press, Oxford. 1979,
- TOLEDO, M.G.T.; ALQUINI, Y.; NAKASHIMA, T. 2004. Caracterização anatômica das folhas de *Cunila microcephala* Benth. (Lamiaceae). Revista Brasileira Científica Farmacêutica, 40 (4): 487-493, 2004.
- VIEIRA, R.F.; GRAYER, R.; PATON, A.; SIMON, J.E. 2001. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. Biochem Syst Ecol. 29: 287-304, 2001.
- WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; DUDA, N.; KATZIR, L.. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). Annals of Botany, 71: 43 -50,1993.

**ANATOMIA E HISTOQUÍMICA *Marsypianthes montana* BENTH.
(LAMIACEAE) UMA ESPÉCIE DO CERRADO COM POTENCIAL
MEDICINAL**

*Renata Venâncio Ferreira*¹

*Heleno Dias Ferreira*²

*Maria Tereza Faria*³

INTRODUÇÃO

O Brasil abriga cerca de 55 mil espécies de plantas, aproximadamente um quarto de todas as espécies conhecidas. Quanto maior o número de espécies, maior o potencial de novos medicamentos (CARVALHO *et al.*, 2010). O país possui cinco áreas de grande abundância de plantas nativas, estando entre elas o bioma Cerrado.

O Cerrado brasileiro é reconhecido como a savana mais rica do mundo, abrigando 11.627 espécies de plantas nativas já catalogadas. Destas mais de 220 espécies têm uso medicinal e mais 416 podem ser usadas na recuperação de solos degradados, como barreiras contra o vento, proteção contra a erosão, ou para criar habitat de predadores naturais de pragas (BRASIL, 2014). Atualmente o Cerrado é considerado um dos 25 locais no planeta que apresentam alta biodiversidade (*hotspot*), e um dos mais ameaçado.

Pagotto *et al.* (2006) afirma que:

A degradação do Cerrado implica, portanto, em perda de biodiversidade e, por consequência, de inúmeras espécies já identificadas ou ainda por serem catalogadas com importantes propriedades medicinais.

É preciso considerar que os recursos naturais oferecidos por ele, uma vez extintos, estarão indisponíveis às futuras gerações. Entre estes, pode-se considerar o recurso terapêutico oferecido pelas plantas medicinais (OLIVEIRA, 2011).

¹ Aluna do curso de Ciências Biológicas- Licenciatura- Faculdade Araguaia

² Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal.

³ Professora Titular do curso de Ciências Biológicas- Licenciatura- Faculdade Araguaia; Professor orientador do Curso Especialização em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia (ETAEB-UFG).

Dentre as famílias botânicas de relevância no Cerrado, destaca-se as Lamiaceae, em que a maioria das espécies apresenta propriedades medicinais devido à presença de flavonoides, alcaloides, taninos e os compostos fenólicos como o ácido rosmarínico e o ácido cafeíco que entre outras propriedades são antioxidantes (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007).

Em relação ao uso empírico de plantas medicinais, várias espécies da família têm uso popular amplamente difundido por apresentarem propriedades medicinais significativas (BALBACH, 1988; TYLER, 1993). Na medicina popular, a família Lamiaceae ocupa o terceiro lugar em ordem de importância, com muitas espécies apresentando substâncias biologicamente ativas (HARLEY *et al.*, 2004).

São exemplos de espécies da família: o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), alfavaca-de-caboclo (*Ocimum gratissimum* L.), boldo chinês (*Plectranthus ornatus* Codd.), hortelã-graúda (*Plectranthus ambonicus* Lour) e miúda (*Mentha x villosa* Huds.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e manjerona (*Ocimum selloi* Benth.) (SEVERIANO *et al.*, 2010).

O gênero *Marsypianthes* Mart. ex Benth., pertence as Lamiaceae possui em torno de seis espécies (*M. arenosa* Brandege, *M. burchellii* Epling, *M. chamaedrys* (Vahl) Kuntze, *M. foliolosa* Benth., *M. hassleri* Briq. e *M. montana* Benth.), que se distribuem na América Latina, desde o México, Guatemala e Porto Rico até Peru, Bolívia, Paraguai, Brasil e Noroeste da Argentina. Goiás é o centro de diversidade do gênero (HASHIMOTO, 2013), e, está representado por quatro espécies: *M. burchellii*, *M. chamaedrys*, *M. foliolosa* e *M. montana*. A origem do nome se dá graças ao formato do lóbulo inferior das flores, que se assemelha a uma bolsa marsupial, inflorescências em cimeiras, tipo monocásio (MALLO; XIFREDA, 2004, PASTORE *et al.*, 2011, HASHIMOTO, 2013).

Dentre as espécies do gênero, *Marsypianthes chamaedrys* é mais estudada. Conhecida popularmente como boiaca (do tupi, erva de cobra), hortelã-do-mato, mentrasto, bentônica-brava; sua principal utilização é como antídoto para picadas de serpentes e contra mordidas de mosquitos e pernilongos (RUPPELT *et al.*, 1990; PEREIRA *et al.*, 1992; MENEZES *et al.*, 1998a apud MAGALHÃES *et al.*, 2011). Alguns autores a descreve como antipirético, analgésica, antiespasmódica, carminativa (LORENZI; MATOS, 2008), moluscida (MENEZES *et al.*, 1999), antifibrinolítica (CASTRO *et al.*, 2003).

Estudos recente dos componentes químicos dos óleos essenciais de *Marsypianthes* (HASHIMOTO *et al.*, 2013) sugerem a necessidade de um estudo anatômico mais detalhado do gênero tendo em conta as diferenças significativas encontradas na composição química dos óleos essenciais entre as espécies e possível potencial medicinal das espécies ainda não estudadas fitoquimicamente (*M. arenosa* Brandegee, *M. burchellii* Epling, *M. foliolosa* Benth. *M. hassleri* Briq. e *M. montana* Benth.) Os mesmos autores também sugerem uma possível divisão do gênero em duas secções químicas, o que pode contribuir para a taxonomia do gênero, cujas espécies têm sido o objeto de alguns estudos em matéria de aspectos morfológicos e anatômicos.

A análise anatômica é importante também quando existem espécies de uso popular muito semelhantes morfológicamente e difíceis de identificar. Em alguns casos os detalhes que diferenciam uma espécie da outra são muito sutis, como por exemplo a posição e a forma dos feixes vasculares na nervura central do limbo foliar ou do pecíolo (BASÍLIO *et al.*, 2006; MAURO *et al.*, 2008).

O estudo prévio dos constituintes químicos da planta, com aplicação de testes para investigar a presença de substâncias como ácidos graxos, terpenoides, esteroides, fenóis, alcaloides, cumarinas e flavonoides pode ser um instrumento para orientar futuras investigações mais aprofundadas (MACIEL, PINTO; VEIGA-JR., 2002). A avaliação microquímica é um método rápido e de baixo custo para identificar a composição química presuntiva da planta e identificar em quais órgãos da planta estão localizadas as substâncias de interesse (LUSA, 2010).

Portanto o estudo de plantas medicinais, sob o ponto de vista anatômico, mostrar-se de grande interesse, pois contribui para o controle de qualidade e a correta identificação de fármacos vegetais (CARPANO *et al.*, 2009; GOMES *et al.*, 2009).

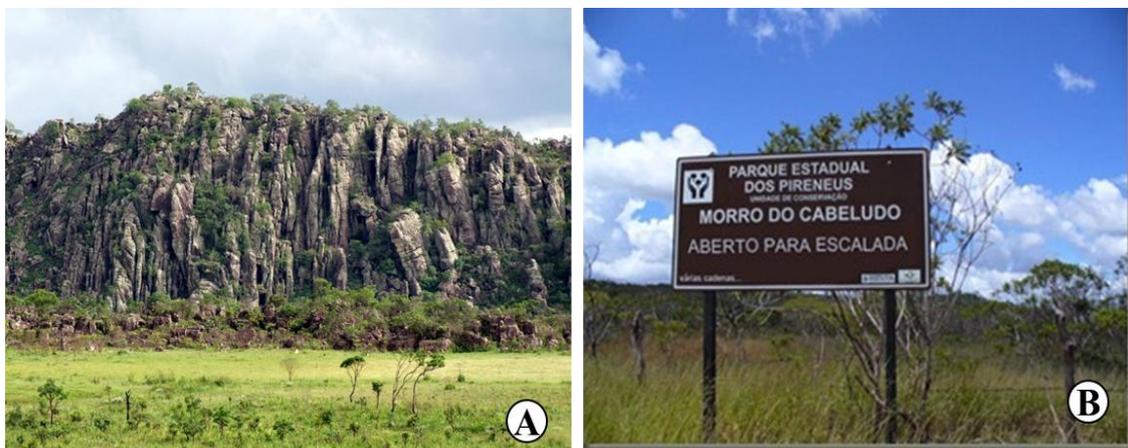
Diante da semelhança morfológica de espécies de *Marsypianthes* relatados em trabalhos de cunho taxonômico (HARLEY; PASTORE, 2012 e HASHIMOTO, 2013) e a escassez de informações anatômicas sobre as espécies do gênero escolheu-se *M. montana*, que se assemelha morfológicamente a *M. chamaedrys*, para um estudo anatômico e Histoquímico. Buscando fornecer dados, revelados através da microscopia óptica, que possam contribuir para o conhecimento da espécie e, conseqüentemente para a segurança em sua identificação.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e identificação do material botânico

O material foi coletado em uma unidade de conservação, no Parque Estadual dos Pireneus, na Serra e Pico dos Pireneus, Pirenópolis, Goiás (15°47'46" S, 48°49'53" W, Altitude 1.394 m), especificamente na base do Morro do Cabeludo, no Campo das Dobras, no mês de outubro, 2015 (Fig.1).

A espécie foi identificada taxonomicamente pelo Prof. Dr. Heleno Dias Ferreira e Profa. Dra. Maria Tereza Faria (em campo). Uma exsicata do material vegetal está depositada no Herbário UFG (Universidade Federal de Goiás).



Pico dos Pireneus, Campo das Dobras e Morro Cabeludo

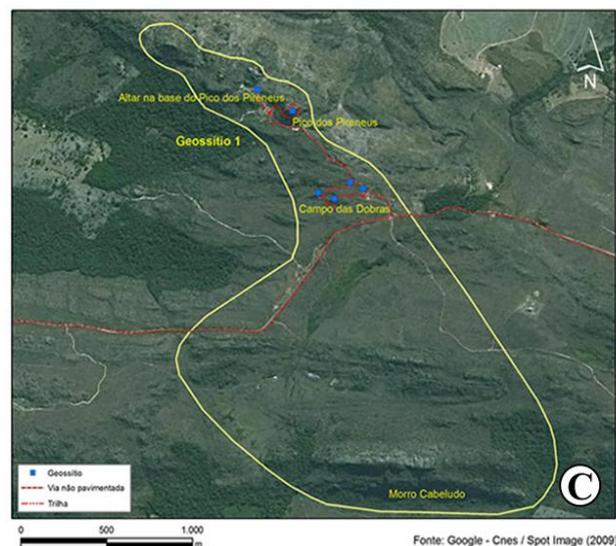


Figura. 1. A. Aspecto geral do Morro do Cabeludo. B. Placa de identificação da entrada do Morro do Cabeludo (Foto: RVF, 2015). C. Geossítio Pico dos Pireneus, roteiro dos principais pontos de interesse. Fonte: Google-Cnes/Spot Image (2009). Acesso: 20/11/2015.

Caracterização da arquitetura foliar

Foram diafanizadas 3 folhas de dois indivíduos coletados de *M. montana*, adotando-se a técnica Shobe e Lersten (1967), com modificações sugeridas por Fernandes (2007) e Faria (2014). O processo consistiu na utilização de esponja, água destilada e detergente (princípio ativo: linear alquil benzeno sulfonato de sódio) para a limpeza das folhas, com o intuito de remover o excesso de cera e acelerar o processo da diafanização. As folhas frescas provenientes das coletas foram armazenadas em etanol 70%, até a remoção parcial de pigmentos.

Após o tratamento inicial, as folhas foram imersas em solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) a 20%, por 12h (por se tratar de material delicado). As amostras foram lavadas em água destilada de 5 a 10 vezes, até a remoção dos pigmentos e em seguida, transferidas para solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 20%, até a clarificação total.

O material foi lavado em água destilada e desidratado em série etanólica crescente de 70%, 80%, 90% e 100%, por 1h em cada solução. As folhas diafanizadas foram coradas com Safranina 1% alcoólica. O excesso de corante foi retirado com álcool 100%, até a diferenciação da tonalidade desejada. Seguiu-se após o tratamento com acetato de butíla-etanol 1:1 e a fixação da coloração com acetato de butíla puro. As folhas foram montadas entre placas de vidro de 3 mm de espessura, utilizando-se como meio de montagem o verniz vitral incolor (PAIVA *et al.*, 2006) da GP Arts ®. As placas foram secas em temperatura ambiente e quando necessário foi adicionado verniz vitral entre as mesmas para repor a retração do meio de montagem e diminuir a formação de bolhas.

As folhas montadas foram fotografadas em diferentes níveis de detalhamento utilizando uma câmera digital Sony Cyber Shot, modelo W-55 com resolução de 12 Megapixels. O registro das imagens das redes menores de nervuras e aréolas será obtido no fotomicroscópio LEICA DM 500. Todas as imagens foram tratadas digitalmente, através do programa computacional Photoshop 8.0.1 (Adobe Systems Corp. 2010). Para a análise e descrição dos padrões de venação foliar foram utilizados os tipos básicos definidos por Hickey (1974). Para a análise e descrição dos padrões de venação foliar foram utilizados o Leaf Architecture (1999) e Ellis *et al.* (2009), e os termos de acordo com Hickey (1974).

Caracterização anatômica da folha

Para a caracterização anatômica foram utilizados fragmentos da região mediana do pecíolo e da lâmina foliar (bordo, entre - nervura e nervura central) de três folhas totalmente expandidas, retiradas de ramos adultos de três indivíduos analisados, por espécie coletada.

As amostras foram fixadas em FAA₇₀ (Formol, ácido acético e álcool etílico 70%) por um período de 24h e posteriormente armazenadas em álcool etílico 70%. A confecção das lâminas histológicas foi realizada a partir de secções transversais e paradérmicas da lâmina foliar e secções transversais do pecíolo, obtidas a mão livre. As secções foram clarificadas com hipoclorito de sódio 6%, lavadas em água destilada e em seguida submetidas à dupla coloração com fucsina básica 0,1% e azul de Astra 0,3% na proporção 1:3, desidratadas em série etílica, diafanizadas em acetato de butila e montadas em resina sintética (PAIVA *et al.*, 2006).

Investigação histoquímica

As classes de metabólitos investigadas encontram-se descritas na Tabela 1. Secções controle foram realizadas simultaneamente, de acordo com a metodologia descrita nos protocolos.

Quadro 1. Testes histoquímicos aplicados para detectar as principais classes de metabólitos presentes nos tricomas *Marsypianthes montana* Benth.

	Grupos de metabólitos	Reação positiva	Reagente
<i>Lipídios</i>	Lipídios totais	vermelha	Sudan IV (Brundett <i>et al.</i> , 1991)
		laranja	Sudan III (Johansen, 1940) Steinmetz (Costa, 2001)
		Cinza a negro	Sudan black B (Jensen, 1962)
	Lipídios neutros e ácidos	Azul (ácidos) rosa (neutros)	Sulfado azul do Nilo (Cain, 1974)
<i>Terpenos</i>	Óleos essenciais e óleos- resinas	Azul (essência), vermelha (resina), violeta (essência+ resina)	Reagente de Nadi (David and Carde, 1964).
<i>Compostos Fenólicos</i>	Compostos fenólicos gerais	castanho- avermelhada	Dicromato de potássio (Gabe, 1968). Steinmetz (Costa, 2001).
		verde, purpura, azul, negro	Cloreto férrico III (Johansen, 1940)
<i>Proteínas</i>		Azul	Azul brilhante de coomassie (Fisher, 1968).

As observações e documentações fotográficas do material foram realizadas em microscópio de luz modelo LEICA DM 500, os desenhos em fotomicroscópio modelo ZEISS-AXIOSKOP acoplado à câmara clara. As escalas que acompanham as ilustrações foram obtidas nas mesmas condições ópticas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização morfológica de *Marsypianthes montana* Benth.

Erva 5–40 cm alt., perene, cespitosa (Fig. 2A), com xilopódio; caule 1–2 mm diâm. hirsuto, ramos tetragonares, sulcados longitudinalmente, densamente hirsutos. Folha cartácea, séssil a subséssil, densamente hirsuta (Fig. 2E); lâmina foliar 1,5–7 × 0,5–2,8 cm, elíptica e oboval, densamente hirsuta em ambas as faces, ápice agudo e obtuso (2E; 3A), presença de hidatódios (3B); base cuneada, decurrente, simétrica; margem irregularmente serreada, presença de hidatódios (3B), vináceas na face abaxial das folhas jovens e nas extremidades dos ramos (2E). O padrão de venação da lâmina foliar de *M. montana* é craspedódroma (as nervuras secundárias chegam às margens das folhas). A nervura central é proeminente em toda a extensão da folha, afinando-se em direção ao ápice. As nervuras secundárias que dela partem são ascendentes, opostas dísticas na base e opostas alternadas em direção ao ápice, em número 8 a dez (2A). A rede de nervuras terciárias é do tipo perpendicular, subdividida por veias quaternárias e de quinta grandeza, formando aréolas pentagonais com vênulas que se ramificam até duas vezes, dicotômicas (Fig. 2C).

Monocásio subgloboso, 1,2–2,2 cm de diâm., 10–16 flores (Fig. 2B) Corola lilás, tubulosa, tubo 8–10 × 0,3–2 mm, lobos, hirsutos externamente; filetes roxos, parte livre dos filetes 1–2,5 mm compr., lilás, hirsutos, anteras roxo-escuras (Fig. 2C-D).

A morfologia das folhas sempre desempenhou papel importante na sistemática vegetal como um todo, particularmente para caracterizar e identificar *taxa* onde a variação nas estruturas florais não é informativa (STACE, 1989; JUDD *et al.*, 2009).

De acordo com Hickey (1979), a arquitetura das folhas é pouco explorada, embora seja importante por revelar sua histologia, função, origem e homologia, por meio da análise do padrão de nervação, da configuração da borda, do ápice e margem, da forma foliar e da posição de glândulas.

A compreensão da arquitetura das folhas, através da diafanização¹, pode fornecer importantes subsídios taxonômicos, correntemente utilizados por diversos autores (DICKINSON, 1987; HICKEY; TAYLOR, 1991; FONSECA *et al.* 2007).

Hidatódios marginais estão presentes na lâmina foliar de *M. montana*. Existem poucos registros de hidatódios para representantes de Lamiaceae. Dentre os inúmeros trabalhos, anatômicos já realizados para a família, ressalta-se a sua ocorrência em *Coleus blumei* (FICHER, 1985) e em que quatro representantes de *Hypenia* (*H. glauca*, *H. durifolia*, *H. reticulata* e *H. crispata*), dentre treze espécies investigadas (FARIA, 2008).



Figura 2. Aspecto geral da morfologia externa de *M. montana* Benth. A. Hábito; B. inflorescência; C. Detalhe do monocásio; D. detalhe das flores; E. folhas face adaxial e abaxial respectivamente. Fotos: R.V. F, 2015.

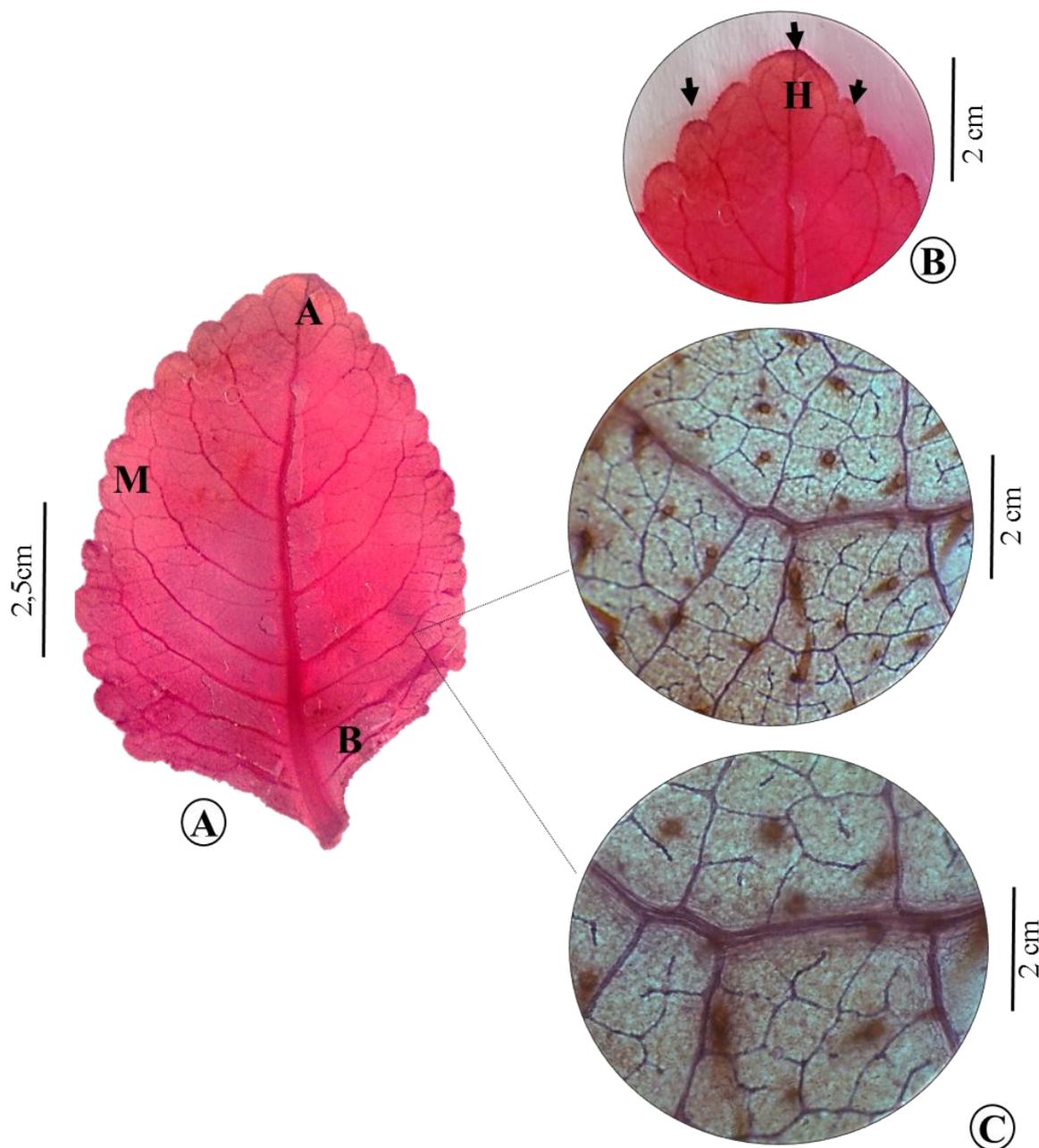


Figura 3. Aspectos da morfologia e venação foliar de *M. montana* Benth. A. aspecto geral da folha; B. detalhe do ápice, e margem evidenciando hidatódios; C. detalhe da superfície adaxial, evidenciando tricomas tectores; D. detalhe da aréola, com vênulas dicotômicas.

¹ A diafanização consiste em tratar amostras biológicas de modo a torná-las semitransparentes. É muito utilizada no estudo da venação, epidermes, estruturas reprodutoras, etc. Existem diferentes metodologias para a diafanização de folhas que variam enormemente, desde os reagentes utilizados para alveamento (misturas que degradam diversos compostos, como por exemplo pigmentos, entre outros), à duração da etapa de desidratação (retirada da água dos tecidos, empregando-se, em geral, soluções alcoólicas crescentes), e com relação ao meio de montagem (KRAUS; ARDUIN, 1997).

A folha *M. montana* é anfihipoestomática, com estômatos do tipo diacíticos (Fig. 4C-D), localizando-se levemente elevados em relação às demais células epidérmicas (Fig. 4B). A

a epiderme é unisseriada com parede periclinal externa lisa e mais espessa do que a interna, revestida por uma cutícula lipídica delgada (Fig. 4A, seta). As células epidérmicas são amplas, justapostas, de formato retangular e tamanhos variados em ambas as faces (Fig. 4A), sendo que as da face abaxial são menores. A lâmina foliar em vista frontal apresenta epiderme com parede anticlinal ondulada na face adaxial (Fig. 4c) e sinuosa na abaxial (Fig. 4D).

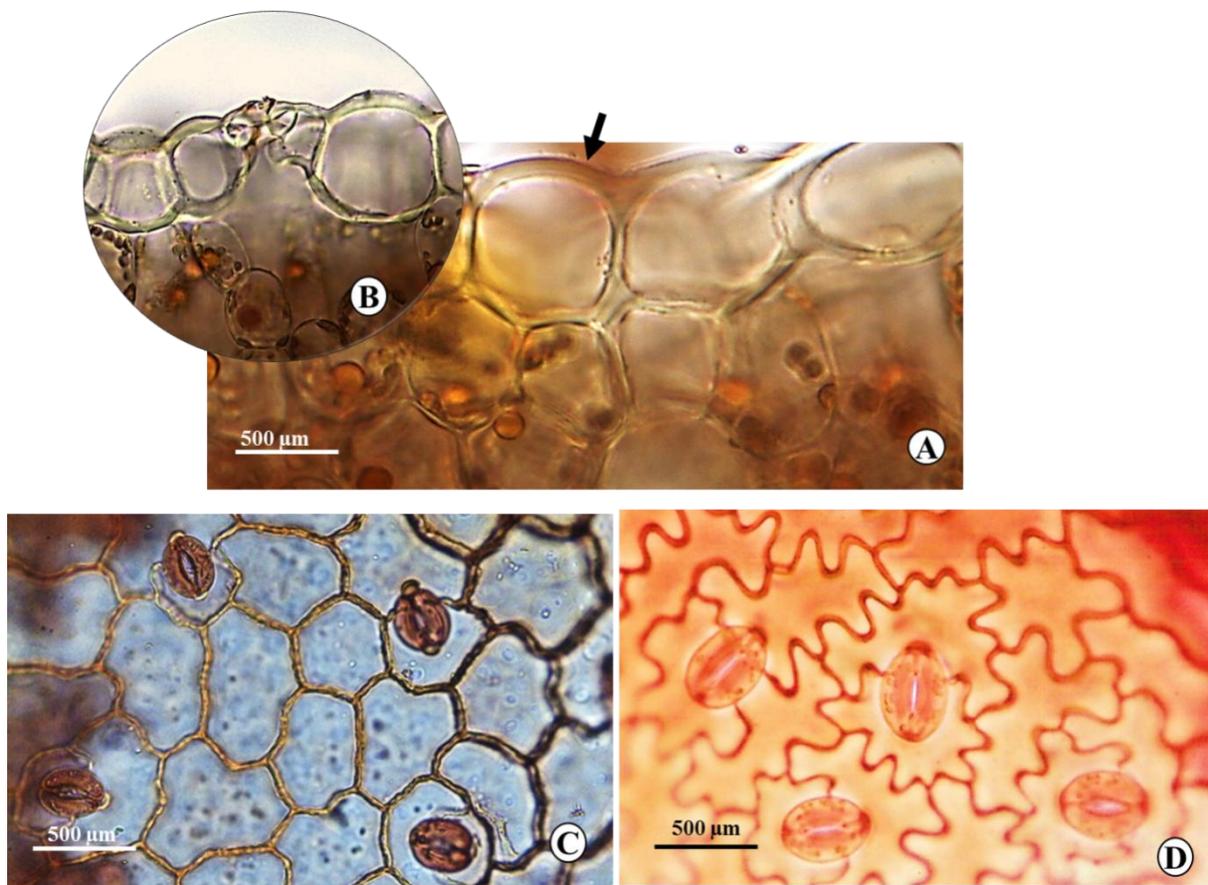


Figura 4. Seção transversal e paradérmicas da lâmina foliar de *M. montana* Beth. A. região do mesofilo, evidenciando, epiderme (ponta de seta); B. detalhe dos estômatos; C. epiderme evidenciando parede anticlinal ondulada; D. epiderme evidenciando parede anticlinal sinuosas.

Conforme citado por Metcalfe e Chalk (1979), é comum entre as espécies de Lamiaceae, folhas com características anfiestomáticas. Sendo relatada em vários

estudos como por exemplo: Ferreira (2009), Furlan *et al.* (2012), Silva (2012), Faria (2008, 2014), Oliveira *et al.* (2013).

M. montana apresenta tanto tricomas tectores simples multicelulares (2 a mais células, Fig. 5 A-D) quanto tricomas glandulares do tipo peltado (Fig. 5E) e capitado (Fig. 5 F-H). Estas estruturas epidérmicas são caracteres comuns para Lamiaceae, sendo que os tricomas tectores podem variar de simples a ramificados, e os glandulares do tipo peltado e/ou capitado, geralmente variando quanto ao número de células que compõem a cabeça secretora (WERKER, 2000, FARIA, 2014).

A presença de tricomas glandulares é um aspecto constitutivo e diagnóstico para muitas espécies de plantas pertencentes a diferentes famílias (JUDD *et al.*, 2009).

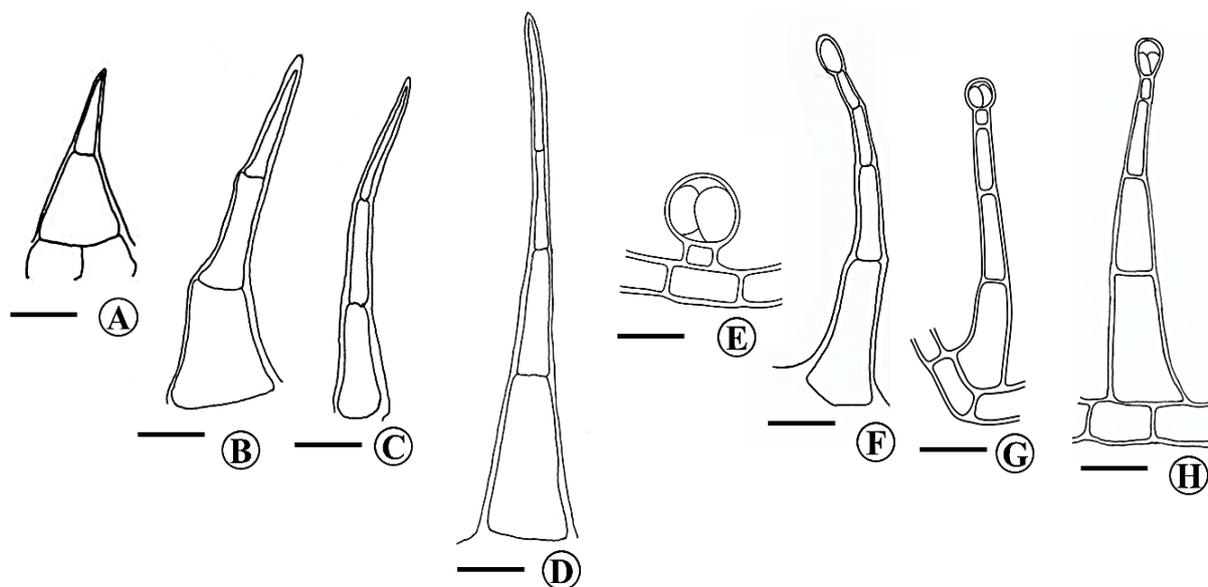


Figura 5. Ilustração. Tricomas tectores e glandulares na lâmina foliar *Marsypianthes montana* Benth. Adaptado: Faria, 2014.

Navarro e El Oualidi (2000), os tricomas glandulares representam uma importante característica taxonômica para as espécies de Lamiaceae, por serem de fácil observação e análise, também representam uma ferramenta para a caracterização farmacognóstico de vegetais.

Bosabalidis (1990), Ascensão e Pais (1998), Corsi e Bottega (1999), Navarro e El Oualidi (2000), Gersbach (2002) e Martins e Pastori (2004), dentre outros, compõem uma ampla gama de estudos relacionados com a estruturação dos

tricomas, em especial os glandulares, nas espécies de Lamiaceae (FERREIRA, 2009; FARIA, 2014).

O mesofilo é heterogêneo, dorsiventral, com uma a duas camadas de parênquima paliçádico e cerca de três a quatro camadas de parênquima lacunoso, com amplos espaços intercelulares (Fig. 6A), observa-se gotículas lipídicas por toda sua extensão (Fig. 6B).

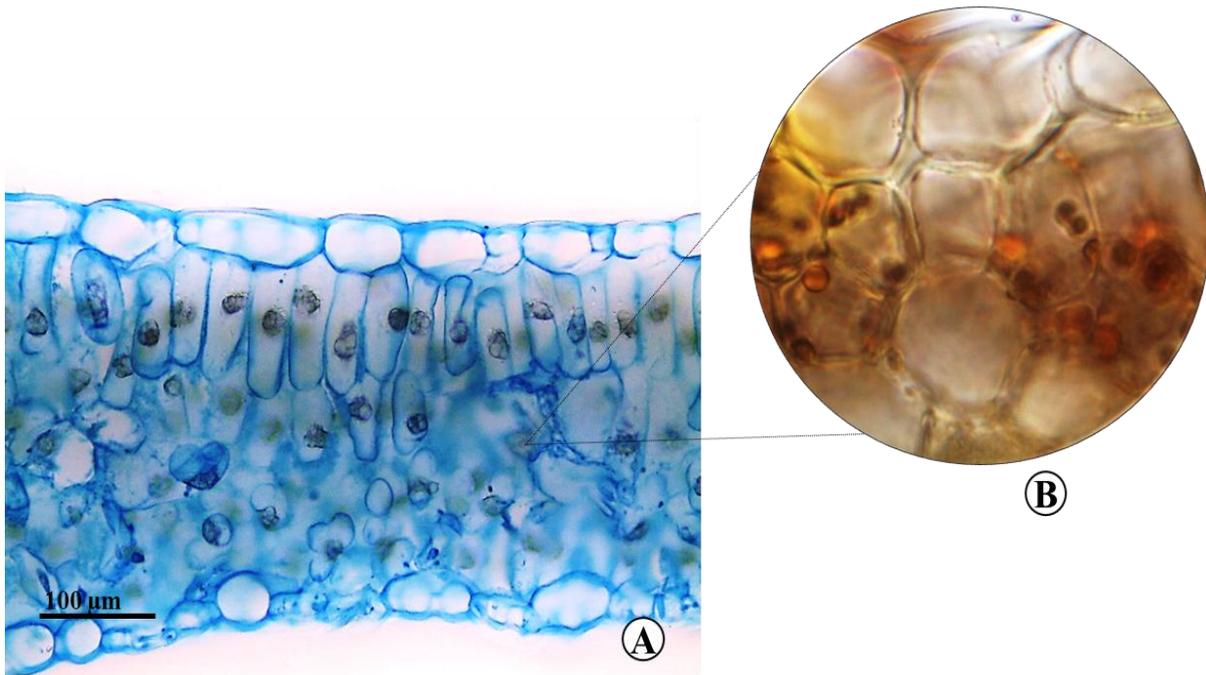


Figura 6. Secções transversais do mesofilo de *M. montana* Benth. A. Aspecto geral; B. detalhe das gotículas lipídicas.

A nervura principal possui formato côncavo-convexo (Fig. 7A), com células epidérmicas de tamanho menor nesta região da lâmina foliar, densamente pilosa com tricomas tectores entremeados por glandulares (Fig. 7B). Subjacentes à epiderme da face adaxial (Fig. 7A, seta) encontram-se duas a quatro camadas de colênquima e apenas duas camadas à face abaxial (Fig.7A, seta). O tecido vascular é colateral e está organizado em forma de arco aberto.

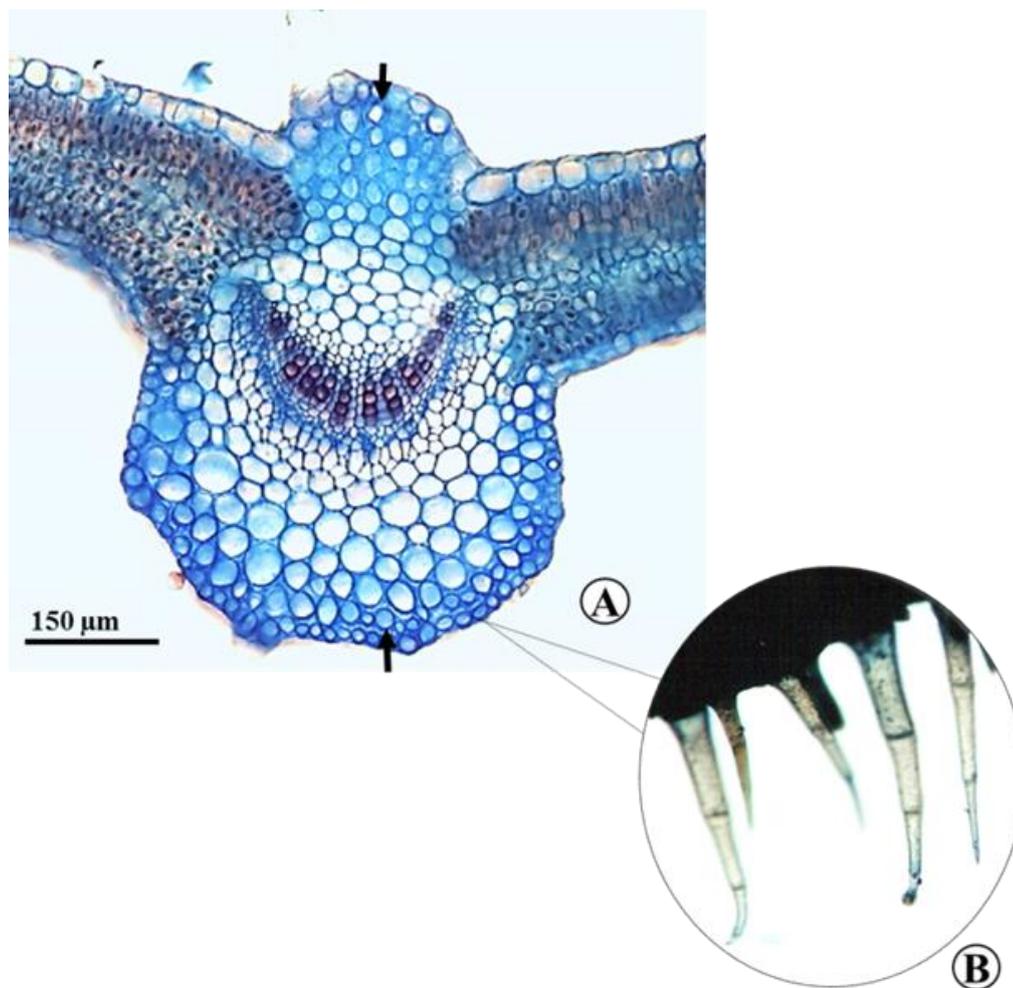


Figura 7. Secções transversais da nervura principal de *M. montana* Benth. A. aspecto geral, evidenciando contorno, côncavo-convexo; B. detalhe dos tricomas na superfície abaxial.

A avaliação morfológica e anatômica de *M. montana* revelou elementos universais da família lamiaceae, como folhas anfiestomaticas, estomatos diacíticos, mesofilo dorsventral, e inumeros tipos de tricomas tectores e glandulres, bem como característica distintiva, importante para auxiliar na diagnose da espécie como a presença de Hidatodios.

Vale ressaltar a impotancia destas estruturas, pouco relatadas em estudos anatomicos.

A função do hidatódio é a exsudação de um líquido de composição variável, desde água pura a solutos orgânicos e inorgânicos, por meio de gotejamento dos poros aquíferos, fenômeno chamado gutação (FAHN, 1979; EVERT, 2006). Tal processo se dá quando em condições propícias (umidade elevada do solo e do ar), o excesso de água gerado pelo balanço positivo de entrada de água pela raiz e

redução ou ausência de transpiração foliar é eliminado pelos hidatódios (FAHN, 1979, 2000).

As características observadas de modo geral são muito semelhantes àquelas descritas para diferentes espécies de Lamiaceae por exemplo: (COSTA *et al.*, 2009), para *Ocimum gratissimum*, e de Duarte e Lopes (2007), para *Plectranthus neochilus*, para *Hyptis* Jacq. (Ferreira, 2009) e *Hypenia* spp. (FARIA, 2008 e 2014) entre outros.

Histoquímica

As principais substâncias químicas produzidas pelos tricomas glandulares observadas neste estudo foram compostos fenólicos (Fig. 8A – B), compostos lipofílicos (Fig. C-E- H) e terpenoides (óleos essenciais, Fig. 8F-G).

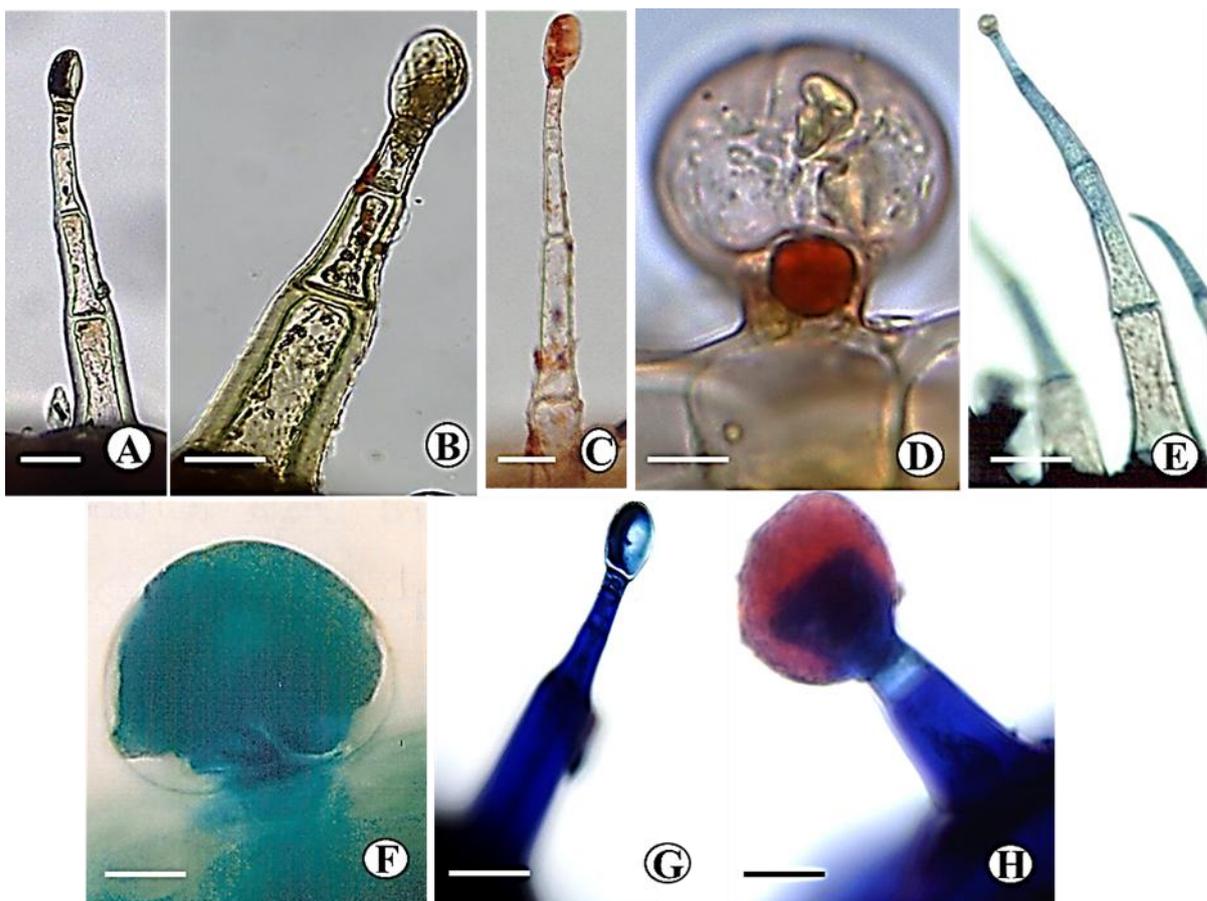


Figura 8. Testes histoquímicos da lamina foliar de *M. montana* Benth. A. reação positiva para compostos fenólicos, sulfato ferroso (A), dicromato de potássio (B), reação positiva para compostos lipílicos, sudan III (C), sudan IV (D) e sudan Black (E), lipídios neutros e ácidos, sulfato azul de Nilo (H).

Os compostos fenólicos estão associados às estratégias de defesa primária das plantas (SINGLETON; ROSSI, 1965; BUCHANAM *et al.*, 2000; BOZAN *et al.*, 2008) e atividades antibacterianas e antivirais (KIMURA *et al.*, 1984).

De acordo com Fahn (2000), dentre as substâncias lipofílicas secretadas pelas plantas estão os lipídios, terpenos, sendo que óleos essenciais possuem grande variedade de terpenos.

Eschrich (1995) afirma que os óleos voláteis, geralmente, são mono e sesquiterpenos.

Os componentes químicos dos óleos essenciais apresentam particularidades importantes para a farmacologia, devido aos efeitos fisiológicos que provocam. São importantes, também, para a produção de essências, utilizadas na indústria de alimentos, perfumaria e cosméticos.

Os óleos voláteis, segundo Castro e Machado (2003) podem atrair agentes polinizadores ou, às vezes, podem repelir insetos por ação inseticida e dissuasiva alimentar, reduzindo a herbívoros. De acordo com alguns autores a composição dos óleos essenciais pode ser importante como subsídio para a quimiotaxonomia (SILVIA *et al.*, 2011, FARIA *et al.*, 2012 e HASHIMOTO *et al.*, 2014).

CONCLUSÃO

Caracteres anatômicos de valor diagnóstico em *M. montana* foram registrados no presente estudo, em especial a presença de hidatódio, descrito pela primeira vez para o gênero. Além disso, foram encontrados caracteres ordinários à família Lamiaceae como mesofilo dorsiventral, inúmeros tipos tricomas tectores multicelulares e glândulas do tipo capitado e peltado; estômatos diacíticos.

Estas informações são relevantes, pois não existe nenhum trabalho na literatura referente a estudos anatômicos do gênero *Marsypianthes* e suas espécies, podendo assim estes dados auxiliar em futuras identificações das espécies, contribuindo para o controle de qualidade das mesmas, uma vez que a planta em questão tem grande potencial de uso medicinal.

Vale destacar a importância de se aprofundar na caracterização da epiderme e dos tricomas presentes em *M. montana*, com estudos micromorfológicos

(microscopia de varredura), pois alguns aspectos importantes não conseguimos visualizar apenas com as técnicas anatômicas tradicionais

REFERÊNCIAS

ASCENSÃO L.; PAIS, M.S. The leaf capitate trichomes of *Leonotis leonurus*: histochemistry, ultrastructure and secretion. *Ann. Bot.*, London, v. 81, n. 2, p. 263-271, 1998.

BALBACH, A. A Flor a Nacional na Medicina Doméstica. vol. II, 23 Ed., São Paulo: Editora MVP, 1988.

BASÍLIO, I. J. L. D. et al. Estudo farmacobotânico comparativo de folhas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). *Acta Farmacêuticas Bonaerense*, v.25, n. 4, p.518-525, 2006.

BOSABALIDIS, A.M. Glandular trichomes in *Satureja thymbra* leaves. *Ann. Bot.*, London, v. 65, p. 71-78, 1990.

BOZAN, B.; TOSUN, G.; ÖZCAN, D. 2008. Study of polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity. *Food Chemistry*, 109:426-430, 2008.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade do cerrado e pantanal: áreas e ações prioritárias para conservação. Brasília: MMA, 2007a. 540 p., il. Color. (Série Biodiversidade, 17). Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>. Acesso 28 out. 2015.

CARPANO SM, CASTRO MT, SPEGAZZINI ED. Caracterización morfoanatômica comparativa entre *Aloe vera* (L.) Burm. F., *Aloe arborescens* Mill., *Aloe saponaria* Haw. y *Aloe ciliaris* Haw. (Aloeaceae). *Rev Bras Farmacogn* 19: 269-275, 2009.

CARVALHO, L. M. de. Qualidade em plantas medicinais / Luciana Marques de Carvalho, Jennifer Anne Martins da Costa, Marcelo Augusto Gutierrez Carnellosi – Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2010. 54 p. (Documentos / Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1517-1329; 162). Disponível em http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_/doc_162.pd. 2010.

CASTRO, M. M.; MACHADO, S. R. Células e tecidos secretores. In: APPEZZATO da GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Editoras). *Anatomia Vegetal*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2003.

CORSI, G.; BOTTEGA, S. Glandular hairs of *Salvia officinalis*: New data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. *Ann. Bot.*, London v. 8, p. 657-664, 1999.

COSTA, A.F. *Farmacognosia*. Fundação Calouste-Gulbenkian, Lisboa. 2002.

COSTA, H.N.R.; DOS-SANTOS, M.C.; ALCÂNTARA, A.F.C.; SILVA, M.C.; FRANÇA, R.C.; PILÓ-VELOSO, D. Constituintes químicos e atividade antiedematogênica de *Peltodon radicans* (Lamiaceae). *Química Nova*, v.31, p.744-750, 2008.

DUARTE, M. R.; LOPES, J. F. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17, p. 549-556, 2007.

ESCHRICH, W. *Funktionelle Pflanzenanatomie*. Springer-Berlin, p.393, 1995.

EVERT, R.F. *Esau's plant anatomy: meristems, cells and tissues of plant body: their structure, function and development*. John Wiley & Sons, New Jersey, p.176. 2006.

FAHN, A. *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London. 1979.

FAHN, A. Structure and function of secretory cells. *Advances in Botanical Research*, 2000.

FARIA, M.T.; COSTA, D.P.; COSTA, E.; VILELA, C.; GRACIANO-RIBEIRO, D., FERREIRA, H.D.; SANTOS, S.C.; SERAPHIN, J.C.; FERRI, P.H. Chemotaxonomic Markers in Essential Oils of *Hypenia* (Mart. ex Benth.) R. Harley. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 23: 1844-1852. 2012.

FARIA, M.T. *Hypenia* (Marth. ex Benth.) Ocorrentes em Goiás e Distrito Feral: Taxonomia, Anatomia e Fitoquímica. Tese de doutorado, programa de pós-graduação em Botânica- Universidade de Brasília, 2014.

FARIA, M.T. Morfologia, anatomia, histoquímica e fitoquímica de espécies do gênero *Hypenia* (Mart. ex Benth) R. Harley-Lamiaceae ocorrentes no Cerrado de Goiás. Dissertação de Mestrado, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade federal de Goiás, Goiânia, Goiás, p.205, 2008.

FERREIRA, H.D. Morfologia, taxonomia, Filogenia, Anatomia Foliar e fitoquímicas de Espécies do Gênero *Hyptis* Jacq. (Labiatae) ocorrentes em Goiás e Tocantins. Tese de Doutorado, Instituto De Ciências Biológicas, Universidade Federal Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. 2009.

FIUZA, T. S. *et al.* Estudos das folhas e caule de *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) Harley, Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 2, p.192-200, 2010.

FURLAN, M. R.; AOYAMA, E.M.; INDRIUNAS, MAURO, A. C. Anatomia Foliar de *Ocimum basilicum* L. "Genovese" (Lamiaceae). *Revista Fitos Eletrônica*, [S.l.], v. 7, n. 04, p. 231-235, out. 2013. ISSN 2446-4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/164/162>>. Acesso em: 28 out. 2015.

GABE, M. *Techniques histologiques*. Masson e Cie, Paris, p. 1113,1968.

GERSBACH, P.V. The essential oil secretory structure of *Prostanthera ovalifolia* (Lamiaceae). *Ann. Bot.*, London, v. 89, p. 255-260, 2002.

GOMES, R.S.D.L.; OLIVEIRA, V.C.; JÁCOME, R.L.R.P.; PINTO, J.E.B.P., LAMEIRA, O.A., BARROS, A.M.D. Estudo morfoanatômico comparativo entre a poaia (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes - Rubiaceae) obtida da região Amazônica (habitat original) e proveniente de processo biotecnológico submetida a diferentes tratamentos de interceptação da radiação solar. *Ver. Bras. Farmacogn.*, v. 19, p. 276-283, 2009.

HARLEY, R. M.; PASTORE, J.F.B. A generic revision and new combinations in the Hyptidinae (Lamiaceae), based on molecular and morphological evidence. *Phytotaxa*, v. 58, p. 1-55. 2012.

HARLEY, R.M.; ATKINS, S.; BUDANTSEV, A.; CANTINO, P.H.; CONN, B.; GRAYER, R.; HARLEY, M.M.; KOK, R.; KRESTOVSKAJA, T.; MORALES, A.; PATON, A.J.; RYDING, O.; UPSON, T. Labiatae. In: Kadereit, J.W. (ed.). The families and genera of vascular plants (Kubitzki, K.: ed.), vol. 7. Pp. 167-275. 2004.

HASHIMOTO, M. Y., COSTA, D. P., FARIA, M. T., FERREIRA, H. D., SANTOS, S. C., PAULA, J. R., FERRI, P. H. Chemotaxonomy of *Marsypianthes* Mart. ex Benth. based on essential oil variability. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 25(8), 1504-1511, 2014.

HASHIMOTO, M.Y. Estudos taxonômicos do gênero *Marsypianthes* Marth. ex Benth. (Hyptidinae, Lamiaceae) no Brasil. 2014.

HICKEY, L.J. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves. In: Metcalfe CR, Chalk L (Ed.). *Anatomy of the Dicotyledons*. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press, 1979.

HICKEY, L.J. Clasificación de la arquitectura de las hojas de dicotiledoneas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, v.16, p. 1-26, 1974.

HICKEY, L.J. Classification of the architecture of dicotyledonous leaves. *American Journal of Botany*, v.60, p. 17-33. 1973.

JENSEN, W.A. *Botanical Histochemistry: Principles and Practice*. W. H. Freeman e Co., San Francisco. 1962.

JOHANSEN, D.A. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York. 1940.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. DONOGHUE, M.G. *Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético*. Porto Alegre, Artmed. 3^a ed. p. 492-494, 2009.

KIMURA, Y., OKUDA, H., OKUDA, T., HATANO, T., AGATA, I., ARICHI, S. Studies on the activities of tannins and related compounds. V. Inhibitory effects on lipid peroxidation in mitochondria and microsomes of liver. *Planta Medica*, Stuttgart, v.50, n.6, p.473-477, 1984.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Rio de Janeiro: EDUR, p.198, 1997.

LEAF ARCHITECTURE WORKING GROUP. Manual of leaf Architecture - Morphological description and categorization of dicotyledonous and net veined monocotyledonous angiosperms. Department of Paleobiology, Smithsonian Institution, Washington, DC, p.65, 1999.

LIMA, J. F. Anatomia foliar de *Ocimum gratissimum* L., com ênfase na caracterização dos tricomas secretores e conteúdo do óleo essencial. / Jamile Fernandes Lima. Cruz das Almas – Ba. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum, 2008.

LUSA, M. G. Caracterização morfoanatômica e histoquímica de *Cuphea cartaginenses* (Jacq.) J.F. MACBR. (Lythraceae) e avaliação em ambientes hidrofítico e mesofítico. 62 f. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

MACE, M.E.; HOWELL, C.R. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23: 99-108, 1974.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C; VEIGA- JUNIOR, V. F. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAGALHARES, A. L. Avaliação do potencial anti-inflamatório de *Marsypianthes chamaedrys* (Vahl) kuntz (Lamiaceae) frente ao veneno de *Bothrops atrox*. Universidade Federal do Amazonas programa multiinstitucional de pós-graduação em biotecnologia, Manaus, 2010. <http://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/2240/1/Dissertacao%20Final%20Alcineide%20Magalhaes%202010.pdf>. Acesso em: 28 out. 2015.

MALLO, A. C.; XIFREDA, C. C. Sobre das espécies de *Marsypianthes* (Lamiaceae, Ocimeae) del Noreste Argentino. *Darwiniana*, v. 2, n. 42, p. 201-206, 2004.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: Antioxidantes naturais da família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 10, n. 2, p. 96-103, 2007.

MARTINS, M.B.G.; PASTORI, A.P. Anatomia foliar com ênfase nos tricomas secretores e análise cromatográfica de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae). *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v. 6, n. 2, p. 77-82, 2004.

MAURO, C. *et al.* Estudo anatômico comparado de órgãos vegetativos de boldo miúdo, *Plectranthus ornatos* Codd. e malvariço, *Plectranthus amboinicus* (Lour.)

Spreng. –Lamiaceae. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 4, p.608-613, 2008.

MENEZES, F. S.; BORSATTO, A. S.; PEREIRA, N. A.; MATOS, F. J. A.; KAPLAN, M. A. C. Chemical constituents from *Marsypianthes chamaedrys*. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 70, n. 4, p. 7616, 1998a.

MENEZES, F.S.; SABOIA, A.B.; PEREIRA, N.A.; MATOS, F.J.A.; BORSATTO, A.S.; KAPLAN, M.A.C. Chemical constituents from *Marsypianthes chamaedrys*. Anais Academia Brasileira de Ciências. 70: 4. 761-761. 1998.

MENEZES, F.S.; SILVA, C.S.; PEREIRA, N.A.; MATOS, F.J.A.; BORSATTO, A.S.; KAPLAN, M.A.C. Molluscicidal constituents of *Marsypianthes chamaedrys*. Phytotherapy Research. 13: 433-435. 1999.

METCALFE, C. R.; CHALK L. Anatomy of the dicotyledons. vol. 1. 2. ed. Clarendon Press. Oxford, 1979.

NAVARRO, T.; EL OUALIDI, J. Trichome morphology in *Teucrium* L. (Labiatae) - a taxonomic review. An. Jard. Bot. Madr., Madrid, v. 57, n. 2, p. 277-297, 2000.

OLIVEIRA, A.K.M.; OLIVEIRA, N.A.; RESENDE, U.M.; MARTINS, P.F.R.B. Ethnobotany and traditional medicine of the inhabitants of the Patanal Negro subregion and the raizeiros of Miranda and Aquidauna, Mato Grosso do Sul, Brazil. Braz. J. Biol. 71 (Suppl. 1): 283-9, 2011.

OLIVEIRA, A.B.; MENDONÇA, M.S.; MEIRA, M.S.A.R. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Scutellaria agrestis*, uma planta medicinal cultivada por populações ribeirinhas da Amazônia Brasileira Rev. bras. Farmacogn., 23(3): 386-397, 2013.

PAGOTTO, T.C.S.; CAMILOTTI, D.C.; LONGO, J. M.; SOUZA, P. R. Bioma Cerrado e área estudada. Pp.18-30 In: Pagotto, T.C.P., Souza, P.R (Eds.). Biodiversidade do Complexo Aporé-Sucuriú - Subsídios à conservação e manejo do bioma Cerrado. Campo Grande, Ed. UFMS, 2006.

PASTORE, J.F.B.; HARLEY, R.M.; FORREST, F.; PATON, A.J. & VAN DEN BERG, C. Phylogeny of the subtribe *Hyptidinae* (Lamiaceae tribe Ocimeae) as inferred from nuclear and plastid DNA. Taxon 60: 1317. 2011.

PEREIRA, B.M.R.; GONÇALVES, L.C.; PEREIRA, N.A. Abordagem farmacológica de plantas recomendadas pela medicina folclórica como antiofídicas III–Atividade antiedematogênica. Revista Brasileira de Farmácia, v. 73, n.4, p. 8586, 1992.

RUPPELT, B. M.; GONÇALVES, L.C.; PEREIRA, N. A. Abordagem farmacológica de plantas recomendadas pela medicina folclórica como antiofídicas II Bloqueio da atividade na permeabilidade capilar e na letalidade do veneno de jararaca (*Bothrops jararaca*). Revista Brasileira de Farmácia, v. 71, p.57-58, 1990.

RUPPELT, B. M.; PEREIRA, E. F. R.; GONÇALVES, L. C.; PEREIRA, N. A. Pharmacological

screening of plants recommended by folk medicine as antivenom–I. Analgesic and antiinflammatory activities. Memórias de Instituto Oswaldo Cruz, v. 86, p. 203-205, 1991.

SEVERIANO, E.C.; OLIVEIRA, G.C.; DIAS JÚNIOR, M.S.; COSTA, K.A.P.; CASTRO, M.B.; MAGALHÃES, E.N. Potencial de descompactação de um Argissolo promovido pelo capim-tifton 85. R. Bras. Eng. Agríc. Amb., 14:39-45, 2010.

SILVA, J. G.; FARIA, M.T.; OLIVEIRA, E.R.; REZENDE, M. H.; RIBEIRO, D.G.; RIBEIRO, FERREIRA, H. D.; S. C. SANTOS, SERAPHIN, J.C.; FERRI, P.H. 2011. Chemotaxonomic significance of volatile constituents in *Hypenia* (Mart. ex Benth.) R. Harley (Lamiaceae). Journal Brazilian Chemical Society, v. 22: 955-960, 2011.

SHOBE, W.R.; LERSTEN, N. R. A technique for clearing and staining Gymnosperm leaves. Botanical Gazette ,128(2): 150-152, 1967.

STACE, C.A. Plant taxonomy and biosystematics. 2nd ed., Cambridge, Cambridge University Press., 1989.

TYLER, V. E. The honest herbal, 3rd ed.; Pharmaceutical Products Press: Binghamton, NY, 1993.

WERKER, E. Trichome diversity and development. *In* Advances in botanical research: plant trichomes. (D.L., Hallahan & F.C. Gray, eds.) Academic Press, San Diego, v.31, p.1-35, 2000

ESTUDO ETNOBOTÂNICO DAS PLANTAS UTILIZADAS COMO MEDICINAIS NA CIDADE DE GOIÂNIA, GO, BRASIL.

Patrícia da Silva Barros¹

Maria Tereza Faria²

INTRODUÇÃO

Desde o início da civilização, o homem faz uso das plantas, pela necessidade de sua sobrevivência. A utilização das plantas como medicamento é muito antiga e data dos primórdios da civilização. Na China, há registros de cultivo de plantas medicinais que datam de 3000 a. C.; os egípcios, assírios e hebreus também as cultivavam em 2300 a. C. (CARNEIRO, 2009).

Na história do Brasil, há registros de que os primeiros médicos portugueses que vieram para cá, diante da escassez, na colônia, de remédios manipulados em laboratório na Europa, muito cedo foram obrigados a perceber a importância dos remédios de origem vegetal utilizados pelos povos indígenas (LORENZI; MATOS, 2002; RODRIQUES; AMARAL, 2006).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) cerca de 80% da população mundial fez o uso de algum tipo de erva na busca de alívio de alguma sintomatologia dolorosa ou desagradável. Desse total, pelo menos 30% deu-se por indicação médica (OMS, 2002).

A OMS reconhece a importância do uso tradicional, mas para a utilização de uma planta com finalidade terapêutica, em nível de saúde pública, é fundamental o estabelecimento de sua segurança, eficácia e garantia de qualidade nas preparações (LAPA *et al*, 2003).

¹Especialista em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO, Brasil.

²Professora Titular do curso de Ciências Biológicas – Licenciatura, Faculdade Araguaia – GO, Brasil. Professora orientadora do Curso de Especialização em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO, Brasil

As plantas medicinais têm um papel muito importante na questão socioeconômica, tanto para as populações que vivem no meio rural, como as que vivem no meio urbano. É comum em várias famílias brasileiras principalmente de baixo poder aquisitivo, o cultivo de alguma planta medicinal. Essas são usadas, geralmente, por crianças e idosos, pois o uso de plantas medicinais, na maioria das vezes nativas da sua região, ou cultivadas em seu quintal, podem reduzir os gastos com medicamentos sintéticos (CALIXTO; RIBEIRO, 2004).

O conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais é geralmente transmitido oralmente, de geração a geração, sendo até hoje comum a utilização para fim terapêutico entre as populações. Tais saberes fundem-se a novas descobertas científicas e somam-se às práticas de saúde preconizadas atualmente pelos diversos órgãos mundiais e federais (GONÇALVES, 2009).

Dentre esses saberes a Etnobotânica é a ciência que estuda as interações dinâmicas entre as plantas e o homem; consistindo também na compreensão dos usos e aplicações tradicionais dos vegetais pelas pessoas. Ligada à botânica e à antropologia, é uma ciência interdisciplinar que também engloba conhecimentos farmacológicos, médicos, tecnológicos, ecológicos e linguísticos (AMOROZO, 1996).

Alguns estudos (VIEIRA *et al*, 2004; AMARAL, 2008), afirmam que é urgente a orientação da população no uso correto das plantas medicinais, pois embora algumas plantas sejam consideradas medicinais, estas podem apresentar toxicidade em decorrência à presença de algum princípio ativo ou devido a outros fatores como forma de utilização, tempo de tratamento e preparo.

Embora estudos etnobotânicos já terem sido realizados no estado de Goiás (RIZZO *et al*, 1990; RIZZO *et al*, 1999; MORAIS *et al*, 2005; TRESVENZOL *et al*, 2006; SILVA & SOUZA, 2007; CARNEIRO, 2009), ainda são incipientes.

O valor a respeito do conhecimento que as populações detêm sobre plantas e seus usos têm crescido principalmente após a constatação de que a base empírica desenvolvida por elas ao longo de séculos pode, em muitos casos, ter uma comprovação científica, que capacitaria o alcance destes usos à sociedade industrializada (FARNSWORTH, 1985).

Apesar de muitas plantas serem empregadas com fins medicinais existe pouca documentação científica ou médica a respeito dos seus princípios ativos. (NEWALL *et al*, 2002).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivos realizar um estudo etnobotânico de modo a identificar as plantas medicinais utilizadas pela população do Conjunto Vera Cruz, elaborar e divulgar, por meio de uma cartilha na versão virtual (CD), os resultados obtidos nesse trabalho em escolas desse bairro, fornecendo subsídios para melhor compreensão do uso correto e seguro destas plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Conjunto Vera Cruz, um dos maiores da capital, ocupado a sétima posição, está entre os maiores do município de Goiânia e, hoje, tem um total de 23.038 (vinte três mil e trinta e oito) habitantes. O bairro está localizado na região Oeste da Cidade, às margens da GO 060, saída para Trindade. O conjunto subdivide-se em Vera Cruz I e II, sendo que o último, que é o nosso campo de pesquisa, é dividido em sete etapas, as quais se deram pela cronologia de sua construção.

A coleta de dados etnobotânicos foi realizada por meio da aplicação de um formulário sócio cultural, conforme (APÊNDICE I). O mesmo foi aplicado em 50 casas do Conjunto Vera Cruz II, Goiânia – GO, sendo estas previamente escolhidas por meio de sorteio.

Em cada domicílio foi entrevistado apenas um morador com idade igual ou superior 18 anos. Todos os moradores entrevistados assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (APÊNDICE II).

Ao término da entrevista e na companhia do entrevistado foram coletadas amostras das plantas medicinais cultivadas e informadas pelo entrevistado.

Em seguida procedeu-se a identificação do material coletado a partir da análise da morfologia externa do material e fotos com auxílio de chaves analíticas e bibliografia especializada. Após a desidratação do material botânico coletado foram montadas exsicatas e estas depositadas no Herbário UFG da Universidade Federal de Goiás.

A partir do levantamento botânico e outras informações relevantes para uso consciente e seguro de plantas medicinais como a *Plectranthus amboinicus* (hortelã da folha gorda), *Cymbopogon citratus* (erva cidreira), *Mentha villosa* (hortelazinho), *Sambucus australis* (sabugueiro) e *Vernonia condensata* (boldo), foi elaborada uma cartilha (APÊNDICE III). Essa foi elaborada em formato digital e disponibilizada em CD aos professores de ciências e biologia do Colégio Edmundo Rocha. A função dessa é servir de suporte às suas aulas das disciplinas mencionadas e fazer com que as informações sobre plantas medicinais retornem aos moradores do bairro por meio dos alunos que, em sua maioria, residem naquele bairro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 50 residências visitadas, no Conjunto Vera Cruz II, 80% dos entrevistados eram do sexo feminino e 20% do sexo masculino. A faixa etária dos entrevistados variou entre 18 e 61 anos, sendo que 48% desses tinham idade superior a 51 anos.

Dentre os entrevistados foram citadas várias ocupações como: vendedora (14%), professor (a) (6%), pintor (2%), pedreiro (2%), manicure (2%), garçom (4%), doméstica (2%), diarista (2%), do lar (30%), baclonista (2%), enfermeira (2%), autônomo (6%), aposentado (26%).

Em relação a naturalidade, foi comprovado que os moradores do Conjunto Vera Cruz vieram de vários Estados e cidades do país sendo 26% dos entrevistados disseram ter vindo do estado de Minas Gerais.

Todos os entrevistados disseram fazer uso de plantas medicinais sempre que preciso, principalmente por acreditarem que elas não fazem mal à saúde e disseram que sempre que alguém da família adoce a primeira atitude é recorrer aos chás, xaropes, etc. Os entrevistados obtêm as plantas principalmente pelo cultivo e quem não possui o hábito, obtêm as plantas com vizinhos, parentes ou com vendedores.

Os moradores do Conjunto Vera Cruz II utilizam diversas plantas medicinais que se encontram distribuídas em 28 famílias e 54 espécies.

Tabela 1 - Relação de famílias, nomes científicos, nomes populares, usos e parte utilizada das plantas indicadas pelos moradores do Conjunto Vera Cruz II – Goiânia - GO.

FAMÍLIA	NOME CIENTÍFICO	NOME POPULAR	USO	PARTE UTILIZADA
Acanthaceae	<i>Justicia pectoralis</i> Jacq.	Anador de folha	Dor de cabeça	Folha
Adoxaceae	<i>Sambucus australis</i> Cham. & Schldl.	Sabugueiro	Dores em geral; Febre e gripe; Sarampo	Folha e flor
Alliaceae	<i>Allium cepa</i> L.	Cebola branca	Gripe	Caule
Amaranthaceae	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Erva santa-maria, mastruz e mentruz	Inflamação em geral; osso quebrado; vermes	Folha e flores
Annonaceae	<i>Duguetia furfuracea</i> (St. Hil.) Benth & Hook. F.	Sofre-dos-rins-quem-quer – Araticum	Problemas renais	Folha
	<i>Coriandrum sativum</i> L.	Coentro	Dor na barriga	Folhas
Apiaceae	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Erva doce	Calmante e insônia; depressão; gases e cólica	Folha, flor e semente
	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Funcho	Calmante e insônia; gases; Gripe e resfriado	Folha, semente
	<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Fuss	Salsa	Infecção de útero, limpar os rins	Folha, Raiz

Aristolochiaceae	<i>Aristolochia triangularis</i> Chan.	Guaco	Dores musculares; Gripe e sinusite	Folha
Asphodelaceae	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.	Babosa	Cicatrização; Emagrecimento; Intestino preso; Problema de hemorroida; Tratamento de cabelo	Folha
	<i>Lychnophora pohlii</i> Sch. bip.	Arnica	Cicatrização	Folha
Asteraceae	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	Artimijo	Cólica menstrual; Dores de cabeça; Gripe	Folha e flores
	<i>Vernonia polyanthes</i> Less.	Assa-peixe branco	Bronquite e gripe	Folha, raiz
	<i>Vernonia condensata</i> Baker.	Boldo	Dor no estômago e fígado	Folha
	<i>Coreopsis grandiflora</i> Hogg ex Sweet	Camomila	Calmanete e insônia; Depressão	Folha, flores
	<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	Carqueja	Diabetes	Folha
	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Losna	Problemas no estômago	Folha
	<i>Egletes viscosa</i> (L.) Less.	Marcelinha rasteira	Diarreia e febre intestinal	Folha, flor
	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	Mentrasito	Calmanete e insônia; Cólica menstrual; Depressão; Dor em geral (crianças); Dor no estômago e gases; Labirintite	Folhas, flores
Brassicaceae	<i>Nasturtium officinale</i> R. Br	Agrião	Gripe e tosse	Folha
Costaceae	<i>Costus spicatus</i> (Jacq.) Sw.	Cana de macaco	Problemas renais	Caule e folha

Crassulaceae	<i>Cotyledon orbiculata</i> L.	Bálsamo	Dor no estômago e gastrite	Folha
	<i>Kalanchoe brasiliensis</i> Cambess	Folha santa	Gripe e resfriado	Folha
	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville	Barbatimão	Dor no estômago; Infecção de útero e vaginal	Caule e folha
Fabaceae	<i>Andira inermis</i> (W. Wright) Kunth ex DC.	Quina	Anemia	Caule
	<i>Pterodon emarginatus</i> Vogel	Sucupira	Dor de garganta	Folha, semente
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Alecrim	Depressão; Antiinflamatório; Gripe, falta de ar, sinusite; Problemas no coração; Calmante e insônia	Folha
	<i>Mentha viridis</i> L.	Alevante	Gripe; Calmante e insônia	Folha
	<i>Melissa officinalis</i> L.	Erva cidreira (folha)	Calmante; Gripe e resfriado	Folha e raiz
	<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Alfavaca e alfavacão	Calmante; Infecção de urina; Gases; Gripe, resfriado, rouquidão e bronquite	Folha
	<i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng.	Hortelã (folha gorda)	Gripe e resfriado; Problemas no estômago e vômitos	Folha
	<i>Mentha x villosa</i> Huds.	Hortelãzinho	Calmante e insônia; Gases e cólica; gastrite; Gripe, resfriado, febre e bronquite; Má digestão; Vermes	Folha
	<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.	Manjeriço	Gripe	Folha
	<i>Mentha pulegium</i> L.	Poejo	Calmante e insônia; Dor na barriga	Folha

			Gripe e resfriado	
	<i>Plectranthus barbatus</i> Andrews	Sete dores	Dor de cabeça	Folha
Lamiaceae	<i>Mentha arvensis</i> L.	Vique	Gripe	Folha
	<i>Persea americana</i> Mill.	Abacate	Problemas renais	Folha
Lauraceae	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume	Canela	Calmante	Folha
Lythraceae	<i>Punica granatum</i> L.	Romã	Infecção de garganta e urina	Folha e fruto
			Infecção e inflamação em geral;	Folha, raiz e semente
	<i>Gossypium hirsutum</i> L.	Algodão	Infecção no útero e vaginal;	
Malvaceae			Problemas associados à menopausa; Cicatrização	
	<i>Waltheria indica</i> L.	Douradinha	Problemas renais, cólica	Folha
Myrtaceae	<i>Syzygium aromaticum</i>	Cravo da Índia	Gripe, expectorante e analgésico	Flor
	<i>Morus</i> sp.	Amora	Distúrbios hormonais	Folha
Moraceae	<i>Brosimum gaudichaudii</i> Trécul	Mama cadela	Vitiligo, úlcera, resfriado	Folha, Raiz
Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus niruri</i> L.	Quebra pedras	Problemas renais	Folha, Raiz
Phytolaccaceae	<i>Petiveria aliacea</i> L.	Guiné	Sinusite	Folha

Plantaginaceae	<i>Plantago major</i> L.	Transagem	Infecção (inflamação) em geral	Folha
Poaceae	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	Capim santo e Capim cidreira	Cólica; Calmante e insônia; Dores de cabeça e no corpo; Gripe e resfriado; Pressão alta.	Folha e raiz
Rubiaceae	<i>Morinda citrifolia</i> L.	Noni	Diabetes	Fruto
Rutaceae	<i>Ruta graveolens</i> L.	Arruda	Conjuntivite; Cólicas menstruais; Gripe, resfriado e sinusite.	Folha
	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. f.	Limão	Gripe	Fruto
Vochysiaceae	<i>Qualea parviflora</i> Mart.	Pau terra	Dor de dente (ao nascer os dentes de leite)	Raiz
Zingiberaceae	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe.	Gengibre	Gripe	Folha e raiz

As famílias botânicas com maior número de espécies citadas no levantamento foram a Lamiaceae, Asteraceae seguida da Apiaceae.

A parte da planta mais utilizada como remédio é a folha (citada por 63% das famílias), Isso se deve ao fato das folhassarem coletadas com mais facilidade e serem encontradas em praticamente o ano todo. O uso das raízes por 12%, flores mencionadas 9%, caule e semente por 5 % e o fruto por 4%.

As formas de preparo mais utilizadas pelos entrevistados foram o chá com 49% das citações que é uma infusão e decocção; o suco citado 17%, obtido ao triturar uma planta medicinal fresca num pilão ou em liquidificador e o xarope com 12%, preparado fazendo inicialmente uma calda com açúcar sendo adicionada em seguida as plantas frescas e picadas, ficando em cozimento até formar um líquido grosso. Além dessas formas de uso foram observadas o gargarejo, mastigação, banho, dentre outras descritas.

Dentre os 50 entrevistados que utilizam plantas medicinais, todos alegaram utilizá-las apenas fazer uso de algumas plantas sozinhas e outras misturando duas ou mais plantas. Foram citadas 21 combinações ou misturas.

A maioria dos entrevistados obtém as plantas medicinais por meio de cultivos em quintais, jardins, canteiros, plantadas em latas ou vasos. Os informantes que não cultivam disseram fazer uso de plantas obtidas de vizinhos, parentes ou compradas de raizeiros.

Foram entrevistadas 50 pessoas sendo a maioria do sexo feminino com idade superior a 51 anos. Este resultado se deve provalmente ao horário em que foram realizadas as entrevistas, horário comercial, geralmente na maioria das residências, os homens estão em seus trabalhos. Calábria *et al* (2008) afirma que são as mulheres que detém maior conhecimento sobre plantas medicinais, pois são as responsáveis pelo preparo dos “chás” na família, por cuidar do trabalho doméstico e cultivar plantas em quintais e hortas.

De acordo com Rodrigues & Coelho (2002) em varias comunidades rurais no Brasil tradicionalmente, os assuntos relativos à saúde e à doença fica à encargo das mulheres.

Todos os entrevistados fazem uso de plantas medicinais. De acordo com Martinazzo & Martins (2004) esta utilização se da pelo preço acessível, tradição familiar, e pela velha crença que plantas medicinais causam menos efeitos colaterais. Observou-se que o uso destas plantas não esta associado nenhum padrão socio – econômico ou grau de escolaridade, o que está de acordo com Rizzo *et al* (1999) ao

avaliarem o uso de plantas medicinais nas cidades de Goiás e Pirenópolis / GO, onde constataram que grande parte da população faziam uso de plantas com fins curativos, independente do seu padrão social.

Conforme Martinazzo & Martins (2004) esses resultados contrariam o conceito existente de que somente pessoas de baixo poder econômico e pouca escolaridade são as que mais utilizam plantas medicinais, acredita-se que atualmente a busca por produtos naturais seja uma exigência constante da população para se ter uma vida mais saudável.

Dentre os entrevistados, 13 vieram de Minas Gerais e trouxeram a tradição da utilização de remédios caseiros com a utilização de plantas medicinais. As principais formas para a obtenção de plantas medicinais no conjunto Vera Cruz são os cultivos em quintais, jardins, canteiros, plantadas em latas ou vasos, as que não cultivam as obtêm de parentes, vizinhos ou compradas de raizeiros, como evidenciada por Silva & Proença (2007) no qual informam que as principais formas para a obtenção de plantas medicinais no município de Ouro Verde de Goiás foram o cultivo doméstico sendo esporadicamente mencionada a compra por raizeiros.

Observou-se que as famílias de plantas medicinais mais usadas foram Lamiaceae (10 espécies), Asteraceae (9 espécies) e a Apiaceae (4 espécies), o que está de acordo com Zucchi *et al*, 2013. Souza e Felfeli (2005) na Região de Alto Paraíso de Goiás (GO) verificaram que a família de planta mais utilizada foi a Asteraceae (14 espécies).

O que está de acordo com vários estudos etnobotânicos e/ou etnofarmacológicos como por exemplo em Castelucci *et al* (2000), Marodin & Baptista (2001), Parente & Rosa (2001), Almeida & Albuquerque (2002), Almasy Junior (2004), Pinto *et al* (2006), Vendruscolo & Mentz (2006) e Magalhães *et al* (2009). Segundo Oliveira & Menini (2012) ambas são famílias cosmopolitas com muitas espécies que se adaptaram bem, tanto aos ambientes tropicais quanto aos temperados, e que possuem óleos essenciais variados, justificando esta representatividade. O mesmo não foi observado em trabalho realizado por Lima (2013) em Santa Rita – Jataí (GO), de acordo com a autora as famílias de maior destaque nesta região foram Fabaceae, Bignoniaceae, Asteraceae e Malvaceae, mostrando assim a diversidade de plantas medicinais encontradas na flora de Goiás.

A folha foi a parte da planta mais utilizada na preparação dos remédios caseiros. Sendo a parte de mais fácil coleta e sua obtenção não causa grandes prejuízos a planta (GONÇALVES; MARTINS 1998). O mesmo foi observado por Pereira *et al*, (2004) e Silva *et al*, (2009) e Zucchi *et al* (2013) na região de Ipameri em que 40 % dos

entrevistados indicaram que a parte da planta mais utilizada como remédio é a folha. De acordo com Castellucci *et al* (2000) a provável explicação para o amplo uso das folhas pode estar relacionada com a facilidade de colheita, uma vez que estão disponíveis a maior parte do ano. Deste modo ocorre também a conservação da planta para usos posteriores, pois não há impedimento do crescimento e reprodução da espécie com a coleta das folhas como destacado por Silva *et al* (2009).

A forma de preparo predominante para os entrevistados é o chá por infusão ou decocção (cozimento da planta até a fervura), seguido de suco, xarope, mastigação, gargarejo dentre outros. Martins *et al* (2000) observaram que as formas mais usadas nos tratamentos caseiros com plantas medicinais são: cataplasma, chás, inalação, xarope e vinho medicinal.

Silva (2007) indica que os chás são as preparações terapêuticas mais populares e são usados para quase todas as indicações de cura e prevenção das doenças como: tosse, gripes, diarreia, problemas de fígado, intestino, coração, regular menstruação, calmante, vermes, diurético, cólicas, dores em geral, pressão alta, colesterol, insônia, derrame, pressão alta, colesterol, insônia, taquicardia, analgésico

Em um estudo realizado em Campo Limpo de Goiás por Carneiro (2009), as categorias de doenças que se utilizam as plantas medicinais com mais frequência são: aparelho digestivo, aparelho genitourinário, doenças infecciosas e parasitárias, aparelho respiratório, lesões, aparelho circulatório, doenças do sangue, doenças da pele e doenças endócrinas. Zucchi *et al* (2013) destaca que a enfermidade que mais ocasiona o uso de diferentes plantas medicinais são a gripe seguida de transtornos digestivos.

Dentre os problemas de saúde mais frequentes, gripe e insônia foram os citados pelos entrevistados, seguido do uso de plantas como calmantes. Algumas espécies são indicadas para mais de uma indicação terapêutica como o mentrasto (*Ageratum conyzoides* L), citado sua utilização como calmante, para alívio de dor no estômago, gases, labirintite e cólica menstrual.

CONCLUSÃO

Considerando os dados levantados neste estudo, conclui-se que é frequente o uso das plantas medicinais no conjunto Vera Cruz II, no entanto a utilização fica a cargo das pessoas mais idosas, estas pessoas têm acesso e conhecimento a uma ampla variedade de plantas medicinais usadas para suprir diferentes enfermidades. Percebeu-se que

mesmo com grandes avanços da medicina, a maioria dos entrevistados ainda mantem o hábito do cultivo das plantas em seus quintais e a utilização se dá principalmente pelo preço acessível, tradição familiar e por acreditarem que causam menos efeitos colaterais.

Observou-se que o modo de preparo das plantas mais utilizado foi os chás, sendo utilizadas principalmente as folhas em seus preparos por ser de fácil coleta e não causar grandes danos a planta.

Durante o levantamento foram citadas várias plantas, distribuídas em 28 em famílias, destacando as Lamiaceae, Asteraceae e a Apiaceae.

Foi elaborado uma cartilha com informações sobre as principais plantas citadas pelos moradores do bairro, podendo ser utilizadas pelos professores do Colégio Edmundo Rocha.

Com isso, acredita-se que esta pesquisa foi importante para o resgate da utilização das plantas medicinais pelos moradores do Conjunto Vera Cruz.

REFERÊNCIAS

ALMASSY JÚNIOR, A.A. **Análise das características etnobotânicas e etnofarmacológicas de plantas medicinais na comunidade de Lavras Novas, Ouro Preto-MG.** 2004. 130p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ALMEIDA, C.F.B.; ALBUQUERQUE, U.P. Uso e conservação de Plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil): um estudo de caso: **Interciência**, v.26, n.6, p.276-85, 2002.

AMARAL, C. N. **Recursos vegetais dos tradicionais quintais de Rosário Oeste – Mato Grosso.** 2008. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2008.

AMOROZO, M. C. M. **A abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais.** In: STASI, L. C. di (org.). *Plantas medicinais: arte e ciência: um guia interdisciplinar*, São Paulo: Editora da UNESP, p. 47-68, 1996.

CALÁBRIA, L.; CUBA, G.T.; HWANG, S.M.; MARRA, J.C.F.; MENDONÇA, M.F.; NASCIMENTO, R.C.; OLIVEIRA, M.R.; PORTO, J.P.M.; SANTOS, D.F.; SILVA, B.L.; SOARES, T.F.; XAVIER, E.M.; DAMASCENO, A.A.; MILANI, J.F.; REZENDE, C.H.A.; BARBOSA, A.A.A.; CANABRAVA, H.A.N. **Levantamento etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais em Indianópolis, Minas Gerais, Brasil.** *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. Botucatu, v.10, n.1, p.49-63, 2008

CALIXTO, J; RIBEIRO, E. **O cerrado como fonte de plantas medicinais para uso dos moradores de comunidades tradicionais do Alto Jequitinhonha, MG.** In: II Encontro nacional de pós-graduação em ambiente e sociedade, 2004, Indaiatuba. Disponível em: <http://www.anppas.org.br/encontro_anual/GTJuliana.pdf>

CARNEIRO, M. R. B. **A flora medicinal do centro oeste do Brasil: um estudo de caso com abordagem etnobotânica em Campo Limpo de Goiás.** 242 f. Dissertação (Pós-graduação em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente). Centro Universitário de Anápolis – Uni EVANGÉLICA, Anápolis, 2009.

CASTELLUCCI, S. et al. **Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na Estação Ecológica de Jataí, município de Luís Antonio/SP: uma abordagem etnobotânica.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.3, n.1, p.51-60, 2000.

FARNSWORTH, N.R.; AKERELE, O.; BINGEL, A.S.; SOERJATO, D. D. & GUO, Z.G. **Medicinal plants in therapy.** Bulletin WHO, 63 (6): p. 965 – 981, 1985.

GONÇALVES, M.I.A.; MARTINS, D.T.O. **Plantas medicinais usadas pela população do município de Santo Antônio de Leverger, Mato Grosso, Brasil.** Revista Brasileira de Farmácia, v.79, n.3/4, p.56-61, 1998.

GONÇALVES, M. L. Q. **Boas práticas para medicamentos fitoterápicos em escala magistral no setor público.** 2009. (Dissertação de Mestrado) - Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêutica - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Porto Alegre: UFRGS, 2009.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R. O.; NOGUEIRA, T. C. M. L. Farmacologia e Toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C.M.O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A. PETROVICK, P. R. (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. ed.

LIMA, J.R.S. **Etnobotânica no Cerrado: Um Estudo no Assentamento Santa Rita, Jataí (GO) – Goiás.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, 2013. Disponível em: http://posgeo.jatai.ufg.br/uploads/180/Jordana_Lima.PDF>

LORENZI, H. F.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais do Brasil,** nativas e exóticas. 1 ed. São Paulo: Plantarum, 2002.

MAGALHÃES, V.C. et al. **Levantamento etnobotânico na comunidade rural Sapucaia em Santo Antônio de Jesus, Recôncavo da Bahia - BA.** Revista Brasileira de Agroecologia, v.4, n.2, p.2071-4, 2009.

MARODIN, S.M.; BAPTISTA, L.R.M. **Plantas utilizadas como medicinais no município de Dom Pedro de Alcântara, Rio Grande do Sul, Brasil.** Iheringia, Série Botânica, v.56, n.1, p.131-46, 2001.

MARTINAZZO, A. P.; MARTINS, T. **Plantas medicinais utilizadas pela população de Cascavel/PR.** Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama, 8(1), jan./abr. p.3-5, 2004.

- MARTINS, E.R.; CASTRO,D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas Mediciniais**. Viçosa: UFV, 2000. 226p.
- MORAIS, I. C. *et al.* Levantamento sobre plantas medicinais comercializadas em Goiânia: abordagem popular (raizeiros) e abordagem científica (levantamento bibliográfico). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.2, n.1, p.13-6, 2005.
- NEWALL, C. A.; ANDERSON, L. A; PHILLIP SON, J. D. **Plantas Medicinas: Guia para profissional de saúde**. Ed. Premier, 2002.
- OLIVEIRA, E.R; MENINI NETO, L. **Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do povoado de Manejo, Lima Duarte - MG**. Rev. bras. plantas med., Botucatu, v. 14, n. 2, 2012. >
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Estratégia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005**, 2002.
- PARENTE, E.T.; ROSA, M.M.T. **Plantas comercializadas como medicinais no município de Barra do Piraí, RJ**. Rodriguésia, v.52, n.80, p.47-59, 2001.
- PEREIRA, R.C.; OLIVEIRA, M.T.R.; LEMOS, G.C.S.. **Plantas utilizadas como medicinais no município de Campos de Goytacazes - RJ**. Rev. bras. farmacogn., Maringá , v. 14, supl. 2004.
- PINTO, D.P.P.; AMOROZO, M.C.M.; FURLAN, A. **Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica - Itararé, BA, Brasil**. Acta Botanica Brasilica, v.20, n.4, p.751-62, 2006.
- RIZZO, J. A.; MONTEIRO, M. S. R.; BITENCOURT, C. **Utilização de plantas medicinais em Goiânia**. In: Anais do Congresso Nacional de Botânica, v. 36, Curitiba (PR), p. 671-614, 1990.
- RIZZO, J.A.; MONTEIRO, M.S.R. & BITENCOURT, C. 1990. **Utilização de plantas medicinais em Goiânia**. Pp. 691-714. In: Anais do XXXVI Congresso Brasileiro de Botânica. Curitiba, 1985. Brasília, Sociedade Botânica do Brasil.
- RIZZO, J. A.; CAMPOS, I. F. P.; JAIME, M. C.; MUNHOZ, G.; MORGADO, W. F. **Utilização de plantas medicinais nas cidades de Goiás e Pirenópolis, Estado de Goiás**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 431-447, 1999.
- RODRIGUES, A. G.; SANTOS, M. G. DOS; AMARAL, A. C. F. **Políticas públicas em plantas medicinais e fitoterápicas**. 2006. In: MINISTÉRIO DA SAÚDE. A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Mediciniais da Central de Medicamentos. Brasília: Ministério da Saúde, p. 9-28, 2006.
- RODRIGUES A. G., COELHO, F. M. G. **Formas de conhecimento**. In: RODRIGUES, A. G. et al.Plantas Mediciniais e Aromáticas: etnoecologia eetnofarmacologia. Viçosa, MG:UFV, DFT, 2002.p. 3-22.

SILVA, C. S. P. **As plantas medicinais no município de Ouro Verde de Goiás, GO, Brasil: uma abordagem etnobotânica.** 2007. 153 f. il. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2007.

SILVA, Cristiane Soares Pereira da; PROENÇA, Carolyn Elinore Barnes. **Uso e disponibilidade de recursos medicinais no município de Ouro Verde de Goiás, GO, Brasil.** Acta Bot. Bras., São Paulo, v. 22, n. 2, June 2008.

SILVA, J.O.; SOUZA, P.S. **Levantamento etnobotânico das plantas medicinais utilizadas pela população da Vila Canaã, região sudeste, Goiânia, Goiás.** Ciência Agrotécnica, v.32, p.87-88, 2007.

SILVA, M.D.; DREVECK, S.; ZENI, A.L.B. **Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela população rural no entorno do Parque Nacional da Serra do Itajaí - Indaial.** Revista Saúde e Ambiente, v.10, n.2, p.54-64, 2009. Disponível em <<http://periodicos.univille.br/index.php/RSA/article/viewFile/191/199>>

SOUZA, C.D.; FELFILI, J.M. **Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO.** Acta Botanica Brasilica, v.20, n.1, p.135-142, 2005.

TRESVENZOL, L. M.; PAULA, J. R.; RICARDO, A. F.; FERREIRA, H. D.; ZATTA, D. T. **Estudo sobre o comércio informal de plantas medicinais em Goiânia e cidades vizinhas.** Revista Eletrônica de Farmácia. v. 3, n. 1, p. 23-28, 2006.

VENDRUSCOLO, G.S.; MENTZ, L.A. **Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.** Iheringia, Série Botânica, v.61, n.1/2, p.83-103, 2006.

VIEIRA, L.A., MEDEIROS, J.C., CARVALHO, J.G., **Projeto Farmácia Viva – Implantação da Fitoterapia no SUS/Betim. In: X Seminário Mineiro de Plantas Medicinais,** 2004, São João del-Rei. Anais ... São João del-Rei: UFSJ/UFV , 2004. p.151-152.

ZUCCHI, M.R. et al . **Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de Ipameri - GO.** Rev. bras. plantas med., Botucatu, v. 15, n. 2, 2013.

PERCEPÇÕES ACADÊMICAS SOBRE O ENSINO-APRENDIZAGEM DE ANATOMIA HUMANA NOS CURSOS DA ÁREA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE.

*Vanessa Guimarães de Freitas Cruvelo D'Ávila**

*Juliana Guimarães de Freitas Cruvelo D'Ávila Gomes**

*Mônica de Oliveira Santos**

*Rodrigo da Silva Santos**

O INÍCIO DA ANATOMIA COMO CIÊNCIA

O desejo inerente do ser humano de saber sobre sua formação levou-o ao estudo da anatomia, que ao contrário do que se pensa, não é uma ciência de cadáveres, mas sim de funcionalidade e descobertas.

A terminologia para o estudo de anatomia segue como padrão o latim. A origem de anatomia é pertinente do grego, *Anatome*, que significa cortar em partes, seccionar, que aplicado aos cadáveres unia o ensino da época em seu contexto filosófico e religioso alicerçando o conhecimento inicial e contínuo durante séculos de pesquisa sobre as estruturas e funcionamento do corpo. Já a dissecação tão comum à prática da disciplina refere-se à técnica de abrir o corpo humano através de incisões. A palavra deriva do latim, no qual “*dis*” quer dizer “separar” e “*secare*” significa “cortar”, sendo etimologicamente equivalente a anatomia.

Os primeiros estudos anatômicos datam de períodos remotos onde a caça e os princípios de sobrevivência instigavam os homens. Os rituais funerários para os egípcios trouxeram conhecimento sobre a mumificação, entretanto não contribuíram para o estudo dos corpos pois não tinham intuito descritivo e sim religioso. Do legado egípcio antigo existe apenas o manual anatômico básico, descrito em 3400 a.C. Os primeiros relatos do estudo de corpos humanos datam do século V a.C., na Itália.

*Docentes da Faculdade de Medicina Alfredo Nasser, Instituto de Ciências da Saúde (ICS-UNIFAN).

O próprio Aristóteles mencionou as ilustrações anatômicas quando se referiu aos paradigmas, que provavelmente eram figuras baseadas na dissecação animal. No século III a.C., o estudo da anatomia avançou consideravelmente na Alexandria. Estudiosos como Hipócrates, Herófilo, Erasístrato, Galeno e outros deixaram contribuições valiosas, em seu tempo, para o desenvolvimento da anatomia muitas vezes contrapondo as leis locais impostas por reis e a própria igreja.

Com o início do renascimento a anatomia tornou-se “anatomia para arte”. Surgia então um estudo mais aprofundado, observador e explorador em nome da razão e evolução dos tempos. Nesse período os maiores representantes foram Leonardo da Vinci e Michelangelo, como citou Singer:

“Da Vinci é a maior prova de que a arte e ciência caminham juntas de mãos dadas e, na anatomia, o cadáver foi esse elo (...)”²⁶

Nesse mesmo período Andreas Versalius, considerado o pai da Medicina Moderna, somando os conhecimentos incontestáveis de Leonardo da Vinci e Michelangelo, publicou em 1543 sua obra prima “*De humani corporis fabrica*” o primeiro atlas de Anatomia Humana.

Nos séculos XVII e XVIII, alguns médicos e anatomistas faziam dissecações públicas para convidados. A necessidade de se estudar os corpos incentivou a descoberta de alguma técnica de conservação. A primeira descoberta foi a composição do formol já no século XIX. Os séculos XX e XXI trouxeram avanços significativos nos conhecimentos das técnicas de conservação de cadáveres como a glicerinizacão e plastinacão.

CARACTERÍSTICAS SOBRE O ENSINO DE ANATOMIA

A disciplina de anatomia é fundamental para a formação básica em cursos na área da saúde. As ementas da disciplina anatomia compreendem conhecimentos sobre os sistemas que formam o corpo estabelecendo as bases para a compreensão de outras matérias como fisiologia, bioquímica, patologia, cinesiologia, histologia, embriologia, clínica e outras afins. Neste contexto de interação entre disciplinas é fundamental que o ensino-aprendizagem alcance níveis apropriados de eficiência.

²⁶ SINGER, C. Uma breve história da anatomia e fisiologia desde os gregos até Harvey. Campinas, SP: Unicamp, 234 p., 1996.

O ensino de anatomia humana deve utilizar-se da comunicação contínua entre professor e aluno ressaltando o raciocínio crítico diante do conteúdo exposto. Segundo Costa (2007), a estrutura das aulas de anatomia humana apresenta dois momentos distintos; a parte teórica, no qual são apresentados os conceitos e definições dos sistemas e órgãos do corpo humano; e a parte prática, que, utilizando-se de peças anatômicas, geralmente naturais em laboratório, faz-se estudo das características gerais e suas inter-relações.

A abordagem do professor deve aproximar o aluno de seu objeto de estudo. Autores relatam sobre a importância do uso do cadáver nas aulas práticas de anatomia para a formação da personalidade e da ética profissional, sendo que os autores consideram o cadáver como o primeiro paciente do acadêmico de graduação na área de saúde. Associando os elementos teóricos da disciplina às compreensões das próprias experiências pessoais e proporcionando aos alunos a construção do conhecimento, a partir de seus significados pessoais, as aulas de anatomia seriam realmente integrativas.

Segundo Libâneo (2007), o professor é mediador entre o aluno e o conteúdo promovendo recursos que tragam dinâmica e estabeleçam o ensino-aprendizagem. No entanto é necessário valorizar as experiências, interesses, potencial cognitivo e conhecimentos prévios dos alunos.

PRINCIPAIS DIFICULDADES DO ENSINO-APRENDIZAGEM DA DISCIPLINA ANATOMIA

A adaptação do aluno a nova etapa de estudo, o ensino superior é uma das principais dificuldades apontadas por docentes e discentes. Em estudo realizado na Universidade Estadual de Londrina, em todos os cursos de saúde avaliados os maiores índices de reprovação foram no primeiro e segundo anos. Nesses cursos a disciplina de anatomia geral é inserida no primeiro ano e as demais anatomias específicas, no segundo ano. A exigência maior dos professores, o processo de adaptação do aluno a faculdade, o processo seletivo com falhas e o ensino médio de baixa qualidade foram os principais problemas citados pelos professores do colegiado dos cursos.

No Brasil ainda é baixo o número de escolas de ensino fundamental e médio que disponibilizam aulas interativas, com laboratórios e peças anatômicas sintéticas. A

baixa qualidade do ensino e ausência de aulas práticas contribuem para que nossos alunos ingressem despreparados nos centros de ensino superior, inabilitando-os a uma melhor experiência inicial a matéria. Por outro lado, a maioria dos professores que atua no ensino superior não tem formação específica para o ensino. A combinação desses dois aspectos – defasagem de conhecimentos básicos por parte do acadêmico e falta de formação específica para o ensino por parte do professor – afeta diretamente o processo de ensino-aprendizagem.

Relatos históricos do uso do cadáver nos centros universitários apontam a observação de sentimentos como: medo, receio, aversão, curiosidade e constrangimento. Enfrentar esses medos e limitações é importante ponto de desenvolvimento pessoal favorecendo a maturidade e respeito ao próximo.

Outras dificuldades relatadas pelos acadêmicos para ensino-aprendizagem da anatomia são: a falta de familiaridade do aluno com as terminologias anatômicas, que, em sua maioria são derivadas do latim e grego; preparo inadequado e dificuldade de renovar as peças cadavéricas que acabam dificultando a visualização, além de muitas estruturas serem de tamanho pequeno; como também falta de atenção e de motivação por parte dos alunos.

SUGESTÕES PARA MELHORAR O PROCESSO DE ENSINO-APRENDIZAGEM DA ANATOMIA

Alguns estudos realizados sobre processo de ensino-aprendizado têm demonstrado que a apresentação de um conteúdo utilizando a “maneira passiva” como a leitura, audição e observação é de menor eficiência para a aprendizagem. Adquirir conhecimento de forma ativa é muito mais eficiente, sobretudo quando aplica várias vertentes de atividades lúdicas como o canto, o teatro e a exposição dialogada. O aluno se sente mais valorizado e estimulado quando faz parte do seu próprio objeto de estudo, quando estimulado por jogos, danças; a falar, criar e viver sua própria experiência, ele aprende mais quando é o centro de sua aprendizagem.

Atividades dinâmicas assistidas, pelos professores ou tutores podem ser muito mais vantajosas que as velhas práticas quadro-giz. Uma estratégia é montar atividades

competitivas e também cooperativas entre os alunos. Alguns conteúdos ganham uma roupagem interessante quando se usa um jogo de *quiz*.

Uma das grandes dificuldades relatadas pelos próprios alunos é aprender e gravar os nomes das estruturas e peças anatômicas. Uma alternativa para isso seria montar atlas alternando conteúdo, imagens e jogos individuais e em grupo. É possível adaptar jogos como: caça palavras, forca, erros e acertos, memória, cores, enigmas, entre outros.

Outra estratégia é o investimento em softwares interativos dos conteúdos trabalhados na matéria. Um exemplo disso é o LocomoShow[®], Atlas Anatômico do Aparelho Locomotor Humano, criado por uma empresa brasileira de softwares em parceria com Universidade Estadual de Londrina (UEL).

O uso da multimídia também tem grande potencial de utilização na educação à distância, através de transmissão via satélite, videoconferência, internet, elaboração de vídeo aulas com os próprios alunos, CDs, entre outras.

A utilização de histórias contextualizando as estruturas a serem estudadas ajuda muito. Pode se estimular a preparação de seminários, a problematização, a análise crítica e aprofundada da situação instigando a análise clínica, possíveis causas, consequências e estratégias de resolução de situações problemas.

Não devemos esquecer que toda mudança gera conflitos e que há obstáculos a transpor. Os próprios educadores convictos de sua prática docente podem se opor as mudanças resistindo à adoção de novas tecnologias. No entanto, não é necessário que todas as aulas sejam lúdicas. O simples fato de se usar um roteiro dirigido para a aula proposta já traz resultados significativos na aprendizagem.

Para melhorar o processo de ensino-aprendizagem é necessário o interesse e esforço continuado do tripé educativo: Instituição/Professor/Aluno, onde: cabe à instituição oferecer boa estrutura física e didática para o desenvolvimento do ensino; variedade de livros e atlas da matéria; peças naturais e sintéticas de boa qualidade; ambiente com disponibilidade de multimídia; horários alternativos que atendam a necessidade dos alunos. Por outro lado, o professor deve desenvolver práticas pedagógicas que minimizem as deficiências do processo de ensino-aprendizagem, elaborando estratégias embasadas em métodos interativos, que se aproximem da

realidade dos educandos. É necessário atuar eficazmente, com práticas inovadoras, e ter competência não somente no domínio dos conteúdos da disciplina que ministra; necessita, também, conhecer propostas alternativas, que exijam mais do aluno na disciplina, estimulando não apenas a capacidade de memorização das estruturas anatômicas, mas o estabelecimento de correlações entre as ciências morfológicas e a prática específica do curso em que busca formação. Ao aluno cabe ser o “SER” estimulado, interessado e ativo. É preciso sobretudo, querer aprender.

REFERENCIAS

BRASIL. Ministério da Educação. Referenciais de qualidade para educação superior a distância (EAD). Brasília, 2007. Disponível em: http://portal.mec.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=12777:referenciais-de-qualidade-para-ead&catid=193:seed-educacao-a-distancia&Itemid=865. Acesso em: 20 jun. 2015.

CASTRO, M. H. G., TIEZZI, S. Estado e ensino superior privado. **Revista da ABMES**. v. 23, n. 34, 2005.

CLOUGH, R.W; LEHR, R. Testing knowledge of human gross anatomy in medical school: an applied contextual-learning theory method. **Clinical Anatomy**. v. 9(4), p. 263-268, 1996.

COSTA, A.P. Ensino da anatomia humana em cursos de graduação em educação física. São Paulo; 2007. Mestrado [Dissertação] - Programa de pós-graduação Stricto Sensu - Universidade São Judas Tadeu. Disponível em: http://www.usjt.br/biblioteca/mono_disser/mono_diss/059.pdf. Acesso em: 23 mar. 2015.

DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A. Anatomia Humana Sistêmica e Segmentada. 2.ed. São Paulo: **Atheneu**. p. 1-9, 2003.

DIAS, A. M.I. O que são processos pedagógicos? **Revista Educação AEC**. v. 33, p. 31-41, 2004.

FABRIN, S., SOARES, N. et al.,. Construção do conhecimento anatômico dos planos e eixos do corpo humano por meio de livro eletrônico – EBOOK. Simpósio Internacional de Educação a Distância –SIED. Universidade Federal de São Carlos. 2014. Disponível em: file:///C:/Users/MOSBI_000/Downloads/501-3030-1-PB.pdf. Acesso em: 26 jul. 2015.

FORNAZIERO, C. C.; GIL. C. R. R. Novas Tecnologias Aplicadas ao Ensino da Anatomia Humana. **Revista Brasileira de Educação Médica**. v .27, (2). 2003.

FORNAZIERO, C. GORDAN, P. A. et al., O ensino da anatomia: integração do corpo humano e meio ambiente. **Revista brasileira educação médica**. v. 34(2), 2010.

FORNAZIERO, C.C; GIL, C.R. Novas tecnologias aplicadas ao Ensino da Anatomia Humana. **Revista brasileira educação médica**. v. 27(1), p.141-146, 2003.

INEP. Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira. Disponível em: <http://portal.inep.gov.br/>. Acesso em 30 abr. 2015.

LEMPP, H.K. Perceptions of dissection by students in one medical school: beyond learning about Anatomy. A qualitative study. *Medical Education*. 39:318-325. 2005.

LUCKESI, C.C. Filosofia da Educação. São Paulo: Cortez; 1994.

LUCKESI, Cipriano. Avaliação da aprendizagem escolar. 14 ed. São Paulo: **Cortez**, 2002.

Madeira MC. Sou professor universitário e agora?: manual de primeira leitura do professor. São Paulo: **Sarvier**. 2008.

MONTES. M. A. A., SOUZA. C. T. V. Estratégia de ensino-aprendizagem de anatomia humana para acadêmicos de medicina. **Ciências & Cognição**. v. 15 (3), p. 002-012, 2010.

PETRUCCELLI, L. J. História da medicina. São Paulo: **Manole**. 1997.

PIAZZA. B. L.; CHASSOT. A. I. Anatomia Humana, uma disciplina que causa evasão e exclusão: quando a hipótese principal não se confirma. **Ciência em Movimento**. v. 14 (28), 2011.

QUEIROZ. C. A. F. O uso de cadáveres humanos como instrumento na construção de conhecimento a partir de uma visão bioética. Mestrado [Dissertação] - Universidade Católica De Goiás – Goiás. Programa de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciências Ambientais e Saúde. 2005.

SALBEGO, C; OLIVEIRA, E. M. D. et al., Percepções Acadêmicas sobre o Ensino e a Aprendizagem em Anatomia Humana. **Revista brasileira educação médica**. v. 39(1), p. 141-6, 2015.

SILVA, D. M. S., BRITO. V. C. Metodologias de ensino para anatomia humana: diminuindo as dificuldades e ampliando o processo de aprendizagem. In: XIII jornada de ensino, pesquisa e extensão – JEPEX 2013 – UFRPE, Recife 2013. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R0291-1.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2015.

SINGER, C. Uma breve história da anatomia e fisiologia desde os gregos até Harvey. Campinas, SP: **Unicamp**, 234 p., 1996.

SOUSA, R. P.; MOITA, F. M. C. S. C.; CARVALHO, A. B. G. (Organizadores). Tecnologias digitais na educação/ - Campina Grande: EDUEPB, 21 ed. Disponível em: <http://static.scielo.org/scielobooks/6pdyn/pdf/sousa-9788578791247.pdf>. 2011. Acesso em: 27 jul. 2015.

TORTORA, G.J. Princípios de Anatomia Humana. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 10. Ed. 2007.

VASCONCELLOS, C. S. Planejamento: projeto de ensino-aprendizagem e projeto político-pedagógico. 7ed. São Paulo: **Libertad**, 2000.

VYGOTSKY, L. S. A formação social da mente: o desenvolvimento dos processos psicológicos superiores. 6.ed. São Paulo : **Martins Fontes**, 2000.

WILLERS, C. D. A.; OLIVEIRA, A. P. et al., O processo de ensino-aprendizagem nas disciplinas de anatomia e fisiologia humana direcionado a alunos do curso de ciências biológicas. Anais Eletrônico VIII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar UNICESUMAR – Centro Universitário Cesumar Editora CESUMAR. Paraná. 2013. Disponível em: http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2013/oit_mostra/Cyndi_Dietrich_Andrade_e_Willers_02.pdf. Acesso em: 30 jun. 2015.

YOSHIDA, M., MEDEIROS FILHO, D. A. et al., LocomoShow – Uma ferramenta de apoio ao ensino da anatomia humana. Disponível em: <http://www.lbd.dcc.ufmg.br/colecoes/wim/2003/007.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2015.

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICOS EMPREGADOS PARA A DETECÇÃO DE *Helicobacter pylori*: UM ENFOQUE MOLECULAR

*Hellen Stephanye Rosa de Oliveira*¹

*Roger Luiz Rodrigues*²

*Mônica Santiago Barbosa*³

INTRODUÇÃO

Helicobacter pylori foi primeiramente isolada por Warren e Marshall em 1982, a partir de fragmentos de biópsia gástrica de pacientes com gastrite crônica e úlcera péptica, fato que rendeu aos pesquisadores o prêmio Nobel de Medicina em 2005 (WARREN & MARSHALL, 1984; TONELLI & FREIRE, 2000).

A bactéria está associada com a gastrite crônica, úlceras pépticas, gastrite atrófica, metaplasia intestinal, adenomas gástricos, hiperplasias gástricas, adenocarcinoma da parte distal do estômago e linfoma MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue). Em 1996, a Organização Mundial de Saúde (OMS) classificou a infecção por *H. pylori* como carcinoma humano de classe I. Segundo Instituto Nacional do Câncer (INCA) em 2010, a frequência de doenças gástricas, tais como úlceras pépticas e adenocarcinoma gástrico é alto na região norte do Brasil, especialmente no Estado do Pará (EVERHART, 2000; QUAKAA-KCHAOU et al., 2010).

H. pylori tem distribuição cosmopolita e estima-se que cerca de 90% da população mundial esteja infectada, a prevalência da infecção varia com a idade e o nível socioeconômico. Apesar da infecção apresenta distribuição mundial, a prevalência é maior em países em desenvolvimento, visto que a infecção está relacionada a fatores como as precárias condições socioeconômicas e sanitárias (MITCHELL et al., 2003; RIBEIRO et al., 2004; LEHOURS & YILMAZ et al., 2007).

De acordo com World Gastroenterology Organization – WGO (2010) no Brasil a infecção por *H. pylori* acomete 50% de crianças com a faixa etária de 5 anos de idade, 30% de crianças com 6-8 anos. Já a faixa etária compreendida entre 10-19 o índice de infecção por *H. pylori* é de 78% e adultos representa uma margem de 82%.

O diagnóstico correto da gastrite ou úlcera péptica causada por *H. pylori* é muito importante para o tratamento adequado e sua erradicação. Vários métodos para a

detecção desse agente estão disponíveis, porém, até o momento não há um consenso sobre qual deles é o ideal. Entre os métodos existentes, a análise de fragmentos de biópsias obtidos por endoscopia é um dos métodos realizados com maior frequência, nos quais os fragmentos são avaliados pelo teste rápido da uréia, pela cultura em meios específicos, exame microscópico após coloração pelo método de Gram ou análise histológica com colorações específicas, além dos métodos moleculares, sorológicos, pesquisa de antígenos nas fezes e o teste respiratório que utiliza uréia com carbono marcado (^{13}C e ^{14}C) (OPLUSTIL et al., 2004).

O diagnóstico de doenças foi uma das áreas da medicina que mais avançou. Várias doenças genéticas e infecciosas podem agora ser conhecidas devido à evolução da biologia molecular que permite a manipulação dos ácidos nucleicos, ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA). Além de novos métodos de detecção de organismos, que possibilitam definir com exatidão o agente causador de uma infecção, também tem sido possível utilizar a biologia molecular para genotipagem, correlacionando-o com esquemas terapêuticos e também monitorando o nível de infecção durante o tratamento (ROSSETTI et al., 2006).

Anatomia e histologia do estômago

O estômago, um órgão sacular com formato de J e um volume de 1.200 a 1.500 ml, são responsáveis pela digestão parcial dos alimentos e secreção de enzimas e hormônios (funções exócrinas e endócrinas). Trata-se de um segmento dilatado do trato digestório, cuja função principal é transformar o bolo alimentar em uma massa viscosa (quimo), por meio da atividade muscular e química (RUBIN & GORSTEIN, 2006; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

Localizado no abdome superior, o estômago se estende desde o hipocôndrio esquerdo através do epitélio gástrico. A convexidade do estômago, que se estende para a esquerda a partir da junção gastroesofágica, é denominada curvatura maior. A concavidade do lado direito do estômago, denominado curvatura menor, tem apenas cerca de uma quarta parte do comprimento da curvatura maior. No estômago são identificadas cinco regiões: cárdia, fundo, corpo, piloro (ou antro) e esfíncter pilórico (RUBIN & GORSTEIN, 2006; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

Caracterização de *H. pylori*

O gênero *Helicobacter* (do grego: *helix*, helicoidal; *bacter*, bactéria) pertence à superfamília VI da classe *Proteobacteria* da divisão *Gracillicutes* definidas por Vandamme et al. (1991). Este gênero é composto por no mínimo 27 espécies, onde podem localizar-se no fundo e no corpo do corpo estomacal, mas o principal local é o antro, onde é possível encontrar uma maior densidade do organismo no trato gastrointestinal (BLASER & BERG, 2001).

A bactéria *H. pylori* é um bacilo Gram negativo, de morfologia curva e espiralada, cuja extensão varia de 0,5 a 1µm de largura e 2,5 a 5µm de comprimento; possui de 4 a 6 flagelos revestidos partindo de um único pólo, sendo que cada um possui aproximadamente 30 µm de comprimento e 2,5 nm de espessura (GRAHAM, 1994).

Doenças gastroenterológicas causadas por *H. pylori*

Gastrite crônica

A gastrite crônica é definida como a presença de alterações inflamatórias crônicas na mucosa que resultam em atrofia da mucosa e metaplasia epitelial, geralmente sem erosões. As alterações epiteliais podem tornar-se displásicas e, assim, constituir uma base para o desenvolvimento do carcinoma, que tem como principal fator etiológico o *H. pylori*, encontrado com alta prevalência na população mundial (COTRAN et al., 2000; MISZPUTEN, 2007).

Úlcera péptica duodenal e gástrica

Úlceras pépticas (UP) são lesões crônicas, geralmente solitárias, que ocorrem em qualquer local do trato gastrointestinal exposto à ação agressiva dos sucos pépticos ácidos (COTRAN et al., 2000).

As úlceras podem se localizar no estômago ou no duodeno (porção do intestino imediatamente posterior ao estômago). Há evidências de que os portadores de úlcera duodenal (UD) apresentam maior secreção gástrica de ácido e pepsinogênio do que os indivíduos saudáveis (FILHO et al., 1994; HELITO & KAUFFMAN, 2007).

A úlcera gástrica (UG) também depende da ação de ácido e de pepsina, se associando frequentemente com gastrite atrófica, esta ligada, portanto, à diminuição da resistência da mucosa. A UG pode ocorrer em áreas mais distais do antro gástrico, até a região limítrofe entre a mucosa antral e a duodenal (FILHO et al., 1994).

Carcinoma gástrico

O carcinoma gástrico que surge da mucosa gástrica é geralmente mais ecogênico, tende a invadir verticalmente ou atravessar a parede gástrica e, frequentemente, envolve os linfonodos perigástricos quando é diagnosticado (RUMACK et al., 2006).

Os tumores gástricos podem ser classificados, segundo o American Joint Committee of Cancer (AJCC), pelo grau de penetração na parede gástrica (T1-T4), pelo envolvimento linfonodal (N0-N2) e pela presença de doença metastática (M0-M1) (TEIXEIRA, 2012).

Linfoma gástrico

O linfoma gástrico MALT é uma neoplasia de células B pouco frequente. Na gênese do linfoma MALT gástrico está o recrutamento de linfócitos B e T na mucosa gástrica, como parte da resposta imune à infecção provocada por *H. pylori*. A primeira descrição do linfoma MALT foi em 1983 por Isaacson e Wright. A maioria dos linfomas gástricos são linfomas não-Hodgkin e sua localização é extranodal. O linfoma gástrico pode ser um tumor primário ou pode ser causado por um linfoma disseminado (GOLDMAN & AUSIELLO, 2005; FERREIRA & PROLLA, 2007; MOREIRA & COUTINHO, 2009).

Epidemiologia

Estudos populacionais conduzidos no Brasil indicam que as taxas de prevalência da infecção por *H. pylori* ainda é muito elevada quando comparada com a média da população mundial seja em regiões urbanas ou rurais, em crianças ou adultos (COELHO et al., 2004; PARENTE & PARENTE, 2010).

Os principais fatores de risco para a aquisição de *H. pylori* no Brasil estão relacionados às condições precária durante a infância, incluindo a baixa renda familiar, baixos níveis de educação dos pais das crianças, a falta de instalações sanitárias adequadas nas casas, inadequados hábitos de higiene pessoal, a presença de um membro da família infectado, especialmente a mãe, e serviços básicos de saúde pública deficiente, como o abastecimento de água potável encanada, coleta de lixo doméstico e esgoto com estações de tratamento de resíduos recolhidos (COELHO et al., 2004).

Transmissão e patogenia

O modo exato de transmissão por *H. pylori* não é conhecido. As rotas de transmissão tem sido consideradas e fecal-oral e oral-oral. A cultura de *H. pylori* nas fezes foi relatada, sugerindo a rota de transmissão fecal-oral. A mosca doméstica (*Musca domestica*) pode ser um vetor de transmissão de *H. pylori*. As evidências de que o patógeno tem sido detectado nessa mosca sugerem que o contato com a comida e os excrementos humanos pode ser uma forma da transmissão fecal-oral desse patógeno. A rota oral é considerada a via mais provável de transmissão de *H. pylori*. Existem evidências de que a boca seja um reservatório para a infecção de *H. pylori*, uma vez que este é detectado na saliva e na placa dental. Esses resultados indicam que a cavidade oral, contendo *H. pylori*, deve ser a fonte de infecção e de transmissão da doença. Essa também seria a fonte de reinfecção, na qual a taxa de ocorrência da doença é elevada (ROSSETTI, 2006).

A transmissão iatrogênica é bastante alta entre os endoscopistas, particularmente aqueles sem hábito de usar luvas, e também sugere ser transmitida por instrumentos contaminados com secreções gástricas, outro fator que corrobora essa forma de transmissão é a contaminação de pacientes que se dá principalmente por equipamentos usados em exames de pessoas contaminadas e são esterilizados ou manuseados incorretamente (GRAHAM et al., 1988; GRAHAM, 1994).

Fatores de virulência

A presença de 4 a 6 flagelos unipolares, presente na bactéria facilita sua motilidade mesmo em meios altamente viscosos como é o caso da mucosa gástrica. Os flagelos possuem uma bainha, composto de uma bicamada de fosfolípidios,

lipopolissacarídes e proteínas de membrana externa (HAZZEL et al., 1986; FERRERO et al., 1997).

A bactéria expressa urease, uma enzima que hidrolisa a uréia ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), fisiologicamente presente no suco gástrico, em bicarbonato (HCO^{-3}) e amônia iônica (NH_4^+), elevando o pH da mucosa gástrica de 6,0 para 7,0 tornando-se neutro, protegendo a bactéria do pH ácido do estômago (GUIMARÃES et al., 2008).

As fosfolipases e proteases são enzimas responsáveis pela degradação da estrutura polimérica das glicoproteínas da camada de muco gástrico e também de causar lesão no epitélio gástrico (DUNN et al., 1997).

O primeiro gene cepa-específica identificado no *H. pylori* foi a *cytotoxin-antigen associated A (cagA)*, que está associado ao desenvolvimento do câncer gástrico. As cepas *cagA+* é mais virulenta e induz níveis mais altos da expressão de citocinas (IL-1b e IL-8). O principal fator de virulência do *H. pylori* é a produção da proteína *cagA* que interage com diversas proteínas após sua translocação, atuando no citoesqueleto da célula hospedeira e provocando a formação de pedestais, além de causar proliferação das células da mucosa (PEEK et al., 1999; BLASER & BERG, 2001).

A *vacuolating cytotoxin gene A (vacA)* esta relacionada com a indução e formação de vacúolos ácidos no citoplasma das células epiteliais gástricas, sendo responsável pela erosão e degeneração das células, interferindo com a fusão intracelular da membrana. Depois que acontece a inflamação de canais seletivos nas células epiteliais causada pela produção da *vacA*, ocorre a exsudação de uréia para luz da mucosa gástrica. O gene *vacA* é produzido aproximadamente por 50% das cepas (TELFORD et al. 1994; HARRIS et al. 1996; TAMBOLA et al. 2001).

O fator de aderência *blood group antigen adhesin (babA)* permite o contato entre a bactéria e o epitélio, o gene *babA* possui dois alelos distintos: *babA1* e *babA2*. O gene *babA* se liga ao antígeno do grupo sanguíneo Lewis B nas células gástricas. Sua aderência ao epitélio gástrico favorece a colonização e contribui para sua patogenicidade (PRINZ et al., 2001; LADEIRA et al., 2003).

Outro gene de virulência descrito foi a *induced by contact with epithelium (iceA)*, existem dois alelos *iceA1* e *iceA2*. A função do *iceA1* não está muito clara mais está associada à úlcera péptica e ao câncer gástrico. O gene de *neutrophils-activating protein (HP-NAP)* do *H. pylori* induz aderência de neutrófilos às células endoteliais e estimula a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio pelos neutrófilos (ROMANIUK et al., 1987; SATIN et al., 2000).

Métodos de diagnósticos de *H. pylori*

O diagnóstico da infecção por *H. pylori* pode realizar-se recorrendo a métodos invasivos através da biópsia gástrica obtida por endoscopia digestiva alta ou por meio de métodos não invasivos onde há detecção indireta da bactéria. Os métodos invasivos são o teste da urease, histológico e cultura. Já os métodos não-invasivos são o teste respiratório da uréia marcada com ^{13}C e ^{14}C , detecção de antígenos nas fezes, sorológico, hibridização *in situ*. Métodos baseados na estratégia de PCR têm sido utilizados para detectar *H. pylori* e podem ser invasivos ou não-invasivos, dependendo do tipo de amostra coletada (amostras de biópsia gástrica, saliva, placa dental e fezes). Entre os métodos não invasivos o mais utilizado é o teste rápido da uréia marcada (ROTA et al., 2001; RICCI et al., 2007; BARBOSA & SHINONNI, 2011).

Para o diagnóstico mais acurado da infecção, tem sido recomendado o uso de, pelo menos, dois métodos sendo um invasivo e outro não invasivo. É necessário, também, que os testes não-invasivos seja validado para a população a ser avaliada (BITTENCOURT et al., 2006).

Métodos convencionais de detecção de *H. pylori*

Teste da uréia

O estômago apresenta pH ácido, impedindo a bactéria de colonizar e causar uma infecção, dessa forma a *H. pylori* expressa altos níveis da enzima urease, que catalisa a hidrólise da uréia resultando na produção de amônia e bicarbonato, que neutraliza o pH do estômago protegendo da acidez. O teste da urease detecta a produção de amônia o qual eleva o pH do meio, sendo que esta reação é detectada pela mudança de cor no indicador de pH de amarelo para rosa, que significa uma reação positiva (Figura 3) (MURRAY et al., 2006; GRAHAM & QURESHIWA, 2001 citado por PACHECO & ANUNCIAÇÃO, 2007; BARBOSA, 2011).

O teste da urease apresenta tem como vantagem ser rápido para obtenção dos resultados, custo acessível e um método simples em relação aos outros. (SILVA et al., 2007).

Sorologia

O método sorologia pode ser utilizado isolado ou combinado ao teste de antígenos. A infecção por *H. pylori* estimula uma reação imune humoral que persiste como resultado da exposição contínua às bactérias. Anticorpos IgM aparecem inicialmente na doença e os anticorpos IgG e IgA surgem logo após o IgM, e podem persistir por meses ou anos. Os anticorpos IgG específicos contra o *H. pylori* podem ser detectados pelo método de ELISA (*Enzyme linked immunorbent assay*) um sistema que envolve a detecção do imunocomplexo fixo em um suporte, usando um anticorpo conjugado a uma enzima. Outro teste descrito para identificação de *H. pylori* é o teste de aglutinação em látex ou aglutinação passiva, o anticorpo anti-*H. pylori* é ligado artificialmente a uma partícula de látex quando o antígeno se liga ao anticorpo ligado ao látex ocorre à aglutinação, que é visível a olho nu (LOGAN & WALKER, 2001; MURRAY et al., 2006; SANTOS et al., 2008).

Também temos os testes imunocromatográfico para a detecção rápida e qualitativa de anticorpos IgG, IgA e IgM específicos para a *H. pylori* em soro humano, plasma ou sangue total. O teste se baseia na tecnologia de ponta de “sandwich” de duplo antígeno (HEXAGON®).

O método sorológico apresenta uma limitação, após a erradicação da infecção causada por *H. pylori* o teste ainda apresenta positivo. Outra desvantagem apresentada por este método é que não permite a avaliação da eficácia terapêutica na medida em que o título de anticorpos diminui muito lentamente. A vantagem é o baixo custo sendo este método bastante utilizado no diagnóstico (RICCI et al., 2007).

Cultura

A *H. pylori* pode ser cultivada apenas em atmosfera de microaerofilia, em ágar sangue, ágar-chocolate e em meio enriquecido com nutrientes específicos como, hemina ou carvão, na temperatura de 37°C e pH neutro. A bactéria desenvolve lentamente e necessita de 3 a 4 dias de crescimento. Em cultura a bactéria espiralada apresenta sob a forma de pequenas colônias (cerca de 1 mm) e translúcidas. As provas de oxidase, catalase e urease são positivas (MURRAY et al., 2006; KUSTERS et al., 2006 citado por COELHO & RAMOS, 2013).

A cultura permite a determinação da resistência da bactéria aos antibióticos. Outra vantagem da cultura é a possibilidade de comparar as cepas isoladas de diferentes pacientes ou de um mesmo paciente com intervalos de tempo diferentes. A desvantagem é o alto custo, baixa disponibilidade e ao longo tempo necessário para sua realização (3 a 6 dias) (FERREIRA & SOUSA, 2006).

Teste da respiração com uréia marcada

É um método qualitativo para o diagnóstico da *H. pylori* que se baseia na atividade ureasica, onde o paciente após ingestão de uma solução de uréia marcada com ^{13}C ou ^{14}C é hidrolisada pela urease produzida pela bactéria presente na mucosa gástrica liberando amônia e dióxido de carbono marcado. Este último é em seguida difundido através da mucosa gástrica para a circulação geral e eliminado pelo ar expirado. A detecção de ^{13}CO e ^{14}C é detectada utilizando um equipamento complexo e oneroso como a espectrometria de massa, de raios infravermelhos e laser (DUARTE et al., 2001 citado por SILVA et al., 2007 ; RICCI et al., 2007).

Uma desvantagem desse método são os inibidores da bomba protônica, agonista dos receptores H2 e antibióticos que podem induzir resultados falso-negativos, sendo prudente sua suspensão uma e quatro semanas, respectivamente, antes da realização do teste (DRUMM et al., 2000 citado por BENTO et al., 2012).

Histológico

O exame histológico permite a observação direta de *H. pylori* e, ao mesmo tempo, fornece informações sobre a morfologia tecidual. Os métodos de coloração usados para visualizar *H. pylori* são hematoxilina-eosina, o corante de prata Whartin-Starry, Gram, Azul de metileno, Gram e o corante Giemsa (BROWN & PEURA, 1993). O diagnóstico histológico obtido da biópsia é o estudo ouro para avaliar a extensão do dano ao tecido gástrico ocasionado pela bactéria (BARBOSA & SHINONNI, 2011).

A coloração de prata de Warthin-Starry, inicialmente desenvolvida para a detecção de espiroquetas em cortes histológicos permite a visualização da *H. pylori* em forma de bastonete corado de preto. Estudos comparando a sensibilidade desta coloração e a sensibilidade da coloração hematoxilina/eosina mostraram que a primeira é mais sensível. Alguns autores demonstraram que a coloração de Giemsa menos

laboriosa e de custo inferior, possui uma eficácia idêntica à Warthin-Starry (GRAY et al., 1986 citado por FERREIRA & SOUSA, 2006).

Pesquisa de antígeno fecal

O teste baseia-se na utilização de anticorpos monoclonais ou policlonais para detecção de antígenos do *H. pylori* nas fezes. Pode utilizar os teste ELISA ou uma técnica imunocromatográfica que permite o diagnóstico da infecção (LOGAN & WALKER, 2001; MALFERTHEINER et al., 2012 citado por COELHO & RAMOS, 2013).

Além de seu carácter não invasivo, a facilidade e a rapidez de execução constituem vantagens adicionais deste método. A sua precisão é satisfatória mesmo em situações de avaliação pós-terapêutica (RICCI et al., 2007).

Diagnósticos moleculares de detecção de *H. pylori*

Os estudos genéticos moleculares utilizam uma variedade de técnicas para analisar os ácidos nucleicos (DNA e RNA). Dentre estas técnicas se destacam a técnica de hibridização e técnicas de amplificação de alvos-específicos (MOLINA & TOBO, 2004).

Uma das maiores conquistas das ciências biológicas no século XX foi o desenvolvimento da Biologia Molecular, que tem por objetivo investigar a genética molecular de todos os organismos, inclusive o humano por meio da identificação de mutações ou alterações genéticas que são frequentemente causa de doenças (WREDE, 2007; VALONES et al., 2009).

Na área das doenças infecciosas, a detecção rápida de microrganismos de crescimento lento, ou daqueles não cultiváveis, se tornou possível através das técnicas de biologia molecular resultando um grande avanço na área da medicina. A disponibilidade dos métodos moleculares tornou possível a determinação de resistência antimicrobiana, monitoramento de doenças através da quantificação do microrganismo e determinação do genótipo de espécies (LINSCOTT, 2002; MOLINA & TOBO, 2004).

Durante o ano de 1994 a 2014, houve um aumento progressivo no número de publicações a respeito da PCR aplicado ao diagnóstico de *H. pylori*, devido à suas vantagens e grande dispersão nos laboratórios, demonstrando o ganho de importância da

técnica. Para comparação o número de publicações envolvendo PCR esta representado no Gráfico 1.

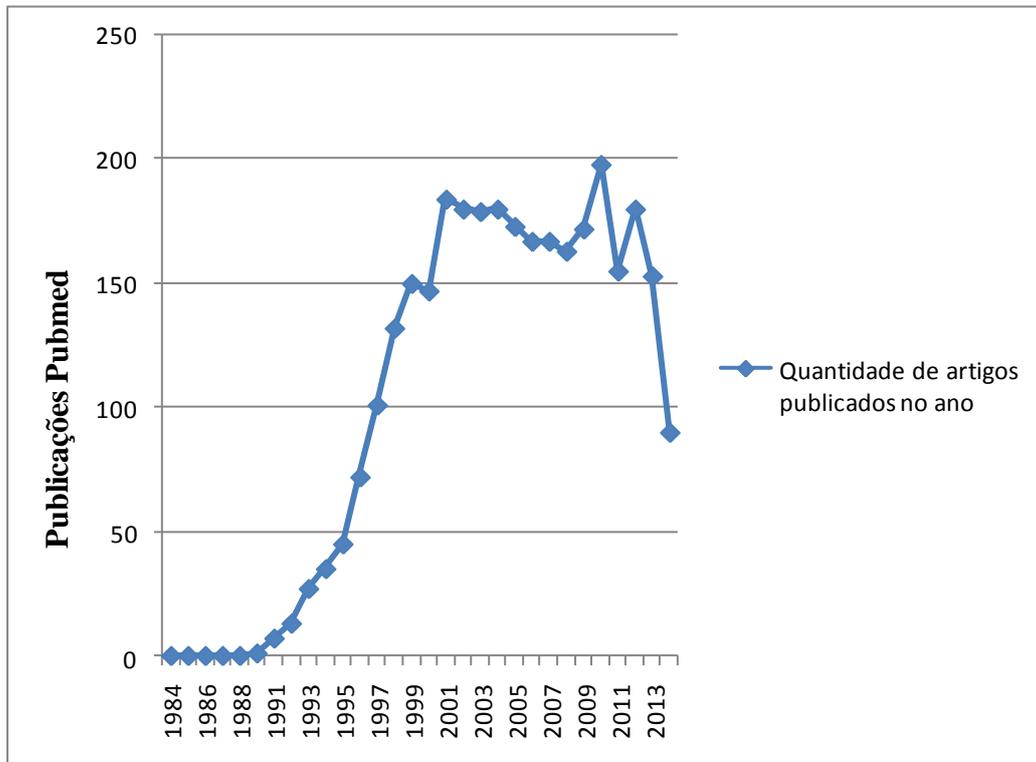


Gráfico 1: Número de publicações envolvendo a técnica de PCR aplicada ao diagnóstico de *H. pylori* no Pubmed do NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) período de 1984 à 2014.

Quando analisamos o método teste da uréia, *urea breath testing* (UBT), histológico, cultura, detecção de antígenos nas fezes e sorológico comparando com o método molecular, foi possível observar que a sensibilidade da PCR varia entre 61,5-100% e a especificidade de 72-100% (Gráfico 2) (LAINE et al., 1997; BONAMIGO et al., 1999; ORNELLAS et al., 2000; LOGAN & WALKER, 2001; GOMES et al., 2002; PORTERREAL, 2002; CASTRO et al., 2004; CHATTOPADHYAY et al., 2004; JÚNIOR et al., 2004; KAWAKAMI et al., 2004; MONCAYO et al., 2006; CUNHA & AREIAS, 2010; WGO, 2010; BRUDEN, 2011; LONGO et al., 2011; KAZEMI et al., 2011; RAMIS et al., 2012; COELHO & RAMOS, 2013; KANNA et al., 2013; KIM et al., 2013; OU et al., 2013; HUANG & LEE, 2014; KAYA et al., 2007; RUPARELIA et al., 2013; POURAKBARI et al., 2013; PANDYA et al., 2013).

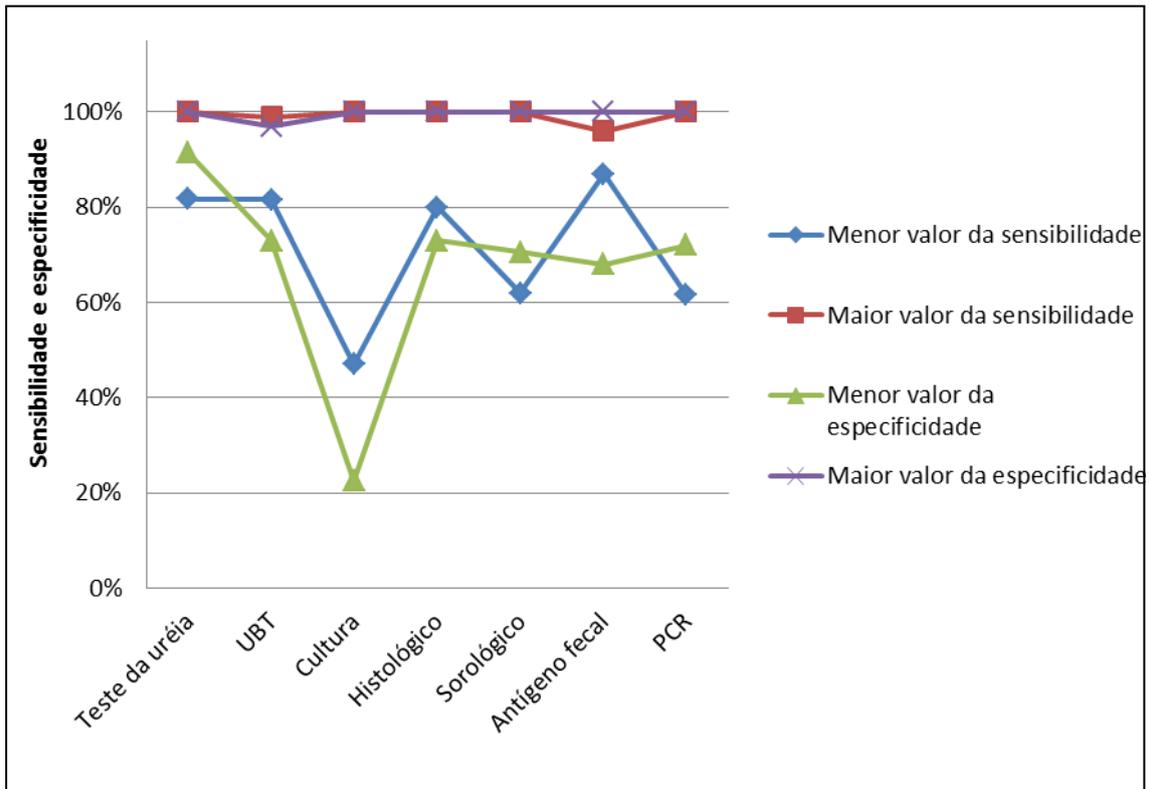


Gráfico 2: Sensibilidade e especificidade dos métodos de diagnóstico na detecção de *H. pylori*.

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Em 1984, Kary Mullis e colaboradores desenvolveram a técnica de PCR para amplificação de DNA, onde rapidamente foi adaptada para detectar uma variedade de agentes infecciosos (KHOT & FREDRICKS, 2009).

A amplificação pela PCR é baseada na multiplicação exponencial, *in vitro*, de um fragmento de DNA por uma DNA polimerase termoestável, em um processo repetitivo de aquecimento e resfriamento (30 a 40 vezes) (ARROYO-SANCHEZ, 1996 citado por MONTENEGRO et al., 2002).

As moléculas lineares de DNA são separadas de acordo com seu tamanho quando submetidas a um campo elétrico, através de uma matriz de gel, um material poroso e inerte, semelhante a uma gelatina. Como o DNA tem carga negativa, quando submetido a um campo elétrico ele migrará através do gel em direção ao pólo positivo. Os poros da matriz “peneiram” as moléculas de DNA de acordo com seu volume: as moléculas grandes migram lentamente através do gel, porque tem um volume efetivo maior do que os segmentos de DNA menores e, assim, apresentam uma dificuldade maior para passar através do interstício do gel. Em seguida as moléculas de DNA

podem ser visualizadas corando-se o gel com corantes fluorescentes, como o brometo de etídeo, que se liga ao DNA e se intercala entre as bases empilhadas (Figura 1) (WATSON et al., 2006).

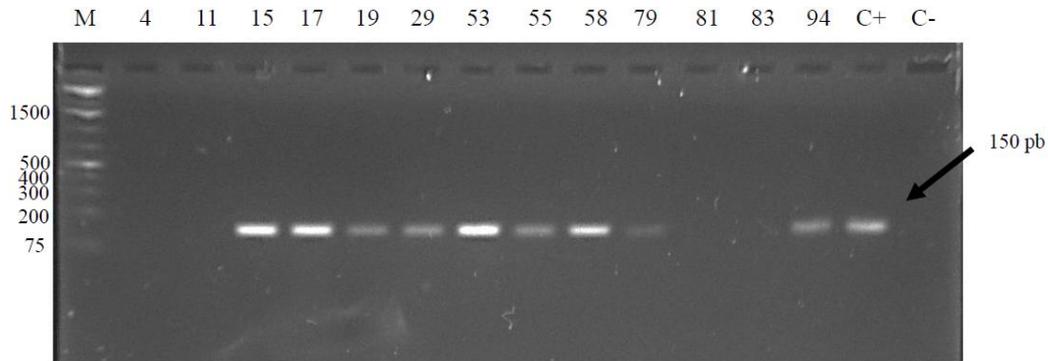


Figura 1 - Fotografia do gel de agarose 1,6% corado com brometo de etídeo. Fonte: NEVOA & BARBOSA, 2014.

A PCR por se tratar de um método rápido e sensível possibilitou uma nova era para o diagnóstico laboratorial rápido na detecção de *H. Pylori* embora ainda não tenha substituído as análises microbiológicas no diagnóstico laboratorial de rotina. Outra aplicação da PCR, potencialmente interessante, é a detecção da resistência microbiana aos antibióticos. (RUPARELIA et al., 2013; SILVA et al., 2007).

Reverse Transcription-PCR (RT-PCR)

É uma variação da técnica de PCR, cujo molde inicial é o RNA mensageiro, transcrito por meio da enzima transcriptase reversa para um DNA complementar (cDNA). A partir do cDNA, segue-se a reação de amplificação por PCR, formando-se múltiplas fitas duplas de DNA (LOPES, 2006).

A técnica de RT-PCR é amplamente utilizada quando se deseja analisar a expressão de um determinado gene em um processo patológico ou em um processo fisiológico. É um método sensível e específico para a detecção da expressão de genes *in vivo* e contribui para a acuracidade do diagnóstico e compreensão da patogênese da infecção (ROSSETTI et al., 2006; LOPES, 2006).

PCR em tempo real quantitativa (qRT-PCR)

A PCR em tempo real, também conhecida como PCR quantitativa ou PCR em tempo real quantitativa ou simplesmente qPCR ou qRT-PCR, foi descrita pela primeira vez em 1993, por Higuchi e seus colaboradores. Montaram um sistema ao qual acoplaram uma câmara de vídeo, de modo a monitorizar a PCR durante todos os ciclos (HIGUCHI *et al.*, 1993).

A possibilidade de monitorar a PCR em tempo real revolucionou o processo de quantificação de fragmentos de DNA e RNA com a introdução de fluorocromos ou de sondas fluorescentes de maneira precisa e com maior reprodutibilidade, porque determina valores durante a fase exponencial da reação tornando-o mais eficiente, rápida e segura (NOVAIS *et al.*, 2004; KUBISTA *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2008).

A PCR em tempo real é dotada de uma grande sensibilidade e especificidade, rapidez de obtenção de resultados o que aliado à sua capacidade de detecção de mutações responsáveis pela resistência dos microrganismos aos antibióticos faz com que esta técnica seja a metodologia do futuro no diagnóstico das doenças infecciosas (SILVA *et al.*, 2007).

Multiplex PCR

PCR multiplex é uma reação em que várias regiões diferentes de DNA são amplificadas ao mesmo tempo e no mesmo tubo, devido à utilização simultânea de vários pares de *primers* específicos para todos os loci a ser identificado. Foi desenvolvida com os objetivos de diminuir o custo da reação e aumentar a velocidade do diagnóstico (ROSSETTI *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2008).

A técnica permite uma detecção rápida de *H. pylori*, com o uso dos genótipos *vacA* e *cagA* de amostras de biópsia gástrica, esta técnica não necessita de cultura de cepas ou extração de DNA a partir de amostras de biópsia gástrica, com isso se torna uma valiosa ferramenta de diagnóstico (CHATTOPADHYAY *et al.*, 2004).

Fluorescência hibridização *in situ*

Outra técnica molecular é a hibridização que é um peptídeo de fluorescência de ácido nucléico de hibridização *in situ* (PNA-FISH), o qual se utiliza biópsia gástrica. Esta técnica permite a visualização direta e específica de *H. pylori*. Sua desvantagem consiste no fato de ser uma laboriosa que exige muito trabalho e possui um alto custo, sendo assim, essa é uma prática pouco viável nas clínicas (TAJBAKSHI et al., 2008; CERQUEIRA et al., 2013; GARZA-GONZÁLEZ et al., 2014).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diagnóstico da infecção por *H. pylori* pode ser feito por meio de cultivos microbiológicos, análises histológicas, teste da respiração marcada com ^{13}C e ^{14}C , teste da urease, testes sorológicos, detecção de anticorpos em amostras de fezes e métodos moleculares. Os métodos de diagnóstico utilizam procedimentos invasivos para obtenção de amostras gástricas através da endoscopia, mas métodos não invasivos também podem ser utilizados para detecção de *H. pylori* como amostras de saliva, placa dental e fezes. Os métodos utilizados para a detecção de *H. pylori* apresentam variações que devem ser avaliadas para um diagnóstico ideal, como tempo, custo, sensibilidade e especificidade.

A presença de *H. pylori* foi avaliada em Guangzhou, China utilizando vários métodos de diagnósticos, o estudo foi realizado em 138 crianças com gastrite, sendo que o teste rápido da urease mostrou uma sensibilidade e especificidade de 92,1% e 90,0%, respectivamente. O teste respiratório da uréia marcada com ^{13}C mostrou uma sensibilidade de 81,6% e especificidade de 97,0%. O método histológico apresentou uma sensibilidade de 92,1% e especificidade de 100%. A qPCR foi utilizada para analisar amostras obtidas por métodos invasivos e não invasivos. Na detecção a partir das amostras de fluido gástrico teve uma sensibilidade e especificidade de 84,2% e 78,9%, respectivamente, já na análise da placa dental a sensibilidade e especificidade foram de 100%. No presente trabalho a PCR mostrou ser um método bastante sensível e específico para detecção de *H. pylori* quando comparados aos outros métodos, além de apresentar uma vantagem de se poder utilizar amostras obtidas de maneira não invasiva (OU et al., 2013).

Pourakbari et al., (2013) realizou um estudo em 89 pacientes, 61 adultos e 28 crianças em Tehran no Iran, no presente estudo foi comparando o teste da urease, sorológico, histológico, detecção de anticorpos presentes nas fezes com a PCR. Correlacionando os métodos com a PCR, o método histológico apresentou uma sensibilidade de 100% e especificidade de 90% em ambos os grupos, a sensibilidade do teste da urease foi de 100% e 94% de especificidade em adultos e crianças. O sorológico (ELISA) apresentou uma sensibilidade de 29% e especificidade de 91% em crianças e a sensibilidade e em adultos foi de 62% e 80% de especificidade. A detecção dos anticorpos fecais apresentou sensibilidade de 87,8% e 75% de especificidade.

Chattopadhyay e colaboradores, (2004) realizaram um estudo na Índia com 87 pacientes apresentando problemas gástricos e 3 indivíduos saudáveis. Foi realizado o teste da urease e a cultura comparando com a PCR multiplex. O teste da urease apresentou uma sensibilidade de 95,3% e especificidade de 91,5% e a cultura mostrou uma sensibilidade de 100% e especificidade de 91,8% em relação a PCR *multiplex*.

A sensibilidade do método depende do o número de biópsias coletadas, a densidade da bactéria presente em cada biópsia, à presença de *H. pylori* contaminando o material endoscópico e a presença de outros microrganismos além da bactéria pesquisada. A contaminação esta também ligada a sensibilidade e especificidade, que pode acontecer durante a manipulação das amostras e reagentes durante a execução da técnica molecular. Produtos inespecíficos são amplificados, sobretudo devido à alta sensibilidade da técnica, resultados falso-positivos na PCR podem ocorrer devido à contaminação da amostra por produtos de amplificação anterior ou desinfecção inadequada de materiais utilizados como pipetas (RIBEIRO et al., 2004; CÉSAR et al., 2005; RAMIS et al., 2012).

Como exposto anteriormente, para a detecção de *H. pylori* vários métodos estão disponíveis, e a seleção da melhor prova diagnóstica deve considerar aspectos como sensibilidade, especificidade, condição clínica, disponibilidade e custo, dessa maneira vários estudos foram realizados no intuito de comparar e correlacionar a detecção de *H. pylori* por diversos métodos, sendo eles invasivos ou não.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, J. A.; SCHINONNI, M. I. *Helicobacter pylori*: Associação com o câncer gástrico e novas descobertas sobre os fatores de virulência. **Revista de ciências médicas e biológicas**: Salvador, v. 10, n. 3, p. 254-262, set./dez. 2011.
- BENTO, B. P.; COELHO, F. F.; QUEIROZ.; OLIVEIRA, S. A.; STORTI, A. *Helicobacter pylori*. Fernandópolis- SP, 2012. 50 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia). Fundação Educacional de Fernandópolis, Faculdades Integradas de Fernandópolis.
- BITTENCOURT, P. F. S.; ROCHA, G. A; PENNA, F. J.; QUEIROZ, D. M. M. Gastrointestinal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. **J. Pediatría**: Rio de Janeiro, v. 82, p. 325-334. 2006.
- BLASER, M. J.; BERG, D. E. *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. **J. Clin. Invest.**, v. 107, n. 7, p. 767-773, 2001.
- BONAMIGO, R. R.; LEITE, C. S. M. BAKOS, L. Estudo sobre a associação entre *Helicobacter pylori* e urticária crônica idiopática. **Rev. Ass. Med. Brasil**: Porto Alegre, v. 45, n. 1, p. 9-14. 1999.
- BROWN, K. E.; PEURA, D. A. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterol Clin. North. Am.**, v. 22, p. 105-115, 1993.
- BRUDEN, D. L.; BRUCE, M. G.; MIERNYK, K. M.; MORRIS, J.; HURLBURT, D.; HENNESSY, T. W.; PETERS, H.; SACCO, F.; PARKINSON, A. J.; MCMAHON, B. J. Diagnostic accuracy of tests for *Helicobacter pylori* in Alaska native population. **World J. Gastroenterol.**, v. 17, n. 42, p. 4682-4688., Nov. 2011.
- CASTRO, A. P. W.; GOMES, A. T. B.; PODOVAN, G. J.; OLIVEIRA, R. B.; MARCHINI. Urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori* using a stable isotope (¹³C). **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 40, n. 2, p. 63-67. 2004.
- CERQUEIRA, L.; FERNANDES, R. M.; FERREIRA, R. M.; OLEASTRO, M.; CARNEIRO, F.; BRADÃO, C.; PIMENTEL, P. N.; RIBEIRO, M. D.; FIGUEIREDO, C.; KEEVIL, C. W.; VIEIRA, J. M.; AZEVEDO, F. N. Validation of a Fluorescence In Situ Hybridization Method Using Peptide Nucleic Acid Probes for Detection of *Helicobacter pylori* Clarithromycin resistance in Gastric Biopsy Specimens. **Journal Clinical Microbiology**: Portugal, v.51, n. 6, p. 1887-1893, apr. 2013.
- CÉSAR, A. C. G.; CURY, P. M.; PAYÃO, S. L. M.; LIBERATORE, P. R.; SILVA, A. E. Comparison of histological and molecular diagnosis of *Helicobacter pylori* in benign lesions and gastric adenocarcinoma. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 36, p. 12-16. 2005.
- CHATTOPADHYAY, S.; PATRA, R.; RAMAMUTHY, T.; CHOWDHURY, A.; SANTRA, A.; DHALI, K. G.; BHATTACHARYA, K. S.; BERG, E. D.; NAIR, B. G.; MUKHOPADHYAY, A. K. Multiplex PCR assay for rapid detection and genotyping of *Helicobacter pylori* directly from biopsy specimens. **Journal Clinical microbiology**: India, v. 42, n. 6, p. 2821-2824, jun. 2004.

COELHO, L. G.; MAGUINILK, I.; ZATERKA, S.; PARENTE, J. M.; PASSOS, M. C. F.; MORALES-FILHO, J. P. P. *Helicobacter pylori*. As infecções de *Helicobacter*. Dispepsia Consenso. 3º Consenso Brasileiro de *Helicobacter pylori*: Minas gerais. 2004.

COELHO, F. M. M. C.; RAMOS, R. M. M. *Helicobacter pylori*: **Eficácia da terapêutica**. Covilhã, 2013. 60 p. Dissertação (Mestrado em Medicina). Universidade de Beira Interior, Ciências da Saúde.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, E. L. **Patologia estrutural e funcional**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2000.

CUNHA, A. R. B.; AREIAS, J. A. A. P. **Cancro gástrico e *Helicobacter pylori***. Porto: 2010. 27 p. Dissertação (Mestrado em Medicina). Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.

DUNN, B. E.; COHEN, H.; BLASER, M. J. *Helicobacter pylori*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, p. 720-741, 1997.

ENDOCS-HP®TEST. Inglaterra: Cambridge Life Sciences Ltd. Nov. 2005. Bula de kit.

EVERHART, J. E. Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. **Journal Gastroenterol Clinical North American**, [S.l.], v 29, n. 23, p. 559, 2000.

FERRERO, R.L.; KANSAU, I. N.; LABIGNE, A. Virulence factors produced by *H. pylori*. In: ERNST, P. B.; MICHETTI, P.; SMITH, P. D. **The Immunobiology of *H. pylori*: from pathogenesis to prevention**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997.

FERREIRA, F. R.; PROLLA, G. Terapia combinada no câncer de estômago. In:____. **Tratamento combinado em oncologia**. Porto Alegre: Artmed, 2007, p. 51.

FERREIRA, L. I. D. S.; SOUSA, J. C. **Diagnóstico laboratorial da Infecção por *Helicobacter pylori***. Porto, 2006. 73 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Análises Clínicas em Saúde Pública). Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências da Saúde, Porto.

FILHO, B. G.; PITELLA, H. E. J.; PEREIRA, L. E. F.; BAMBIRRA, A. E.; BARBOSA, A. J. A. **Bogliolo patologia**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1994.

GRAHAM, D. Y. Benefits from elimination of *Helicobacter pylori* infection include major reduction in the incidence of peptic ulcer disease, gastric cancer, and primary gastric lymphoma. **Preventive Medicine**, [S.l.], v. 23, p. 712-716, 1994.

GRAHAM, D. Y.; KLEIN, P. D.; OPEKUN, A. R.; BOUTOON, T. W. - Effect of age on the frequency of active *Campylobacter pylori* infection diagnosed by the ¹³C-urea breath test in normal subjects and patients with peptic ulcer disease. **J. Infect Dis.**, [S.l.], v. 157, p. 777-780, 1988.

GOMES, A. T. B.; COELHO, L. K.; SECAF, M.; MÓDENA, J. L. P.; TROCON, L. E. A.; OLIVEIRA, R. B. Accuracy of the 14C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. **São Paulo Med. J.**, v. 120, n. 3, p. 68-71. 2002.

GUIMARÃES, J.; CORVELO, T. C.; BARILE, K. A. *Helicobacter pylori*: fatores relacionados à sua patogênese. **Revista Paraense de Medicina**, v. 22, n. 1, p. 33-38, 2008.

HARRIS, P. R.; COVER, T. L.; CROWE, D. R.; ORENSTEIN, J. M.; GRAHAM, M. F.; BLASER, M. J.; SMITH, P. D.; *Helicobacter pylori* Cytotoxin Induces Vacuolation of Primary Human Mucosal Epithelial Cell. **Infect. Immun**, v. 64, p. 4867-4871, 1996.

HAZZEL, S. L.; LEE, A.; BRADY, L.; HENNESSY, W. *Campylobacter pylori* and gastritis: Association with intercellular spaces and adaption to an environment of mucus as important factors in colonization of gastric epithelium. **J. Infect. Dis.**, v. 153, n. 4, p. 658-663, 1986.

HELITO, S. A.; KAUFFMAN, P. **Saúde: Entendendo as doenças, a enciclopédia medica da família**. São Paulo: Nobel, 2007.

HEXAGON *H. pylori*. Resp. Téc. Patrícia C. C. Vilela. Alemanha: In Vitro Diagnóstico Ltda, 2010. Bula de kit.

HIGUCHI, R.; FOCKLER, C.; DOLLINGER, G.; WATSON, R. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. **Bio/Technology: USA**, v. 11, p. 1026-1030, set. 1993.

HUANG, T.; LEE, C. Diagnosis, treatment, and outcome in patients with bleeding peptic ulcers and *Helicobacter pylori* infections. **BioMed Research International**, p. 1-10. 2014.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Estimativas da incidência por Câncer no Brasil para o ano 2010**. Rio de Janeiro: INCA: 2009/2010. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/estimativa_2010_incidencia_cancer.pdf. Acesso em: 01 de junho de 2014.

JENKS, P. J.; KUSTERS, J. G. Pathogenesis and virulence of *Helicobacter pylori*. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, [S.l.], v. 16, n. 1, p. 11-18, 2000.

JÚNIOR, A. F.; PAYÃO, S. L. M.; QUEIROZ, V. F.; ELLINGER, F.; SILVA, L. C.; THEREZO, A. L. S.; GATTI, L.; BARBIERI, D.; PERES, C. A. Detecção gástrica de *Helicobacter pylori* em pacientes pediátricos sintomáticos através da reação em cadeia de polimerase (PCR), teste de urease e exame histológico. **Pediatria: São Paulo**, v. 26, n. 1, p. 34-42. 2004.

JUNQUEIRA, U. C. L.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KANNA, S.; MARADEY-ROMERO, C.; FASS, R. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology & Endoscopy News**. p. 1-8, Ago. 2013.

KAWAKAMI, E.; MACHADO, R. S.; FONSECA, J. A.; PATRÍCIO, F. R. S. Aspectos clínicos e histológicos da úlcera duodenal em crianças e adolescentes. **Journal de Pediatria: Rio de Janeiro**, v. 80, n. 4, p. 321-325. 2004.

KAYA, A. D.; ÖZTÜRK, C. E.; AKCAN, Y.; BEHÇET, M.; KARAKOÇ, E.; YÜCEL, M. MISIRLIOĞLU, M.; TUNCER, S. Prevalence of *Helicobacter pylori* in Symptomatic patients and detection of clarithromycin resistance using melting curve analysis. **Current Therapeutic Research**, v. 68, n. 3, May/June. 2007.

KAZEMI, S.; TAVAKKOLI, HABIZADEH, EMAMI, M. H. Diagnostic values of *Helicobacter pylori* diagnostic test: stool antigen test, urea breath test, rapid urease test, serology and histology. **J. Res. Med. Sci.**, v. 16, n. 9, p. 1097-1104, Sep. 2011.

KHOT, P. D.; FRIEDRICKS, D. N. Pcr-based diagnosis of human fungal infections. **Expert rev anti infect ther.** [S.l.], v. 7, n. 10, p. 1201-1221, 2009.

KODAIRA, M. S.; ESCOBAR, A. U.; GRISI, S. Aspectos epidemiológicos do *Helicobacter pylori* na infância e adolescência. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 356-369, jun. 2002.

KUBISTA, M.; ANDRADE, J. M.; BENGTSSON, M.; JONÁK, J.; LIND, K.; SINDELKA, R.; SJÖBACK, R.; SJÖBACK, B.; STRÖMBOM, L.; STAÅHLBERG, A.; ZORIC, N. The real-time polymerase chain reaction. **Mol. Aspects Med.**, v. 27, n. 2-3, p. 95-125, Apr-Jun. 2006.

LADEIRA, P. S. M.; SALVADORI, F. M. D.; RODRIGUES, M. A. M. Biopatologia de *Helicobacter pylori*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**: Rio de Janeiro, v 39 p. 335-342, 2003.

LAINE, L.; LEWIN, D. N.; NARITOKU, W.; COHEN, H. Prospectiva comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. **Gastrointest. Endosc.**, v. 45, n. 6, p. 463-467. 1997.

LEHOURS, P.; YILMAZ, O. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, França, v. 12. suppl.1, p. 1-3, 2007.

LOGAN, R. P. H.; WALKER, M. M. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **BMJ**, v. 323, p. 920-922, October. 2001.

LOPES, C. A. **Diagnóstico e tratamento**. v. 2. São Paulo: Manole, 2006.

LINSCOTT, A. J. Molecular diagnostics for infections disease. **Pathol Case Rev.**, v. 7, n. 2, p. 64-69. 2002.

MISZPUTEN, S. J. **Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar: Gastroenterologia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2007.

MITCHELL, A.; SILVA, T. M.; BARRETT, L. J.; LIMA, A. A.; GUERRANT, R. L. Age-specific *Helicobacter pylori* seropositivity rates of children in an impoverished urban area of northeast Brazil. **Journal Clinical Microbiology**: Brasil, v. 41, n. 3, p. 1326-1328, mar. 2003.

MONCAYO, J. I.; SANTACRUZ, J. J.; ÁLVAREZ, A. L.; FRANCO, B.; LÓPEZ, M. A.; ÁNGEL, A.; GALLEGÓ, M. L.; SERRANO, H. Comparación de métodos diagnósticos em La infección por *Helicobacter pylori* en Quindío, Colombia. **Colombia Médica**, v. 37, n. 3, p. 203-2012. 2006.

- MONTENEGRO, L. M. L.; SCHINDLER, H. C.; ABATH, F. G. C. **Desenvolvimento de novas abordagens moleculares baseadas em PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) para a detecção gênero-específica de *Plasmodium***. Recife, 2002. 86 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco.
- MOREIRA, A. M. A.; COUTINHO, J. **Linfoma MALT gástrico e infecção por *Helicobacter pylori***. Porto, 2009. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto. 41 p.
- MURRAY, R. P.; ROSENTHAL, S. K.; PFALLER, A. M. **Microbiologia médica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.
- NEVOA, J. C.; BARBOSA, M. S. **Detecção molecular de *Helicobacter pylori* e comparação com o teste rápido da urease em Rio Verde-Goiás**. Jataí-Goiás, 2014. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biomedicina). Universidade Federal de Goiás.
- OPLUSTIL, P. C.; ZOCCOLI, M. C.; TOBOUTI, R. N.; SINTO, I. S. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2004.
- ORNELLAS, L. C.; CURY, M. S.; LIMA, V. M.; FERRARI JR, A. P. Avaliação do teste rápido da urease conservado em geladeira. **Arq. Gastroenterol.**, v. 37, n. 3, Jul/Set. 2000.
- OU, Z.; XIONG, L.; LI, D.; GENG, L.; LI, L.; CHEN, P.; YANG, M.; ZENG, Y.; ZHOU, Z.; XIA, H.; GONG, S. Evaluation of a new fluorescence quantitative PCR test for diagnosing *Helicobacter pylori* infection in children. **BMC Gastroenterology**, v. 13, n. 7, p. 1-6. 2013.
- PACHECO, J. B. P.; ANUNCIACÃO, C. E. **Detecção molecular de *Helicobacter pylori* e correlação com exame histopatológico e teste de urease**. 2007, 7 p. Dissertação (Mestrado em Biologia). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás.
- PARENTE, J. M. L.; PARENTE, M. P. D. Contexto epidemiológico atual da infecção por *Helicobacter pylori*. **GED gastroenterol. Endosc.dig**: Teresinha, v. 29, n. 3, p. 86-89, 2010.
- PASTERNAK, J. J. **Genética molecular humana: Mecanismos de Doenças hereditárias**. 1 ed. São Paulo: Manole, 2002.
- PEEK, R. M; BLASER, M. J; MAYS, D. J. *Helicobacter pylori* Strain-specific genotypes and modulation of the gastric epithelial cell cycle. **Cancer Res**, v. 59, p. 6124-6131, December. 1999.
- POURAKBARI, B.; GHAZI, M.; MAHMOUDI, S.; MAMISHI, S.; AZHDARKOSH, H.; NAJAFI, M.; KAZEMI, B.; SALAVATI, A.; MIRSALEHIAN, A. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by invasive and noninvasive tests. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 795-798. 2013.

PRINZ, C.; SCHÖNIGER, M.; RAD, R.; BECKER, I.; KEIDITSCH, E.; WAGENPFEIL, S.; CLASSEN, M.; RÖSCH, T.; SCHEPP, W.; GERHARD, M. Key importance of the *Helicobacter pylori* adherence factor blood group antigen binding adhesin during gastric inflammation. **Cancer Res.**: Alemanha, v. 61, p. 1903-1909, mar. 2001.

QUAKAA-KCHAOU, A.; ELLOUMI, H.; GARGOURI, D.; KHARRAT, J.; GHORBEL, A. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. **Tunis Med.**, [S.l.], v. 88, n. 7, p. 459-461, jul. 2010.

RAMIS, B. I.; MORAES, E. P.; FERNANDES, M. S.; MENDOZA-SASSI, R.; RODRIGUES, O.; JULIANO, C. R. V.; SCAINI, C. J.; SILVA, P. E. A. Evaluation of diagnostic methods for the detection of *Helicobacter pylori* in Gastric biopsy specimens of patients. **Brazilian Journal of Microbiology**: Brazil, p. 903-908. 2012.

RIBEIRO, M. L.; GODOY, P. O.; BENVENGO, H. B.; ECCLISSÁTO, C.; MENDONÇA, S.; PEDRAZZOLI Jr, J. **Arc. Gastroenterol.**, v.42, n 2., p. 100-103. 2004.

RICCI, C; HOLTON, J; VAIRA, D. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: Invasive and non Invasive tests. **Best Practice Reserch Clinical Gastroentererology**, v. 21, n. 2, p. 299-313. 2007.

ROMANIUK, P. J.; ZOLTOWSKA, B.; TRUST, J. T.; LANE, J. D.; OLSEN, J. G.; PACE, R. N.; STAHL, A. D. *Campylobacter pylori*, the spiral bacterium associated with human gastritis, is not a true *Campylobacter* sp. **Journal of Bacteriology**: Illinois, v. 169, n. 5, p. 2137-2141, 1987.

ROTA, C.A.; PEREIRA-LIMA, J. C.; BLAYA, C.; NARDI, N. B. Consensus and variable region PCR analysis of *Helicobacter pylori* 3`region of cagA gene in isolates from individuals with or without peptic ulcer. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 2, p. 606-612, Feb. 2001

ROSSETTI, M. L.; SILVA, D. M. C.; RODRIGUES, S. J. J. **Doenças Infecciosas: Diagnóstico Molecular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 236 p.

RUBIN, E.; GORSTEIN, F. **Patologia bases clínico patológicas da medicina**. 4 ed. Rio de janeiro: Guanabara koogan, 2006, p. 1625.

RUMACK, M. C.; STEPHANIE, R.; WILSON, J.; CHARBONEAU, W. **Tratado de ultra-sonografia diagnóstica**. 3 ed. Rio de janeiro: Elsevier, 2006.

RUPARELIA, R. J.; SODAGAR, R. N.; PATEL, S. J.; PANDYA, B. H.; SINGH, R. N.; NAIK, B. K.; PRAJAPATI, B. H. Comparison of Conventional Diagnostic Modalities with PCR for Detection of *Helicobacter pylori* Infection in Symptomatic Patients. **Asian Journal of Medical and Pharmaceutical Researches**, India, v. 3, n. 4, p. 105-110, 2013.

SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D. **Introdução à virologia humana**. 2º edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 532 p.

SATIN, B.; DEL GIUDICE, G.; BIANCA, D. V.; DUSI, S.; LAUDANNA, C.; TONELLO, F.; KELLEHER, D.; RAPPUOLI, R.; MONTECUCCO, C.; ROSSI, F. The

neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a protective antigen and a major virulence factor. **J. Exp. Med.**: Itália, v. 191, n. 9, p. 1467-1476, maio. 2000.

SIAVOSHI, F.; SALMANIAN, A. H.; KBARI, F. A.; MALEKZADEH, R.; MASSARRAT, S. Detection of *Helicobacter pylori*-specific genes in the oral yeast. **Helicobacter**, [S.l.], v. 10, n. 4, p. 318-322, ago.2005.

SILVA, M. F.; RAMOS, J.; PELERITO, A.; MONTEIRO, L. O potencial da PCR em tempo real no diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori*. **Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde**, v. 4, n. 1, p. 89-99, Maio. 2007.

TAJBAKSHI, S.; SAMARBAF-ZADEH, A. R.; MOOSAVIAN, M.; Comparison of fluorescent in situ hybridization and histological method for the diagnosis of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy samples. **Med Sci Monit.**, [S.l.], v. 14, n. 9, p. 183-187, 2008.

TEIXEIRA, R. M. J. Câncer gástrico. In:____.**Oncologia básica**. 1 ed. Teresina, PI: Fundação Quixote, p. 114, 2012.

TELFORD, J. L.; GHIARA, P.; DELL-URCO, M.; COMANDUCCI, M.; BURRONI, D.; BUGNOLLI, M.; TECCE, M. F.; CENSINI, S.; COVACCI, A.; XIANG, Z.; PAPINI, E.; MONTECUCCO, C.; PARENTE, L.; RAPPUOLI, R. Gene structure of the *Helicobacter pylori* cytotoxin and evidence of its key Role in gastric Disease. **J. Exp.Med**, v. 179, p. 1653-1658, 1994.

TONELLI, E.; FREIRE, L. M. S. **Doenças Infecciosas na Infância e Adolescência**. São Paulo: Medsi, 2000, p. 656-657.

VALONES, M. A. A.; GUIMARÃES, R. L.; BRANDÃO, L. A. C.; DE SOUZA, P. R. E.; CARVALHO, A. A. T.; CROVELA, S. Principles and Applications of Polymerase Chain Reaction in Medical Diagnostic Fields: A Review. **Brazilian Journal Of Microbiology**: Brasil, v. 40, p. 1-11, fev. 2009.

VANDAMME, P.; FALSEN, E.; ROSSAU, R.; HOSTE, B.; SEGERS, P.; TYTGAT, T.; DE LEY, J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v. 41, n. 1, p. 88-103, 1991.

VOET, D.; VOET, J. G. **Bioquímica**. 3 ed.Porto Alegre: Artmed, 2006. p. 455.

WARREN, J. R; MARSHALL B. J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. **Lancet**, v. 1, p. 1311-1315, 1984.

WATSON, J. D.; BLAKER, T. A.; BELL, S. P.; GANN, A.; LEVINE, M.; LOSICK, R. **Biologia Molecular do Gene**. São Paulo: Artmed editora AS, 2006. p. 648.

WEEKS, D. L.; SACHS, G. Sites of pH regulation of the urea channel of *Helicobacter pylori*. **Mol. Microbiol.**, [S.l.], v. 40, n. 6, p. 1249-1259, jun. 2001.

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANIZATION. **Helicobacter pylori nos países em desenvolvimento**. p. 6. 2010.

WREDE, P. Molecular biology: Self-sustaining chemistry. **Chemistry Central Journal**: Germany, v. 1, n. 25, p. 1-3, October. 2007.

LEGISLAÇÃO E USO DE SERINGAS E AGULHAS DESCARTÁVEIS.

*Núbia Aguiar Marinho*¹

*Mônica de Oliveira Santos*²

INJEÇÕES E INDICAÇÕES

Considera-se injeção a introdução percutânea de substância medicinal, líquido ou nutriente no corpo. Pode ser feita geralmente por agulha e seringa, mas também por injetores de pressão, pensos transdérmicos, micro agulhas, e outros dispositivos mais modernos. As injeções são geralmente classificadas segundo o tecido a qual serão utilizadas, sendo, por exemplo, intradérmicas, subcutâneas, intramusculares, intravenosas, intraósseas, intra-arteriais, peritoneais entre outros.

Os cuidados humanos no âmbito da prevenção, diagnóstico e tratamento utilizam de exames, procedimentos e medicamentos que necessitam do uso de seringas e agulhas. Portanto é fundamental o contínuo estudo e aperfeiçoamento das técnicas de injetáveis, do treinamento técnico de profissionais da saúde, bem como do próprio material a ser utilizado buscando conforto, segurança e eficiência.

LEGISLAÇÃO E REUTILIZAÇÃO DE SERINGAS E AGULHAS

A seringa foi criada por Charles Pravaz e Alexander Wood em 1853 e a agulha oca por Francis Rynd em 1844. Desde então vários médicos e cientistas trabalharam no desenvolvimento desses protótipos. Em 1930, no mercado americano já existiam seringas de vidro a venda no comércio. A revolução veio então em 1961 quando a empresa BD[®] lançou sua linha de seringas descartáveis.

No Brasil, o uso de seringas reutilizáveis de vidro só caiu em desuso na década de 80 com o advento da recomendação da Organização Mundial de Saúde (OMS) devido aos crescentes casos de contaminação com o vírus HIV.

¹Enfermeira (UnB) e Especialista em Unidade de Terapia Intensiva (PUC); ² Bióloga (UEG), Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular (UFG); Doutorado em Patologia Molecular (UnB).

Após várias reuniões de colegiado e consulta pública a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) liberou as Portaria nº 03 e 04, de 07 de fevereiro de 1986 indicando o uso de seringas e agulhas descartáveis em todos os procedimentos básicos e hospitalares no território nacional. Em 1996 a Lei 9.273 foi decretada, proibindo a reutilização de seringas e agulhas em aplicações e, depois que os primeiros casos de Aids foram noticiados, os hospitais e estabelecimentos farmacêuticos passaram a utilizar os descartáveis de forma definitiva.

Ainda existem seringas de vidro reutilizáveis em uso no Brasil. Áreas médica e odontológica utilizam as seringas de vidro modelo luer lock® e luer slip® ou semelhante nos procedimentos de alta precisão, como aplicações de anestésias. Unidades de Saúde, Hospitais e Clínicas utilizam seringas de vidro reutilizáveis na suspensão e homogeneização de medicamentos.

O reprocessamento de materiais destinados a uso único existe em diversas partes do mundo, inclusive em países desenvolvidos. Estima-se que são gastos anualmente na Europa cerca de 72,6 bilhões de euros em produtos descartáveis e de uso único. Países como USA; Canadá; Austrália, Alemanha, Inglaterra e Suécia ainda autorizam o reuso de materiais de uso único. No Canadá, a prática de reprocessamento e reuso de materiais ainda existe em 28% dos hospitais. As principais justificativas são a diminuição de gastos; falta de recursos financeiros; dificuldades culturais e morais para descartar um produto que aparentemente está íntegro; não disponibilidade de produtos novos, entre outros.

RISCOS DA REUTILIZAÇÃO DE SERINGAS AGULHAS

Vários trabalhos publicados alertam sobre o risco da reutilização de seringas. Segundo dados da OMS, injeções não seguras matam cerca de 1,3 milhões de pessoas. Felizmente, a conscientização crescente das vantagens do uso de seringas descartáveis simples ou de segurança vem aumentando e seu custo de produção vem diminuindo.

Injeções perigosas podem resultar na transmissão de ampla variedade de agentes patogênicos, inclusive vírus, bactérias, fungos e parasitas. Podem também causar eventos adversos tais como abscessos, necroses e reações tóxicas, entre outros. A reutilização de seringas ou agulhas, comum em muitas situações, expõe os pacientes a

agentes patogênicos, quer diretamente (via equipamento contaminado), quer indiretamente (via vasilhame médico contaminado, mãos contaminadas).

Os riscos provenientes de práticas de injeção perigosas já estão bem documentados para os três agentes patogênicos transmitido pelo sangue: vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus da hepatite B (VHB) e vírus da hepatite C (VHC). Esses agentes patogênicos transmitidos pelo sangue contribuem também para uma proporção estimada de 4,4% das infecções por HIV e 39% das infecções por VHB e VHC atribuídas a lesões ocupacionais.

Entre profissionais de saúde suscetíveis que não recebem profilaxia pós-exposição (PPE), o risco de infecção devida a lesão por picada de agulha é de 23-62% para VHB e 0-7% para VHC. As infecções podem ser também transmitidas (a outros profissionais de saúde e a pacientes) devido à contaminação cruzada das mãos de pessoal da saúde, de medicamentos, equipamento e dispositivos clínicos ou de superfícies ambientais. Técnicas de injeção e procedimentos adequados contribuem, portanto, para a segurança tanto do paciente como do profissional de saúde e sua equipe.

Estudos mostram o efeito na redução de até 50% no custo pelo reprocessamento de materiais médicos considerados de uso único, muitos autores a consideram uma prática alternativa e de fator econômico relevante. No entanto, o risco de infecção e de outras complicações não justifica a adoção dessa medida. O reprocessamento pode afetar o produto nos aspectos mecânico, térmico e químico, comprometendo seu efetivo desempenho. O produto reprocessado deve ser equivalente em segurança ao fornecido pelo fabricante, o que significa que o paciente não pode ser exposto a qualquer tipo de risco.

O uso de produtos reprocessados apresenta risco potencial em relação à limpeza inadequada, desinfecção e/ou esterilização, que podem resultar em contaminação química ou microbiológica. Há evidências de que a utilização de produtos reprocessados está relacionada à transmissão de doenças virais e de doenças provocadas por agentes não convencionais (Doença de Creutzfeldt Jakob). Após se estudar diferentes produtos reprocessados, 11% dos itens apresentavam algum tipo de avaria, o que compromete a segurança de seu uso.

Segundo um estudo de 2014, cerca de 1,7 milhão de pessoas foram contaminadas pelo vírus da hepatite B, 315 mil pelo vírus da hepatite C e 33,8 mil pelo

HIV por causa de injeções reutilizadas ou compartilhadas. A cada ano, são aplicadas 16 bilhões de injeções, 90% das quais utilizadas para administrar medicamentos. Nestes casos, avisa a OMS, os remédios podem ser substituídos por pílulas contribuindo significativamente para a redução das contaminações.

Sobre o reprocessamento de materiais médicos de uso único no Brasil, a ANVISA, fez a Consulta Pública nº 98, de 2001, propondo normas para reprocessamento seguro de artigos de uso único. Em 2005, a Audiência Pública da ANVISA apresentou proposta aos representantes de órgãos governamentais, conselhos de classe, sociedades civis e setores regulamentadores, além de especialistas da área. Em fevereiro de 2006, pelas resoluções da ANVISA em RDC nº 30 e RE nº 515, definiu-se critérios para reprocessamento de materiais, com regras claras para a reutilização daqueles que apresentam possibilidade de reaproveitamento. Posteriormente, o assunto foi revisto pela ANVISA, em observação à legislação sanitária, com edição de três novas resoluções, a RDC 156 (trata do rótulo e do registro dos produtos), a RE 2605 (atualiza a lista de produtos médicos cujo reprocessamento não é permitido) e a RE 2606 (traz diretrizes para construção dos protocolos), publicadas no Diário Oficial.

Segundo a RE 2605, nos itens 1 e 57 são proibidos no Brasil a reutilização de agulhas com componentes plásticos não desmontáveis e seringas de plástico, corroborando com a Lei 9.273/96.

O CUSTO COM SERINGAS E AGULHAS DESCARTÁVEIS

O Brasil produz apenas 30% dos materiais médico-hospitalares de uso único, incluindo seringas e agulhas além disso, os gastos com a importação desses materiais sofrem a flutuação do câmbio internacional da moeda estrangeira. Uma seringa com agulha custa entre R\$ 0,18 e R\$ 0,75 ou mais dependendo do tamanho e características. Estima-se que o Brasil gastou cerca de 314,6 milhões de dólares importando mais de 5,5 bilhões de unidades de seringas com agulhas no período de janeiro de 2005 a junho 2015 (Tabela 1).

Dados de importação de seringas e agulhas descartáveis pelo Brasil.

Período	US\$ FOB*	Peso Líquido (kg)	Unidades
01/2005 até 12/2005	5.410.602	616.556	57.102.252
01/2006 até 12/2006	9.982.173	2.110.742	227.509.517
01/2007 até 12/2007	16.413.185	3.300.364	334.285.220
01/2008 até 12/2008	21.717.718	4.622.283	515.269.892
01/2009 até 12/2009	27.149.889	5.665.032	656.132.239
01/2010 até 12/2010	33.418.611	4.394.279	578.167.711
01/2011 até 12/2011	60.174.147	9.584.655	1.036.967.598
01/2012 até 12/2012	39.966.407	5.199.394	551.761.123
01/2013 até 12/2013	41.741.753	5.817.534	686.836.096
01/2014 até 12/2014	43.325.400	5.797.345	690.512.024
01/2015 até 06/2015	15.305.696	2.169.095	258.701.060
Total	314.605.581	49.277.279	5.593.244.732

Fonte: Dados de importação brasileira disponível em <http://alicesweb.mdic.gov.br/>. Acesso em julho de 2015. *Sigla para tipo de frete onde o comprador assume todos os riscos e custos com o transporte da mercadoria.

As importações de seringas e agulhas tem se mantido crescente. Em 2010 foi intensificada ações de prevenção de várias doenças contagiosas no Brasil, sendo 2011 o ano de maior investimento em prevenções nas últimas décadas, corroborando para uma elevação das importações de materiais para as campanhas de vacinação, sobretudo de seringas e agulhas.

AS VANTAGENS DAS SERINGAS DESCARTÁVEIS E DE SEGURANÇA

O custo do uso de seringas descartáveis é significativo para o sistema de saúde, mais ainda o custo da seringa de segurança, que em comparação ao custo das comuns tem um acréscimo de 17 a 26% do valor por unidade. Entretanto, seringas de segurança podem reduzir o risco de práticas não seguras de injeção sobretudo quando eliminam a possibilidade de reutilização da seringa e agulha. Segundo a OMS, os gastos associados com às práticas de injeção não segura, com transmissão de doenças é consideravelmente mais elevado do que o gasto com a prevenção da doença. A OMS faz projeções onde o

investimento com a prevenção de doenças consiga diminuir em 61% os gastos com agravos em saúde.

Além disso, devemos observar que a prevenção traz benefícios diversos, inclusive melhorando a logística funcional. Quanto menos doentes, menos hospitais, ou pelo menos hospitais mais vazios. Menor custo com procedimentos e exames de alto custo entre outros. Diminuindo a sobrecarga de clínicas e hospitais é ainda possível investir em qualidade de atendimento e melhor capacitação do quadro de profissionais. Outro aspecto é o custo com indenizações a pacientes e profissionais da saúde contaminados no ambiente clínico-hospitalar por acidente com injetáveis.

REFERÊNCIAS

ARMITAGE, W. J.; TULLO, A. B.; IRONSIDE, J. W. Risk of Creutzfeldt-Jakob disease transmission by ocular surgery and tissue transplantation. *Eye*, v. 23, p. 1926-1930, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT-NBR 7864: Seringa hipodérmica estéril para uso único. Rio de Janeiro, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT-NBR 7886-1: Seringa hipodérmica estéril para uso único – Parte 1: Seringa para uso manual. Rio de Janeiro, 2011.

BRASIL. Ministério da Justiça. Presidência da República. Casa Civil. Código de Proteção e Defesa do Consumidor. Lei 8.078, de 11 de setembro de 1990. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/CCIVIL_03/leis/L8078.htm. Acesso em: 26 mai. 2015.

BRASIL. Ministério da Justiça. Presidência da República. Casa Civil. Lei 9.273, de 3 de maio de 1996. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9273.htm. Acesso em: 28 mai. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). PORTARIA Nº 485, de 11 de novembro de 2005. Brasília, 2005. Disponível em: <http://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/legislacao/item/portaria-n-485-de-11-de-novembro-de-2005>. Acesso em: 29 mai. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria N. 04 de 7 de fevereiro de 1986. Brasília, 1986. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B6781-1-0%5D.PDF>. Acesso em: 29 mai. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC nº185, de 22 de outubro de 2001. Brasília, 2001. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a4f076804745973a9f83df3fbc4c6735/rdc_185.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em: 29 mai. 2015.

BRASIL. Departamento de Informática do SUS (DATASUS). Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=01>. Acesso em 11 jul. 2015.

BRASIL. Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior (SISCOMEX). Disponível em: <http://aliceweb.mdic.gov.br/>. Acesso em 10 jul. 2015.

COELLO, R. et al. Device-related sources of bacteraemia in English hospitals: opportunities for the prevention of hospital-acquired bacteraemia. **Journal of Hospital Infection**. v. 53, n. 1, p. 46–57, 2003.

FERNANDES, C. R. et al. Brazilian Society of Anesthesiology Recommendations for safety in regional anesthesia. **Revista Brasileira Anestesiologia**. v. 61, n.5, p. 679-694. 2011.

FERNANDES, C. R. et al. Reuse of single use medical devices in Canada: clinical and economic outcomes, legal and ethical issues, and current hospital practice. **International Journal of Technology Assessment in Health Care**. v24, n. 4, p. 430-436. 2008.

HUTIN, Y. J., HAURI, A. M., ARMSTRONG, G. L. Use of injections in healthcare settings worldwide, 2000: literature review and regional estimates. In: **British Medical Journal**, v. 327, n. 7423, p. 1075. 2003, Disponível em: <http://www.who.int/bulletin/volumes/81/7/en/Hutin0703.pdf>. Acesso em: 29 jun. 2015.

JACOBS, P. et al. Economic analysis of reprocessing single-use medical devices: a systematic literature review. **Infection Control Hospital Epidemiology**. v. 29, p. 297-301, 2008.

KRAFT, M. Framework conditions and requirements to ensure the technical functional safety of reprocessed medical devices. **GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär**. v. 3, n. 3, doc. 23, 2008.

KRAMER, A.; ASSADIAN, O. Ethical and hygiene aspects of the reprocessing of medical devices in Germany. **GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär**. v. 3, n. 3, doc. 25, 2008.

PAILY, R. **Perinephric abscess from insulin syringe reuse**. American journal of the medical sciences. v. 327, n. 1, p. 47-48, 2004.

PERIÓDICOS. BD/Periódicos. São Paulo. Disponível em: <http://www.bd.com/brasil/periodicos.asp>. Acesso em: 20, 21 e 23 abr. 2015.

POLISENA, J. et al. Reprocessing and reuse of single-use medical devices: a national survey of Canadian acute care hospitals. **Infection Control & Hospital Epidemiology**. v. 29, p. 437-439, 2008.

POPP, W. et al. What is the use? An international look at reuse of single-use medical devices. **International journal of hygiene and environmental health**. v. 213, n. 4, p. 302-307, 2010.

PRATT, R. J. et al. The epic Project: Developing National Evidence-based Guidelines for Preventing Healthcare associated Infections. **Journal of Hospital Infection**. v. 47, 2001.

REVISTA MÃO BOA. São Paulo: BD/Brasil. vs. 10, 13, 30, 33 e 34, 2011. Disponível em: http://www.bd.com/brasil/periodicos/mao_boa_p.asp. Acesso em 30 abr. 2015.

WARD, V. et al. Preventing hospital-acquired infection: clinical guidelines. **Public Health Laboratory Service**, v. 1, 1997.

WILBURN, S.; EIJKEMANS, G. Protecting health workers from occupational exposure to HIV, hepatitis, and other bloodborne pathogens: from research to practice. **Asian-Pacific Newsletter on Occupational Health and Safety**. v. 13 p. 8-12, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Injection Practices: Rapid Assessment And Response Guide. Geneva, 2002. Disponível em: http://www.who.int/injection_safety/toolbox/RARG.pdf. Acesso em: 23 mar. 2015.

DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)

*Flávyo Augustho Moraes Leite**

*Cleiciane Vieira de Lima Barros**

*Sabrina Fonseca Ingênilo Moreira Dantas**

INTRODUÇÃO

No início da década de oitenta surgiram os primeiros casos da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), ao longo dos anos esta patologia vêm sendo estudada e discutida em muitos países como o objetivo de promover ações que melhorem a qualidade de vida dos portadores desta doença (OMS, 2012).

Para compreender o que é patológico deve-se primeiramente aprender o que é fisiológico, sendo assim, primeiramente será abordado um breve histórico da doença, relatando a fisiologia da mesma, ou seja, o que é, quais são as formas de diagnóstico, qual é o melhor tratamento para cada paciente, como as drogas agem no organismo e quais as complicações referentes ao quadro clínico do paciente e a forma de prevenção.

Sabe-se que a AIDS têm sua origem desconhecida, mas acredita-se que em primatas não-humanos o vírus da imunodeficiência símia (SIV) pode ao ser transmitido para o homem, através do contato com o sangue infectado, ter sofrido uma mutação para o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV). Este vírus promove a depleção das células CD4, que são células responsáveis por coordenar as ações do sistema imunológico frente a qualquer organismo não proveniente dele. Verifica-se que geralmente os portadores do HIV apresentam vários sintomas dentre eles destaca-se, febre persistente, dor de cabeça, manchas na pele, gânglios ou ínguas em baixo do braço, pescoço e virilha (SOUTO, 2008).

*União das Faculdades Alfredo Nasser, Instituto de Ciências da Saúde (ICS-UNIFAN)

Apesar da constante evolução no tratamento da AIDS, não existe nenhum medicamento capaz de promover a cura, porém existem tratamentos capazes de promover o bem estar físico, psíquico e social. O paciente soropositivo que adere ao tratamento apresenta uma melhor qualidade de vida e aceitação pessoal, quando aderir ao tratamento e seguir todas as orientações médicas (KLEIN et al., 2013).

Por se tratar de uma patologia que pode levar ao óbito, o objetivo desta revisão é ressaltar a importância do diagnóstico precoce realizado com qualidade, eficiência, e que segue todas as leis e portarias que regem as Unidades de Saúde (Portaria N°488/98 e Portaria SVS/MS nº 151). Este trabalho visa relatar aos laboratórios e profissionais que realizam o diagnóstico para HIV a importância de seguir corretamente o protocolo para casos de negatividade ou positividade confirmada. Antes de liberar um laudo positivo, deve-se verificar todo o histórico do paciente, e realizar exames confirmatórios.

METODOLOGIA

O estudo foi feito por meio de pesquisa bibliográfica, com levantamentos de dados através de livros, artigos, publicações em revistas científicas e dissertações. A pesquisa bibliográfica terá uma abordagem metodológica exploratória, proporcionando maior conhecimento sobre o tema proposto, uma vez que a pesquisa qualitativa exploratória facilita a compreensão do assunto e permite o aprofundamento do conhecimento relativo aos aspectos considerados relevantes ao assunto pesquisado. A coleta de dados para este trabalho foi realizada na biblioteca da Faculdade Alfredo Nasser localizada na cidade de Aparecida de Goiânia – GO, além de uma busca em bases de dados virtuais em saúde, como BIREME, MEDLINE e SCIELO.

REFERENCIAL TEÓRICO

A Doença

A infecção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um dos mais sérios problemas de saúde da atualidade. Teve início a partir de culturas diferentes, na qual o ser humano entrou em contato direto com o sangue de chimpanzés infectados pelo vírus SIV, que sofreu mutação ao infectar o organismo humano e passou a se chamar de HIV (GARCIA, 2006).

A existência do vírus SIV só foi confirmada em 1999, com o estudo na chimpanzé fêmea Marilyn. Através de testes genéticos confirmou o vírus não causa patologia em chimpanzé, mas ao entrar em contato com o ser humano sofre mutações e causa diversos sintomas (OMS, 2012).

Este patógeno pode levar à AIDS. Esta síndrome se manifesta quando há uma alta taxa de replicação do HIV no organismo, quando chega a este estágio da doença qualquer microrganismo pode infectar e causar sérios danos celulares, estas infecções são classificadas de oportunistas e podem levar a óbito (BRASIL, 2009).

As principais formas de transmissão são pelas vias sexuais, vertical e sanguínea. Na qual a principal patogenia do vírus é destruir e desregular o sistema imunológico, onde deixa o portador incapaz de realizar uma resposta imune competente a outros microrganismos (SOUTO, 2008).

Um dos principais sistemas do ser humano é o imunológico, constituído por órgãos, células e moléculas, nele encontra-se a função de reconhecer e combater agentes agressores ao organismo. Entre estas células encontra-se os linfócitos T (responsáveis pela imunidade celular) e linfócitos B (responsáveis pela imunidade humoral). Destaca-se entre estes linfócitos, o linfócito CD4, que tem como principal função a alerta ao sistema imune contra agentes invasores, mas no processo de infecção pelo HIV, o vírus ao se replicar rapidamente, interage com esta célula e provoca uma diminuição de sua síntese e conseqüentemente um enfraquecimento da resposta imunológica e leva o paciente soropositivo a uma maior vulnerabilidade às outras infecções denominadas de infecções oportunistas (SOGHOIAN et al., 2012).

No momento da exposição e infecção inicial, o HIV começa a fase aguda da replicação viral nas células mononucleares e nos linfonodos locais e prossegue para a corrente sanguínea. O antígeno p24 é um importante marcador desta fase, o qual contém uma proteína de 24 kilodaltons do nucleocapsídeo do HIV-1 (ELISA, 2013).

Principais manifestações clínicas

É comum que logo após a infecção o paciente não desenvolva a sintomatologia da doença (assintomático), mas pode ser que ele desenvolva doenças agudas associadas ao HIV, como a mononucleose infecciosa que após o período de 2 á 6 semanas ela se desenvolve ocasionando febre, faringite, exantema, cefaléia e mal-estar, dentre os quais predomina-se a faringite, erupção macular na face, hepatoesplenomegalia e

linfadenopatia generalizada. Sendo que durante a fase aguda pode ser imperceptível os anticorpos anti-HIV. A fase sintomática por HIV é marcado pelas disfunções imunológicas progressivas nas quais envolvem, febre persistente, perda de peso, eczema, sudorese noturna, psoríase, diarreia crônica inexplicada, dermatite seborréica, herpes zooster, leucoplaquia pilosa oral e candidíase oral (prognóstico de evolução para AIDS) (CROWE et al., 2004).

Na AIDS as manifestações clínicas são definidas pelo *Centers for Disease Clinical and Prevention* (CDC - Centro para Controle e Prevenção de Doenças), na qual inclui infecções oportunistas e cânceres, síndrome de debilitação induzida pelo HIV, encefalopatia relacionada ao HIV, tuberculose pulmonar, câncer cervical invasivo, pneumonia bacteriana recorrente, infecções oportunistas (criptococose disseminada, toxoplasmose, doença micobacteriana, infecção disseminada por citomegalovírus, histoplasmose, infecção crônica e ulcerativa pelo vírus do herpes simples, pneumonite e meningite criptocócica) e dentre os cânceres destaca-se o sarcoma de Kaposi (doença ocasionada pelo herpesvírus, HIV-8, que afeta os endotélios e o estroma mesenquimatoso). Sendo que na fase avançada relata-se o aumento da disfunção imunológica gerando um quadro de linfomas de células B de alto grau e que se tornam resistentes à terapia (CROWE, et al 2004).

Diagnóstico

Para que estas dificuldades relacionadas às regiões sejam sanadas é necessário ressaltar a importância do diagnóstico precoce, pois a partir do diagnóstico pode-se proporcionar um tratamento antiviral eficaz impedindo a transmissão do HIV e diminuir drasticamente o efeito das outras doenças consideradas oportunistas, com medidas preventivas, cuidados médicos e recursos terapêuticos adequados para cada problemática apresentada (KAWAHATA et al., 2013).

Mas, este diagnóstico precoce nem sempre é acessível à população, ou seja, em países considerados desenvolvidos as taxas de morbidade de pacientes soropositivos é relativamente baixa, enquanto em países subdesenvolvidos ocorre o inverso, onde há carência de investimentos tanto do poder público quanto da população, o que gera altas taxas de morbidade por infecções não consideradas oportunistas (DÌEZ, 2011).

Atualmente, existem portarias que regem todas as unidades de saúde, que devem ser cumpridas a fim de sanar e controlar a disseminação do vírus. As vigentes são:

Portaria 488/98 e Portaria SVS/MS N° 151, onde nela encontram-se todos os procedimentos adequados e todas as formas de liberação de laudos sorológicos.

A Portaria 488/98 do MS relata de forma simplificada o conjunto de técnicas e orientações que deverão ser seguidas de forma obrigatória a fim de minimizar erros de resultados falso-positivos e falso-negativos e maximizar o grau de confiabilidade do laudo sorológico. Nelas são descritas três etapas distintas onde a primeira etapa é a triagem sorológica com testes que possibilitem a detecção de anti-HIV1 e anti-HIV2, a segunda etapa é a confirmação sorológica pelo teste de Imunofluorescência Indireta para HIV-1 e a terceira etapa é a confirmação sorológica pelo teste de *Western Blot* para HIV-1, sendo que se a amostra for indeterminada em todas as etapas deve-se submeter aos testes que detectam anti-HIV2 (OMS, 2009).

A Portaria SVS/MS N° 151 é a vigente atualmente, se difere um pouco da Portaria 488/98 em algumas etapas que serão descritas posteriormente, o objetivo desta portaria é criar alternativas para ampliação do acesso ao diagnóstico da infecção pelo HIV atendendo aos princípios de universalidade, equidade e integralidade do Sistema Único de Saúde (SUS), assegurar o teste rápido em casos especiais e tornar-se obrigatória todas as etapas, tanto em laboratórios públicos quanto em privados (SVS, 2009).

A etapa I é a triagem sorológica, nesta fase são definidas as metodologias que podem ser utilizadas, ensaio imunoenzimático (ELISA), ensaio imunoenzimático de micropartículas (MEIA), ensaio imunológico com revelação quimioluminescente e suas derivações (EQL), ensaio imunológico fluorescente ligado à enzima (ELFA), ensaio imunológico quimioluminescente magnético (CMIA) e testes rápidos como imunocromatografia, aglutinação de partículas em látex ou imunoconcentração. Os resultados desta etapa são interpretados como amostras não reagente a qualquer um destes testes e o laudo será liberado como amostra não reagente para HIV. As amostras positivas a qualquer um dos testes será submetida a etapa II, as amostra indeterminadas em qualquer um dos testes não terá seu resultado definido e será necessário coletar uma nova amostra para repetir o teste, caso persista em ser indeterminada é liberado o laudo amostra indeterminada para HIV. A utilização dos testes rápidos nesta etapa detecta anticorpos anti-HIV1 incluindo o grupo O e anticorpo anti-HIV2, se o resultado for positivo, deve-se pedir uma nova amostra imediatamente para a realização da segunda etapa, vale ressaltar que em todos os exames de HIV o laudo laboratorial deve

constar a seguinte frase, em caso de suspeita de infecção pelo HIV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra (OLIVEIRA, 2009).

A etapa II é a complementar nesta fase e as metodologias utilizadas são imunofluorescência indireta (IFI), *imunoblot* (IB), *imunoblot* rápido (IBR), *Western Blot* (WB) e outras metodologias registradas na ANVISA. Para a liberação dos laudos desta etapa deve-se analisar o conjunto dos resultados obtidos na etapa I e II, as amostra reagentes nas duas etapas devem ser liberadas como amostra reagente para HIV. Sendo que no laudo laboratorial deve constar a frase, para comprovação do diagnóstico laboratorial, uma segunda amostra deverá ser coletada e submetida à etapa I do fluxograma mínimo para o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses. A responsabilidade de solicitar ao médico uma segunda amostra é do profissional responsável pelo atendimento do paciente no laboratório, caso a segunda amostra solicitada for reagente deve-se liberar, amostra reagente para HIV, sendo que no laudo laboratorial constará a frase, resultado definido com a segunda amostra, conforme estabelecido pela Portaria SVS/MS Nº151. Amostra com resultados discordantes ou indeterminados entre as duas etapas serão liberados como amostra indeterminada para HIV, e uma nova amostra deverá ser colhida e submetida ao fluxograma mínimo para o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 meses, caso o resultado persista indeterminado sugere-se que realize testes moleculares de DNA e/ou RNA a fim de auxiliar na definição do diagnóstico, se houver persistência o paciente deverá ser submetidos a exames de detecção de anti-HIV2 (OLIVEIRA, 2009).

O laudo deverá ser legível, sem rasuras na sua transcrição, escrito em língua portuguesa, datado e assinado por um profissional devidamente registrado no seu conselho, constar o resultado final como reagente, não reagente ou indeterminado para HIV, todos os testes utilizados. Em caso de resultado reagente o laudo deverá ter o resultado numérico da amostra, o ponto de corte (*cut-off*) e a unidade de medição do método utilizado, e o resultado de todas as bandas no caso de WB, IB e IBR (OMS, 2009).

Para uma melhor compreensão de alguns exames cita-se os principais pontos e métodos utilizados para o HIV. O método ELISA é um dos mais utilizados, por ser 99% sensível e específico que os demais testes, quando há dois resultados positivos para HIV é necessário a realização de testes confirmatórios por outros métodos, quando o resultado é negativo não é necessário a realização de teste confirmatório. A IFI é um dos

testes confirmatórios após dois resultados positivos de ELISA, onde a positividade deste exame tem valor preditivo próximo a 100% (PREISER et al., 2006).

O WB é um teste confirmatório mais específico e menos sensível do que o ELISA, pois nele somente é considerado positivo quando se é detectado dois ou mais anticorpos contra o HIV. Nos testes rápidos entra a necessidade de um diagnóstico imediato, neles encontramos 99,9% de especificidade e 99,6% de sensibilidade, é utilizado mais em gestantes, exposições ocupacionais e serviços de emergência, quando forem positivos há a necessidade de confirmação por testes mais específicos como ELISA (BUTTO et al., 2004).

O antígeno p24 é útil no diagnóstico da infecção aguda pelo HIV, neste teste a sensibilidade dependerá do estágio da doença. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) qualitativa utiliza-se a detecção do DNA - viral, onde tem sensibilidade de 91% e especificidade de 99%. A PCR quantitativa se torna útil na infecção aguda pelo HIV a fim de prever a progressão em pacientes com infecção crônica e para monitorização terapêutica. As dosagens da carga viral utilizam-se a quantificação da concentração de vírus presente no sangue periférico e em outros tecidos pela medida do RNA viral (ALVES et al., 2002).

Achados laboratoriais

Os achados laboratoriais para os pacientes soropositivos se definem definitivamente pelos exames imunológicos. Os resultados são perceptíveis quando os níveis de linfócitos CD4 estão abaixo de 200 células/ μ L de sangue, esta depleção é igual em todos os estágios da infecção, porém há diferenças quando está relacionada a outras infecções, por exemplo, paciente com Sarcoma de Kaposi apresenta contagem de células CD4 maiores do que pacientes que apresentam infecções oportunistas. A contagem de células CD4 determina a progressão para a AIDS, fornece a diretriz quanto ao risco de infecções oportunistas e neoplasias malignas. Quando relacionam-se CD4:CD8 os valores são invertidos devido primeiramente a depleção, mas pode ser invertida quando estão relacionadas a outras infecções. Outro achado laboratorial são as respostas anormais de hipersensibilidade tardia que no início da infecção por HIV apresenta-se normal e vai decaindo ou se torna ausente na doença avançada (CROWE et al., 2004).

Quanto às respostas dos linfócitos T citotóxicos, CD8, e a atividade das células *Natural Killer* (NK), os mesmos são observados, porém em pacientes soropositivos se encontram deficientes no estágio tardio da infecção. Nas respostas proliferativas normais dos linfócitos T CD4 *in vitro* a antígenos solúveis (toxóide tetânico) e a mitógenos (concanavalina A, fito-hemaglutinina ou mitógeno da Ra os cancros) estão comprometidos em indivíduos soropositivos, particularmente pacientes com AIDS. Este comprometimento deve-se a uma perda seletiva de linfócitos CD4 à apresentação deficiente de antígenos por monócitos-macrófagos ou a uma supressão viral direta da função dos linfócitos CD4. Já nas respostas das células B, os pacientes soropositivos apresentam quadro de hipergamaglobulinemia devido ao aumento de imunoglobulinas (IgG1, IgG3 e IgM) devido as células B secretarem espontaneamente estas imunoglobulinas, foram detectados também anticorpos contra eritrócitos, plaquetas, linfócitos, neutrófilos, proteínas nucleares, mielina e espermatozóides, em alguns casos geralmente associados a doenças (SOGHOIAN et al., 2012).

Em relação aos achados hematológicos verifica-se quadros de linfocitose atípica, leucopenia, em alguns pacientes trombocitopenia, diminuição do hematócrito devido a anemia ocasionada pela doença crônica, presença de infecção oportunista ou relacionada ao tratamento (CROWE et al., 2004).

Tratamento

Os medicamentos anti-retrovirais promovem intensa diminuição da replicação do vírus, gerando ao organismo a capacidade de reposição das células CD4 e conseqüentemente um sistema imunológico capaz de realizar suas devidas funções contra os possíveis e futuros patógenos, contanto que não é capaz de eliminar o vírus do organismo, mas suprimindo a sua atividade. Porém, para que esta saúde seja alcançada o paciente precisa adquirir novas atitudes tais como, adicionar a sua rotina a posologia dos medicamentos a ser administrado, seguir rigorosamente, regularmente e continuamente os horários e doses propostas pelo médico, tolerar os efeitos adversos do medicamento, aceitar constantemente consultar com o médico infectologista, adaptar-se aos regimes prescritos durante o tratamento e aceitar a troca de medicação se o mesmo não estiver conseguindo atingir seu potencial terapêutico; ao seguir estas orientações a melhora da saúde pode ser alcançada (SOUTO, 2008).

Ressalta-se então a importância do tratamento, sendo que o mesmo melhora a qualidade de vida dos pacientes soropositivos. É necessário levar estas informações aos portadores do vírus, aos que acompanham os portadores e aos profissionais que estão constantemente se relacionando com estas pessoas. A informação sobre o tratamento é de extrema significância para a sociedade, para que a mesma aja em prol daqueles que contraíram a doença.

Atualmente no Brasil existem dezesseis medicamentos anti-retrovirais disponíveis nas redes pública para uso clínico, capazes de realizar esta supressão, sendo utilizados sempre em associação entre três a quatro medicamentos diferentes, como os inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos e nucleotídeos (abacavir, didanosina, estavudina, lamivudina, tenofovir e zidovudina), os inibidores da transcriptase reversa não-análogos e nucleosídeos (efavirenz e nevirapina), os inibidores da protease (amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir e saquinavir) e os inibidores da fusão (enfurvitida) (HIGHTOWER et al., 2003).

Os medicamentos descritos acima tem a capacidade de promover um quadro de saúde ao paciente, pois podem reduzir as taxas de mortalidade, manter a homeostase, aumentar a sobrevivência das pessoas infectadas e diminuir as taxas de transmissão, já que os mesmos reduzem a carga viral circulante no organismo da pessoa infectada (BRASIL, 2006).

Um das fases mais complexas do tratamento é o seu início, nesta fase os pacientes entram em conflitos físicos e psicológicos, uma vez que sua rotina não será a mesma trazendo consigo rígidas dietas e mudanças de comportamento frente ao problema enfrentado. Em pacientes assintomáticos a aceitação se torna mais difícil, pois o mesmo relata que não sente sinais e sintomas da doença e questionam o porquê de terem que fazer uso das terapias anti-retrovirais (TARV), nestes casos idealiza-se a idéia de que as equipes de saúde devem mostrar e relatar o efeito positivo do tratamento, já que o mesmo acarretará em mudanças nos níveis da carga viral e dos linfócitos T CD4 e não em mudanças físicas. Geralmente quando há presença de efeitos adversos os pacientes relatam que antes do tratamento não apresentavam sintomas e após o uso da medicação passaram a sentir dores. Já em pacientes sintomáticos a adesão ao tratamento torna-se mais fácil, devido ao fato do paciente buscar uma melhora em seu quadro de saúde, geralmente estes pacientes encontram-se em quadros de diarreias, febre, perda de peso e fadiga, para eles quanto mais rápido iniciar a TARV melhor será o seu

desempenho físico (ganho de peso, alívio das dores, e eliminação da fadiga) e seu retorno as atividades rotineiras (OMS, 2008).

Durante a TARV os pacientes necessitam entender que devem seguir rigorosamente os horários propostos a ele para a administração dos anti-retrovirais, uma vez que se não seguirem podem acarretar em uma falha terapêutica, ou seja, os medicamentos não tem seu efeito terapêutico esperado, nestes casos deverá ser redirecionados a outras associações farmacológicas. Existe atualmente o teste de genotipagem que avalia a resistência do paciente aos anti-retrovirais, com este teste ocorre um aprimoramento terapêutico, ou seja, o médico saberá qual medicamento é mais eficaz no organismo da pessoa permitindo-o selecionar seletivamente a associação mais eficaz, mas este teste só pode ser realizado através de pedido médico, e quando há uma falha virológica confirmada (BRASIL, 2008).

No decorrer do tratamento, existem algumas drogas e medicamentos que se interagem com os anti-retrovirais (ARV), evidenciando ao paciente o risco potencial que pode assumir tal interação. O uso de álcool durante a TARV deve ser reduzido pois assim, como os ARV o álcool se torna um composto altamente hepatotóxico aumentando por conseqüente os efeitos adversos. Já os medicamentos da classe das anfetaminas ao interagirem com o Ritonavir (ARV) pode provocar um aumento dos efeitos produzidos pelas anfetaminas, os medicamentos barbitúricos devem ser evitados pois, eles promovem a redução significativa dos níveis dos não-análogos de nucleosídeos e dos inibidores da protease, o uso de heroína, morfina e metadona podem causar possíveis reduções das concentrações dos inibidores da protease, Ecstasy (metanfetamina) promove umas das mais perigosa interações, podem ser fatais, porque elevam a concentração no nível sanguíneo e por conseqüente o aumento do efeito da droga particularmente com o uso de Ritonavir (OMS, 2008)

As tentativas de restaurar o sistema imunológico deficiente tem sido ineficazes estas terapias são chamadas de terapias imunorestauradoras, várias tentativas com o suposto imunoestimulador de inosina pranobex (Isoprinosine) foram realizadas, porém o efeito foi transitório, relatos apontam que o transplante de medula óssea pode promover restauração, mas perceberam que as células transplantadas também se infectavam pelo HIV (CROWE et al., 2004). Atualmente as pesquisas se voltam para o uso de interleucinas (IL), principalmente a IL-2, que recombinada aumenta a contagem de células CD4 quando administrada com um agente anti-retroviral. Os inibidores das citocinas estão sendo pesquisados, pois podem proporcionar benefícios imunológicos e

antivirais adicionais. Segundo Crowe et al. (2004) a combinação de um agente imunomodulador associado a dois ou três anti-retrovirais torna-se mais eficaz do que as administradas sozinhas.

Prevenção

Um das práticas mais abordadas na atualidade é a educação sexual na qual aborda estratégias para evitar a infecção pelo HIV, relatando a importância de realizar sexo seguro com o uso de preservativos (evitando infecção pelo sêmen, secreções vaginais e sangue). Outra educação na qual é enfatizada, é o compartilhamento de agulhas ou seringas entre os indivíduos sadios e infectados.

Atualmente as abordagens quanto às vacinas são bastante discutidas pela sociedade, questionam o porquê ainda não encontraram uma vacina eficaz contra o HIV, em constantes pesquisas nesta área vê-se a dificuldade em encontrar um medicamento eficaz, pois há uma diversidade genômica das cepas do HIV, e o vírus se encontra em constante aumento potencial de replicação por anticorpos neutralizantes. Há também a ausência de um bom modelo animal para os testes. (PARSLOW et al., 2004).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo teve como objetivo conscientizar a importância de um excelente diagnóstico precoce e seu tratamento. O diagnóstico deve ser realizado de forma responsável e com qualidade seguindo todas as portarias vigentes do MS e realizadas através de exames de triagem sorológica, IFI, WB, PCR e ELISA. Antes de um paciente receber o resultado dos seus exames para HIV os profissionais da saúde devem compreender que ao entregarem o laudo final, aquele paciente poderá modificar suas atitudes, por se tratar de uma patologia que envolve o psicológico tanto do paciente quanto dos familiares e amigos. Quanto ao tratamento com os ARV os profissionais da saúde devem reforçar a importância de seguir todas as orientações propostas pela equipe médica. Espera-se que esta leitura traga conhecimentos atualizados a respeito do diagnóstico do HIV a sociedade, além de mostrar que todos os profissionais da área da saúde são responsáveis pela vida dos pacientes não somente no diagnóstico mas também no acompanhamento e no tratamento da doença.

REFERÊNCIAS

_____. **AIDS**. Brasília, 2012. Disponível em: <http://ww.aids.gov.br/aids> Acesso em: 2 mar. 2013.

ALVES, Anelise Pezzi; PASQUALOTTO, Alessandro Comaru. Diagnóstico da infecção pelo HIV. In: Soares et al. **Métodos Diagnósticos**. Porto Alegre: Artmed, 2002. p. 361-370.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e AIDS. **Manual de Adesão ao Tratamento para pessoas vivendo com HIV e Aids**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BUTTO, Stefano; SULIGOI, Barbara; BELASIO, Emanuele Fanales; RAIMONDO, Mariangela. **Laboratory Diagnostics for HIV Infection**. Annali dell'Istituto Superiore di Sanità, Roma, v.46, n. 1, Jan./Mar.2010.

CROWE, Suzanne; MILLS, John. AIDS e Outras Infecções Virais do Sistema Imunológico. In: Parslow et al. **Imunologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2004. p. 555-571

DÌEZ, Mercedes. Diagnóstico tardío de la infección por VIH. Revista Española de Sanidad Penitenciaria, Barcelona, v.13, n.2, Jul./Out. 2011.

ELISA para detecção do Antígeno p24. Hermes Pardini, Belo Horizonte, 17 out. 2013. Disponível em: <<http://www.labhpardini.com.br/lab/imunologia/p24.htm>>. Acesso em: 17 out. 2013.

GARCIA, Rafael. Vírus da AIDS surgiu em Chimpanzés de Camarões, **Folha de São Paulo**, São Paulo, 26 maio 2005. Disponível em: <http://www.folha.uol.com.br/ciencia>>. Acesso em: 16 de outubro de 2013.

HIGHTOWER, Maia; KALLAS, Esper Georges. Diagnosis, antiretroviral therapy, and emergence of resistance to antiretroviral agents in HIV-2 infection: a review. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v.7, n. 1, Fev.2003.

KAWAHATA T , NAGASHIMA M , SADAMASU K , KOJIMA Y , H MORI . **Evaluation of an immunochromatographic fourth generation test for the rapid diagnosis of acute HIV infection**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> > Acesso em 03 de outubro de 2013.

KLEIN, Florian; MOUQUET, Hugo; DOSENOVIC, Pia; SCHEID, Johannes F.; SCHAT, Louise; NUSSENZWEIG, Michel C.. Antibodies in HIV-1 Vaccine Development and Therapy. **Science**, vol. 341, n. 6151, Set.2013.

OLIVEIRA, Carmem A.F. **Portaria SVS/MS nº151, de 14 de outubro de 2009**. Disponível em: <http://www.guarulhos.sp.gov.br/files/aula_portaria_151_2009.pdf> Acesso em 02 de outubro de 2013.

OMS. Ministério da Saúde. **Portaria SVS/MS nº151, de 14 de outubro de 2009.** Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/prt0151_14_10_2009.html> Acesso em 02 de outubro de 2013.

PREISER, Wolfgang; KORSMAN, Sthepen. **Testes HIV.** Disponível em: <http://hivmedicine.aidsportugal.com/html/02_Test.html>. Acesso em: 16 de outubro de 2013.

SOGHOIAN, Damien Z.; JESSEN, Heiko; FLANDERS, Michael; DAVIDSON, Kailan Sierra. CUTLER, Sam; PERTEL, Thomas; RANASINGHE, Srinika; LINDQVIST, Madelene; DAVIS, Isaias; ROSENBERG, Eric S.; TROCHA, Alicja Piechocka; LATÃO, Abrahan L.; BRENCHLEY, Jason M.; WALKER, Bruce D.; STREECK, Hendrik. HIV-Specific Cytolytic CD4 T Cell Responses During Acute HIV Infection Predict Disease Outcome, **Science Translational Medicine**, v.4, n.123, Fev.2012.

SOUTO, Bernardinho Geraldo Alves. **O HIV, seu portador e o tratamento anti-retroviral: implicações existenci ais.** São Carlos: EdUFSCar, 2008.

SOUZA, Luiz Carlos Silva. SIDA. Síndrome da Imunodeficiência Humana. In: PORTO, Celmo Celso. **Vade Mecum de Clínica Médica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2012. p. 41-45

EFEITOS DO NEOPOMPOARISMO NA QUALIDADE DE VIDA E SEXUALIDADE DE PACIENTES MASTECTOMIZADAS

*Andressa Ribeiro da Costa**

*Fabiana da Silveira Bianchi Perez***

*Nathalia Cristina Rosa****

INTRODUÇÃO

Na função reprodutiva a mama possui papel importante sendo interligada à liberação de vários hormônios, como: estrogênio e progesterona. É conectada a linfonodos axilares e torácicos. Símbolo de feminilidade, autoestima e beleza (GUYTON; HALL, 2006).

O câncer de mama é o segundo tipo mais frequente no mundo, sendo o primeiro entre as mulheres na população mundial e brasileira (excetuando o câncer de pele não melanoma) (BRASIL, 2015a; BRASIL, 2015b).

A mastectomia (cirurgia na qual é retirada toda a mama), sendo retirados ou não linfonodos axilares, chamada, assim, de mastectomia radical. Algumas pessoas que têm predisposição genética são orientadas a retirar a mama não afetada como medida de precaução (BASEGIO, 1999).

Com o aumento da tecnologia e as probabilidades maiores de cura, foi despertada nos profissionais da saúde a necessidade de um acompanhamento psicoemocional de pacientes que passaram por tratamento de câncer de mama (BASEGIO, 1999).

*Graduada em Fisioterapia pela Universidade Estadual de Goiás (UEG).

** Graduada em Fisioterapia pela Universidade Estadual de Goiás (UEG), pós graduada em Fisioterapia Hospitalar pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), Mestre em Ciências Médicas pela Universidade de Brasília (UnB), Doutora em Ciências Médicas pelas Universidade de Brasília (UnB).

*** Graduada em Fisioterapia pela Faculdade Alfredo Nasser, Pós Graduanda em Fisioterapia Traumatológica com Ênfase em Terapias Manuais pelo CDCS.

DESENVOLVIMENTO

Os músculos do assoalho pélvico (MAP) são divididos em quatro camadas, indo da mais superficial para a mais profunda: esfíncter anal, músculos perineais superficiais (bulboesponjoso, isquiocavernoso e perineal transverso superficial), diafragma urogenital e diafragma pélvico (HALL; BRODY, 2007). Estes fornecem o suporte dos órgãos pélvicos, mantendo a continência urinária. É preciso manter íntegros: inervação, musculatura e tecido conectivo para evitar aparecimento de distopias genitais e um bom desempenho das funções dos MAP (BAESSLER; SCHUESSLER, 2003).

O músculo pubovaginal origina-se no púbis (região posterior) e insere no corpo perineal e nas paredes vaginais, formando uma espécie de sustentação ao redor da vagina. Assim, os MAP possuem papel fundamental na função sexual do indivíduo, já que a vagina é uma região com escassas fibras nervosas sensoriais, os MAP hipertrofiados atribuem uma vagina mais contraída o que gera maior atrito e este maior estímulo nas fibras nervosas, conseqüentemente maior prazer (HALL; BRODY, 2007).

A mama tem papel na reprodução humana e nos hormônios produzidos para tal. É formada por pele, tecido subcutâneo e tecido mamário, este último onde está o parênquima (cuja finalidade é produzir leite) e o estroma. É localizada no tórax, bilateralmente, composta por glândulas, tecido conjuntivo e tecido adiposo (DANGELO; FATTINI, 2007; LEITE; OLIVEIRA; RIBEIRO, 2002). A maior parte de sua drenagem é feita por linfonodos axilares (aproximadamente 97%), já a cadeia linfática da mamária interna é responsável por apenas 3% de sua drenagem (LEITE; OLIVEIRA; RIBEIRO, 2002).

O desempenho sexual depende tanto da estimulação local quanto da psíquica. Ter pensamentos eróticos eleva o desejo pelo ato sexual, melhorando, assim, o prazer sexual durante a relação. O interesse sexual pode ser afetado pelo treino progressivo de estimulações psíquicas, embora o seu grande interventor seja os hormônios sexuais que são secretados (principalmente a liberação de estrogênio). Este pode variar durante o ciclo menstrual onde o período de ovulação é o de característica de maior desejo sexual, pois é no período pré-ovulatório que acontece a maior liberação de estrogênio (GUYTON; HALL, 2006).

De acordo com Kaplan (1997) o ciclo da resposta sexual feminina é dividido em quatro fases: fase de desejo, fase de excitação, fase do orgasmo e resolução.

A fase de desejo é a primeira fase, podendo ser influenciada por fatores emocionais, comportamentais e fisiológicos (KAPLAN, 1997). Esta fase está intimamente relacionada aos hormônios, em que a base do impulso sexual é vinculada ao hormônio androgênio que se reduz no período de perimenopausa em mulheres que passaram por intervenção cirúrgica. A testosterona por sua vez pode estimular o desejo sexual, baixos níveis deste hormônio podem levar a um prejuízo do desejo, sem necessariamente comprometer a resposta sexual (DAVIS, 2000).

A estimulação local é uma integração de estímulos no plexo sacral e no nervo pudendo com os reflexos gerados localmente. A massagem em clitóris, vulva, vagina e em outras regiões perineais leva a estímulos que passam pela medula chegando ao cérebro. Além dos reflexos inerentes presentes em medula espinal sacral e lombar (GUYTON; HALL, 2006). Todos estes fatores associados levam à segunda fase, a de excitação que se dá através da continuidade do desejo, assim, há uma mudança fisiológica e a preparação para o ato sexual (KAPLAN, 1997).

As alterações fisiológicas genitais femininas então se iniciam. Os grandes lábios se tornam afilados e achatados se abrindo, os pequenos lábios tem o seu tamanho aumentado cerca de duas a três vezes, e apresentam coloração avermelhada, no clitóris ocorre a tumescência da glândula e do seu corpo (na fase tardia da excitação ocorre a retração clitoriana) (CAVALCANTI; CAVALCANTI, 1996). O tecido erétil das mulheres está localizado no envoltório do intróito e estendendo-se ao clitóris. Este tecido é submetido ao controle dos nervos parassimpáticos, o qual segue através dos nervos erigentes, caminhando do plexo sacral até a genitália externa. Estes nervos estimulam a dilatação das artérias deste mesmo tecido, fazendo com que ocorra a ereção (GUYTON; HALL, 2006). O útero aumenta o seu tamanho e se eleva e a vagina tem modificação do seu volume (distensão ântero-posterior de aproximadamente 2,5 cm (nulíparas) a 3 cm (multíparas), no plano transcervical há um aumento de 3,5 cm (multíparas) a 5 cm (nulíparas) e de sua cor (mucosa torna-se vermelho-escura). Porém no terço externo vaginal há uma vasocongestão em função da elevada excitação e que é continuada pelos bulbos vestibulares, essa congestão recebe o nome de plataforma orgásmica (acontece de maneira tão intensa que pode reduzir um terço da luz vaginal) (CAVALCANTI; CAVALCANTI, 1996; KAPLAN, 1997).

Quando os sinais parassimpáticos atravessam as glândulas de Bartholin ocorre a liberação de muco dentro do intróito. A lubrificação então começa a se formar, associada com o muco secretado no epitélio vaginal, estes se somam ao que é produzido

nas glândulas uretrais masculinas (GUYTON; HALL, 2006). A lubrificação é um fator estrôgeneo dependente, este é capaz de modular a vasoconstricção vaginal (MIN et al., 2001).

A lubrificação é importante para que o massageamento das regiões estimuláveis seja agradável e não cause sensação de irritação, como no caso de vagina ressecada. O massageamento gerará uma sensação agradável o qual resultará no clímax, tanto para o homem quanto para a mulher (GUYTON; HALL, 2006).

Abdo et al. (2006) citam o estudo de Masters e Johnson como o primeiro a criar o modelo de ciclo de resposta sexual. Segundo Masters e Johnson (1966) o orgasmo é um reflexo, assim tem um componente sensório e um componente motor.

Os reflexos que levam ao clímax feminino ou orgasmo acontecem quando os estímulos locais, podendo ser associados à estímulos psíquicos, levam a uma excitação máxima. Durante o orgasmo há contrações rítmicas dos músculos perineais causados por reflexos da medula espinhal (GUYTON; HALL, 2006; MASTERS; JOHNSON, 1966).

Ao atingir o clímax entra-se na terceira fase do ciclo: a fase de orgasmo (KAPLAN, 1997). Ao atingir o orgasmo as alterações corporais são: máximo rubor sexual, perda do controle muscular voluntário, espasmos musculares, ventilação pulmonar máxima, frequência cardíaca máxima, pressão arterial máxima (CAVALCANTI; CAVALCANTI, 1996).

Logo após o orgasmo vem a resolução que é a fase de completa sensação de bem-estar e relaxamento (MASTERS; JOHNSON, 1966). Nesta fase acontece a detumescência da mama, diminuição lenta do volume mamário, desaparecimento do rubor sexual, desaparecimento lento da tensão muscular e retorno ao seu controle voluntário, retorno a respiração basal, aos batimentos cardíacos basais, a frequência respiratória basal e à pressão arterial basal (CAVALCANTI; CAVALCANTI, 1996).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS): “a sexualidade humana forma parte integral da personalidade de cada um. É uma necessidade básica e um aspecto do ser humano que não pode ser separado dos outros aspectos da vida” (WHO, 2002, p.5).

A todos os seres do reino animal está ligada, de maneira inata, a sexualidade, porém no ser humano ela vem acompanhada da libido, de sentir prazer no ato. A cada época que passa, são delimitados padrões e protótipos de mulheres ideais, onde as mulheres tem que ser iguais ou parecidas aquele padrão para se sentirem atraentes e

desejadas (MALUF, 2008). Porém “não é sinônimo de coito e não se limita à presença ou não do orgasmo [...] É energia que motiva encontrar o amor, contato e intimidade [...]” (WHO, 2002, p. 5).

Com o desenvolvimento corporal da pessoa do sexo feminino, indo de uma jovem para uma mulher, há a conscientização do seu corpo, ela sente-se desejada e é influenciada por questões culturais de valorização. Constrói sua autoimagem e esta garante que ela é um ser do sexo feminino. Os seios passam então a ser símbolo de feminilidade, atração, compreensão corporal e do próprio prazer e autoestima (MALUF, 2008).

A mama é classificada tanto em nossa cultura quanto em outras como uma identidade corporal da mulher, relacionada à sua autoestima, sendo órgão de “contato e atração”, tornando dele, também, um símbolo narcisista (BASEGIO, 1999).

A origem da sexualidade feminina foi respaldada numa leitura negativa da sexualidade masculina, onde o corpo feminino tinha apenas a função procriadora na idade antiga (4.000 a.C a 476 d.C). O corpo feminino era desvalorizado envolto em um profundo mistério e o órgão genital feminino era desconhecido. Hipócrates (460- 375 a.C) e Platão (427/347 a.C) viam a histeria e as enfermidades orgânicas originadas do sexo feminino. E com isso, do século XIV ao XVIII surgiu uma repressão ao erotismo feminino, considerando a mulher como fonte de pecado, instrumento do diabo, imperfeita moralmente e fisiologicamente e considerando a mulher bruxa. Nesta época existiu uma verdadeira caça às bruxas (às mulheres). Ao contrário do que era visto, no século XIX a sexualidade feminina é vista como algo importante, em questão da maternidade, e o útero passa a ser um órgão nobre. Porém a mulher ainda era vista como ser frágil e enfermo, começando a atentar-se às doenças femininas (MERCÊS; MURIBECA, 2010).

Para as mulheres, nos dias atuais, o sexo é visto de maneira ligada à emoção, tratado com ternura, sentimentos e envolvimento emocional, podendo ser devido a fatores biológicos (HORNEY, 1991). Assim qualquer sentimento de repulsa, olhar de desagrado, falta de ereção do parceiro leva a uma baixa de autoestima e da sua vontade de ter relações (MALUF, 2008).

Por possuir pouquíssimas fibras nervosas sensitivas, a vagina recebe apoio dos MAP para proporcionar maior sensação de prazer e estimulação. Com a estimulação de contração e relaxamento desses músculos, acontece a hipertrofia dos mesmos, os quais deixam a vagina mais fechada, esse fechamento provoca maior atrito do pênis nas

paredes vaginais, conseqüentemente quantidade maior de estimulação das fibras nervosas, gerando maior sensação de prazer, o que levará à maior capacidade de obtenção de um orgasmo e assim com o orgasmo mais contrações do assoalho pélvico, proporcionando, grande sensação de prazer na mulher (HALL; BRODY, 2001).

A estimativa feita em 2014 de novos casos de câncer de mama no Brasil é de 57.120. Sendo o segundo tipo mais frequente no mundo. Sua sobrevivência, mundialmente, após 5 anos é de 61 % , porém a taxa de mortalidade no Brasil ainda é grande, pois é diagnosticado, em sua maioria, em estádios mais avançados da doença (BRASIL, 2015a). Sua etiologia é multifatorial, tendo como fatores de riscos: reprodutivos, familiares, hereditários, nutricionais, hormonais, entre outros (LOPES; IYEYASU; CASTRO, 2008).

O câncer de mama envolve um tratamento multidisciplinar e é dependente do estágio em que o câncer se encontra. A retirada de tumores depende do tamanho do tumor, podendo-se retirar apenas o quadrante onde o tumor está localizado, até a retirada da mama toda (mastectomia), além de retirada de linfonodos e tecidos adjacentes (mastectomia radical). Sendo indicada também em alguns casos a radioterapia, para pacientes com tumores menores do que cinco centímetros e para cirurgias conservadoras. Além do uso de quimioterápicos para uma terapia sistêmica (LOPES; IYEYASU; CASTRO, 2008).

Pela classificação da OMS qualidade de vida é “as percepções dos indivíduos da sua posição na vida no contexto da cultura e sistemas de valores nos quais ele vive e em relação aos seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações” (THE WHO GROUP, 1996, p. 5). Esta envolve 24 facetas divididas em 4 domínios, onde no domínio das relações sociais está como faceta a atividade sexual (THE WHO GROUP, 1996).

Cohen et al. (2000) comprovaram em seu estudo, feito com 183 mulheres, entre seis meses e cinco anos após passarem por tratamento cirúrgico de câncer de mama, que os efeitos dessa intervenção permanecem aparente apenas após alguns anos, aproximadamente 40 meses. Entretanto, de acordo com o trabalho de Holzner et al. (2001), há uma redução na sexualidade, vida social e função emocional não somente em paciente com um e dois anos após tratamento inicial, como também após cinco anos.

Engel et al. (2004) usaram vários questionários para avaliar a qualidade de vida, incluindo o *The European Organization for Research and Treatment of Cancer Core Quality of Life Questionnaire* (EORTC QLQ-C30) e compararam o tratamento conservador e a mastectomia. Os autores encontraram que mulheres mastectomizadas

possuem pior imagem corporal e função sexual, além de mostrarem que a vida dessas pacientes foi mais interrompida do que as que passaram apenas pelo tratamento conservador. Engel et al. (2004), Kenny et al. (2000), King et al. (2000) constataram que o impacto negativo do câncer de mama é sentido mais em mulheres jovens, assim, estas apresentam menor escore de qualidade de vida. Porém o estudo de Vacek et al. (2003) mostrou que a qualidade de vida de pacientes mastectomizadas sofre um declínio com o decorrer do tempo e esta redução aumenta com o avanço da idade.

Os estudos de Janni et al. (2001) e Kenny et al. (2000) acrescentaram questionários às pacientes mastectomizadas os quais comprovaram que estas se sentem insatisfeitas com a imagem corporal, o que possivelmente gera um estresse emocional.

Os resultados das pesquisas de Kenny et al. (2000), King et al. (2000) e Nissen et al. (2001) mostram que mulheres que passam por cirurgia conservadora possuem uma melhor aceitação da imagem corporal, porém a sua função física é pior do que as pacientes mastectomizadas. O estudo de Nissen et al. (2001) comparou também que mulheres submetidas a reconstrução apresentaram maior distúrbio de humor e bem estar quando relacionadas as que foram apenas mastectomizadas. Sendo que há uma melhora significativa na qualidade de vida aos 18 meses pós-cirurgia das mulheres as quais retiraram a mama e aos 12 meses para as mastectomizadas. King et al. (2000) demonstrou que mulheres solteiras e com menor escolaridade submetidas a tratamento para câncer de mama apresentam pior escore de qualidade vida. Onde o impacto negativo da imagem corporal é melhor aceito em pacientes casadas, principalmente, as recém-casadas.

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA) a quimioterapia é a utilização de medicamentos que são capazes de destruir as células cancerígenas e impedir que estas se espalhem para outras regiões do corpo. Pode ser aplicado de diversas formas, como: via oral, pela veia, intramuscular subcutânea, entre outras (BRASIL, 2015).

A quimioterapia é indicada como tratamento neoadjuvante e adjuvante (pré e pós operatório). Os efeitos colaterais da realização da quimioterapia variam de paciente para paciente e da medicação utilizada, entre eles estão: queda de cabelo, diarreia, feridas de boca, náuseas, vômitos, hiperpigmentação, anemia, leucopenia, trombocitopenia, alterações da sexualidade, podendo ser diferentes entre o homem e a mulher (BRASIL, 2015; HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS, 2015; SCHEIN et al., 2006).

Em relação a sexualidade da mulher, os principais efeitos colaterais da quimioterapia são: falta de lubrificação vaginal (ressecamento vaginal), irritação, suspensão temporária da menstruação, menopausa precoce, ondas de calor, irritação, prurido vaginal, perda de libido (BRASIL, 2015; HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS, 2015; LIMA, 2012)

A medicação após surtir seu efeito é eliminada pelo corpo, principalmente através da urina, podendo também ser eliminada pelo suor, fezes, lágrimas, vômitos, sêmen e secreção vaginal. É então recomendado que se use preservativo em todas as relações sexuais, pois além de prevenir doenças, este protege o casal das eliminações pelo sêmen e/ou secreção vaginal (BRASIL, 2015; HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS, 2015; LIMA, 2012).

A radioterapia é normalmente indicada quando se realiza uma cirurgia conservadora, quando os tumores são menores. Ela mata células tumorais causando alterações em seu DNA. Seus efeitos colaterais são: queimadura, vermelhidão, coceira, pele escurecida, dor e descamação no local onde ela foi aplicada (KALIKS, 2015a). Desta maneira não há uma influência da radioterapia na sexualidade de maneira direta.

No organismo humano existe a produção de diversos hormônios, alguns desses responsáveis pelo crescimento das células, um deles é o estrogênio. Este hormônio é responsável pela proliferação celular sistemática e organizada na mulher. Assim, por diversos fatores, inclusive hormonais, caso essa multiplicação aconteça de forma desorganizada e descontrolada, podem surgir os cânceres, em especial o câncer de mama. Partindo deste entendimento, surge o princípio da hormonioterapia, onde eliminar a produção de estrogênio, acarreta em inibir o crescimento de células neoplásicas (HOSPITAL ALBERT EINSTEIN, 2013).

A hormonioterapia, assim como, a quimioterapia pode ser indicada como tratamento pré e/ou pós-operatório. Ela é utilizada quando os tumores têm expressões dos receptores hormonais, sendo nestes tumores a prática mais efetiva (KALIKS, 2015b).

Os estrógenos têm sua via de produção iniciada no hipotálamo, o qual envia à hipófise a ordem de produção de vários hormônios como o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) (hormônios gonadotróficos). Estes são responsáveis por atuar nos ovários para então ocorrer à produção e elaboração dos estrógenos e da progesterona (formando o ciclo menstrual). Há também uma pequena produção de estrogênio pela glândula adrenal. A hormonioterapia é baseada no bloqueio

desta via de produção em suas diferentes etapas (HOSPITAL ALBERT EINSTEIN, 2013).

Atualmente esta prática consiste em duas classes: os moduladores do receptor de estrogênio (Tamoxifeno - bloqueia a passagem via receptores hormonais que estão localizados na célula cancerígena e o Fulvestranto - este age reduzindo a quantidade de receptores celular) e os inibidores de aromatase (Letrozol, Anastrozol e o Exemestano). Nas mulheres no tratamento adjuvante, o Tamoxifeno é mais indicado para as que não entraram na menopausa, já aquelas que entraram na menopausa é indicado o tratamento com Aromatase (HOSPITAL ALBERT EINSTEIN, 2013; KALIKS, 2015b).

Os efeitos colaterais da hormioterapia, normalmente relacionados à falta de estrogênio no organismo, são: sintomas semelhantes aos da menopausa (sudorese, ondas de calor, secura vaginal, variações de humor), dores ósseas, perda de massa óssea e muscular (HOSPITAL ALBERT EINSTEIN, 2013).

O neopompoarismo é um termo derivado do pompoarismo, sendo apresentado como o novo pompoarismo, onde são trazidos os mesmos movimentos e manobras do pompoarismo, com modificações de seus nomes e acrescentada uma nona manobra (LATORRE, 2013a). Desde que foi criado, o pompoarismo trazia que a vagina possuía três anéis, primeiro, segundo e terceiro, porém o autor Latorre (2013a) propõe que como é a musculatura do assoalho pélvico que envolve toda a vagina, existe apenas um anel, o qual pode ser contraído de diferentes maneiras, com associação de movimentos do quadril e principalmente do abdominal, dando a impressão da composição vaginal com três anéis. Assim, o neopompoarismo surge para desmistificar e colocar a prática desta técnica como algo mais científico e voltado para a anatomia e cinesiologia.

As primeiras práticas do neopompoarismo (conhecido antigamente, na Índia, como Sahajôli) foram originadas no sul da Índia, Tailândia e Indonésia derivadas do Tantra Yoga. A palavra neopompoar é advinda da língua Tamil (língua falada no Sri Lanka) e levou o nome de pompoar quando mulheres, as quais tinham a intenção de lucrar com a sedução dos homens, começaram a usá-la. O termo pompoar significa: sugar, já o Sahajôli significa o próprio controle absoluto da musculatura de região pélvica e vagina (FONTANELLA, 2010; KADOSH; IMAGUIRE, 2012). Na Tailândia, os pais de uma moça recebem um maior dote quando ela é considerada talentosa nesta técnica (KADOSH; IMAGUIRE, 2012).

As técnicas de pompoarismo eram passadas de mãe para filha, que visavam trabalhar a região pélvica, para que esta se encontrasse mais preparada para a futura

relação e mais fortalecida para o parto. Estas técnicas foram aperfeiçoadas por gueixas as quais eram feitas com seus amantes para massagear o seus pênis, estas mulheres utilizavam colares e objetos diversos entre os seus pertences para o treinamento (KADOSH; IMAGUIRE, 2012).

O neopompoarismo é uma técnica saudável, desperta a libido, o prazer, a vontade de quem o pratica. Consiste em técnicas que promovem o uso constante da contração muscular (FONTANELLA, 2010).

São feitas tais contrações ritmicamente e voluntariamente, desenvolvendo controle mental da musculatura vaginal, realizando movimentos nas regiões correspondentes aos antigos anéis vaginais. A região do antigo primeiro anel (localizado na entrada da vagina, próximo à vulva) é a mais forte, a região do segundo anel (responsável pela retenção da urina, e é localizado no meio da vagina) tem sua força muscular mais fraca que a da primeira região e a região do terceiro anel (o anel mais próximo do colo uterino) também possui grande déficit de força (KADOSH; IMAGUIRE, 2012; RIVA, 2012). Foi de acordo com esse conhecimento que as mulheres orientais tiveram o intuito de fortalecer a musculatura com estes movimentos para gerar maior prazer na relação sexual (KADOSH; IMAGUIRE, 2012). Tais movimentos promovem, então, um maior entendimento da musculatura, por promover estímulos que facilitam a propriocepção. Desta forma, a percepção do contrair e relaxar, fica mais intensa, o que leva ao aprimoramento da função muscular da região, neste caso, a musculatura do assoalho pélvico e vagina, prevenindo doenças e abolindo e/ou melhorando disfunções como: anorgasmia, prolapso, vaginismo. Direcionando a um maior prazer sexual, melhor qualidade de vida e melhores relacionamentos conjugais (RIVA, 2012).

A região do anel um é ensinada solicitando para realizar o fechamento da entrada da vagina, podendo colocar a mão para sentir a movimentação e senti a movimentação do intróito. A região do anel dois é localizada pela contração dos abdominais superiores. A melhor posição para aprender a contrai-lo, é em pé com as pernas levemente separadas, sentindo a movimentação do meio da vagina. Para contrair a região do terceiro anel a melhor posição é deitada em decúbito dorsal, bem relaxada. É necessário realizar o movimento de retirada de todo o ar do baixo ventre (como se estivesse levando um susto), sentindo o terceiro anel se movimentando próximo ao pé da barriga (RIVA, 2012).

As manobras do neopompoarismo são:

- Manobra de fechamento vaginal (antigo movimento de revirginar): é o movimento de fechamento da vagina, estreitando a entrada, segundos antes da penetração (LATORRE, 2013b);
- Manobra de pulsação vaginal (variação do antigo movimento de chupitar): são realizados movimentos de contração e relaxamento da musculatura do assoalho pélvico de maneira rápida e com pouca força, enquanto o homem realiza a penetração (LATORRE, 2013b);
- Manobra de deslize final (antigo movimento de chupitar): são movimentos parecidos com beliscões realizados como se a vagina beijasse a glândula do pênis com a região do segundo anel. A mulher introduz o pênis até aproximadamente a metade da vagina, e o homem irá sentir como se recebesse beijos na glândula do pênis (LATORRE, 2013b; RIVA 2012);
- Manobra de ejeção vaginal (antigo movimento de expelir ou expulsar): é realizado o movimento para expulsar o pênis da vagina, contraindo a musculatura do assoalho pélvico, quadril e abdominais. Faz-se o movimento de contração da região do terceiro anel, em seguida a do segundo e logo após a do primeiro, e assim por várias vezes até que o pênis seja expulso totalmente da vagina (LATORRE, 2013b; RIVA, 2012);
- Manobra de sucção vaginal (antigo movimento de sugar): é o movimento de sugar o pênis para dentro da vagina, é colocada a glândula do pênis na entrada da vagina (região do primeiro anel) e então são realizados movimentos de forma lenta e crescente (LATORRE, 2013b; RIVA, 2012);
- Manobra de constrição vaginal (antigo movimento de estrangular): a vagina parece estrangular o colo do pênis, se a musculatura for forte o suficiente pode conter a ejaculação, é o exercício onde você contrai a entrada da vagina (região do antigo anel um) e segura com a maior força e o maior tempo possível, enquanto não for relaxada a vagina o homem não consegue ejacular (LATORRE, 2013b; RIVA, 2012);
- Manobra de travamento vaginal (antigo movimento de travar ou prender): é o movimento de segurar o pênis dentro da vagina, contraindo assim toda a musculatura, desde a região mais próxima do útero até a entrada da vagina, travando os movimentos do pênis (LATORRE, 2013b; RIVA 2012);

- Manobra de travamento com tração (antigo movimento de ordenhar ou massagear): o pênis é travado e a vagina traciona o pênis em diferentes direções, podendo ser crescente ou decrescente (LATORRE, 2013b; RIVA 2012);
- Manobra de torção vaginal (antigo movimento de torcer): movimento onde a vagina torce o pênis como se estivesse torcendo uma roupa, é realizada uma força de torção lateral (LATORRE, 2013b; RIVA 2012).

No estudo de Gomes (2007) foi comprovado que o neopompoarismo, aplicado em mulheres jovens na Universidade Estadual de Goiás, obteve efeito e aprimoramento da sexualidade, utilizando o questionário *The Female Sexual Function Index* (FSFI). Os autores obtiveram resultados positivos na análise de excitação, orgasmo, lubrificação, satisfação e dor.

Bianco e Braz (2004) realizaram um estudo que comprovou que exercícios com o assoalho pélvico tem importância na sexualidade feminina. Relataram que exercícios com essa musculatura aumentam a capacidade de múltiplos orgasmos, aumento de propriocepção, e maior coordenação motora desses músculos. Descreveu também, que um relacionamento conflituoso significa uma vida sexual menos prazerosa ou inexistente. O estudo também mostrou que mulheres ao serem informadas de um aumento de força perineal tem sua autoestima elevada e passam a se tornar mais atraídas e referem maior satisfação no ato sexual. Os exercícios cinesioterapêuticos geram aumento da percepção perineal, conseqüentemente maior prazer durante a relação. Pacientes que tinham dificuldade ou não tinham orgasmo passaram a ter a experiência ou tê-la com maior frequência. O estudo apresenta também que ao controlar essa musculatura, as pacientes aprenderam a relaxá-la tendo como resultado diminuição da dor à penetração, aceitando com maior naturalidade o coito.

No estudo de Medeiros e Braz (2004) foi comprovada a intervenção válida da fisioterapia principalmente em pacientes anorgásmicas, estas pacientes passaram a atingir o orgasmo e obtiveram melhora no prazer sexual. Constataram que a disfunção sexual não está relacionada apenas à força perineal, pois as pacientes não ganharam força e sim consciência local.

Antonioli e Simões (2010) mostraram que a abordagem fisioterapêutica através do uso de cones vaginais, exercícios de Kegel e aparelho de biofeedback, eletroestimulação e toque digital, tem diversas possibilidades de aplicação, podendo ser usadas no tratamento de disfunções sexuais masculinas e femininas. Apresentam

resultados satisfatórios pela reeducação perineal, sendo efetiva a conscientização perineal. Os autores lembram também que o tratamento deve ser multidisciplinar.

O objetivo do estudo foi verificar os efeitos do neopompoarismo na qualidade de vida e sexualidade de pacientes submetidas à mastectomia.

Este estudo está previsto de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas envolvendo seres humanos (Resolução 196/1996, do Conselho Nacional de Saúde). As pacientes concordaram em apresentar como voluntárias da pesquisa, estas assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido criado pelo autor (TCLE).

Os critérios de inclusão foram: vida sexual ativa, serem mulheres, mastectomizadas e ter até 50 anos. Os critérios de exclusão foram: fazer uso de ansiolíticos e antidepressivos, apresentar outra patologia, ter mais de 3 anos pós cirurgia, realizar exercícios físicos com membros inferiores e ter entrado na menopausa antes de iniciar o tratamento quimioterápico, radioterápico e/ou hormonioterápico.

A coleta de dados e tratamento foram realizados no período de março de 2013 a agosto de 2013. Duas pacientes se enquadraram aos critérios de inclusão e aceitaram participar do presente estudo.

Os materiais usados foram cones vaginais, ben-wa, mini-vibrador, sabonete, preservativo não lubrificado, lubrificante, luvas, máscaras, álcool 70%, papel toalha.

Para a realização do registro dos dados coletados foram utilizados os seguintes materiais e instrumentos: questionário The Female Sexual Function Index (FSFI) (PACAGNELLA, 2008); Questionário de Avaliação de Qualidade de Vida das pacientes mastectomizadas pelo serviço de fisioterapia do Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina, ficha de avaliação pessoal e TCLE.

Após autorização no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e aplicação do TCLE, foi aplicado o questionário pessoal na forma de entrevista, e então, também na forma de entrevista os questionários propostos (FSFI e o Questionário de Avaliação de Qualidade de Vida da Paciente Mastectomizada). Os dados foram coletados, analisados e ficarão armazenados com as pesquisadoras por um período de cinco anos.

As pacientes receberam as noções de técnicas e exercícios do neopompoarismo, mediante protocolo criado pela autora da pesquisa, baseado nas evoluções de tratamento da autora Riva (2012), não houve grupo controle.

As pacientes foram avaliadas ao chegar, realizaram treze sessões de tratamento e foram reavaliadas na 15ª sessão. A duração das sessões foram de 40 minutos, sendo

feitas três vezes por semana, sendo a primeira sessão para aplicação dos questionários e avaliação de força perineal com os cones vaginais, duas sessões para aprendizagem de contração das três regiões dos anéis vaginais, 11 sessões para aplicação com ben-wa e mini-vibrador e a sessão 15 para reavaliação.

RESULTADOS

Estudo de Caso: Paciente A

Paciente A, R. R. J., 43 anos, do lar, casada, mãe de dois filhos. Ensino fundamental incompleto. Mastectomia sem reconstrução do lado esquerdo, tempo pregresso um ano e dois meses. Em tratamento quimioterápico, não realizou radioterapia e/ou hormonioterapia. Realiza fisioterapia cardiorrespiratória, sem que haja movimentos de quadril e MMII. Não faz uso de medicação. Sexualmente ativa, permanecendo com o mesmo parceiro do período anterior à cirurgia, porém não relatou relação sexual durante o período do estudo e em um período antecedente maior que um mês, por motivos não relacionados à mastectomia.

A Paciente A apresentou em sua avaliação inicial grau 1 sem lubrificante e em sua avaliação final grau 1 com lubrificante. Foram relatados na avaliação inicial, as seguintes “atividades limitadas”, em ordem decrescente de limitação: limpar a casa, torcer roupas, lavar o cabelo, varrer a casa, vestir roupa. O cálculo das notas obteve uma pontuação de 5,71 neste quesito.

Na avaliação final as “atividades limitadas” relatadas pela paciente foram, descritas em ordem decrescente de limitação: pentear o cabelo, limpar a casa, pendurar roupa no varal, vestir roupa, lavar o cabelo. O escore final foi de 6.

Apresentou melhora obtida na pontuação do domínio “aparência física”, onde na avaliação inicial obteve-se uma pontuação de 6,19 e na avaliação final uma pontuação de 4,28, sendo assim, a diferença de 1,91. Com relação ao domínio “emocional” observou-se um escore inicial de 5 e um escore final de 1,96. Sendo a diferença de 3,04. Foi verificado no domínio “sexualidade” uma avaliação inicial de 6,28 e avaliação final de 2,85. Totalizando uma redução do escore de 3,43. O que indica uma melhora do quesito “sexualidade”. Quanto ao domínio “sintomatologia”, o qual obteve uma pontuação inicial de 5,71 e uma pontuação final de 3,57, registrou-se um decréscimo de

2,14. Tendo como média inicial 5,71 e final de 3,56. Indicando melhora na qualidade de vida.

Para avaliação de sexualidade, a Paciente A, em sua avaliação inicial, apresentou no domínio “desejo” o escore de 3 e em sua avaliação final, o escore de 3,6. No domínio “satisfação”, a paciente atingiu o escore de 0,8 na avaliação inicial, a qual obteve um acréscimo para 1,6.

O valor do escore total para o questionário FSFI varia de 2 a 36, na avaliação inicial foi de 3,8 enquanto que na avaliação final foi de 5,2.

Estudo de Caso: Paciente B

Paciente B, D.M.S.C., 50 anos, psicóloga, casada, mãe de dois filhos. Pós-graduada. Realizou mastectomia com reconstrução da mama (implante de prótese de silicone sem reconstrução areolar), tempo pregresso 8 meses. Realiza hormonioterapia com Tamoxifeno, 10 mg (desde a retirada da mama). Faz uso de cápsula de amora e ômega 3 por conta própria. Não realiza exercício físico. Paciente relata ser sexualmente ativa, permanecendo com o mesmo parceiro do período anterior à cirurgia.

A Paciente B apresentou grau 2 sem lubrificante na avaliação inicial e grau 1 com lubrificante na avaliação final. No Questionário de Avaliação de Qualidade de Vida da Paciente Mastectomizada relatou em sua avaliação inicial as seguintes “atividades limitadas”: abrir potes, torcer roupa, abdominal com aparelho, correr, puxar objetos. Analisando as médias dos cinco itens a paciente atingiu uma pontuação de 3,71.

As “atividades limitadas” descritas pela Paciente B, na avaliação final. Tendo como “atividades limitadas”: abrir potes, puxar coisas, abdominal com aparelho, correr e torcer roupa (indo da atividade mais limitante para a menos limitante). Ao calcular-se a média, a paciente alcançou uma pontuação de 6,28.

Na avaliação do domínio “aparência física” observa-se pontuação inicial de 1,42 e final de 2,38, apresentando diferença de 0,96, verificando piora neste quesito. No domínio “emocional” a pontuação inicial foi de 1,78 e final de 3,21, havendo um aumento de 1,43, significando maior comprometimento do emocional da Paciente B. Esta apresentou, no domínio de “sexualidade”, na avaliação inicial de 1,42 e final de 2,28, ocorrendo um acréscimo de 0,86. Analisando o domínio “sintomatologia”, a pontuação inicial da Paciente B foi de 2,14 e final de 2,14, mantendo-se com o mesmo escore. As médias dos domínios foram: inicial de 2,04 e final de 3,18, indicando piora.

No domínio “desejo”, a paciente apresentou escore inicial de 3 e final de 3, no domínio “excitação” obtido pela Paciente B, verifica-se que na avaliação inicial a pontuação foi de 4,5 e a final de 4,5. Quanto ao domínio “lubrificação”, a Paciente B apresentou valor inicial de 4,5 e final de 4,5. Ao domínio “orgasmo” a Paciente B atingiu pontuação inicial de 6, sendo este o máximo escore, e final 5,2. A pontuação no domínio “satisfação” obtida pela Paciente B na avaliação inicial foi de 4,8 e na sua avaliação final foi de 4,8. Referente ao domínio “dor”, os escores obtidos foram: inicial de 6 (escore máximo) e final 4,4, a pontuação neste domínio teve uma redução de 1,6. Indicando assim, uma piora da paciente no quesito “dor”.

No questionário FSFI, a avaliação inicial foi de 28,8 e final de 26,3. Onde os valores variam entre 2 e 36. Sendo a diferença de 2,5, mostrando uma piora na sexualidade final da Paciente B.

DISCUSSÃO

No presente estudo a Paciente A foi atendida pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e realizou o procedimento de mastectomia sem reconstrução mamária, por outro lado a paciente B teve a reconstrução mamária durante a própria cirurgia de retirada da mama, com atendimento privado. Os escores indicativos da Paciente A representaram pior qualidade de vida e sexualidade comparado aos resultados da paciente B. Indicando uma discrepância entre os serviços de atendimentos disponibilizados no país.

No entanto, a lei 12.802/2013 aprovada, pelo Congresso Nacional, em 24 de abril de 2013 decretou que mulheres que foram submetidas à mastectomia devem realizar reconstrução mamária no ato da cirurgia, caso estas não possuam condições para realizar a reconstrução, o procedimento deve ser feito imediatamente após atingir o nível clínico requerido (BRASIL, 2013c).

O estudo de Huguet et al. (2009) realizado com 110 mulheres, utilizou o questionário WHOQOL-bref para avaliar qualidade de vida e perguntas sobre sexualidade com o coeficiente de Cronbach para verificar a validade e concordância das respostas. Há o relato de que pacientes que foram submetidas à reconstrução mamária obtiveram escores de qualidade de vida e sexualidade melhor quando comparadas às mulheres que não se submeteram a tal procedimento. Também enfatiza que melhor nível socioeconômico, de escolaridade e uma relação marital estável remetem em uma melhor qualidade de vida, inclusive a sexual.

Concordando com o estudo acima, Makluf, Dias e Barra (2006) e Ganz et al. (2002) apontaram que a não reconstrução mamária após a mastectomia resultou em prejuízos da qualidade de vida da mulher e levou a uma evolução negativa da doença. Na pesquisa de Manganiello (2008) observou-se que as mulheres que tiveram a mama reconstruída apresentaram melhor desempenho e satisfação sexual.

A atual pesquisa coincide com os estudos de Huguet et al. (2009), Makluf, Dias e Barra (2006) e Ganz et al. (2002), verificando que a Paciente A (cirurgia sem reconstrução mamária) obteve escores, relativos à qualidade de vida e sexualidade, piores em relação à Paciente B (com reconstrução).

Janni et al. (2001) e Kenny et al. (2000) apresentaram questionários com perguntas sobre a insatisfação com a imagem corporal de pacientes mastectomizadas, e comprovaram que esta acarreta um estresse emocional. A reconstrução está vinculada a imagem corporal da paciente, assim foi certificado pelo presente estudo que os resultados do domínio “aparência física” foram melhores na Paciente B (com reconstrução) do que na Paciente A (sem reconstrução).

Seara, Vieira e Pechorro (2012) verificaram uma relação positiva entre imagem corporal e função sexual ao avaliar 69 mulheres mastectomizadas e 66 mulheres que não tiveram câncer de mama. Resultados semelhantes também foram encontrados no estudo de Moreira et al. (2010), o qual avaliou 17 mulheres mastectomizadas sem reconstrução e 19 que realizaram reconstrução mamária após a mastectomia, por meio do uso o questionário FSFI, comprovou-se que a sexualidade de pacientes submetidas à reconstrução mamária é significativamente maiores do que os das pacientes submetidas apenas à mastectomia.

Quanto ao domínio “aparência física” a Paciente A alcançou piores resultados em relação à paciente B. Assim como, no resultado final do questionário FSFI, analisando sexualidade, a Paciente A obteve escores menores em ambas as avaliações comparadas à Paciente B, indicando uma estreita relação entre a imagem corporal (aparência física) e a sexualidade.

Segundo Sales et al. (2001) que realizou um estudo com 50 mulheres tratadas de câncer de mama, metade destas apresentou redução na funcionalidade nas atividades domésticas ou tiveram que realizar adaptação para que estas continuassem sendo exercidas. Tais afirmações concordam com os relatos apresentados pelas pacientes do presente estudo.

Verificou-se, na primeira avaliação, que a Paciente A apresentou dificuldade em realizar as seguintes tarefas: limpar a casa, torcer roupas, lavar o cabelo, varrer a casa, vestir roupa; as “atividades limitadas” relatadas pela Paciente A na avaliação final foram: pentear o cabelo, limpar a casa, pendurar roupa no varal, vestir roupa, lavar o cabelo. Sendo que em ambas as avaliações a paciente relatou dificuldade em: limpar a casa, lavar o cabelo e vestir roupa. Com relação à Paciente B, as “atividades limitadas”, na avaliação inicial foram: abrir potes, torcer roupa, abdominal com aparelho, correr, puxar objetos e as “atividades limitadas” citadas na avaliação final foram: abrir potes, puxar coisas, abdominal com aparelho, correr e torcer roupa.

Em referência à Paciente A, além das limitações funcionais influenciarem nas atividades domésticas e da vida diária, houve interferência na vida profissional, pois esta exercia a profissão de diarista. Em decorrência da limitação laboral advinda dos efeitos negativos resultantes da mastectomia, foi inviável para a paciente permanecer na prática de sua profissão atuando com a mesma eficiência, levando esta a abandonar as atividades profissionais.

Os trabalhos de Holzner et al. (2001), Vacek et al. (2003) e Nissen et al. (2001) que mostraram que pode haver melhora significativa na qualidade de vida até um ano pós-cirurgia, porém os déficits podem perdurar por períodos superiores a cinco anos. Apoiando os achados no vigente estudo onde a Paciente A apresenta índices piores na sua qualidade de vida, mesmo sendo o tempo pregresso da mastectomia maior um ano.

A respeito dos tipos de tratamentos oncológicos realizados pelas pacientes da atual pesquisa, a Paciente A, foi submetida a tratamento quimioterápico e a Paciente B faz tratamento hormioterápico, ambas relatam sinais de menopausa como: ondas de calor, diminuição da lubrificação vaginal, sudorese. O que influencia de maneira negativa na sexualidade.

Consentindo com a pesquisa de Cardozo (2011), o qual realizou um estudo verificando a influência da depressão e fadiga na qualidade de vida de pacientes submetidos à quimioterapia. A amostra foi composta por homens e mulheres, sendo o câncer de mama o tipo predominante no gênero feminino. Demonstrou que há um aumento na fadiga e na depressão de pacientes oncológicos submetidos à quimioterapia. No estudo de Manganiello (2008) observou-se que as mulheres que realizaram tratamento quimioterápico, radioterápico e hormioterápico apresentaram menor escore de sexualidade quando comparada as que não realizaram tais tratamentos.

No trabalho de Manganiello (2008) a escolaridade esteve associada ao desempenho sexual, sendo que as mulheres com maior escolaridade obtiveram escores melhores relacionados à satisfação e desempenho sexual. Tal fato pode ser justificado pela possibilidade de mulheres com melhor qualidade de vida apresentarem maior chance de uma satisfatória vida sexual devido ao acesso facilitado às informações a cerca da sexualidade. Um nível escolar maior induz na forma como a mulher se vê no ponto de vista sexual (HUGUET; GURGEL, 2006).

Como relatado pela Paciente B (pós-graduada): “Eu já conhecia, tinha a noção do que era o pompoarismo e a fisioterapia para trabalhar o fortalecimento da musculatura do quadril. Tinha a curiosidade e sabia da minha necessidade para realizar essas técnicas, por ter realizado minha especialização em terapia de casais e família”. Entretanto a Paciente A (ensino fundamental incompleto) relatou: “Nunca ouvi falar sobre o neopompoarismo, mas eu já ouvi falar que tem fisioterapia para ajudar a segurar o xixi”.

King et al. (2000) salientou que mulheres com menor escolaridade e não casadas, quando necessitam ser submetidas a abordagem terapêutica contra o câncer de mama apresentaram baixo índice de qualidade de vida, em relação a mulheres casadas e com grau de escolaridade mais alto, o que corrobora com o presente estudo. O qual verificou que nas questões 22 e 25 do Questionário de Qualidade de Vida da Paciente Mastectomizada, que indicam se a paciente se sentiu apoiada e amada pelo seu parceiro, ambas as pacientes, casadas, obtiveram pontuações que indicam o déficit mínimo nestes quesitos.

Assentindo com Conde et al. (2006) e Mellon, Northouse e Weiss (2006) que apontaram que durante o processo de assistência da mulher com câncer de mama os seus parceiros devem ser inseridos em todas as etapas de assistência, pois o ambiente cooperativo do âmbito familiar favorece a minimização das repercussões negativas provocadas pela doença, além do significado atribuído à enfermidade.

O atual estudo verificou que o neopompoarismo em relação à força perineal da Paciente A teve melhora, passando de um grau de força 1 para um grau de força 1 com lubrificante. Assim, verifica-se que exercícios com os MAP colaboraram para que esta paciente obtivesse um melhor escore, mesmo que mínimo no grau de força perineal. Salienta-se que o tratamento foi realizado um curto período de tempo e o ganho de força muscular é um trabalho gradativo e lento.

Contudo o segundo estudo de caso da presente pesquisa, apontou que a Paciente B teve piora da sua força muscular perineal, passando de grau 2 sem lubrificante na avaliação inicial para grau 1 com lubrificante na avaliação final. A paciente relatou que estava com “cansaço físico”, pois havia trabalhado muito nos últimos dias com organizações de caráter pessoal.

O estudo de Gomes (2007) realizado na Universidade Estadual de Goiás constatou pelo uso do questionário FSFI que jovens após a intervenção com o neopompoarismo tiveram os escores de sexualidade elevados. Os resultados da presente pesquisa coincidem com o estudo citado apenas em relação à Paciente A, a qual teve aprimoramento em todos os escores da qualidade de vida (limitação física, sintomatologia, emocional, aspecto físico, sexualidade) quanto nos escores “desejo” e “satisfação” no questionário de sexualidade com o tratamento de neopompoarismo pelo período de um mês, mesmo não realizando atividade sexual neste período.

Não obstante, os resultados da Paciente B indicaram piora na média final de qualidade de vida e na pontuação final de sexualidade, quando comparada a si mesma. Acredita-se que esse decréscimo tenha acontecido pelos questionários usados serem focados na intimidade das pacientes, o que pode ter levado a respostas diferentes da realidade por retração ou mesmo vergonha por parte da paciente. Pois após ter sido relatado os resultados para a paciente, esta relatou que: “eu tenho certeza que eu melhorei, consigo prender mais o xixi, antes quando dava vontade de ir ao banheiro, eu não consegui segurar, hoje eu tenho vontade, mas se preciso ir atender a porta antes de ir ao banheiro eu consigo segurar.” Declarou, também, que se sente mais a vontade com a pesquisadora agora, após algumas sessões, do que no início, pela questão tanto de confiança como de convivência.

No domínio “emocional” do questionário de qualidade de vida a Paciente A obteve como média inicial de 5 e como média final o valor de 1,96, caracterizando uma melhora neste domínio, em contrapartida a Paciente B teve como pontuação na primeira avaliação o valor de 1,78 e na segunda de 3,21. Demonstrando uma piora no quesito “emocional” tanto em comparação consigo mesma, quanto comparada a outra paciente do estudo. Também em relação ao item “desejo” do questionário FSFI a Paciente A e a Paciente B obtiveram na primeira avaliação o mesmo escore de 3, porém a Paciente A na avaliação final evoluiu para um escore de 3,6 enquanto a média da Paciente B se manteve. Demonstrando uma evolução do critério “desejo” sexual da Paciente A com o tratamento com neopompoarismo.

Vale ressaltar que, mesmo com a piora da Paciente B, as avaliações finais tanto do Questionário de Avaliação de Qualidade de Vida da Paciente Mastectomizada quanto o questionário FSFI, tanto na avaliação inicial quanto na final, destacaram uma melhor qualidade de vida e sexualidade desta paciente em relação à Paciente A. Este fato pode se referir a Paciente B ter grau de escolaridade mais alta, realizar reconstrução mamária no ato da cirurgia para retirada da mama, apresentar-se mais informada sobre o assunto, não ter metástase, trabalhar com uma atividade que não exige tanto do físico ou da força do membro superior afetado, ter realizado atividade sexual durante o estudo.

Encontrou-se obstáculos na construção da quantidade amostral pela realização de um trabalho intervencional pelo curto período de um ano e pelos critérios de inclusão e exclusão propostos. Diversas mulheres foram excluídas do estudo por terem mais de 50 anos e outras optaram por recusar a participar do estudo por sentirem-se retraídas em relação ao tema abordado.

O fato do tema abordado ser de cunho íntimo e delicado representou dificuldade na fidedignidade das respostas dadas pelas pacientes aos questionários, principalmente na avaliação inicial, por não terem liberdade com a terapeuta, a qual foi construída com o decorrer do tratamento.

Mulheres, mesmo sem patologias físicas, estão susceptíveis às disfunções sexuais. Mastectomizadas apresentam uma maior disposição a terem alterações psicológicas e emocionais, as quais geram diversas reduções em qualidade de vida e sexualidade. O presente estudo propiciou para as pacientes atendidas maior conhecimento corporal, maior propriocepção muscular, representou conscientização, dessas mulheres, da necessidade de intervenção fisioterapêutica voltada para a uroginecologia, as quais se apresentaram menos inibidas, mais dispostas a terem relações sexuais com seus parceiros.

Embora os resultados tenham sido conflitantes, com piora na avaliação final equiparada com a avaliação inicial de qualidade de vida, sexualidade, de força perineal da Paciente B e melhora dos itens da Paciente A. Perdurando, ainda, a Paciente B com os escores finais de qualidade de vida e sexualidade melhores que os da Paciente A. Demonstra-se com o presente estudo que, pacientes com reconstrução, maior grau de escolaridade e informação possuem melhores pontuações de qualidade de vida e função sexual.

CONCLUSÃO

Constatou-se que menores pontuações de qualidade de vida e sexualidade estão relacionados ao grau de escolaridade mais baixo, menor informação a cerca do tratamento, presente de metástase e não realização de reconstrução mamária após a mastectomia.

Não pode estabelecer influências positivas do tratamento fisioterapêutico com o neopompoarismo na vida sexual. Visto que a Paciente A obteve melhor nos domínios: “desejo” e “satisfação”, porém a paciente B, manteve seus escores nos domínios “desejo”, “excitação”, “lubrificação”, “satisfação” e os escores diminuídos nos domínios “orgasmo” e “dor”. Assim como, no grau de força que evoluiu em uma paciente e em outra regrediu.

Quanto aos resultados de déficits de qualidade de vida e sexualidade em paciente que passaram pelo procedimento de retirada da mama, o presente estudo identificou que há alterações negativas nestes quesitos em pacientes mastectomizadas, e estas alterações ocorrem, não somente durante o primeiro ano pós cirurgia, como também podem perdurar.

Mostrou-se que a Paciente B (com reconstrução) obteve melhores índices de qualidade de vida de sexualidade em relação à Paciente A. Demonstrando que a imagem corporal e a aparência física tem papel fundamental na autoestima, atividade sexual e na qualidade de vida em geral.

REFERÊNCIAS

ABDO, C. H.; OLIVEIRA, W. M.; MOREIRA, E. D. J.; FITTIPALDI, J. A. Prevalence of sexual dysfunctions and correlated conditions in a sample of brazilian women – results of the brazilian study on sexual behavior (BSSD). **International Journal of Impotence Research**, Nova Iorque, v. 16, n. 2, p. 160-166, 2004.

ANTONIOLI, R. S.; SIMÕES, D. Abordagens fisioterapêuticas nas disfunções sexuais femininas. **Revista Neurociências**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 267-274, 2010.

BASEGIO, D. L. **Câncer de Mama: Abordagem Multidisciplinar**. 1. Ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1999.

BAESSLER, K.; SCHUESSLER, B. Childbirth-induced trauma to the urethral continence mechanism: review and recommendations. **Urology**, Nova Jersey, v.62, n.4, supl. 1, p.39-44, 2003.

BHARUCHA, A. E. Pelvic floor: anatomy and function. **Neurogastroenterology and Motility**, Oxford, v.18, n.7, p.507-519, 2006.

BIANCO, G.; BRAZ, M. M.; **Efeitos dos exercícios do assoalho pélvico na sexualidade feminina** (Graduação em Fisioterapia) - Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, 2004.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer (INCA). **Perguntas e respostas sobre quimioterapia**. 2010. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br>>. Acesso em: 05 de jun. de 2015.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer (INCA). **Tipos de câncer: Mama**. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/mama>>. Acesso em: 07 abril de 2015a.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer (INCA). **Programa nacional de controle do câncer**. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br>>. Acesso em: 15 de junho de 2015b.

BRASIL. Lei nº 12.802 data 24 de abril de 2013. Dispõe sobre a obrigatoriedade da cirurgia plástica reparadora da mama pela rede de unidades integrantes do Sistema Único de Saúde - SUS nos casos de mutilação decorrentes de tratamento de câncer. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 de abr. de 2013c. Seção 1, p. 2.

CARDOZO, F. M. C. **A influência da depressão e fadiga na qualidade de vida dos pacientes oncológicos submetidos à quimioterapia**. 2011. Dissertação (Mestrado em ciências da saúde ao programa de Pós-graduação em Enfermagem Fundamental) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

CAVALCANTI, R.; CAVALCANTI, M. **Tratamento Clínico das Inadequações Sexuais**. 2. Ed. São Paulo: Roca, 1996.

COHEN, L.; HACK, T. F.; MOOR, C.; KATZ, J.; GOSS, P. E. The effects of type of surgery and time on psychological adjustment in women after breast cancer treatment. **Annals of Surgical Oncology**, Baltimore, v. 7, n. 6, p. 427-434, 2000.

CONDE, D. M.; PINTO-NETO, A. M.; FREITAS JÚNIOR, R.; ALDRIGHI, J. M. Qualidade de vida de mulheres com câncer de mama. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, São Paulo, v. 28, n.3, p. 195-204, 2006.

DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A.; **Anatomia Humana: Sistêmica e Segmentar**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2007.

DAVIS, S. R.; Androgens and female sexuality. **Journal of Gender Specific Medicine**, New York, v. 24, p. 661-670, 2000.

ENGEL, J.; KERR, J.; SCHLESINGER-RAAB, A.; SAUER, H.; HÖLZEL, D. Quality of life following breast-conserving therapy or mastectomy: results of a 5-year prospective study. **The Breast Journal**, Jacksonville, v. 10, n. 3, p. 223-231, 2004.

FONTANELLA, T. A arte do pompoarismo: autoconhecimento, prazer e alegria. In: Encontro Paranaense, Congressos Brasileiro de Psicoterapia Corporais, XV, X, 2010. **Anais**. Curitiba: Centro Reichiano, 2010.

GANZ, P. A.; DESMOND, K. A.; LEEDHAM, B., ROWLAND, J. H.; MEYEROWITZ, B. E.; BELIN, T. R. Quality of life in long-term, disease-free survivors of breast cancer: a follow-up study. **Journal of the national cancer institute**, Bethesda, v. 94, n. 1, p. 39-39, 2002.

GOMES, L. F. **A utilização da técnica de neopompoarismo no aprimoramento da sexualidade**. 2007. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Fisioterapia) – Escola Superior de Educação e Fisioterapia do Estado de Goiás, Universidade Estadual de Goiás, Goiânia.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

HALL, C. E.; BRODY, L. T. **Exercício terapêutico: na busca da função**. 2. ed. Rio de Janeiro, 2007.

HOLZNER, B.; KEMMLER, G.; KOPP, M.; MOSCHEN, R. Quality of life in breast cancer patients-not enough attention for longterm survivors? **Psychosomatics**, Filadelfia, v. 42, n. 2, p. 117-123, 2001.

HORNEY, R. **Psicologia Feminina**. Rio de Janeiro: Betrand Brasil, 1991.

HOSPITAL ALBERT EINSTEIN. **Hormioterapia no câncer de mama**. Disponível em: <<http://www.einstein.br/hospital/oncologia>>. Acesso em: 19 de jul. de 2013.

HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS. **Quimioterapia e os efeitos colaterais**. Disponível em <<http://www.hcancerbarretos.com.br/opcoes-de-tratamento/quimioterapia/33-paciente/opcoes-de-tratamento/quimioterapia/108-quimioterapia-e-os-efeitos-colaterais>>. Acesso em: 14 de abril de 2015.

HUGUET, P. R.; GURGEL, M. S. C. Qualidade de vida e aspectos da sexualidade de mulheres tratadas de câncer de mama. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, 2006.

HUGUET, P. R.; MORAIS, S. S.; OSIS, M. J. D.; PINTO-NETO, A. M.; GURGEL, M. S. C. Qualidade de vida e sexualidade de mulheres tratadas de câncer de mama. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obsetrícia**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 61-67, 2009.

JANNI, W.; RJOSK, M. D.; DIMPFL, T. H.; HAERTL, K.; STROBL, B.; HEPP, F.; et al. Quality of life influenced by primary surgical treatment for stage I-III breast cancer-long term follow-up of matched-pairs analysis. **Annals of Surgical Oncology**, Baltimore, v. 8, n. 6, p 542-548, 2001.

KADOSH, C.; IMAGUIRE, C. **Pompoarismo: o caminho do prazer**. Curitiba: Eden, ed. 34, 2012.

KALIKS, R. **Radioterapia**. Câncer de mama.com. 2011. Disponível em: <<http://www.cancerdamama.com/tratamentos/radioterapia/>> . Acesso em: 24 de jul. de 2015a.

KALIKS, R. **Hormonioterapia**. Câncer de mama.com. 2011. Disponível em: <<http://www.cancerdamama.com/tratamentos/hormonioterapia/>> . Acesso em: 24 de jul de 2015b.

KAPLAN, H. S. **A Nova Terapia do Sexo**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, ed. 5, 1977.

KENNY, P.; KING, M.; SHEILL, A.; SEYMOUR, J.; HALL, J.; LANGLANDS, A. Early stage breast cancer: costs and quality of life one year treatment by mastectomy or conservative surgery and radiation therapy. **Breast**, Edimburgo, v. 9, n. 1, p. 37-44, 2000.

KING, M. T.; KENNY, P.; SHEIL, A.; BOYAGES, H. J. Quality of life three months and one year after first treatment for early stage breast cancer: influence of treatment and patient characteristics. **Quality of Life Research**, Nova Iorque, v. 9, p. 789-800, 2000.

LATORRE, G. F. S. **O que é Pompoarismo?** Disponível em: <<http://perineo.net/conteudo/pompoarismo.php>>. Acesso em: 12 de jul. de 2013a.

LATORRE, G. F. S. **O que é neopompoarismo?** Disponível em: <<http://perineo.net/conteudo/neopompoarismo.php>>. Acesso em: 12 de jul. de 2013b.

LEITE, R. C.; OLIVEIRA, C.; RIBEIRO, L. **Câncer de Mama: Prevenção e Tratamento**. São Paulo: Ediouro, 2002.

LIMA, H. F. C. A. **Efeitos colaterais comuns da quimioterapia**, 2012. Disponível em: <<http://www.cancerinfo.com.br/artigo/efeitos-colaterais-comuns-da-quimioterapia.html>>. Acesso em: 07 de ago. de 2013

LOPES, A.; IYEYASU, H.; CASTRO, R. M. R. P. S. **Oncologia para graduação**. 2. ed. São Paulo: Tecmedd, 2008.

MANGANIELLO, A. **Sexualidade e qualidade de vida da mulher submetida à mastectomia**. 2008. Dissertação (Mestrado e enfermagem) – Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MAKLUF, A. S. D.; DIAS, R. C.; BARRA, A. A.; Avaliação da qualidade de vida de em mulheres com câncer de mama. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 52, n. 1, p. 49-58, 2006.

MALUF, M. F. M. **O perfil da sexualidade em pacientes com câncer de mama** (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MASTERS, W. H.; JOHNSON, V. E.; **Human Sexual Response**. Boston: Little Brown, 1966.

MEDEIROS, M. W.; BRAZ, M. M. Efeitos da fisioterapia no aprimoramento da vida sexual feminina. **Revista Fisioterapia Brasil**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 3, p. 188-193, 2004.

MELLON, S.; NORTHOUSE, L. L.; WEISS, L. K. A population-based study of the quality of life of cancer survivors and their family caregivers. **Cancer Nursing**, New York, v. 29, n.2, p. 120-131, 2006.

MERCÊS, M; MURIBECA, M. Das origens da sexualidade feminina ao feminino nas origens da psicosexualidade humana. **Revista estudos de Psicanálise**, Aracaju, n. 33, p.101-108, 2010.

MIN, K.; MUNARRIZ, R.; BERMAN, J.; KIM, N. N.; GOLDSTEIN, I.; TRAIISH, A. M.; STANKOVIC, M.R. Hemodynamic evaluation of the female sexual arousal response in an animal model. **Journal of Sex and Marital Therapy**, Washington, v. 27, n. 5, p. 557-565, 2001.

MOREIRA, J. R.; NETO, M. S.; PEREIRA, J. B., BIASI, T.; GARCIA, E. B.; FERREIRA, L; M Sexualidade de mulheres mastectomizadas e submetidas à reconstrução mamária. **Revista Brasileira de Mastologia**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 4, 177-182, 2010.

NISSEN, M. J.; SWENSON, K. K.; RITZ, L. J.; FARELL, J. B.; SLADEK, M. L.; LALLY, R. M. Quality of life after breast carcinoma surgery: a comparison of three surgical procedures. **Cancer**, Atlanta, v. 91, n. 7, p. 1238-1246, 2001.

PACAGNELLA, R. C.; VIEIRA, E;M.; RODRIGUES, O. M.; SOUZA, C. Adaptação transcultural do Female Sexual Function Index. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 416-426, 2008.

RIVA, L. **Pompoar: Prazer e Saúde**. 7. Ed. São Paulo: Best Graph, 2012.

SEARA, L. S.; VIEIRA, R. X., PECHORRO, P. S. Função sexual e imagem corporal da mulher mastectomizada. **Revista Internacional de Andrología**, Barcelona, v. 10, n. 3, p. 106-112, 2012.

SCHEIN, C. F.; MARQUES, A. R.; VARGAS, C. L.; KIRSTEN, V. R. Efeitos colaterais da quimioterapia em pacientes oncológicos hospitalizados. **Disciplinarum Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 7, n. 1, p. 101-107, 2006.

VACEK, P. M.; WINSTEAD-FRY, P.; ROGER, H.; WALKER, S.; HOOPER, G. J.; Factors influencing quality of life in breast cancer survivors. **Quality of Life Research**, Nova Iorque, v. 12, p. 527-537, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHOQOL-BREF: Introduction, administration, scoring and generic version of the assessment**. Geneva: WHO, p. 5, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Defining Sexual Health: Report of a Technical Consultation on Sexual Health.** Geneva: WHO, p. 28-31, 2002.

PARTE III

INOVAÇÃO

INOVAÇÕES TECNOLÓGICAS NA APLICAÇÃO DE MICROALGAS

*Juliana Moraes de Carvalho Castiglioni*¹

*Nivaldo dos Santos*²

*Gabriel Luis Castiglioni*³

INTRODUÇÃO

O Direito Agroalimentar exerce um papel importante na regulamentação de tecnologias e processos agrícolas e faz interface com a inovação tecnológica e a propriedade intelectual.

Segundo o Manual de Oslo, 3ª edição de 2005, elaborado pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), inovação tecnológica é definida pela introdução no mercado de um produto ou de um processo produtivo tecnologicamente novo ou substancialmente aprimorado.

Barbosa (2011) destaca que o Decreto n. 5.798 de 2006 segue a linha do Manual de Oslo e dispõe no artigo 2º como inovação: “a concepção de novo produto ou processo de fabricação, bem como a agregação de novas funcionalidades ou características ao produto ou processo que implique melhorias incrementais e efetivo ganho de qualidade ou produtividade, resultando maior competitividade no mercado”.

Barbosa (2011, p. 40 e 41) complementa que a inovação “será a introdução de novidade ou aperfeiçoamento no ambiente produtivo ou social que resulte em novos produtos, processos ou serviços”. Assim, envolve um processo “que vai desde a criação até o uso social desta (...) a chegada de uma utilidade no ambiente social, com ou sem efeitos no sistema produtivo”.

Nos últimos anos, o interesse pelo potencial biotecnológico das microalgas tem sido crescente. Seja pela composição química da biomassa microalgal, pela grande biodiversidade dos seus metabólitos ou por sua aplicação em microalgal, sistemas alternativos, como o uso de dióxido de carbono e outros resíduos agroindustriais.

¹Graduada em Direito pela PUC-GO e em Publicidade pela UnB, mestranda do Programa de Pós-graduação em Direito Agrário da Universidade Federal de Goiás e bolsista da FAPEG.

²Professor Doutor do Mestrado em Direito Agrário da Universidade Federal de Goiás, professor titular da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, e da UFG.

³Professor Doutor da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UFG.

As microalgas podem ser classificadas pelos tipos de pigmentos, natureza química dos produtos de reserva ou pelos constituintes da parede celular. Ou seja, aspectos citológicos e morfológicos são aspectos fundamentais para classificação destes organismos (RICHMOND, 2004).

As microalgas são capazes de armazenar energia solar, na forma de energia biológica. Os constituintes deste nível trófico sintetizam nova matéria orgânica a partir de substratos inorgânicos, CO₂ e água.

Fotobiorreatores (Figura 1) são equipamentos utilizados para produção de microalgas.

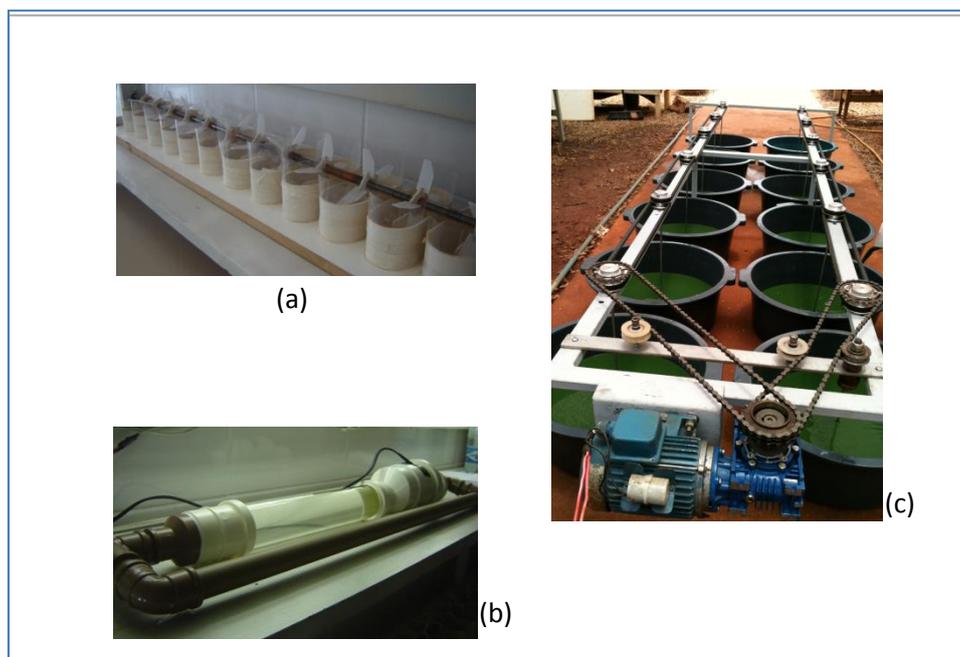


Figura 1: Fotobiorreatores (a) fechado de fluxo contínuo, abertos (b) tipo raceway e (c) circulares. Fonte: Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal de Goiás

Para Simões (2004), os produtos gerados a partir do metabolismo das algas podem ser divididos em dois grupos. Um relacionado aos compostos gerados durante o metabolismo primário (macromoléculas) e o segundo grupo de compostos, gerados a partir do metabólitos secundários (micromoléculas).

No primeiro grupo estão incluídos os lipídeos, protídeos e glicídios, os quais a partir das rotas metabólicas originam o segundo grupo, geralmente com estrutura mais complexa, normalmente com compostos de baixo peso molecular. Tais compostos exercem atividades biológicas garantem vantagens quanto a sua sobrevivência e multiplicação da espécie (SIMÕES et al., 2004).

No segundo grupo de compostos, as rotas metabólicas são ativadas durante estágios particulares de crescimento, que podem estar associados a condições de estresse ocasionados pela limitação nutricional pela presença de outros organismos no sistema (SIMÕES et al., 2004).

Tais características associadas às microalgas proporcionam possíveis aplicações comerciais nas áreas da nutrição, saúde humana e animal, tratamento de águas residuais, produção de energia e obtenção de compostos de interesse para as indústrias alimentícias, química, farmacêutica, dentre outras.

De forma exemplificativa, a Tabela 1 apresenta um panorama mundial da produção de algumas microalgas e suas aplicações.

Tabela 1: Panorama da produção mundial de microalgas

Microalga	Aplicação	Local de produção
<i>Arthrospira</i>	Nutrição humana e animal, cosméticos	China, Índia, USA, Japão, Myanmar
<i>Ascophyllum, Fucus, Laminaria</i>	Ração para gatos, aves e suínos	Japão, USA, Nova Zelândia
<i>Chlorella sp.</i>	Nutrição humana, aquicultura, cosméticos	Taiwan, Japão, Alemanha
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	Óleo DHA	USA
<i>Dunaliella salina</i>	Nutrição humana, cosméticos, β -caroteno	Austrália, Israel, USA, China
<i>Laminaria, Ecklonia, Eisenia</i>	Nutrição humana (aves e ovelhas)	Grã-Bretanha, França e Escandinávia
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Aquicultura, astaxantina	USA, Índia, Israel
<i>Rhodomenia palmata, Gelidium, Grateloupia,</i>	Alga que acompanha pratos à base de frutos do mar	Ilhas Pacíficas

Fucus

<i>Schizochytrium</i>	Óleo DHA	USA
<i>Spirogyra, Oedogonium</i>	Alga seca, adicionada em sopas	Índia
<i>Ulva</i>	Suplemento nutricional	Europa
<i>Ulva lactuca</i>	Uso em saladas e sopas	Escócia

Fonte: Adaptado de Anupama e Ravindra (2000); Pulz e Gross (2004).

Assim, o potencial da produção de microalgas está baseado nas vantagens a elas associadas. Os cultivos de microalgas podem ser considerados como sistemas biológicos de alta eficiência no que diz respeito a conversão de energia solar em biomassa. As características presentes na biomassa são as mais variadas possíveis, o que se justifica pela presença de compostos de alto valor funcional, como proteína, pigmentos, ácidos graxos, carboidratos, antioxidantes, vitaminas, minerais, entre outros.

Uma característica importante da produção de muitas microalgas é a possibilidade de utilização de resíduos agroindústrias, domésticos e industriais, como parte do meio de cultivo para seu crescimento ou produção de algum metabólito específico.

Alguns centros de pesquisa no Brasil vem desenvolvendo estudos de otimização dos processos de produção de microalgas e seu metabólitos. O Laboratório de Engenharia Bioquímica de Universidade Federal de Goiás é um deles e tem desenvolvido linhas de pesquisa relacionadas no dimensionamento e construção de biorreatores, otimização de processos de produção da biomassa, ficocianina, β -caroteno e outros metabólitos de interesse comercial.

Tais linhas podem possibilitar avanços dentro do contexto de aplicação das microalgas, visto que os trabalhos são dimensionados para realidades específicas ou de acordo com as necessidades das instituições parceiras. A aplicação de microalgas no desenvolvimento de novos alimentos também faz parte dos estudos envolvidos por uma equipe multidisciplinar.

Importância das microalgas quanto ao aspecto nutricional e funcional

Várias espécies de microalgas são cultivadas comercialmente em alguns países, onde a sua biomassa tem sido utilizada como matéria prima para diferentes produtos da indústria de alimentos. As principais microalgas cultivadas comercialmente são espécies dos gêneros *Chlorella*, *Arthrospira*, *Dunaliella salina* e *Haematococcus* (BECKER, 2004).

A aplicação das microalgas passam necessariamente por processos de extração dos componentes de interesse, onde inicialmente a biomassa é separada do meio de cultivo por floculação, centrifugação ou filtração. Em seguida a biomassa é seca para aumentar a estabilidade microbiológica e possibilitar maior flexibilidade de uso.

Após esta etapa, os compostos de interesse podem ser extraídos a partir da sequência de técnicas que visam o rompimento da parede celular (homogeneização, ultrassom, choque osmótico, solventes, enzimas). Depois são usadas técnicas de purificação dependentes das moléculas de interesse (como por exemplo a ultra filtração, cromatografia e fracionamento) (RICHMOND, 2004).

Um exemplo de microalga bem consolidada a nível mundial é a *Arthrospira*. A *Arthrospira* apresenta elevado conteúdo proteico, pró-vitamina A (beta-caroteno), ferro absorvível, vitaminas, minerais, compostos fenólicos, ficocianina, ácido gama-linolênico e outros ácidos graxos essenciais (VON DER WEID et al., 2000).

O uso das microalgas na alimentação humana está basicamente restrita ao uso em encapsulas e mistura em alimentos industrializados, é o caso de formulações de bolos, biscoitos, bebidas, entre outras (PULZ; GROSS, 2004).

Outro ramo que tem ganhado muita expressão é o uso da microalgas na alimentação de animais. Seu uso vem se difundindo para animais aquáticos e principalmente caninos e felinos. Alguns exemplos são rações para tartaruga, peixes de aquário e suplementos nutricionais para cães e gatos, disponíveis em grande parte do mercado nacional e internacional.

A produção de carotenoides nas microalgas deve-se a função de aumentar a captação de luz e proteção contra os fotossistemas quanto ao excesso de luz, ou seja, atuando como um filtro fotossensível.

Outra aplicação das microalgas é na produção de proteína de alta funcionalidade, tanto para humanos, animais, vegetais e culturas microbiológicas. Em culturas microbiológicas, extratos de *Chlorella* e *Scenedesmus*, têm sido aplicados com o intuito de estimular o crescimento de leveduras e bactérias, e de outros microorganismos.

Importância das microalgas quanto ao aspecto agrícola

Estudos e produtos nos Estados Unidos utilizam a microalga como inoculante para o solo, a fim de melhorar a sua estrutura em termos de fertilidade e prevenir erosão, através dos seus polissacarídeos extracelulares.

Por fim, capas de cianobactérias fixadoras de nitrogênio inoculadas no solo podem aumentar a fixação de nitrogênio. O uso de microalgas fixadoras de nitrogênio já são usadas em campos de arroz alagados com boa produtividade. Afinal, as cianobactérias crescem espontaneamente e abundantemente nesses campos, fazem a fixação do nitrogênio atmosférico e secretam substâncias nitrogenadas. Sem falar que sua decomposição tornam o solo mais fértil.

Importância das microalgas quanto ao aspecto ambiental

Nas últimas décadas as microalgas tem ganhado mais atenção quanto ao seu uso no tratamento de águas residuais. Um exemplo é o processo de eutrofização em condições não controladas em lagoas não aeradas.

Alguns países tem aprofundado os estudos e aplicação de microalgas no tratamento de águas residuais a partir da substituição dos tanques convencionais por tanques com aplicação de altas vazões. Nestas situações, pode ser significativa a implementação de sistemas de agitação e aeração, para possibilitar não o tratamento dos resíduos, mas a produção de biomassa e recuperação dos afluentes.

Outra aplicação das microalgas no aspecto ambiental é a adsorção de compostos provenientes das águas residuais que resultam das atividades humanas, incluindo pesticidas e metais pesados. Estas substâncias perigosas estão muitas vezes associadas a um elevado potencial de persistência e bioacumulação. As possibilidades de aplicação das microalgas no tratamento das águas residuais podem ser pela remoção

de nutrientes, desinfecção e remoção de metais pesados, mas também há estudos na remoção de fenóis e clorofenóis (Lima et al. 2004).

Alguns pesquisadores (De-Bashan et al., 2004) estudaram a influência, na remoção de componentes presentes em um sistema com água residual, juntamente com a presença bactérias (*Azospilillum brasiliense*) e em combinação com outras microalgas (*Chlorella vulgaris* e *C. sorokiniana*). Os resultados mostraram que as melhores eficiências de remoção foram aquelas utilizando microalgas e bactérias.

Em relação a remoção de metais pesados, muitas microalgas estão sendo estudadas, porém alguns gêneros, como a *Chlorella* e a *Scenedesmus*, tem se destacado pela sua alta área superficial e eficiência de remoção e recuperação de metais das águas.

Os mecanismos envolvidos neste processos se devem a presença de cargas elétricas negativas na superfície das microalgas, resultando em altas afinidades com grande número de metais, justificando o aumento de 1000 vezes mais a acumulação de alguns metais, quando comparado a concentração destes no exterior da microalga. Tal observação mostra que o aumento da remoção dos metais está diretamente associada à concentração celular no sistema. Outro aspecto que se deve levar em consideração é interferência que as microalgas sofrem na presença de outros íons, condições de pré-tratamento das células e das condições ambientais (Tam et al., 1998).

Segundo Avery et al. (1998), a bioacumulação de metais pesados pelas microalgas pode ser dividida em duas fases. A fase rápida, que acontece entre 5-10 minutos. Nesta fase a adsorção é reversível e é independente do metabolismo. A segunda fase é denominada fase lenta e se caracteriza pelo processo de difusão dos metais para o interior da microalga. Nesta etapa a acumulação normalmente é irreversível e dependente do metabolismo celular.

Além disso, há diversos estudos do uso de microalgas no tratamento de águas residuais urbanas. Souza (2014) por exemplo, comparou a aplicação de diversas microalgas como a *Chlorella vulgaris*, a *Scenedesmus obliquus* e um consórcio de microalgas (isoladas a partir do próprio efluente).

Os resultados obtidos Souza (2014, p.11) demonstram: a) Todas as microalgas foram eficientes na remoção dos nutrientes das águas residuais; b) A biomassa microalgal obtida foi usada para obtenção de biocombustíveis e outros compostos de elevado valor comercial, como pigmentos, utilizando tecnologias de baixo custo para a sua produção, colheita e secagem; c) O elevado teor em proteína

apresentado por todas as microalgas estudadas permite a utilização dessa biomassa para a produção de rações animais; d) Com a eletrocoagulação originou uma economia de mais de 94% de energia face à centrifugação; e) Para a secagem da biomassa, foi utilizado um secador solar que, além de não ter consumido qualquer energia elétrica, ainda apresentou a vantagem de constituir um processo mais rápido do que as duas alternativas testadas (estufa e liofilizador).

Ademais, outra importante contribuição do uso de microalgas em prol da sustentabilidade ambiental diz respeito à biofixação de dióxido de carbono (CO₂).

O estudo realizado por Melo (2010, p. 15) apresenta excelentes resultados: “Por meio da fotossíntese, conseguem fixar cerca de dez a vinte vezes mais do carbono atmosférico do que o absorvido por outros tipos de culturas, como as oleaginosas. Cada tonelada de biomassa de microalga produzida, consome cerca de 1,83 t de dióxido de carbono”.

Neste aspecto, há pesquisa brasileira está avançada. A Universidade Federal Rio Grande “testou algumas espécies como a *Nannochloropsis oculata* e a *Thalassiosira weissfloggi*, e estas apresentaram capacidade de fixação de carbono no mínimo duas vezes superior à outras espécies testadas em laboratórios, cerca de 17 a 32 toneladas de carbono por hectare ao ano” (MELO, 2010, p. 15).

Por fim, é mister destacar casos concretos de uso de microalgas para o sequestro de CO₂. O Prêmio Nacional de Inovação Ambiental ²⁷(PNIA), promovido pela Indústria e Ambiente em Portugal. No ano de 2009 a vencedora foi a empresa Algafuel, que oferece bioenergia e sequestro de CO₂ com microalgas. O protótipo premiado envolvia o sequestro de CO₂ em gases frutos da combustão de uma indústria de cimento. Era um conjunto de sistemas utilizando fotobiorreatores tubulares integrado, desde a célula até a biomassa.

Por fim, outro aspecto relevante na questão ambiental é na geração de energia limpa. O biocombustível de microalgas tem uma vantagem importante, diferente de outras matérias primas de fontes renováveis (como cana-de-açúcar, soja e milho), não precisa de grandes áreas para a produção.

²⁷ Especial. Prêmio Nacional de Inovação Ambiental. *Indústria e ambiente n. 57*, produtos e tecnologia, p. 44 julho/agosto 2009 Disponível em: http://pnia.industriaeambiente.pt/xFiles/scContentDeployerTA_pt/docs/Doc90.pdf

Os custos ainda são altos e não há previsão de quando será possível produzir o biocombustível de microalgas em larga escala. Apesar disso, os estudos têm sido intensificados.

Microalgas como tecnologias verdes

Tecnologia ambiental, amigavelmente ambiental, sustentável, são vários os nomes utilizados que demonstram a diversidade terminológica e conceitual de tecnologias verdes. Assim, este trabalho visa analisar o conceito e analisar as microalgas como exemplos de tecnologias verdes.

Segundo Jabbour (2010, p. 608), tecnologias ambientais estão relacionadas ao desenvolvimento e alterações em produtos, processos ou serviços, que passam “a incorporar práticas de melhoria contínua de seu desempenho ambiental, principalmente por utilizar matérias-primas de baixo impacto ambiental, processá-las de forma eficiente e fomentar o reaproveitamento e mínimo desperdício de seus produtos finais”.

A Conferência das Nações Unidas para o Ambiente e Desenvolvimento desenvolveu o conceito das EST's - “*Environmentally Sound Technologies*” também chamadas de "Tecnologias Ambientalmente Amigáveis". Sua descrição consta no documento produzido durante a conferência ambiental realizada no Rio de Janeiro em 1992 (capítulo 34 da Agenda 21): tecnologias de processos e produtos que geram poucos ou nenhum resíduo, tecnologias que protegem o meio ambiente e que são menos poluentes.

Ou seja, são tecnologias que utilizam todos os recursos de uma forma mais sustentável, que reciclam mais resíduos e produtos, e ainda, que tratam os dejetos residuais de uma maneira mais aceitável.

Segundo Reis (2013), este conceito foi aplicado em 16 de setembro de 2010, no sistema de Classificação Internacional de Patentes chamado Inventário Verde. Apontava como principais tecnologias verdes: energia alternativa, conservação de energia, transporte, gerenciamento de resíduos, agricultura, energia nuclear e administrativo.

Diante deste contexto, os processos de extração e cultura, bem como os usos das microalgas podem ser consideradas como tecnologias verdes, uma vez que pode ser

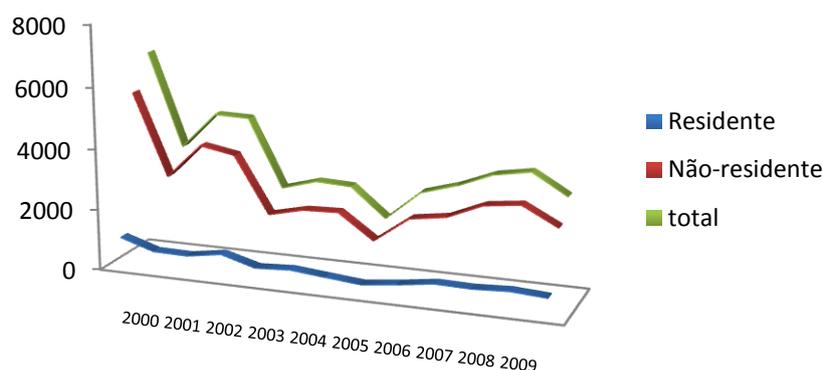
aplicada em diversas áreas ambientais, desde a geração de biocombustíveis como o bioetanol e biodiesel, no gerenciamento de resíduos no tratamento de efluentes, na agricultura como inoculantes e fixação de nitrogênio, além de alimentação humana e animal de forma mais funcional.

Patentes de microalgas

No Brasil, o Instituto Nacional da Propriedade Industrial- INPI é responsável por conceder o direito de patente. Segundo o Anuário Estatístico de Propriedade Industrial com dados referentes de 2000 e 2012, elaborado pelo INPI. Observa-se (Figura 2) que neste período houve uma redução na quantidade de patentes concedidas, passando de 6.255 patentes de invenção e 420 modelo de utilidade concedidas em 2000 para 2.835 e 292 respectivamente no ano 2012.

Apesar do número de pedidos de patentes ser crescente, a quantidade de patentes efetivamente concedidas (que já é pequena em relação aos outros países), ainda está decrescente, reduziu para menos da metade neste período.

Figura 2. Total de patentes concedidas no Brasil para residentes e não residentes entre 2000 e 2012:



Fonte: Adaptado, INPI - Assessoria de Assuntos Econômicos, 2015

Além disso, observa-se uma participação discreta constante dos residentes no total de patentes efetivamente concedidas, com uma média de 659 patentes concedidas à residentes no Brasil por ano neste período.

Segundo a Confederação Nacional da Indústria- CNI, o relatório da

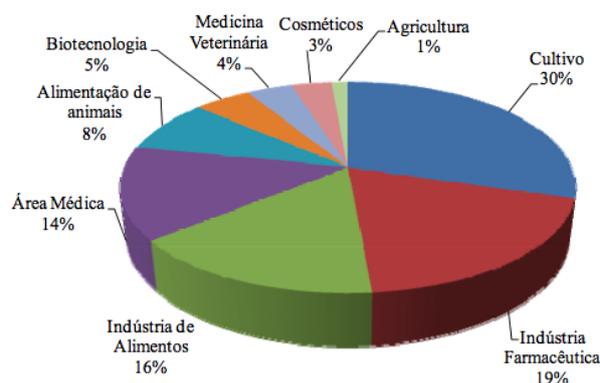
Organização Mundial de Propriedade Intelectual (WIPO), feito com dados de 2012, dentre 20 maiores escritórios de concessão de patentes, demonstra um desempenho frágil do Brasil na penúltima posição no ranking mundial de patentes válidas.

O estudo das patentes já concedidas de microalgas pode contribuir nesta análise. Mendonça (et. al., 2012, p. 45 e 46) avaliou as potencialidades e evolução tecnológica, através dos depósitos de patentes em relação à utilização da microalga *Spirulina platensis* nos setores industriais. “A pesquisa foi realizada a partir de palavras chaves sobre o tema entre os meses de agosto e setembro de 2012, tendo como base os pedidos de patentes depositados no *European Patent Office* (Espacenet), na World Intellectual Property Organization (WIPO) e no Banco de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) do Brasil”.

O estudo (MENDONÇA et. al., 2012, p. 46) analisou 206 patentes, sendo “188 patentes na base europeia - Espacenet (no campo título e resumo), 13 na WIPO (no campo folha de rosto) e 05 na base do INPI (no campo resumo, com palavras-chave em inglês)”.

Ao analisar a distribuição de patentes de acordo a área de aplicação no setor industrial, conforme (Figura 3), o grande destaque são para cultivo (30%), indústria farmacêutica (19%) e alimentos (16%).

Figura 3. Distribuição de patentes de acordo a área de aplicação no setor industrial em 2012:



Fonte: Adaptado de (MENDONÇA et. al., 2012, p. 48).

Alimentos e Farmácia são setores industriais que costumam investir em pesquisas voltadas para inovação. “Isso pode se traduzir em fins comerciais e lucrativos

para o país financiador, já que uma patente pode ser depositada em diferentes países, com o objetivo de garantir o direito de exclusividade aos depositantes nos mercados considerados mais relevantes, garantindo assim o direito territorial da patente” (MENDONÇA et. al., 2012, p. 48).

Os principais países detentores de pedidos de patentes utilizando a *Spirulina platensis* surpreendem, sendo República de Moldova (74) e Rússia (30), seguidos por Japão (23) e Coréia (21). “O Brasil apresenta apenas 4 depósitos de pedidos de patentes e 1 uma patente concedida a respeito desta tecnologia, sendo 4 desses depósitos realizados por universidades (Universidade de São Paulo, Universidade Federal do Rio Grande e Universidade Federal do Paraná) e 1 por empresa privada nacional” (MENDONÇA et. al., 2012, p. 48).

A patente n. PI9003291- 8, cujo título é Processo de obtenção de um meio de cultura para a produção de *Spirulina* spp foi depositada em 04/07/1990 pela Universidade de São Paulo e inventor Rogério Lacaz Ruiz, concedida em 23/01/2001 e expirou em 10 anos em 2011, conforme a Lei de Propriedade Industrial.

A Rede de pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande/RS (FURG) - Rede Nanobiotec é formada por parcerias entre universidades nacionais, internacionais, empresas nacionais, governamentais e não-governamentais e especializada na microalga *Spirulina platensis*.

Oportunidades com o Programa Patentes Verdes

Em abril de 2012, o INPI iniciou o Programa chamado “Patentes Verdes”, cujo principal objetivo é dar celeridade ao exame e identificar as tecnologias verdes estratégicas para o País. Esta iniciativa objetiva acelerar o andamento dos pedidos de patentes que contribuam para combater as mudanças climáticas. Sua metodologia reduz a burocracia e acelera os procedimentos, busca examinar os pedidos deferidos em menos de dois anos.

A Resolução do INPI n. 122 de 2013 renovou este programa e expandiu para patentes de modelos de utilidade. Este documento traz a listagem exemplificativa das chamadas tecnologias verdes. São "tecnologias de processos e produtos que geram poucos ou nenhum resíduo, tecnologias que protegem o meio ambiente e que são menos poluentes”. São tecnologias que utilizam todos os recursos de uma forma mais sustentável, que reciclam mais resíduos e produtos, e ainda, que tratam os dejetos

residuais de uma maneira mais aceitável.

A Resolução nº 131 de 2014 do INPI ampliou o exame prioritário de pedidos de patentes verdes. Nesta nova fase do programa poderão participar também os pedidos via Tratado de Cooperação em Matéria de Patentes (PCT).

Em janeiro de 2015, com aproximadamente três anos de programa, foram indeferidos 43 pedidos, mas foram deferidas 39 patentes verdes. O tempo médio foi de 459 dias desde o pedido, sendo o prazo mínimo de 131 dias para deferir uma patente verde e o máximo de 870 dias. Portanto a proposta de reduzir o prazo de análise para as tecnologias verdes foi cumprida. O programa foi prorrogado até 2016.

Portanto, certamente grande parte das inovações tecnológicas utilizando microalgas poderiam se beneficiar deste programa e alavancar patentes brasileiras, tanto no tratamento de efluentes e de resíduos sólidos como biofiltros, na agricultura, na ração de animais e na produção de energia limpa nos biocombustíveis.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo demonstrou o potencial biotecnológico das microalgas e suas diversas aplicações comerciais. Seja pela composição química de sua biomassa, pela grande biodiversidade dos seus metabólitos ou por sua ampla aplicação nutricional, agrícola e ambiental. Certamente pode ser considerada como tecnologia verde.

Apesar do número de pedidos de patentes ser crescente no INPI, a quantidade de patentes efetivamente concedidas no Brasil ainda está decrescente, reduziu para menos da metade entre 2000 e 2012.

As inovações tecnológicas utilizando microalgas poderiam se beneficiar do programa Patentes Verdes do INPI e alavancar patentes brasileiras, tanto no tratamento de efluentes, na agricultura, na ração de animais e na produção de energia limpa nos biocombustíveis.

REFERÊNCIAS

ANUPAMA, P.; RAVINDRA, L. *Value-added food: Single cell protein. Biotechnology Advances*, v. 18, p. 459-479, 2000.

AVERY, S. V., CODD, G. A., GADD, G. M. (1998). *Microalgal Removal of Organic and Inorganic Netal Species from Aqueous Solution*. In: Wong, Y. -S. e Tam, N. F. Y. (Ed.). *Wastewater Treatment with Algae*. Springer-Verlag, 4, pp. 55-72.

BARBIERI, José Carlos. Políticas públicas indutoras de inovações tecnológicas ambientalmente saudáveis nas empresas. *RAP – Revista de Administração Pública*, Rio de Janeiro 31 (2), p. 135-152. Mar./Abr. 1997.

BARBOSA, Denis Borges. *Direito de inovação: comentários à Lei Federal de Inovação, Incentivos Fiscais à Inovação, Legislação Estadual e local, Poder de compra do estado (modificação à Lei de Licitações)*. 2 ed. Revisada e atualizada. Rio de Janeiro: Lumen Juris, 2011.

BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A. (Ed). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. London: Blackwell Science, 2004. p.312-351.

BRASIL. *Resolução do Ministério Do Desenvolvimento, Indústria E Comércio Exterior - Instituto Nacional Da Propriedade Industrial n. 122 de 29 de novembro de 2013*. Expande e disciplina exame prioritário de pedidos de Patentes Verdes, no âmbito do INPI, os procedimentos relativos ao Programa Piloto relacionado ao tema.

BUAINAIN, Antonio Márcio, CARVALHO, S. D., PAULINO, S. R., & YAMAMURA, S. "Propriedade intelectual e inovação tecnológica: algumas questões para o debate atual." *O futuro da indústria: cadeias produtivas*, 2004.

CARMO, Magda Patrícia Santos. "Biodiesel de micro-algas: balanço energético e económico." Dissertação de mestrado pela Universidade de Aveiro, Portugal (2012).

DE-BASHAN, L. E., HERNANDEZ, J.P., MOREY, T., BASHAN, Y. (2004). Microalgae Growth- -Promoting Bacteria as “Helpers” for *Microalgae: a Novel Approach for Removing Ammonium and Phosphorus from Municipal Wastewater*. In: *Water Research*, 38, pp. 466-474.

DERNER, Roberto Bianchini; OHSE, Silvana; VILLELA, Maurício; CARVALHO, Sabrina Matos; FETT, Roseane. Microalgas, produtos e aplicações. *Ciência Rural*, v.36, n.6, p. 1959-1967, nov-dez, 2006.

FRANCO, A. L. C., LÔBO, I. P., da CRUZ, R. S., Teixeira, C. M. L. L., de Almeida Neto, J. A., & Menezes, R. S. (2013). Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. *Quim. Nova*, 36(3), 437-448.

HENRIKSON, R. *Microalga Spirulina: superalimento del futuro*. Barcelona: Ediciones Urano S.A., 1995.

INPI - Instituto Nacional de Propriedade Industrial *Pedidos de Patentes Verdes Deferidos*. Site institucional. Acesso em 04 de maio de 2015.

INPI- *O Programa de Patentes Verdes do INPI- gênese, evolução e expectativas*. VI ENAPID- Encontro Acadêmico de Propriedade Intelectual, Inovação e Desenvolvimento- URRJ, Rio de Janeiro, 26 a 28 de novembro de 2013.

JABBOUR, Charbel José Chiappetta. *Tecnologias ambientais: em busca de um significado*. Revista de Administração Pública. Rio de Janeiro, Maio/jun. 2010.

LIMA, S. A. C., RAPOSO, M. F. J., CASTRO, P. M. L., MORAIS, R. M. (2004). *Biodegradation of p-Chlorophenol by a Microalgae Consortium*. In: Water Research, 38, pp. 97-102.

MEDEIROS, Stella Regina R., et al. "Análise de aspectos gerais, ecológicos e sócio-econômicos da produção de biodiesel de microalgas a partir de levantamento bibliográfico." *RUnPetro-ISSN 2316-6681* 2.1 (2013): 45-52.

Mendonça, TÁCILA Alcântara, et al. "Prospecção tecnológica da utilização de microalgas em processo de extração de carotenoides voltados para insumos na nutrição humana e animal." *GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias* 3.5 (2013): 193-204.

MENDONÇA, TÁCILA Alcântara; DRUZIAN, Janice Izabel; NUNES, Itaciara Larroza. "Prospecção Tecnológica da Utilização da Spirulina platensis." *Cadernos de Prospecção* 5.1 (2014): 44.

PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 65, p. 635- 648, 2004.

RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004.

RICHTER, Fernanda Altvater. As patentes verdes e o desenvolvimento sustentável. *Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade*, vol. 6, n.3, p. 383 - 398 jul - dez 2014.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: UFSC, 2004. 1102 p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROCICK, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5 ed. Editora UFSC/UFRGS, 2004.

SOUSA, Catarina Viegas de. "Microalgas: do tratamento de efluentes para a biorrefinaria." Dissertação de mestrado pela Universidade Nova de Lisboa, Portugal (2014).

SOUZA, M. P., Bjerck, T. R., Gressler, P. D., de Souza Schneider, R. D. C., Corbellini, V. A., & Moraes, M. S. A. (2013). As microalgas como uma alternativa para a produção de biocombustíveis parte i: bioetanol. *Tecno-Lógica*, 16(2), 108-116.

TAM, N. F. Y., WONG, Y. S., SIMPSON, C. G. (1998). *Removal of Copper and Immobilized Microalga, Chlorella Vulgaris*. In: Wong, Y. -S. e Tam, N. F. Y. (Ed.). *Wastewater Treatment with Algae*. Springer-Verlag, 2, pp. 17-36, 1998.

VON DER Weid D, DILLON JC, FALQUET J. *Malnutrition: a silent massacre*. Geneve: Antenna Technology; 2000. 13p.

METABOLISMO DE COBRE EM FUNGOS: MECANISMOS BIOQUÍMICOS E MOLECULARES

Rodrigo da Silva Santos*

INTRODUÇÃO

Doenças infecciosas são decorrentes de uma relação íntima entre o patógeno e seu hospedeiro e o conhecimento desta complexa interação é essencial para se avançar no conhecimento dos mecanismos de estabelecimento das infecções. *Paracoccidioides brasiliensis* é um fungo dimórfico que cresce como levedura ou micélio. A habilidade do fungo em alternar entre as formas miceliana e leveduriforme é favorecida pelas condições ambientais, tais como a temperatura de 37⁰C, e se constitui em condição essencial para o estabelecimento da infecção. Conídios ou fragmentos de micélio, quando inalados pelo hospedeiro humano, se convertem à morfologia leveduriforme, horas após a inalação¹.

O fungo *P. brasiliensis* causa a paracoccidioidomicose (PCM), micose sistêmica mais prevalente na América Latina, com o maior número de relatos de casos no Brasil². A maioria dos indivíduos expostos a propágulos do fungo desenvolve uma infecção assintomática, com lesões granulomatosas organizadas nos pulmões e linfonodos. Em alguns indivíduos o fungo pode permanecer no estado latente e após alguns anos se disseminar a outros órgãos e tecidos através das vias linfática e hematogênica^{3,4}.

P. brasiliensis é um importante patógeno humano, como acima descrito. Um aspecto crucial desse microrganismo é a sua habilidade em infectar diferentes sítios anatômicos causando as diferentes manifestações clínicas da doença. O significado da PCM resulta não somente de sua prevalência relativamente alta, mas também da severidade de suas formas clínicas. As formas aguda e sub-aguda da doença predominam em pessoas jovens de ambos os sexos, e principalmente, afetam o sistema linfático.

*Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás.

A forma crônica predomina em indivíduos adultos e é caracterizada por uma disseminação rápida do fungo a diversos órgãos ou tecidos. Independentemente do órgão afetado a PCM usualmente é associada à formação de fibrose, o que pode interferir permanentemente com a qualidade de vida dos pacientes³. O progresso da patologia e a diversidade das formas clínicas dependem dos fatores imunológicos do hospedeiro³ e dos diferentes níveis de virulência dos diversos tipos de isolados do fungo^{5,6}.

A disponibilidade de micronutrientes nos tecidos do hospedeiro é mantida em níveis baixos de forma a restringir o crescimento de patógenos. O fato de que a concentração disponível de micronutrientes, como cobre, para microrganismos patogênicos é mantida abaixo da quantidade requerida para o seu desenvolvimento, determina que a habilidade em se obter esses micronutrientes do hospedeiro defina, em grande parte, características de virulência.

Estudos prévios realizados por Bailão e colaboradores em 2006⁷, demonstraram que o transportador de cobre de alta afinidade (*PbCTR3*) é uma molécula altamente expressa em condições que mimetizam o processo infeccioso. Em função desse resultado inicial, tornou-se atraente a realização de estudos adicionais visando à caracterização do transcrito *ctr3* e o estudo funcional dessa proteína em *P. brasiliensis*, bem como a análise da expressão de genes envolvidos na manutenção da homeostase de cobre durante a infecção experimental, e em condições que mimetizam a restrição de cobre durante o processo infeccioso nos tecidos do hospedeiro.

MATERIAIS E MÉTODOS

Microrganismo e condições de crescimento

Os experimentos foram realizados com o isolado 01 de *P. brasiliensis* (coleção ATCCMYA-826) cultivado em meio de cultura Fava-Netto⁸ durante 7 dias a 36°C para a forma de leveduras e durante 14 dias a 22°C para a forma miceliana.

Obtenção do gene codificante para o transportador de cobre de alta afinidade (*PbCTR3*)

A seqüência de nucleotídeos do cDNA codificante para um transportador de cobre de alta afinidade *PbCTR3* (GenBank DQ534496), obtida da análise representacional diferencial (RDA) de genes de *P. brasiliensis* induzidos durante o

processo infectivo e em condições que mimetizam a via hematogênica de disseminação fúngica⁷, foi utilizada no desenho dos oligonucleotídeos (Tabela I) para obtenção do fragmento genômico de *PbCTR3*, via reação em cadeia da polimerase (PCR). O sistema de amplificação continha: 0,5µL dos oligonucleotídeos (Tabela I) na concentração de 50µM; 1,0µL de DNA total de *P. brasiliensis* na concentração de 100ng/µL; 2,0µL de dNTPs na concentração de 2,5mM cada; 0,25µL de Taq DNA polimerase na concentração de 5U/µL; 2,5µL de tampão 10 X para Taq DNA polimerase; 0,75µL de MgCl₂ a 25mM e água ultrapura suficiente para um volume final de 25µL. O DNA molde foi desnaturado a 94°C por 2 min, seguido por 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 15seg, anelamento a 58°C por 30seg e extensão por 40seg a 72°C. Uma extensão final a 72°C foi realizada.

Tabela I - Oligonucleotídeos utilizados para amplificação do gene codificante para *PbCTR3*

<i>Oligonucleotídeos</i>	<i>Seqüência</i>	<i>*TM °C</i>
<i>S-ctr3</i> (sense)	5'- GAG CTC ATG GAT ATG CAT ATG GCG - 3'	58°C
<i>AS-ctr3</i> (anti-sense)	5'- AAG CTT CTA ACC GCA ACA GAC AGT - 3'	58°C

* TM: Temperatura de anelamento dos oligonucleotídeos.

As amplificações foram realizadas no termociclador (Perkin Elmer/Gene Amp PCR System 2400) e analisadas por eletroforese em gel de agarose 0,8% corado com 1µg/mL de brometo de etídeo. Os fragmentos de DNA foram eluídos do gel de agarose utilizando o sistema comercial GFX PCR DNA (GE, Healthcare[®]), seguindo as normas do fabricante, e quantificadas no aparelho Genequant (GE, Healthcare[®]).

A sequência de DNA obtida foi ligada ao vetor TOPO TA (Invitrogen[™], Life Technologies, Carlsbad, CA) seguindo-se as normas do fabricante e com razão molar da concentração de DNA do vetor e do inserto de 1:4. O produto da ligação foi utilizado na transformação de células competentes de *Escherichia coli*, linhagem *DH5α*⁹. Para

confirmação da clonagem, colônias selecionadas foram submetidas à reação de PCR e os produtos analisados em gel de agarose 0,8%.

Sequenciamento de DNA

Quatro clones com o plasmídeo TOPO TA contendo o gene *Pbctr3* foram sequenciados no aparelho MEGABACE® (GE, Healthcare®), seguindo o método descrito por Sanger *et al.*¹⁰, utilizando-se o sistema “DYEnamic ET, Dye Terminator Cycle Sequencing”. As reações de sequenciamento utilizaram os oligonucleotídeos iniciadores M13 Forward (5'-GTAAAACGACGGCCAG-3'), M13 Reverse (5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3'), T7 (5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3'), *ctr3*-sense (5'- GAGCTCATGGATATGCATATGGCG – 3') e *ctr3*-anti-sense (5'- AAGCTT CTAACCGCAACAGACAGT – 3').

Análises de Bioinformática

As sequências de DNA obtidas foram analisadas utilizando-se o programa PHRED^{11,12} com finalidade de se retirar a sequência do vetor. As pesquisas de similaridade da sequência nucleotídeos e da proteína predita foram realizadas no programa BLAST¹³. Então, a sequência completa do gene de *Pbctr3* foi depositada no GenBank sob o número de acesso: EU530695. O alinhamento entre as sequências homólogas foi feito através do programa CLUSTAL X¹⁴, e a sequência deduzida da proteína analisada no programa PROSITE (www.expasy.org/prosite)¹⁵. A região promotora do gene *Pbctr3* foi obtida no Banco de dados do genoma estrutural de *P. brasiliensis* (http://www.broad.mit.edu/annotation/genome/paracoccidioides_brasiliensis) e analisada no algoritmo Scan Promotor (<http://www-bimas.cit.nih.gov/cgi-bin/molbio/proscan>).

Rastreamento e identificação *in silico* de genes relacionados à manutenção da homeostase de cobre em *P. brasiliensis*

As sequências de genes descritos como envolvidos na manutenção da homeostase de cobre em *S. cerevisiae* disponíveis no GenBank¹⁶ foram utilizadas no rastreamento do banco de dados do Broad Institute of MIT and Harvard (http://www.broad.mit.edu/annotation/genome/paracoccidioides_brasiliensis/MultiHome.html) para identificação de genes envolvidos no metabolismo de cobre de *P.*

brasiliensis. Os genes identificados foram utilizados na elaboração de um modelo de manutenção da homeostase de cobre neste patógeno.

Experimentos de depleção de cobre e ferro em *P.brasiliensis*

Para os experimentos de depleção de cobre e ferro, 2×10^8 leveduras de *P. brasiliensis* foram transferidas do meio sólido Fava-Neto⁸ para meio mínimo líquido McVeigh & Morton (MMcM) – Modificado¹⁷ adaptado para as condições de restrição de cobre e ferro. A condição controle continha células leveduriformes de *P.brasiliensis* cultivadas em meio mínimo MMcM sem a presença de agentes quelantes de metais. Na condição de privação de metais foi adicionado, na concentração final de $50 \mu\text{M}$, um agente quelante específico de cobre (BCS: batocuproinadisulfonato sódico) ou de ferro (BPS: batofenantrolinadisulfonato sódico). Os cultivos foram realizados a 36°C durante 3h e em agitação de 200rpm, depois as células foram coletadas por centrifugação. Os precipitados foram lavados com PBS 1X estéril e o RNA total foi extraído utilizando-se o reagente Trizol, seguindo os procedimentos indicados pelo fabricante (InvitrogenTM, Life Technologies, Carlsbad, CA).

Infecção Experimental

A infecção experimental em camundongos por *P. brasiliensis* foi realizada como descrito previamente por Bailão e colaboradores⁷ em 2006, com algumas modificações, mimetizando a via de infecção em humanos. Vinte e quatro fêmeas de camundongos Balb/c foram infectadas por via intranasal com 1×10^7 células leveduriformes, após 7 e 15 dias, isolou-se o fungo localizado no pulmão e baço. Três animais foram utilizados como controle e foram inoculados com tampão fosfato estéril - PBS. Os órgãos (pulmão e baço) removidos foram macerados e homogeneizados em 5mL de PBS. Um volume de $100 \mu\text{l}$ do macerado foi plaqueado em meio BHI ágar suplementado com 1% de glicose. As placas foram incubadas a 36°C e após 17 dias foram utilizadas para extração de RNA. O RNA total foi extraído utilizando-se o reagente Trizol, seguindo normas do fabricante (InvitrogenTM, Life Technologies, Carlsbad, CA). O RNA resultante foi ressuspendido em água tratada com DEPC 0,01%, quantificado por espectrofotometria e estocado a -80°C .

Síntese de cDNA e análise da expressão gênica por qRT-PCR em Tempo Real

Os RNAs obtidos após a depleção de cobre e ferro e durante a infecção experimental, foram tratados com DNase 1U/ μ L (Fermentas) e utilizados para síntese de cDNAs utilizando-se a transcriptase reversa SuperScript II (InvitrogenTM, Life Technologies, Carlsbad, CA) e oligonucleotídeo oligo(dT)₁₅, seguindo protocolo do fabricante. Os cDNAs foram utilizados em reações de triplicada de qRT-PCR com SYBER green (Applied Biosystems, Foster City, CA) no sistema StepOnePlusTM real time PCR (Applied Biosystems Inc). Os oligonucleotídeos utilizados foram: Transportador de cobre de alta afinidade (*ctr3 sense* 5'- CATGTCATCAATGCCTGCTTC – 3', *ctr3 anti-sense* 5'- TGCAGG CGGGTCGGGAGA – 3'), Proteína responsiva ao cobre (*crp sense* 5'- CTTGTGGAGACCTAGTAGCA – 3', *crp anti-sense* 5'- GAATGAACATTGTGAGAAAAACG – 3'), Metalochaperona de cobre (*atx1 sense* 5'- CTCAAGAACTCGACGGAGT – 3', *atx1 anti-sense* 5'- TCAAACATCCTTCGGCTCGC – 3'), Transportador de cobre organelar (*ccc2 sense* 5'- CTAATCCCTCCGGAGAAAATC – 3', *ccc2 anti-sense* 5'- GCA TTCTCGACTGCGGAAGT – 3'), Superóxido dismutase (*Cu/Zn-sod sense* 5'- ACTGCGCAAGTTATGATGGAA – 3', *Cu/Zn-sod anti-sense* 5'- CACGGGAAGGGTCCATTTTC – 3'), Cobre amino oxidase (*cao sense* 5'- AGCCTTCAATCACCTGGA – 3', *cao anti-sense* 5'- TCGTGTGTCCTT CGCGAAAC – 3'), Proteína ribossomal L34 (*l34 sense* 5'- TCAATCTCTCCC GCGAATCC – 3', *l34 anti-sense* 5'- GGCGGAAGGGGGATGTGTT – 3').

A reação de PCR em tempo real foi realizada em 40 ciclos de 95°C por 15seg e 60°C por 1min. A mistura SYBER Green PCR (Applied Biosystems) foi utilizada adicionada de 10pmol de cada oligonucleotídeo e 40ng de cDNA molde, em um volume final de 25 μ l. As curvas padrões foram geradas para se confirmar um único produto de PCR e foi realizada utilizando-se uma alíquota de cDNA de cada amostra, serialmente diluídas (1:5 da diluição original). Os dados foram normalizados com o transcrito codificante para a proteína ribossomal L34 amplificado em cada conjunto de experimentos de qRT-PCR. Os níveis de expressão relativa dos genes de interesse foram calculados utilizando-se o método de curva padrão para quantificação relativa¹⁸. Os resultados foram validados pelo teste *t* de student, sendo consideradas diferenças significativas às amostras que apresentaram $p \leq 0,05$.

Produção de peptídeo sintético e do anticorpo policlonal anti-*PbCTR3*

Análises de hidropatia da seqüência de aminoácidos correspondente a proteína *PbCTR3* foi realizada utilizando-se o algoritmo Prosite/Expasy (<http://www.expasy.org/prosite>)¹⁵, com objetivo de se identificar as regiões hidrofílicas da molécula, para síntese de um peptídeo sintético. O peptídeo foi produzido pela InvitrogenTM, Life Technologies e utilizado para imunização em camundongos, utilizando adjuvante de Freund. Três imunizações foram realizadas com intervalo de 15 dias. Após as imunizações, o soro foi retirado, alíquotado e estocado a -20°C. O soro pré-imune foi obtido antes da primeira imunização.

Obtenção de extratos protéicos de *P. brasiliensis* e *Western blotting*

Extratos protéicos de células leveduriformes e micelianas de *P. brasiliensis* foram obtidos como descrito por Fonseca e colaboradores¹⁹ em 2001. Extratos protéicos de membrana de células leveduriformes de *P. brasiliensis* também foram obtidos seguindo protocolos adaptados a partir dos protocolos descritos na literatura^{20,21}. Células leveduriformes de *P. brasiliensis* foram lavadas com PBS1X e após centrifugação a 3.500xg, foram ressuspensas em tampão Tris-HCl 200mM, pH 7,0. As células foram lisadas com pérolas de vidro no vórtex durante 30min, centrifugadas a 3.500xg por 15min, o sobrenadante coletado e centrifugado a 100.000xg por 1h. Os precipitados formados foram ressuspensos em tampão Tris-HCl 50mM pH 7,0, com um coquetel de inibidores de proteases.

Experimentos de *Western blotting* foram realizados após fracionamento das proteínas (30µg) em gel desnaturante de poliacrilamida e transferência para membrana de nitrocelulose por 3h à 4 °C. A membrana foi incubada com tampão de bloqueio (leite desnatado a 5% em PBS 1X) por 3h à 4 °C. Foram realizadas três lavagens de 10min com tampão PBS e Tween 20 a 0,05% (PBS-T) e a membrana foi incubada por duas horas na presença do anticorpo primário (anticorpo policlonal anti-*PbCTR3* na concentração de 1:8000 em PBS-T). Posteriormente incubou-se a membrana com o anticorpo secundário comercial anti-camundongo marcado com fosfatase alcalina (na concentração de 1:2000 em PBS-T por 1 h). A reação foi revelada com solução de substrato cromogênio para fosfatase alcalina contendo BCIP (5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato) e NBT (nitro azul de tetrazol) (Sigma Aldrich).

Análise das interações proteína-proteína através da técnica de duplo híbrido

O estudo de prováveis interações do CTR3 de *P. brasiliensis* com outras moléculas foi realizado através da utilização da técnica de duplo-híbrido em *Saccharomyces cerevisiae*, cepas AH109 e Y187 (Matchmaker™ Library Construction & Screening - Clontech Laboratories, Inc.). Os oligonucleotídeos S-*ctr3* (sense) 5'-GAG CTC ATG GAT ATG CAT ATG GCG – 3', AS-*ctr3* (anti-sense) 5'- AAG CTT CTA ACC GCA ACA GAC AGT – 3', foram construídos para a clonagem do cDNA completo que codifica para o transportador de cobre de alta afinidade de *P. brasiliensis* (número de acesso: PAAG_05251.1 / banco de dados do genoma estrutural: (http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/paracoccidioides_brasiliensis)). O cDNA codificante para CTR3 foi clonado no vetor de expressão pGBKT7, em fase de leitura com o domínio GAL4 de ligação ao DNA. O vetor possui o gene *Trp1*, permitindo a seleção em meio mínimo sem triptofano, e o produto clonado foi transformado na cepa Y187 (Δ TRP1) de *S. cerevisiae*, mutada para *Trp1*. A biblioteca de cDNA foi construída a partir de RNAs de células leveduriformes de *P. brasiliensis* e clonada no vetor de expressão pGADT7-Rec. A cepa AH109 (Δ LEU2) de *S. cerevisiae*, mutada para o gene *Leu2*, foi co-transformada com os cDNAs e o vetor de expressão pGADT7-Rec, que contém o gene *Leu2*, permitindo seleção em meio mínimo sem leucina.

Através de recombinação homóloga *in vivo* os cDNAs foram clonados em fase de leitura com o domínio GAL4 de ativação transcricional presente no pGADT7-Rec. Posteriormente, as cepas transformadas Y187 e AH109 foram inoculadas em um mesmo sistema para promover a diploidia (acasalamento). O rastreamento das interações positivas foi feito em meio mínimo sem os aminoácidos triptofano, leucina, adenina e histidina, pois as interações positivas ativam a transcrição de genes repórteres como ADE2, HIS3 e MEL1. O meio mínimo sem esses aminoácidos e contendo X-alfa-Gal (5-Bromo-4-Cloro-3-Indol-D-galactopiranosídeo), também confirma as interações pela ativação do gene MEL1 (screening visual). Para a identificação dos genes que interagem com CTR3, os clones provenientes de interação positiva foram sequenciados e as sequências obtidas foram comparadas com bancos de dados de proteínas, utilizando-se a ferramenta BLASTX (Basic Local Alignment Search Tool)¹³.

RESULTADOS

Clonagem e caracterização do cDNA e gene codificantes para o transportador de cobre de alta afinidade (*PbCTR3*) de *P. brasiliensis*.

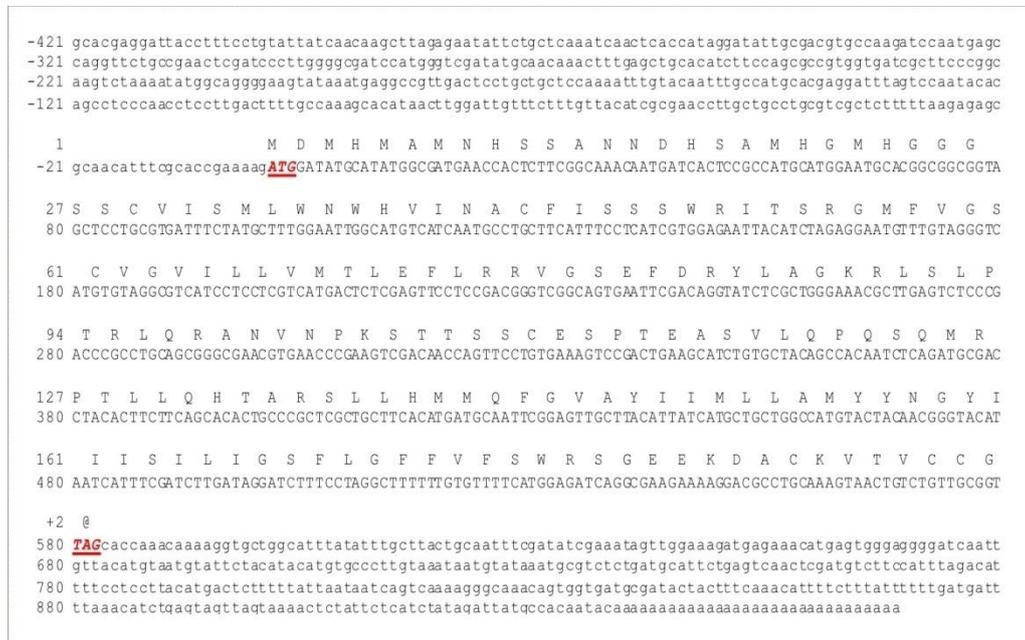


Figura 01: Sequência de nucleotídeos do cDNA e sequência deduzida de aminoácidos de *PbCTR3*. A sequência de nucleotídeos está na direção 5' → 3'. A Sequência deduzida de aminoácidos é mostrada em letras maiúsculas. Os códons de iniciação e de parada estão em vermelho, itálico e sublinhados. As numerações para nucleotídeos e aminoácidos estão à esquerda. As regiões 5'e 3' não traduzidas estão indicadas por letras minúsculas.

A sequência de cDNA de um transportador de cobre de alta afinidade - CTR3 (GenBank DQ534496) (Figura 01) apresenta 1389 pares de bases, 421 nucleotídeos não traduzidos na região 5' e 389 nucleotídeos não traduzidos na região 3'. A sequência apresenta um quadro de leitura aberto (ORF) com 582pb, codificando uma proteína de 193 aminoácidos com massa molecular predita de 21,5 kDa e ponto isoelétrico predito de 8,6. A comparação em banco de dados mostrou identidade com o gene codificante para CTR3, sendo o cDNA denominado de *Pbctr3*.

O fragmento genômico codificante para CTR3 foi obtido por PCR utilizando-se os oligonucleotídeos *ctr3*-sense e *ctr3* anti-sense (Tabela I), apresenta 1.655pb e foi depositado no GenBank sob o número de acesso EU530695. Após sequenciamento, verificou-se que o gene contém quatro exons interrompidos por três íntrons, de 130, 82 e 85pb, respectivamente. Todas as sequências intervenientes são flanqueadas por 5' *GT* e 3' *AG* (Figura 02). Com base na sequência completa de nucleotídeos de *Pbctr3*

depositada no banco do genoma estrutural de *P. brasiliensis*, pode-se identificar a região promotora TATA Box, utilizando-se o algoritmo Promotor Scan.

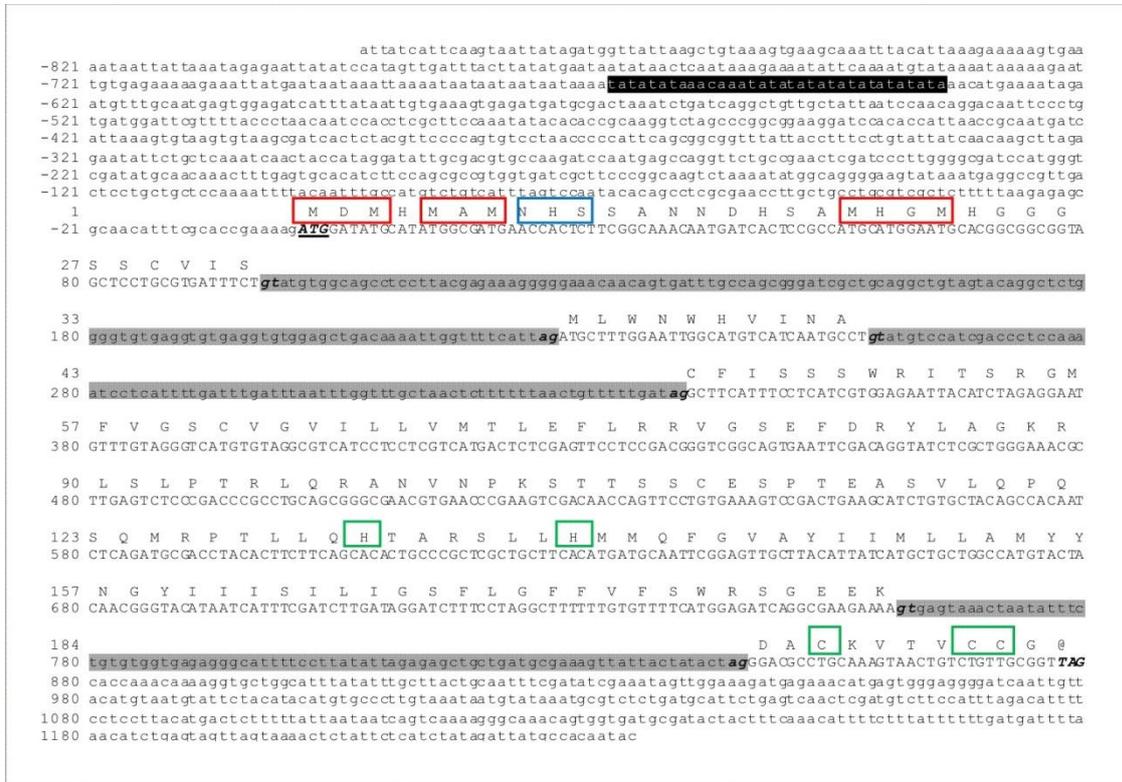


Figura 02: Sequência genômica de *PbCTR3* e sequência deduzida de aminoácidos. A sequência de nucleotídeos está na direção 5' → 3'. A sequência deduzida de aminoácidos é representada em letras maiúsculas. Os introns são representados por letras minúsculas e marcados em cinza, nucleotídeos em itálico e negrito representam a região conservada 5' → 3' consenso dos introns. Os códons de iniciação e de parada estão em negrito, itálico e sublinhados. A numeração da sequência de aminoácidos inicia-se na metionina, codificando o códon de iniciação e termina no primeiro códon de terminação. As numerações para nucleotídeos e aminoácidos estão à esquerda. As regiões 5' e 3' não traduzidas estão indicadas por letras minúsculas. Os aminoácidos (8-10) no quadrado azul representam um possível sítio de *N*-glicosilação. A sequência *PbCTR3* apresenta a região amino-terminal rica em metioninas, representando os motivos “Mets” (MxM e MxxM), destacados em quadrados vermelhos e região carboxi-terminal apresentando motivos ricos em histidinas e cisteínas (quadrados verdes); esses motivos são comuns em todas as proteínas transportadoras de cobre da família CTR. Os motivos foram identificados através da utilização do programa PROSITE (<http://www.expasy.org/prosite>) (Hofmann *et al.*, 1999). A região promotora foi analisada utilizando-se o algoritmo Promotor Scan (<http://www-bimas.cit.nih.gov/cgi-bin/molbio/proscan>). A região promotora TATA Box está evidenciada em caixa preta.

Análise comparativa da sequência deduzida de aminoácidos de *PbCTR3* de *P. brasiliensis*

As análises computacionais no NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) e Expasy (<http://www.expasy.org>) revelaram que *PbCTR3* apresenta identidade acima de 46% e similaridade acima de 60% com CTR3 de *Ajellomyces capsulatus* (GenBank:

ABF22674) , *Coccidioides immitis* (GenBank: XP001240196) e *Aspergillus clavatus* (GenBank: XP001272812) (Figura 03 e Tabela II).

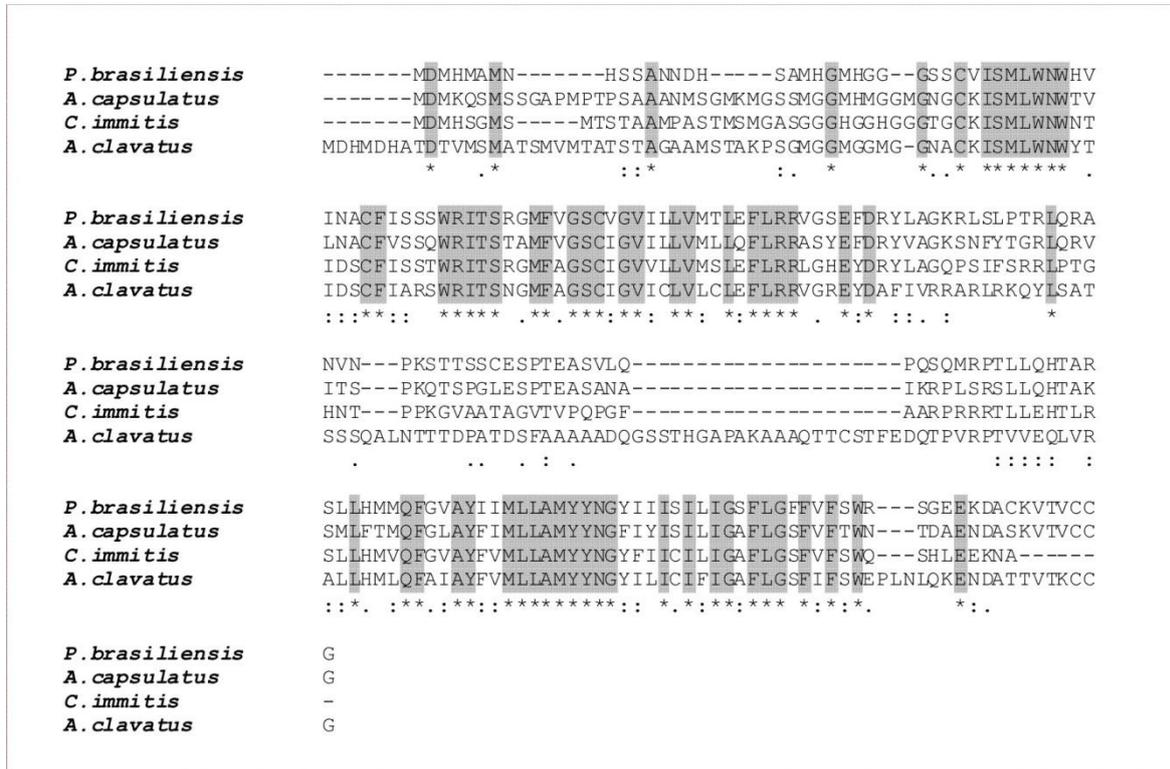


Figura 03: Alinhamento da sequência deduzida de aminoácidos de *PbCTR3* com proteínas homólogas, após análise comparativa no programa BLAST (Altschul *et al.*, 1990). As sequências são: *P. brasiliensis* (número de acesso no GenBank: DQ534496); *A. capsulatus* (número de acesso no GenBank: ABF22674); *C. immitis* (número de acesso no GenBank: XP001240196); *A. clavatus* (GenBank accession number XP001272812). Posições de identidade completa são indicadas com asterisco (*), dois pontos (:) indicam substituições conservadas e um ponto (.) indica uma substituição semiconservada. As posições mais conservadas são marcadas com preenchimento em cinza.

Tabela II – Porcentagem de identidade e similaridade da sequência de aminoácidos de *PbCTR3* e CTR3 de diferentes organismos depositadas em banco de dados.

Microrganismo	Identidade (%)*	Similaridade (%)*
<i>A. capsulatus</i>	63%	73%
<i>C. immitis</i>	55%	66%
<i>A. clavatus</i>	46%	60%

* Porcentagens calculadas com base em alinhamento de duas sequências (bl2seq) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/wblast2.cgi>). As sequências obtidas são: *P. brasiliensis* (número de acesso no GenBank: DQ534496); *A. capsulatus* (número de acesso no GenBank: ABF22674); *C. immitis* (número de acesso no GenBank: XP001240196); *A. clavatus* (GenBank accession number XP001272812).

Rastreamento e identificação *in silico* de genes relacionados à manutenção da homeostase de cobre em *P. brasiliensis*.

A partir de genes descritos como envolvidos na manutenção da homeostase de cobre em *Saccharomyces cerevisiae* foram rastreadas 13 sequências codificantes para proteínas descritas na literatura científica como provavelmente envolvidas na via metabólica de captação e distribuição de cobre em *P. brasiliensis*. As sequências identificadas são codificantes para as seguintes proteínas: o transportador de cobre de alta afinidade (*Pbctr3*), superóxido dismutase (*Pbsod*), cobre amino oxidase (*Pbcao*), metalochaperona de cobre (*Pbatx1*), transportador de cobre (*Pbcc2*) localizado no aparato de Golgi, proteína responsiva ao cobre (*Pbcrp*), tirosinase (*Pbtir*), lacases I, III e IV (*PblacI*, *PblacIII* e *Pblac IV*), e as enzimas mitocondriais citocromo c oxidases 15, 16 e 19 (*Pbcox15*, *Pbcox 16* e *Pbcox 19*) Além disso, foi identificado também um fator de transcrição denominado *cuf1/mac1*. Todas as sequências identificadas foram utilizadas para elaboração de um modelo (Figura 04) presumivelmente utilizado por *P.brasiliensis* na manutenção da homeostase de cobre.

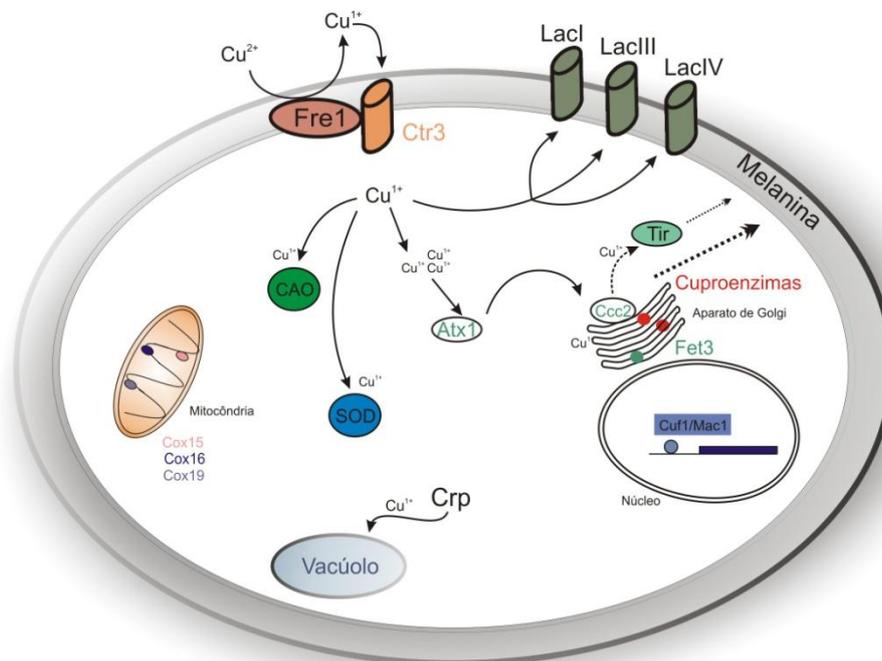


Figura 04: Modelo proposto para manutenção da homeostase de cobre no patógeno humano *P. brasiliensis*. O cobre extracelular é reduzido pelas metaloredutases Fre de Cu^{+2} para Cu^{+1} , sendo transportado posteriormente pela proteína CTR3. No meio intracelular o cobre é captado pela molécula Atx1 e entregue para o transportador CCC2, localizado na membrana de organelas secretoras, fornecendo cobre para cuproenzimas, incluindo a multicobre ferroxidase Fet3 que, juntamente com a permease Ftr1, medeiam à absorção de alta afinidade do ferro. Íons de cobre são incorporados pelas enzimas lacases (Lac) e tirosinases (Tir), que estão envolvidas na síntese de melanina. A proteína responsiva ao cobre (CRP) é um transportador vacuolar responsável por armazenar cobre em vacúolos, quando o mesmo

encontra-se em excesso no meio intracelular. O fator de transcrição Cuf1/Mac1 regula a expressão de moléculas transportadoras de cobre CTRs durante a homeostase ou deficiência do metal. Íons livres no citosol são incorporados por enzimas cobre-dependentes, como por exemplo, a superóxido dismutase (SOD), a cobre amino oxidase (CAO) e a enzimas mitocondriais citocromo c oxidase (COX).

Análises do perfil de expressão dos genes envolvidos no metabolismo de cobre em *P. brasiliensis* durante condições de restrição de cobre e/ou ferro

Com o objetivo de avaliar a expressão dos genes codificantes para: o transportador de cobre de alta afinidade *PbCTR3*, do transportador de cobre *PbCCC2*, da metalochaperona de cobre *PbATX1*, do transportador vacuolar de cobre *PbCRP* e das enzimas cobre-dependentes: superóxido dismutase (*PbSOD*) e da cobre amino oxidase (*PbCAO*), durante deprivação de cobre e ferro, células leveduriformes do fungo *P. brasiliensis* foram cultivadas na presença de quelantes específicos de cobre e ferro (BCS e BPS, respectivamente). O crescimento do fungo na presença dos quelantes foi similar ao crescimento do controle (dados não mostrados). Os níveis de expressão gênica foram avaliados por qRT-PCR em triplicatas biológicas. Os resultados mostram que a expressão de *Pbctr3* (Figura 05, painel A) foi induzida durante a privação de cobre e ferro, quando comparado ao controle. Os transcritos *Pbcrp* (painel B), *Pbccc2* (painel C), *Pbatx1* (painel D), *Pbsod* (painel E) e *Pbcao* (painel F), apresentaram uma diminuição no nível de expressão durante privação de cobre e ferro.

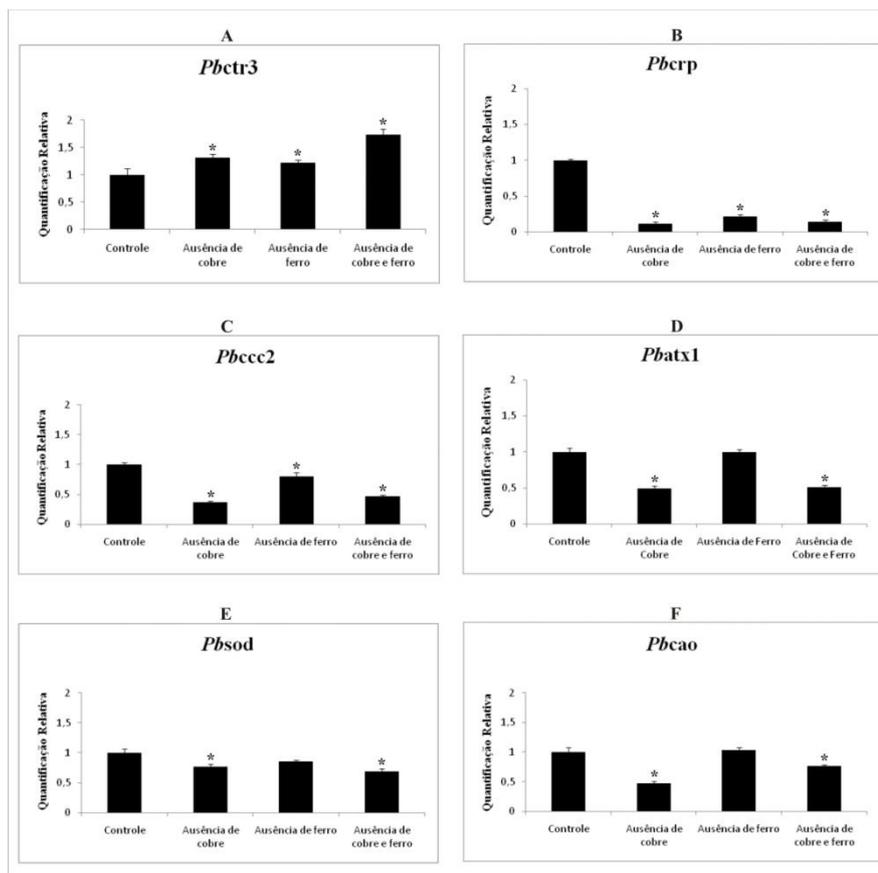


Figura 05: Análise da expressão de genes envolvidos na manutenção da homeostase de cobre em *P. brasiliensis*. A expressão dos genes de *P. brasiliensis* foi avaliada através de qRT-PCR em tempo real em diferentes condições experimentais (controle, ausência de cobre, ausência de ferro e ausência de cobre e ferro). Os valores da expressão dos genes foram normalizados utilizando-se os valores de expressão do gene constitutivo codificante para a proteína ribossomal L-34. Análises estatísticas para avaliar o nível de significância foram realizadas, utilizando o teste *t* student, adotando $p \leq 0,05$ (*).

Análises do perfil de expressão dos genes envolvidos no metabolismo de cobre em células leveduriformes de *P. brasiliensis* derivadas de órgãos de animais infectados.

Com a finalidade de avaliar os níveis de expressão por qRT-PCR dos genes *Pbctr3* e *Pbcpr* durante o processo infeccioso, experimentos de infecção foram realizados e os RNAs extraídos de células leveduriformes de *P. brasiliensis* recuperadas de pulmão e baço, após 7 e 15 dias de infecção. Os genes *Pbctr3* (painel A) e *Pbcpr* (painel B), apresentaram uma expressão induzida após 7 dias pós-infecção em pulmão e após 15 dias pós-infecção em baço (Figura 06).

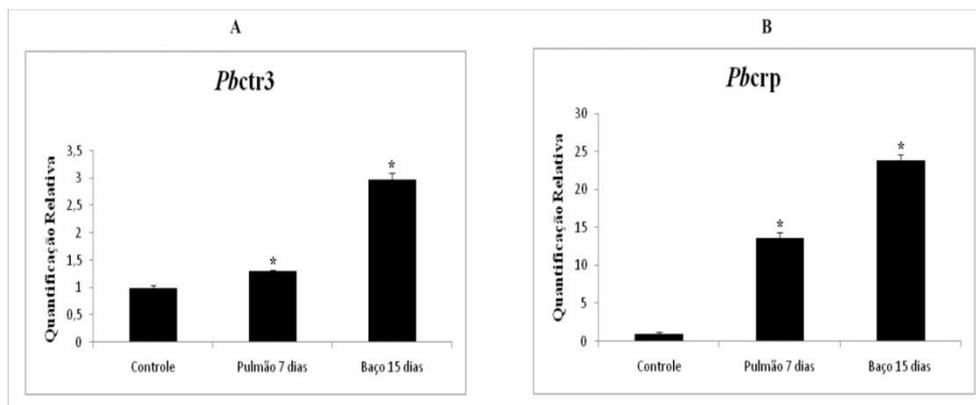


Figura 06: Análise da expressão dos genes *Pbctr3* e *Pbcrp* durante o processo infectivo. A expressão dos genes foi avaliada através de qRT-PCRq em células leveduriformes derivadas de infecção em pulmão e baço. Os valores da expressão dos genes foram normalizados utilizando-se os valores de expressão do gene constitutivo codificante para a proteína ribossomal L-34. Análises estatísticas para avaliar o nível de significância foram realizadas, utilizando o teste *t* student, adotando $p \leq 0,05$ (*).

Análise do peptídeo sintetizado e do anticorpo policlonal anti-*PbCTR3*

A análise de hidropatia da proteína predita de *PbCTR3* através do algoritmo Prosite/Expasy¹⁵, apresenta uma região hidrofílica (Figura 07), que corresponde ao aminoácido 90 até o 130. Essa região com 41 aminoácidos (Figura 08) foi selecionada para a síntese do peptídeo pela InvitrogenTM Life Technologies. O peptídeo sintético produzido foi utilizado para produção do anticorpo policlonal anti-*PbCTR3*.

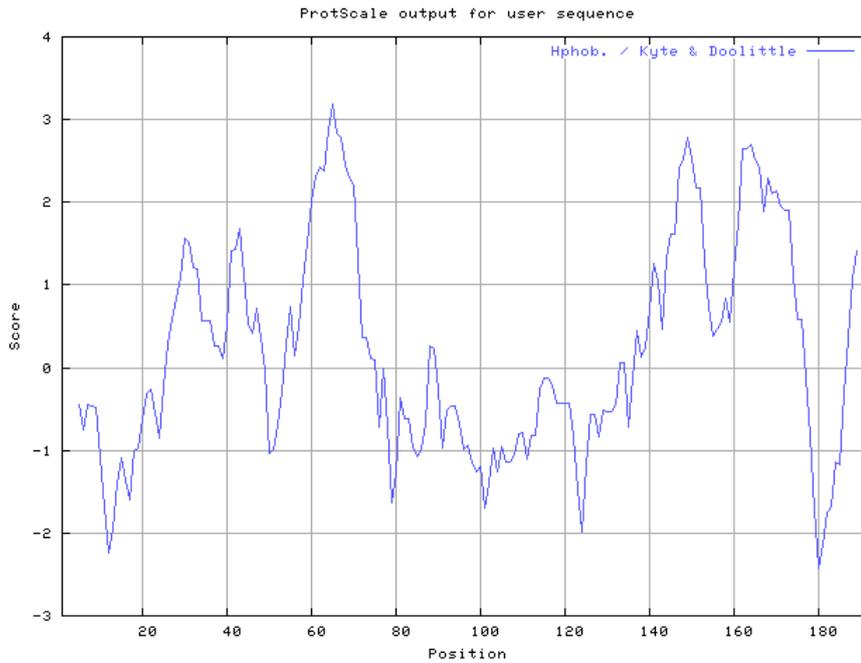


Figura 07: Gráfico correspondente a análise de hidropatia da molécula *PbCTR3*, gerado pelo algoritmo expasy (<http://www.expasy.org/prosite>) (Hofmann et al., 1999), sendo considerado hidrofílicas as regiões com score ≤ 1 .

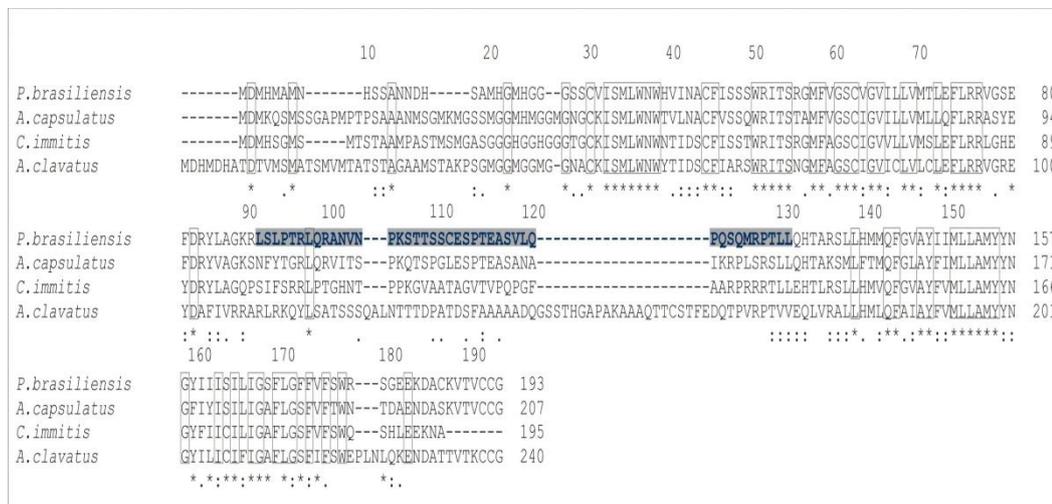


Figura 08: Sequência deduzida de aminoácidos de *PbCTR3* com proteínas homólogas, após análise comparativa no programa BLAST (Altschul *et al.*, 1990). A região marcada em cinza corresponde à selecionada para síntese do peptídeo. As proteínas homólogas à provável sequência de *PbCTR3* são: *P. brasiliensis* (número de acesso no GenBank: DQ534496); *A. capsulatus* (número de acesso no GenBank: ABF22674); *C. immitis* (número de acesso no GenBank: XP001240196); *A. clavatus* (GenBank accession number XP001272812). Posições de identidade completa são indicadas com asterisco (*), dois pontos (:) indicam substituições conservadas e um ponto (.) indica uma substituição semiconservada. As posições mais conservadas estão marcadas por retângulos.

Experimentos de imunoreatividade com os extratos de *P. brasiliensis* identificaram uma molécula de massa molecular de 43 kDa (Figura 09), com maior quantidade na condição que apresentava apenas proteínas de membrana do fungo. Nenhuma reatividade cruzada foi detectada no controle negativo no qual foi utilizado soro pré-imune do coelho.

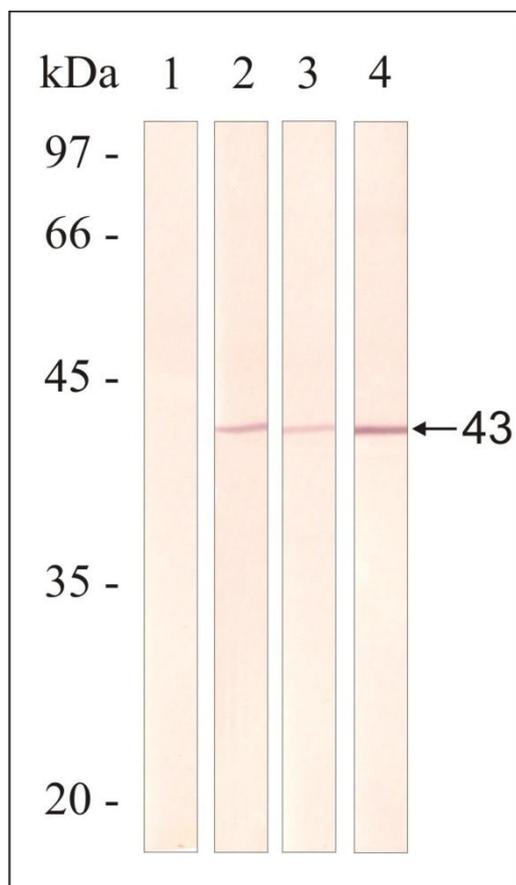


Figura 09: Análise por Western blotting do transportador de cobre de alta afinidade (PbCTR3) de *P. brasiliensis*. As proteínas foram fracionadas por eletroforese em gel unidimensional, transferidas para membrana de nitrocelulose e detectadas pelo anticorpo policlonal anti-PbCTR3 de *P. brasiliensis* na concentração de 1:8000. Após reação com anticorpo anti-camundongo secundário comercial marcado com fosfatase alcalina na concentração de 1:2000 em PBS-T por uma hora; a reação foi revelada com solução de substrato cromogênico para fosfatase alcalina contendo BCIP e NBT. Linha 1: Western blotting utilizando extrato total de *P. brasiliensis* fase leveduriforme reagido com soro pré-imune. Linha 2: extrato protéico de células leveduriformes reagido com anticorpo anti-PbCTR3. Linha 3: extrato protéico de células micelianas reagido com anticorpo anti-PbCTR3. Linha 4: extrato protéico de membrana de células leveduriformes reagido com anticorpo anti-PbCTR3. Os números à esquerda indicam marcadores de massa molecular.

Identificação de interações moleculares do transportador de cobre de alta afinidade (PbCTR3) de *P. brasiliensis*

O princípio da estratégia que caracteriza a metodologia do duplo híbrido está representado na Figura 10, esta foi utilizada para a identificação de genes que interagem

com *PbCTR3*. Clones positivos identificados no rastreamento, foram sequenciados e as seqüências de DNA foram analisadas utilizando a ferramenta de bioinformática BLASTX¹³ do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

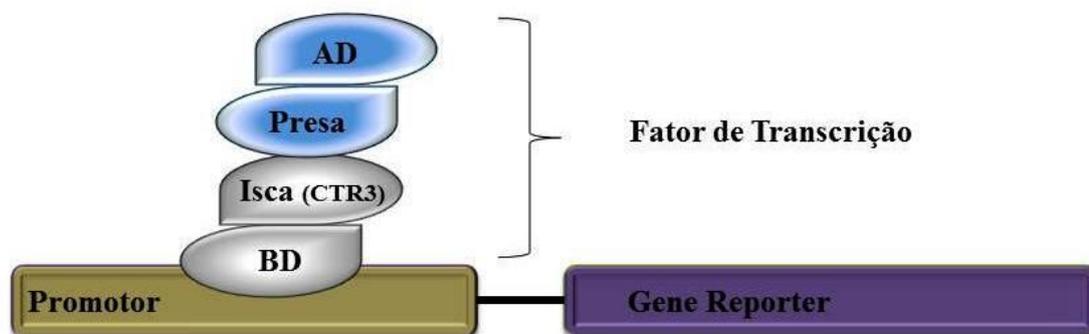


Figura 10: Esquema da técnica do duplo híbrido em leveduras. BD – Domínio de ligação à região promotora do DNA, o qual é fusionado ao *PbCTR3* (isca). AD – Domínio de ativação da transcrição, o qual é fusionado às proteínas (presas) de *P. brasiliensis*. A interação de proteínas fusionadas aos domínios (BD e AD) compõe o fator de transcrição que ativa a expressão do gene repórter permitindo o crescimento das leveduras em meio seletivo.

As interações positivas *in vivo* identificadas para o transportador de cobre de alta afinidade de *P. brasiliensis* foram: o Transportador de Zinco/Ferro, Hidrolase metal-dependente e Transportador de $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ (Tabela III).

Tabela III – Interações preditas de *PbCTR3* com outras moléculas: resultados obtidos pelo sistema de duplo-híbrido em leveduras

Gene (Possíveis interações)	Organismo/Número de Acesso	Valor de <i>e-value</i>	Redundância (número de clones obtidos)
Transportador de Zinco/Ferro	<i>Ajellomyces capsulatus</i> HCAG_02989	5e-18	2
Hidrolase metal-dependente	<i>Aspergillus niger</i> CBS 513.88	8e-11	2
Transportador de $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$	<i>Coccidioides immitis</i> CIMG_07493	4e-21	1

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A identificação de genes induzidos em *P. brasiliensis* durante a infecção em fígado de camundongos^{7,22} permitiu a sugestão de processos biológicos envolvidos na sobrevivência do *P. brasiliensis* durante o processo infeccioso. Sugere-se que para ocorrer uma colonização bem sucedida do hospedeiro, os microrganismos devem inicialmente obter nutrientes essenciais para o seu crescimento. O cobre é um desses nutrientes importantes para o estabelecimento da infecção, visto que o mesmo é requerido como cofator para uma diversidade de enzimas em processos biológicos essenciais para a manutenção celular. O fato de que a concentração disponível de micronutrientes como cobre para os microrganismos patogênicos é mantida abaixo da quantidade requerida para o desenvolvimento desses organismos, determina que a habilidade em se obter esses micronutrientes do hospedeiro defina, em grande parte, a virulência do patógeno²³.

Em diversos microrganismos patogênicos a presença de cobre promove uma melhor interação do parasita com o hospedeiro e a progressão da doença, ocorrendo assim uma colonização bem sucedida, como descrito, por exemplo, em *C. albicans*^{24,25} e *C. neoformans*, cujo transportador de cobre de alta afinidade já é descrito e caracterizado²⁶.

O presente trabalho obteve e caracterizou a sequência genômica de um transportador de cobre de alta afinidade de *P. brasiliensis* (*Pbctr3*), este gene contém quatro exons interrompidos por três íntrons, domínios “Mets” ricos em metionina na região amino-terminal e histidinas e cisteínas distribuídas ao longo da região carboxi-terminal, o que caracteriza os transportadores de cobre da família CTR. A proteína deduzida *PbCTR3* apresentou 21,5 kDa de massa molecular predita e provável ponto isoelétrico de 8,6, além de um possível sítio de *N*-glicosilação (Figura 02), o que pode ser a provável explicação para a detecção de uma proteína de massa molecular com 43 kDa, identificada na análise por *western blotting* (Figura 09).

Análises no banco de dados do genoma estrutural de *P. brasiliensis* permitiram a identificação de 13 ortólogos de genes envolvidos na manutenção da homeostase de cobre: *Pbctr3*, *Pbsod*, *Pbcao*, *Pbatx*, *Pbccc*, *Pbcrp*, *Pbtir*, *PblacI*, *PblacIII*, *Pblac IV*, *Pbcox15*, *Pbcox 16* e *Pbcox 19*. Além do fator de transcrição denominado *cuf1/mac1*, descrito como regulador da expressão do transportador de cobre CTR4 em *Schizosaccharomyces pombe*, com o objetivo de manter a homeostase no meio

intracelular. Durante a ausência de cobre, *cuf1*, ativa a transcrição do gene codificante para CTR4, aumentando assim a captação do metal. Quando o nível de cobre encontra-se em excesso, *cuf1* fica retido no citoplasma e não atua como fator de transcrição de CTR4, diminuindo sua expressão e controlando a quantidade do íon metálico no meio intracelular²⁷.

Estes genes rastreados no banco do genoma estrutural de *P. brasiliensis*, com funções envolvidas na manutenção da homeostase de cobre são codificantes para enzimas que atuam em processos biológicos envolvidos diretamente com a virulência de patógenos. Transcritos codificantes para tirosinase foram superexpressos em células recuperadas de fígado de camundongos B10A infectados por *P. brasiliensis*⁷. As tirosinases e lacases são enzimas que contêm cobre e estão envolvidas na biossíntese de melanina²⁸. A melanina está implicada na patogênese de várias doenças humanas, incluindo algumas infecções microbianas. Silva e colaboradores²⁹ em 2006 demonstraram que a melanização de *P. brasiliensis* reduz a fagocitose do fungo por macrófagos alveolares e peritoniais.

Foram identificados no banco do genoma estrutural de *P. brasiliensis* genes codificantes para *Pbatx1* e *Pbcc2* que estão diretamente envolvidos na captura e distribuição do íon cobre no meio intracelular (Figura 4). A molécula ATX1 é responsável por captar o cobre transportado por CTR3 através da membrana plasmática, levando-o à proteína CCC2 localizada no aparato de Golgi, sendo responsável pela entrega do metal às enzimas cobre-dependente. Os genes *ccc2* e *atx1*, codificantes para homólogos de transportador de cobre e chaperona de cobre, respectivamente, coordenam e mantêm a homeostase de cobre e estão relacionados com a melanização de *C. neoformans*³⁰.

Outra classe de proteínas identificadas e possivelmente envolvidas no metabolismo de cobre em *P. brasiliensis*, são as metaloenzimas mitocondriais citocromo c oxidases (*Pbcox15*, *Pbcox16* e *Pbcox19*), que são enzimas que necessitam do íon cobre para desempenhar com eficiência sua função no processo de respiração celular, catalisando a reação final da cadeia de transporte de elétrons, passo essencial na respiração celular. Em mamíferos e leveduras, a enzima tem uma estrutura bastante complexa, contendo 13 subunidades, dois grupos heme e diversos outros cofatores metálicos (três íons de cobre, um de magnésio e um de zinco). Para a enzima captar os três íons de cobre necessários para desempenhar sua atividade ótima, o cobre contido no meio intracelular deve ser incorporado pela proteína COX17, rica em cisteína,

importante no transporte de cobre citosólico para o interior da mitocôndria. Após incorporar os átomos de cobre a proteína COX17 transfere-o para a proteína SCO1 que o transfere para outras proteínas, COX2 ou COX11, fazendo com que o mesmo seja disponibilizado para a citocromo c oxidase. Especula-se que a mitocôndria também funcione como organela armazenadora de cobre, assim como os vacúolos, sendo, portanto, envolvida na manutenção da homeostase do metal ³¹⁻³⁴.

Genes codificantes para superóxido dismutase (*PbSOD*), cobre amino oxidase (*PbCAO*) e para uma proteína responsiva ao cobre em *P. brasiliensis* (*PbCRP*) foram identificados. A enzima superóxido dismutase é descrita como necessária para a virulência em microrganismos patogênicos, pois os protege contra os danos da oxidação, causados pelo sistema imunitário do hospedeiro. Em *C. albicans* foi descrito que a SOD1 protege a célula contra radicais superóxido produzidos por macrófagos ³⁵. Cobre amino oxidase, ainda não possui sua função claramente elucidada. Estudos sugerem que a molécula participe do processo de adesão celular ³⁶. No fungo patogênico *H. capsulatum*, foram identificados transcritos positivamente regulados em resposta à adição de sulfato de cobre (CuSO_4) a meios de cultura, utilizando a técnica de microarranjos de DNA. Nesse estudo o gene *crp1* que codifica uma proteína responsiva ao cobre, foi diferencialmente expresso. Sugere-se que a proteína CRP1 seja importante na manutenção da homeostase de cobre de *H. capsulatum*, visto que a mesma é requerida para o transporte e armazenamento de cobre em compartimentos intracelulares, estabelecendo a homeostase desse metal em condições de alta concentração do mesmo ³⁷.

A captação de ferro com alta afinidade requer um sistema eficiente de captação de cobre, visto que o primeiro sistema é acompanhado por um membro da família de cobre oxidases (enzimas cobre-dependentes), responsável pela oxidação de ferro à forma férrica ³⁸. Em *S. cerevisiae* mutantes no gene que codifica para o transportador de alta afinidade de cobre são deficientes nos mecanismos de captação de ferro e cobre ³⁹. Interessantemente, a alta redundância de transcritos relacionados com a captação de ambos os metais foram sinergicamente induzidos durante a infecção de *P. brasiliensis* ⁷. Devido à interdependência da captação de cobre e ferro, os níveis dos transcritos *Pbctr3*, *Pbccc2*, *Pbatx1*, *Pbcrp*, *Pbsod* e *Pbcao* foram avaliados durante privação de cobre e ferro.

Pbctr3 foi induzido durante a privação de cobre e/ou ferro, quando comparado ao controle. Os transcritos *Pbcrp* e *Pbccc2* apresentaram um decréscimo na expressão

durante a depleção de cobre, ferro, bem como, durante a depleção combinada dos dois metais. O transcrito *Pbatx1*, apresentou decréscimo tanto durante a ausência de cobre quanto durante a depleção de cobre e ferro. Os resultados das análises de expressão *in vitro* dos genes *Pbctr3* e *Pbcrp* revelaram que estes dois genes são regulados de forma antagonista em relação à disponibilidade de íons cobre. Estudos de análises de expressão de outros organismos corroboram o observado^{37,40}.

Os resultados de qPCR em tempo real demonstram a participação dos genes *Pbatx1* e *Pbccc2* na manutenção da homeostase de cobre. As relações entre a homeostase de ferro e cobre são bem estabelecidas em fungos. Por exemplo, em *C. neoformans* cobre é requerido para a atividade da enzima lacase e mutações nos ortólogos codificantes da cobre-chaperona Atx1 e do transportador de cobre Ccc2 reduzem a produção de melanina e dificultam o crescimento do fungo em condições de baixo teor de ferro. Assim como descrito em *S. cerevisiae*, essas proteínas poderiam funcionar entregando íons cobre para ferro oxidases³⁰. Em *S. cerevisiae* CCC2 é uma ATPase envolvida no transporte de íons cobre para a luz de vesículas pós-Golgi⁴¹. Originalmente essa ATPase pode funcionar no transporte do excesso de cobre do citoplasma, fato que é observado em bactérias⁴². Em células eucarióticas a principal função desse transportador é aparentemente fornecer cobre para vesículas da rede pós-Golgi, onde ocorre a montagem do complexo que contém oxidoredutases cobre-dependentes e uma permease de ferro⁴². Consequentemente mutações em *ccc2* resultam na deficiência de ferro^{43,44}.

Os níveis de expressão dos transcritos *Pbsod* e *Pbcao* apresentaram decréscimo durante a depleção de cobre, contudo não houve alteração na expressão desses transcritos durante depleção de ferro. Em ensaios de depleção simultânea de ambos os metais, observou-se repressão dos níveis dos transcritos *Pbsod* e *Pbcao*, provavelmente ocasionada pela ausência de íons cobre. A enzima SOD descrita como fator de virulência e a proteína CAO são classificadas como enzimas cobre-dependentes. O decréscimo na expressão desses genes na ausência de cobre sugere que a produção destas proteínas seja dependente de cobre. Conseqüentemente a manutenção da homeostase de cobre é essencial para a produção de fatores de virulência cobre-dependentes como por exemplo superóxido dismutase, tirosinases e lacases^{35,7}.

A expressão dos genes *Pbctr3* e *Pbcrp* foi analisada durante o processo infeccioso em nichos do hospedeiro. O gene *Pbctr3* é induzido durante o processo infeccioso, provavelmente devido à baixa concentração de cobre nos tecidos do hospedeiro. A

diminuição da disponibilidade de micronutrientes livres nos tecidos do hospedeiro é uma estratégia de defesa deste contra o patógeno⁴⁰. Dessa maneira pode-se sugerir que *PbCTR3* participa na captura de íons cobre durante a infecção, desempenhando, assim, papel essencial na estratégia de sobrevivência do patógeno nos tecidos do hospedeiro. Ressalte-se que dados recentes da literatura revelaram que o transcrito *Pbctr3* é superexpresso em *P. brasiliensis* durante a infecção de macrófagos murinos⁴⁵.

Os transcritos codificantes para *PbCRP*, foram aumentados durante a infecção de camundongos. O antagonismo na expressão do gene *Pbcrp* nas condições *in vitro* e durante infecção pode ser explicado pelo fato de que *in vitro* o cobre do meio de cultura está imobilizado no quelante. Dessa maneira, independente do aumento da expressão do *Pbctr3*, os níveis de cobre intracelulares permanecerão baixos resultando na baixa expressão de *Pbcrp*. De forma complementar, embora os níveis de cobre livre nos tecidos do hospedeiro estejam baixos, o fungo ainda consegue mobilizar o íon cobre para captura, fato qual resulta no aumento de expressão de *Pbcrp*.

A diferença de expressão dos genes *Pbctr3* e *Pbcrp* nos diferentes órgãos, pulmão e baço sugere que *P. brasiliensis* apresenta uma resposta nicho específica frente às diferentes condições de disponibilidade do íon cobre em distintos tecidos. Padrões de expressão nicho específicos tem sido observados em outros fungos dimórficos⁴⁶ e em *P. brasiliensis*⁴⁵.

A chave para a compreensão de muitos processos biológicos reside no estudo da interação física entre proteínas. O sistema de duplo-híbrido em leveduras tornou-se uma das tecnologias mais comuns para detecção de interações por ser simples, rápida e barata, evitando purificações proteicas dispendiosas e desenvolvimentos de anticorpos necessários em métodos bioquímicos tradicionais e não há necessidade de conhecimento prévio sobre as proteínas para que o rastreamento seja realizado e o sistema pode ser usado em larga escala⁴⁷.

Muitos são os papéis desempenhados pelo íon cobre na biologia e mecanismos envolvidos no processo de virulência em microrganismos patogênicos. O conhecimento da regulação da homeostase de cobre permanece escasso e, portanto, apresenta-se como um assunto crescente. Os resultados obtidos nesse trabalho demonstraram que o fungo *P. brasiliensis* possui uma rede de genes regulados por privação de cobre e ferro, especialmente os genes já descritos na literatura como relacionados com virulência e patogenicidade. Nessa classe de genes incluem-se o transportador de cobre de alta

afinidade, assim como todos os outros genes que participam na manutenção da homeostase de cobre no meio intracelular.

P. brasiliensis apresentou expressão diferencial dos genes envolvidos na homeostase de cobre durante privação dos micronutrientes cobre e ferro, assim como durante infecção experimental em pulmão e baço, sugerindo que os micros ambientes do hospedeiro, provavelmente apresentam carência de micronutrientes essenciais para a sobrevivência do patógeno. O papel desempenhado pelo transportador de cobre de alta afinidade (*PbCTR3*) de *P. brasiliensis* ainda não é elucidado e com a finalização dessa pesquisa experimental, surgem novas perspectivas e abordagens, onde estudos funcionais dos genes envolvidos no metabolismo de cobre devem ser realizados.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-Processo/Bolsa de Mestrado: 133457/2007-9), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), Fundação de Amparo à Pesquisa de Goiás (FAPEG) – Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado de Goiás (SECTEC-GO). Trabalho apresentado no 4th *International Symposium of Post-graduation and Research* (SINPOSPq/USP, 2010), resultado da dissertação (ATA N° 335) defendida e aprovada publicamente no Programa de Pós-graduação em Biologia, ICB-UFG, em 29/05/2009. Santos, RS (Autor principal e executor do projeto), Soares, CMA (Supervisora do Projeto).

REFERÊNCIAS

1. Aristizabal, BH, Clemons, KV, Cock, AM, Restrepo, A and Stevens, DA. Experimental *Paracoccidioides brasiliensis* infection in mice: influence of the hormonal status of the host on tissue responses. *Med Mycol*. 2002. 40(2): 169-78.
2. Coutinho, Z. F., Silva, D., Lazera, M., Petri, V., Oliveira, R. M., Sabroza, P. C. and Wanke, B. Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil (1980-1995). *Cad Saude Publica*. 2002. 18(5): 1441-54.
3. Franco, M. Host-parasite relationships in paracoccidioidomycosis. *J Med Vet Mycol*. 1987. 25(1): 5-18.
4. Valera, E. T., Mori, B. M., Engel, E. E., Costa, I. S., Brandao, D. F., Nogueira-Barbosa, M. H., Queiroz, R. G., Silveira, V. D., Scrideli, C. A. and Tone, L. G. Fungal

- infection by *Paracoccidioides brasiliensis* mimicking bone tumor. *Pediatr Blood Cancer*. 2008. 50 (6): 1284-6.
5. Panunto-Castelo, A., Freitas-da-Silva, G., Bragheto, I. C., Martinez, R. and Roque-Barreira, M. C. *Paracoccidioides brasiliensis* exoantigens: recognition by IgG from patients with different clinical forms of paracoccidioidomycosis. *Microbes Infect*. 2003. 5(13): 1205-11.
 6. San-Blas, G. and Nino-Vega, G. *Paracoccidioides brasiliensis*: virulence and host response. *Fungal pathogenesis: principles and clinical applications*. R. L. Cihlar and R. A. Calderone. New York, Marcel Dekker: 2001. 205-242.
 7. Bailao A. M, Schrank A, Borges C. L, Dutra V, W. I. Molinari-Madlum E. E, Soares Felipe M. S.S, Mendes-Giannini M. J, Martins W. S, Pereira M, Soares C. M. A. Differential gene expression by *Paracoccidioides brasiliensis* in host interaction conditions: Representational difference analysis identifies candidate genes associated with fungal pathogenesis. *Microbes Infect*. 2006. 8(12-13):2686-97.
 8. Fava-Netto, C. Estudos quantitativos sobre a fixação de complemento na blastomicose sul-americana, com antígeno polissacarídico. *Arq. Cir. Clin. Exp. S.P.* 1955. 18:197-254.
 9. Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York. 1989.
 10. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977. 74(12):5463-7.
 11. Ewing, B., Granden, P. Base-calling of automated sequencer traces using phred II. Error probabilities. *Genome Res*. 1998. 8:186-194.
 12. Ewing, B., Hillier, L., Wendk, M. C., Granden, P. Base-calling of automated sequencer traces using phred I. Accuracy assessment. *Genome Res*. 1998. 8:175-185.
 13. Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., Lipman, D. A. Basic local alignment search tools. *J. Mol. Biol*. 1990. 215:403-410.
 14. Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D. G. The clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids. Res*. 1997. (24):4876-4882.
 15. Hofmann, K., Bucher, P., Falquet, L., Bairoch, A. The Prosite Database, It's Status In 1999. *Nucleic Acids Res*. 1999. 27:215-219.
 16. Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Miller W, Lipman DJ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*. 1997. 25: 3389-402.

17. Restrepo A & Jiménez B. E. Growth of *Paracoccidioides brasiliensis* yeast phase in a chemically defined medium. *J. Clin. Microbiol.* 1980. 12, 279-281.
18. Bookout, A. L., C. L. Cummins, D. J. Mangelsdorf, J. M. Pesola, and M. F. Kramer. High-throughput real-time quantitative reverse transcription PCR. In F. M. Ausubel, R. Brent, R. E. Kingston, D. D. Moore, J. G. Seidman, J. A. Smith, and K. Struhl (ed.), *Current protocols in molecular biology*. John Wiley and Sons, Hoboken, NJ. 2006. 15-28.
19. Fonseca, C. A., Jesuino, R. S., Felipe, M. S., Cunha, D. A., Brito, W. A. and Soares, C. M.. Two-dimensional electrophoresis and characterization of antigens from *Paracoccidioides brasiliensis*. *Microbes Infect.* 2001. 3(7): 535-42.
20. Bruneau, J-M., Magnin, T., Tagat, E., Legrand, R., Bernard, M., Diaquin, M., Fudali, C., Latgé, J-P. Proteome analysis of *Aspergillus fumigatus* identifies glycosyl-phosphatidylinositol-anchored proteins associated to the cell wall biosynthesis. *Electrophoresis*, 2001. 22, 2812–2823.
- 21 López-Villar E, Monteoliva L, Larsen MR, Sachon E, Shabaz M, Pardo M, Pla J, Gil C, Roepstorff P, Nombela C. Genetic and proteomic evidences support the localization of yeast enolase in the cell surface. *Proteomics*. 2006. 6: 107-18.
22. Costa, M., Borges, C. L., Bailao, A. M., Meirelles, G. V., Mendonca, Y. A., Dantas, S. F., de Faria, F. P., Felipe, M. S., Molinari-Madlum, E. E. Mendes-Giannini, M. J., Fiuza, R. B., Martins, W. S., Pereira, M. and Soares, C. M. Transcriptome profiling of *Paracoccidioides brasiliensis* yeast-phase cells recovered from infected mice brings new insights into fungal response upon host interaction. *Microbiol.* 2007. 153 (12): 4194-207.
23. Rees, E.M. & Thiele, D.J. Identification of a vacuole-associated metalloreductase and its role in Ctr2-mediated intracellular copper mobilization. *J. Biol. Chem.* 2007. 282, 21629–21638.
24. Eck, R., Hundt, S., Hartl, A., Roemer, E & Kunkel, W. A multicopper oxidase gene from *Candida albicans*: cloning, characterization and disruption. *Microbiol.* 1999. 145, 2415-2422.
25. Weissman, Z., Berdiceevsky, I., Cavari, B., z & Kornitzer, D. The high copper tolerance of *Candida albicans* is mediated by a P-type ATPase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000. 97, 3520-3525.
26. Waterman, S.R. Park, Y.D. Raja, M. Kiu, J. Hammoud, D.A. O`Halloram, T.V. Williamson, P.R. Role of a CUF1/CTR4 copper regulatory axis in the virulence of *Cryptococcus neoformans*. *J. Clin. Invest.* 2007. 117, 794–802.

27. Beaudoin, J., Labbé, S. Copper induces Cytoplasmic Retention of Fission Yeast Transcription Factor Cuf1. *Eukaryot cell*. 2006. 5 (2):277-292.
28. Arredondo, M. & Nunez, M. T. Iron and copper metabolism. *Mol Aspects Med*. 2005. 26(4-5): 313-27.
29. Silva, M. B., Marques, A. F., Nosanchuk, J. D., Casadevall, A., Travassos, L. R. & Taborda, C. P. Melanin in the dimorphic fungal pathogen *Paracoccidioides brasiliensis*: effects on phagocytosis, intracellular resistance and drug susceptibility. *Microbes Infect*. 2006. 8(1): 197-205.
30. Walton, F. J., Idnurm, A. & Heitman, J. Novel gene functions required for melanization of the human pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Mol Microbiol*. 2005. 57(5): 1381-96.
31. Abajian, C., Yatsunyk, L.A., Ramirez, B.E. & Rosenzweig, A.C. Yeast cox17 solution structure and copper(I) binding. *J. Biol. Chem*. 2004. 279, 53584–53592.
32. Arnesano, F., Balatri, E., Banci, L., Bertini, I. & Winge, D.R. Folding studies of Cox17 reveal an important interplay of cysteine oxidation and copper binding. *Structure*. 2005. 13, 713–722.
33. Andreini, C., Banci, L., Bertini, I. & Rosato, A. Occurrence of copper proteins through the three domains of life: a bioinformatic approach. *J. Proteome Res*. 2008. 7, 209–216.
34. Kim, B. E., T. Nevitt, & D. J. Thiele. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. *Nat. Chem. Biol*. 2008. 4:176–185.
35. Hwang, C.S. Rhie, G. Oh, J. H., Huh, W.K., Yin, H.S., Kang, S.O. Copper- and zinc-containing superoxide dismutase (Cu/ZnSOD) is required for the protection of *Candida albicans* against oxidative stresses and the expression of its full virulence. *Microbiol*. 2002. 148, 3705–3713.
-
36. Yu, P. H., S. Wright, E. H. Fan, Z. R. Lun, & D. Gubisne-Harberle. Physiological and pathological implications of semicarbazide-sensitive amine oxidase. *Biochim. Biophys. Acta* 2003. 1647:193–199.
37. Gebhart, D., Bahrami, A. K., & Sil, A. Identification of a Copper-Inducible Promoter for Use in Ectopic Expression in the Fungal Pathogen *Histoplasma capsulatum*. *Eukaryot. Cell*. 2006. (5) 935–944
38. Stearman, R., Yuan, D. S., Yamaguchi-Iwai, Y., Klausner, R. D. & Dancis, A. A permease-oxidase complex involved in high-affinity iron uptake in yeast. *Science*. 1996. 271(5255): 1552-7.
39. Dancis, A., Yuan, D. S., Haile, D., Askwith, C., Eide, D., Moehle, C., Kaplan, J. and Klausner, R. D. Molecular characterization of a copper transport protein in *S. cerevisiae*: an unexpected role for copper in iron transport. *Cell*. 1994. 76(2): 393-402.

40. Marvin, M E., Williams, P H., Cashmore, A M. The *Candida albicans* CTR1 gene encodes a functional copper transporter. *Microbiol.* 2003.149:1461-1474.
41. Yuan, D.S., Dancis, A., and Klausner, R.D. Restriction of copper export in *Saccharomyces cerevisiae* to a late Golgi or post-Golgi compartment in the secretory pathway. *J Biol Chem.* 1997. 272: 25787–25793.
42. Phung, L. T., G. Ajlani, & R. Haselkorn. P-type ATPase from the cyanobacterium *Synechococcus* 7942 related to the human Menkes and Wilson disease gene products. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. 91:9651–9654.
43. Nelson, N. Metal ion transporters and homeostasis. *The EMBO Journal.* 1999. 4361-4371.
44. Weissman, Z., Shemer, R., and Kornitzer, D. Deletion of the copper transporter CaCCC2 reveals two distinct pathways for iron acquisition in *Candida albicans*. *Mol Microbiol.* 2002. 44: 1551–1560.
45. Dantas, S.F.I.M., Rezende, T.C.V., Bailão, A.M., Taborda, C.P., Santos, R.S., Castro, K.P., Soares, C. M. A. Identification and characterization of antigenic proteins potentially expressed during the infectious process of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Microbes Infec.* 2009. (11) 895-903.
46. Barelle, C. J., Priest, C. L., Maccallum, D. M., Gow, N. A., Odds, F. C. and Brown, A. J. Niche-specific regulation of central metabolic pathways in a fungal pathogen. *Cell Microbiol.* 2006. 8(6): 961-71.
47. MacDonald, P.N. Two-Hybrid Systems. *Methods in Molecular Biology.* Humana Press. 2001.

BIOTECNOLOGIA VEGETAL: ASPECTOS BIOMOLECULARES, BIOSSEGURANÇA E LEGISLAÇÃO DE TRANSGÊNICOS

*Luciana Oliveira Barateli**

*Regina Melo Sartori Coelho**

*Abmael Monteiro de Lima Junior**

*Rodrigo da Silva Santos**

AS DESCOBERTAS E AS CONTRIBUIÇÕES BIOTECNOLÓGICAS PARA A AGRICULTURA

A busca incessante por melhor qualidade de vida tem induzido o homem a mergulhar no mundo do conhecimento científico (Alves, 2004). Após a segunda guerra mundial, a pressão por produção de alimentos passou a ser maior e novos conhecimentos se fizeram necessário, o que levou a um acontecimento que na época recebeu o nome de revolução verde, que foi a intensificação no uso de insumos, produtos químicos industrializados como fungicidas, inseticidas, fertilizantes e herbicidas, porém, esses recursos deixaram de ser inovadores após algum tempo e fez-se necessário o uso de novas tecnologias no manejo agrícola (Bammer; Iorczeski, 2002).

Com a evolução do conhecimento científico na agricultura, o uso de metodologias biotecnológicas tem aumentando significativamente os benefícios econômicos, sociais e ambientais. A contribuição de conhecimentos advindos das descobertas de grandes cientistas foram relevantes para a evolução e sistematização da Biotecnologia (Faleiro et al., 2009). Contribuições essas, como as de Gregor Mendel que elucidou o conhecimento da existência dos genes, chamados por ele de “fatores”, o que possibilitou uma nova visão relacionada a hereditariedade, e James Watson e Francis Crick no ano de 1953 que descreveram a estrutura da molécula de DNA (Ácido Desoxirribonucleico), que contém a informação genética de cada ser vivo. Foi a partir

* Laboratório de Diagnóstico e Biotecnologia - Laboratório Nacional Agropecuário em Goiás, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (LANAGRO-MAPA). Pesquisador do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Genética e Bioquímica) da Universidade Federal de Goiás (ICB-UFG).

dessa descoberta da estrutura do DNA que houve uma revolução na área da genética e biologia molecular, surgindo então a biotecnologia moderna (Barth, 2005).

Em 1973, a comunidade científica anunciou a descoberta do DNA recombinante, técnica através da qual pode-se recortar e colar a molécula de DNA dando início a ciência chamada de engenharia genética (Barth, 2005). A descoberta de dois tipos de enzimas de restrição e as DNAs ligases facilitaram a produção das moléculas de DNA recombinante (Lodish et al., 2005). A engenharia genética possibilitou importantes avanços na ciência como, por exemplo, o projeto genoma humano, a clonagem, e o desenvolvimento de organismos geneticamente modificados (Barth, 2005). Segundo o art.03, inciso V, da Lei Federal brasileira nº 11.105, de 24 de Março de 2005, organismo geneticamente modificado (OGM) é aquele cujo qual o material genético (DNA/RNA) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética.

TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AO MELHORAMENTO GENÉTICO VEGETAL

O termo biotecnologia advém de um conjunto de técnicas que utilizam seres vivos no desenvolvimento de processos e produtos que tenham uma função social e (ou) econômica. Mediante a transformação genética é possível transferir para as plantas genes isolados de plantas de outras espécies, ou mesmo de microrganismos e animais, o que pode trazer vantagens para a agricultura, meio ambiente, e também para a pesquisa básica no estudo da informação genética (Faleiro et al., 2009).

O melhoramento genético de plantas tornou-se uma constante preocupação uma vez que nenhum tipo de cultura preenche quantitativamente os parâmetros agrônômicos desejáveis, como resistência a pragas e resistência a diferentes tipos de estresses fisiológicos. (Moreira et al., 1999).

A transformação genética consiste na técnica de introdução controlada de ácidos nucleicos em organismo receptor excluindo a introdução por fecundação. O desenvolvimento da engenharia genética e da cultura de tecidos possibilitou que diversas técnicas biotecnológicas para a produção de transgênicos fossem estabelecidas.

Atualmente essas técnicas estão divididas em duas categorias conforme a metodologia da transferência dos genes: indireta e direta de genes. (Faleiro et al., 2009 ; Vidal e Carvalho, 2002).

A transferência direta de genes consiste na utilização de um vetor como, *Agrobacterium tumefaciens* e *Agrobacterium rhizogenes* que são bactérias fixadoras de nitrogênio. Esses vetores são tipos bacterianos com potencial de transferir naturalmente para as plantas parte do seu material genético. Após essa descoberta pode-se manipular o DNA dessas bactérias com técnicas de engenharia genética, onde os cientistas retiraram os genes nocivos para a planta e introduziram em seu lugar genes de interesse sem alterar o potencial de transferência gênica da bactéria. Este tipo de transferência gênica representa um processo conhecido como engenharia genética natural (Faleiro et al., 2009; Vidal e Carvalho, 2002).

Na transferência direta para romper a barreira da parede celular e (ou) membrana plasmática são utilizados métodos físicos e químicos para permitir a penetração livre do material genético na célula, e dentre esses métodos se destacam a transformação de protoplastos com policações, eletroporação de protoplastos ou tecidos intactos e bombardeamento de micropartículas (biobalística) (Faleiro et al., 2009; Vidal e Carvalho, 2002).

A transformação de protoplastos utiliza agentes químicos que irão atuar na parede celular e membrana plasmática interagindo como as mesmas pela diferença de cargas entre a membrana e os policações, tornando a membrana plasmática mais permeável permitindo a livre passagem do material genético para dentro da célula (Faleiro et al., 2009).

A eletroporação é um tipo de método físico que consiste em submeter uma mistura de DNA, protoplastos ou tecido vegetal a um campo elétrico de intensidade controlada por um curto período de tempo. Essa intensidade elétrica irá provocar a abertura dos poros existentes na superfície da membrana plasmática permitindo a entrada dos genes exógenos para dentro da célula (Faleiro et al., 2009).

Na biobalística acontece o bombardeamento da célula por microprojéteis que podem ser de ouro ou tungstênio, acelerados a altas velocidades (superiores a 1.500 km/h), onde o material genético exógeno está aderido. Esses microprojéteis penetram a

membrana plasmática de maneira não letal, em seguida o material genético é dissociado das micropartículas pela ação do meio intracelular ocorrendo o processo de integração do material genético exógeno ao material genético da planta (Faleiro et al., 2009).

A utilização dessas técnicas para o desenvolvimento de organismos transgênicos possibilitou um aumento da produtividade, diminuição do tempo necessário para se produzir novos cultivares de plantas e maior resistência às pragas e doenças. Esses são alguns dos ícones que a biotecnologia e a engenharia genética então criando (Faleiro et al., 2009).

COMÉRCIO NACIONAL E INTERNACIONAL DE TRANSGÊNICOS

Padrões, normas e regras devem ser estabelecidos para padronizar e garantir a segurança e a confiabilidade dos consumidores em transações comerciais a fim de diminuir a incerteza e os custos das mesmas. Em geral essas regras estabelecem exigências de certificação, procedimentos de testes e análises, avaliação de conformidade e obrigatoriedade de fornecimento de informações sobre o produto comercializado. Os organismos geneticamente modificados não fogem a essas regras e normas para padronização, porém, há ainda uma discussão maior a cerca desses commodities, como por exemplo os riscos e os benefícios associados a esse tipo de cultura. Os debates sobre engenharia genética na agricultura são complexos e multifacetados, revelando diferentes posicionamentos entre países e agentes econômicos (Simões, 2010).

A OMC (Organização Mundial do Comércio) é a única organização encarregada de supervisionar o comércio internacional e implementar acordos entre os Estados. Também coordena novas regras para o comércio mundial através de acordos estabelecidos e assinados por representantes dos países membros, e posteriormente ratificados em seus respectivos governos (INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, 2015). Em 11 de setembro de 2003 entrou em vigor o Protocolo de Cartagena, que é a regulação internacional para alimentos contendo OGMs, que restringe a livre comercialização de OGMs e obriga a rotulagem dos alimentos e ingredientes derivados destes quando em porcentagem excedente ao estabelecido pela Lei (Conceição *et al.*, 2006).

No Brasil o decreto nº 4.680, de 24 de Abril de 2003 regulamenta o direito à informação, assegurado pela Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990, quanto aos alimentos e ingredientes alimentares destinados ao consumo humano ou animal que contenham ou sejam produzidos a partir de organismos geneticamente modificados. O Art. 2º do referido decreto estabelece que na comercialização de alimentos e ingredientes alimentares destinados ao consumo humano ou animal que contenham ou sejam produzidos a partir de organismos geneticamente modificados, com presença acima do limite de 1% do produto, o consumidor deverá ser informado da natureza transgênica desse produto.

Conforme divulgado no site da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança atualmente no Brasil existem 49 eventos transgênicos autorizados para plantio e comércio, sendo eles, 6 eventos em soja, 29 eventos em milho, 12 eventos em algodão e 1 em feijão, 1 em eucalipto, conforme segue a quadro abaixo.

Quadro1. Resumo geral das plantas geneticamente modificadas que são aprovadas para comercialização no Brasil.

Produto	Nome Comercial	Eventos	Características	Ano de aprovação
Soja	Roundup Ready	GTS-40-3-2	Tolerante a Herbicida	1998
	Cultivance	BPS-CV-127-9	Tolerante a Herbicida	2009
	Liberty Link TM	A2704-12	Tolerante a Herbicida	2010
	Liberty Link TM	A5547-127	Tolerante a Herbicida	2010
	Intacta RR2 PRO	MON87701 & MON89788	Tolerante a Herbicida e Resistência a insetos	2010
	***	DAS-68416-4	Tolerante a herbicidas	2015
	Yield Gard	MON810	Resistente a insetos	2007
	Liberty Link	T25	Tolerante a Herbicida	2007
	TL	Bt	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2007
	Roundup Ready 2	NK603	Tolerante a Herbicida	2008
	TG	GA21	Tolerante a Herbicida	2008
	Herculex	TC1507	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2008
	YR YieldGard/RR2	NK603 & MON810	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2009

Milho	TL/TG	Bt11 & GA21	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2009
	Viptera-MIR162	MIR162	Resistente a insetos	2009
	HR Herculex/RR2	TC1507 & NK603	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2009
	Pro	MON89034	Resistente a insetos	2009
	TL TG Viptera	Bt11 & MIR162 & GA21	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2010
	PRO2	MON89034 7 NK603	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2010
	Yield Gard VT	MON88017	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2010
	Power Core PW/Dow	MON89034 & TC1507 & NK603	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2010
	HX YG RR2	MON810 & TC1507 &NK603	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2011
	TC1507xMON810	TC1507 & MON810	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2011
	MON89034 x MON88017	MON89034 & MON88017	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2011
	Herculex XTRA™ maize	TC1507 x DAS-59122-7	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2013
	Viptera4	Bt11xMIR162x MIR604xGA21	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2014
	MIR 604	MIR604	Resistente a insetos	2014
	***	DAS-40278-9	Tolerante a herbicida	2015
	***	NK603 x T25	Tolerante a herbicida	2015
	***	TC1507 x MON810 x MIR162 x NK603	Tolerante a herbicida & resistência a insetos	2015
	***	TC1507xMIR1 62xNK603	Tolerante a herbicida & resistência a insetos	2015
	***	TC1507xMIR1 62	Tolerante a herbicida & resistência a insetos	2015
	***	MIR162xNK60 3	Tolerante a herbicida & resistência a insetos	2015

	***	MON810xMIR 162	Resistência a insetos	2015
	***	TC1507 x MON810 x MIR162	Tolerância a herbicidas & resistência a insetos	2015
Algodão	Bolgard I	MON531	Resistente a insetos	2005
	Roundup Ready	MON1445	Tolerante a Herbicida	2008
	Liberty Link	LLCotton25	Tolerante a Herbicida	2008
	Bolgard I Roundup Ready	MON531&MO N1445	Tolerante a herbicida & resistência a insetos	2009
	Widestrike	281-24-236 & 3006-210-23	Tolerante a herbicida & resistência a inseto	2009
	Bolgard II	MON15985	Resistente a insetos	2009
	GlyTol	GHB614	Tolerante a herbicida	2010
	TwinLink	T304-40 & GHB119	Resistente a insetos e Tolerante a herbicidas	2011
	MON88913	MON88913	Tolerante a herbicida	2011
	GlytolxTwinLink	GHB614 x T304-40 x GHB 119	Tolerante a herbicida e resistência a insetos	2012
	GTxLL	GHB614 x LLCotton25	Tolerante a Herbicida	2012
	BolgardII Roundup Ready Flex	MON 15985 x MON 88913	Tolerante a herbicida e resistência a insetos	2012
Feijão	Embrapa 5.1	Embrapa 5.1	Resistente ao Vírus do Mosaico dourado do feijoeiro	2011
Eucalipto	***	H421	aumento volumétrico de madeira	2015

*** Aguardam denominações

Fonte: Site da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança.

LEGISLAÇÃO E FISCALIZAÇÃO NACIONAL REFERENTE AOS ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS

No Brasil a Lei n.º11.105, de 24 de março de 2005, que substituiu a Lei n.º8.974, de 5 de janeiro de 2005, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização sobre a construção, o cultivo, a produção, a manipulação, o transporte, a transferência, a

importação, a exportação, o armazenamento, a pesquisa, a comercialização, o consumo, a liberação no meio ambiente e o descarte de organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, tendo como diretrizes o estímulo ao avanço científico na área de biossegurança e biotecnologia, a proteção à vida e à saúde humana, animal e vegetal, e a observância do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente. Segundo a referida Lei fica estabelecido também a CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança), integrante do Ministério da Ciência e Tecnologia, como instância colegiada multidisciplinar de caráter consultivo e deliberativo, para prestar apoio técnico e de assessoramento ao Governo Federal na formulação, atualização e implementação da PNB (Política Nacional de Biossegurança) de OGM e seus derivados, bem como órgão responsável pelo estabelecimento de normas técnicas de segurança e de pareceres técnicos referentes à autorização para atividades que envolvam pesquisa e uso comercial de OGM e seus derivados, com base na avaliação de seu risco zootossanitário, à saúde humana e ao meio ambiente.

Atualmente como descrito no Art. 16 da Lei nº 11.105/2005 fica delegado a Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) a responsabilidade de fiscalizar as atividades de pesquisa, bem como a liberação comercial de OGMs e a autorização para a importação de OGM e seus derivados para uso comercial na sua área de atuação.

No âmbito estadual a fiscalização das atividades com OGM é realizada por pelos fiscais federais agropecuários que ficam lotados nas Superintendências Federais de Agricultura (SFAs) (Coelho, 2012). O Art. 42 do decreto nº 5.741 de 30 de março de 2006, que organiza o Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, estabelece os Laboratórios Nacionais Agropecuários (LANAGROS) como os laboratórios oficiais do MAPA, sendo estes, responsáveis pelos ensaios analíticos referentes a fiscalização agropecuária juntamente com os demais laboratórios da rede privada que são credenciados a Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários.

ORGANIZAÇÃO DA QUALIDADE DOS LABORATÓRIOS E MÉTODOS ANALÍTICOS PARA FISCALIZAÇÃO DE OGM

A instrução normativa nº 57 de 11 de Dezembro de 2013 estabelece os critérios e requisitos para o credenciamento e monitoramento de laboratórios pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA.

Os laboratórios que compõem a Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários desenvolvem seu trabalho com base na norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 que estabelece os requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. A norma tem por objetivo especificar os requisitos gerais para a competência em realizar ensaios e/ou calibrações incluindo amostragem. Ela cobre ensaios e calibrações realizados utilizando métodos normalizados, métodos não normalizados e métodos desenvolvidos pelo laboratório.

Para análises de OGM além da ABNT NBR ISO/IEC 17025 os laboratórios da rede responsáveis pela identificação e quantificação de transgênicos seguem as instruções contidas nos seguintes documentos: ISO/IEC 21571:2005 - estabelece protocolos para extração de DNA em diferentes matrizes; ISO/IEC 21569:2005 - estabelece métodos qualitativos utilizando PCR convencional; ISO/IEC 21572:2004 - estabelece métodos de detecção baseados em proteína; ISO/IEC 21570:2005 - estabelece métodos quantitativos; ISO/IEC 24276:2006 - define requerimentos gerais e definições e normas para a rotina do laboratório. Além da documentação anteriormente referenciada, os laboratórios destinados a análises referentes a OGM utilizam em sua rotina métodos de detecção e quantificação de OGM validados colaborativamente pelos laboratórios que participam da rede de referencia da União Europeia JRC (Joint Research Centre).

Após a definição dos métodos analíticos a serem utilizados pelo laboratório o mesmo deve validar os métodos dentro das suas condições de reprodução do método. Como descrito na ISO/IEC 17025 o laboratório deve validar os métodos não normalizados, métodos criados/desenvolvidos pelo próprio laboratório, métodos normalizados usados fora dos escopos para os quais foram concebidos, ampliações e modificações de métodos normalizado. A validação é a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um

determinado uso são atendidos (ISSO/IEC 17025). Os parâmetros utilizados nas metodologias de validação foram definidos pelo JRC (ENGL, 2009).

Para determinar a amostra de trabalho, os laboratórios devem estabelecer plano de amostragem, que deve abranger fatores a serem controlados como forma de assegurar a validade das análises. Os laboratórios da Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários não são responsáveis pelas amostragens, que cabem à responsabilidade dos fiscais federais agropecuários que ficam lotados nas Superintendências Federais de Agricultura (SFAs), e os mesmos seguem Normas específicas internacionais, internalizadas em Instrução Normativa, para garantir a representatividade do lote amostrado (ISSO/IEC 17025; Coelho, 2012).

O método analítico para a fiscalização de organismos geneticamente modificados se dá através da identificação e/ou quantificação do gene exógeno presente na amostra, ou também pela identificação da proteína que é produzida através da transcrição do gene exógeno. A identificação da proteína pode ser feita em nível de campo através de kits comerciais. Já no caso da identificação e quantificação do transgene é necessário submeter às amostras à extração de DNA, que consiste em retirar o ácido nucléico da amostra com comprimento, pureza química e integridade estrutural suficientes para amplificação por Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) e livres de componentes inibidores de PCR.

Atualmente os métodos mais utilizados na extração de ácidos nucléicos em plantas são: método CTAB (*Cationic hexadecyl trimethyl ammonium bromide*), o método SDS (*Sodium dodecyl sulfate*), e os kits comerciais. Os métodos de extração consistem basicamente na dissolução das membranas por solventes e incubação na amostra teste com proteinase K, posteriormente o DNA é purificado em fenol/clorofórmio, e então o DNA purificado é ressuspensão em um meio para armazenamento, como por exemplo, o tampão Tris-EDTA (ácido acético diaminotetraetileno) ou água destilada estéril (Mesquita et al, 2001).

O método empregado para a identificação e quantificação do gene exógeno é a PCR (reação em cadeia da polimerase), essa é uma metodologia que pode ser executada inteiramente em *in vitro* sem o uso de células e consiste na amplificação (cópias) de um pequeno fragmento de DNA até níveis que possibilite a identificação do mesmo. Para que aconteça a amplificação do gene de interesse é necessário que um par de iniciadores

(primers), sequências curtas iniciais complementares do gene, sejam utilizados. Além dos primers outros reagentes essenciais à reação devem ser adicionados à amostra, como por exemplo, os desoxinucleotídeos (dNTPs) que irão formar as novas fitas, e a enzima polimerase, que será a responsável pela adição dos nucleotídeos formando a nova fita complementar a fita molde. Todos os reagentes são adicionados a amostra em excesso para que a amplificação aconteça em larga escala (Cury, Furuse e Araújo 2006).

A reação em cadeia da polimerase típica inicia-se através do aquecimento da amostra juntamente com o mix de reagentes a 95°C, nesta temperatura a dupla fita do DNA desnatura e fica na forma de fitas simples. A seguir a temperatura é resfriada até 50°C a 60°C, o que permite a hibridização dos primers com suas sequências complementares de DNA, esses primers hibridizados servirão de iniciadores para a síntese da cadeia na presença dos desoxinucleotídeos (dNTPs) e de uma enzima DNA polimerase resistente a altas temperaturas, como a *Taq polimerase* (enzima presente na bactéria *Thermus aquaticus* que vive em regiões de águas termais). Esta enzima continua ativa mesmo depois de ser aquecida a 95°C e pode estender os iniciadores até a temperatura de 72°C. Após a finalização da síntese das novas fitas a reação é novamente submetida à temperatura de 95°C para a desnaturação dos duplex de DNA recém-formados, dando continuidade a um novo ciclo de amplificação do gene de interesse com ciclos de desnaturação (aquecimento) e síntese (resfriamento). Portanto, a cada ciclo o número de cópias do fragmento de DNA alvo dobra, promovendo um crescimento exponencial, chegando a milhões de cópias ao final de uma média de 20 ciclos (Lodish et al, 2005).

Atualmente os métodos mais utilizados de reação PCR são PCR convencional e PCR em tempo real (qPCR). O PCR convencional não apresenta valores quantitativos, o que o difere do PCR em tempo real.

O PCR em tempo real permite a avaliação do número de moléculas produzidas a cada ciclo simultaneamente a reação, e se destaca pela rapidez, especificidade, sensibilidade e quantificação. O ponto em que detecta o ciclo em que a reação alcança o começo da fase exponencial é denominado de *Cycle Threshold* (CT). Para a quantificação exata o método baseia-se na emissão de fluorescência. A fluorescência gera um sinal simultâneo que aumenta em proporção direta ao processo de amplificação do produto, e assim os valores da fluorescência são gravados durante cada ciclo e

representam o produto amplificado. Os dois tipos de compostos fluorescentes mais utilizados são o *SYBR® Green e TaqMan®*. Para realizar uma análise de PCR em tempo real são necessários equipamentos específicos, como termociclador com sistema óptico para a excitação da fluorescência e coleta do sinal, e também um computador com software para aquisição de dados e análise final da reação (Novais e Alves, 2004).

Para fins de fiscalização de presença ou ausência e quantificação para adequação da rotulagem de produtos de origem vegetal com relação a OGMs no Brasil a técnica mais utilizada é o PCR em tempo real pelo potencial de expressão quantitativa. A análise qualitativa, que pode ser obtida pelo PCR convencional, é realizada através da detecção da sequência do DNA alvo na amostra e o resultado claramente mostra a ausência ou a presença do elemento genético sob estudo, enquanto a análise quantitativa consiste na quantificação da sequência DNA alvo em uma amostra teste. A análise quantitativa pode ser expressa pela quantidade da sequência do DNA alvo em relação à quantidade de uma referência específica, ou seja, o gene endógeno. Em ambos os casos, deve-se utilizar padrões e controles adequados dentro de uma dinâmica estabelecida para o método analítico usado e a amostra teste analisada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em pouco mais de 50 anos de conhecimento sobre a molécula de DNA, a ciência relacionada ao estudo dos genes conhecida como genética tem avançado significativamente e realizando importantes contribuições as ciências biológicas. Esses estudos vêm fornecendo dados relevantes para o conhecimento e entendimento dos seres vivos em geral, visando sempre à melhoria na qualidade de vida do homem e a sustentabilidade do planeta.

Dentro das ciências agrárias o conhecimento sobre biologia molecular e engenharia genética permitiu também importantes avanços, como por exemplo, a manipulação genética de plantas com importante impacto econômico e social, buscando a melhoria na produção e o abastecimento da população mundial. É tendo conhecimento sobre as implicações com relação à pesquisa e comercialização de transgênicos em todo o mundo, que sabe-se da importância da fiscalização e monitoramento dessas atividades.

O Brasil no contexto mundial não fica atrás com relação à fiscalização das atividades relacionadas a transgênicos, visto a importância econômica que a agronomia tem para o país. Sendo assim, conclui-se que o Ministério da Agricultura juntamente com os órgãos responsáveis tem desempenhado um trabalho de extrema importância para o desenvolvimento agropecuário do Brasil, garantido a qualidade e idoneidade dos produtos comercializados.

REFERÊNCIAS

ALVES, Gilcean Silva. A biotecnologia dos transgênicos: precaução é a palavra de ordem. HOLOS, Ano 20, outubro/2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO/IEC 17025: Requisitos Gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2005. Requisitos da direção 4.3.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO/IEC 21569:2005, Foodstuffs – Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Qualitative nucleic acid based methods.

BAMMER, Sandra Patussi; IORCZESKI, Edson Jair. **Atualização em técnicas celulares e moleculares aplicadas ao melhoramento genético vegetal**. 1.ed. Passo Fundo-RS, 2002.

BARTH, L.W.. Engenharia Genética E Bioética. Teocomunicação, Rio Grande do Sul v.35, n.149, p.361-391, 2005.

BRASIL. LEI Nº 11.105, DE 24 DE MARÇO DE 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória nº 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil].

BRASIL. DECRETO Nº 4.680, DE 24 DE ABRIL DE 2003. Regulamenta o direito à informação, assegurado pela Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990, quanto aos alimentos e ingredientes alimentares destinados ao consumo humano ou animal que contenham ou sejam produzidos a partir de organismos geneticamente modificados, sem prejuízo do cumprimento das demais normas aplicáveis. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil].

BRASIL. DECRETO Nº 5.741, DE 30 DE MARÇO DE 2006. Regulamenta os arts. 27-A, 28-A e 29-A da Lei nº 8.171, de 17 de janeiro de 1991, organiza o Sistema Unificado

de Atenção à Sanidade Agropecuária, e dá outras providências. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil].

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 57 de 11 de dez. de 2013. Estabelece critérios e requisitos para o credenciamento e monitoramento de laboratórios pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Diário Oficial da União.

COELHO, M.V.S., 2012. **Fiscalização de Atividades com Organismos Geneticamente Modificados**. Artigo Técnico 2. XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO - Águas de Lindóia - 26 a 30 de Agosto de 2012.

CONCEIÇÃO, F.R.; MOREIRA, A.N.M.; BINSFELD, P.C. Detecção e quantificação de organismos geneticamente modificados em alimentos e ingredientes alimentares. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.36, n.1, p.315-324, jan-fev, 2006.

CURY, Patricia Ramos; FURUSE, Cristiane; ARAÚJO, Ney Soares. Técnica E Aplicação Da Reação Da Polimerase Em Cadeia Na Área Odontológica. *Revista Odontológica de Araçatuba*, v.26, n.2, p. 34-39, Julho/Dezembro, 2005.

ENGL 2009. **Definition of Minimum Performance Requirements for Analytical Methods of GMO Testing**. European Network of GMO Laboratories (ENGL) Steering Committee in collaboration with the ENGL Working Group Validation, Version 13.10. 2008, 8 pp.

FALEIRO, Fábio Gelape et al. **Breve Histórico da Biossegurança dos Transgênicos**. Embrapa Cerrados, Planaltina-DF. 1ª ed, 2009.

IMETRO. **O que é a Organização Mundial do Comércio (OMC)**. Disponível em <<http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/faq/omc.asp>> Acesso em: 29. Jun. 2015.

ISO/IEC 21569:2005. Foodstuffs – Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Qualitative nucleic acid based methods.

ISO/IEC 21570:2005, Foodstuffs – Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Quantitative nucleic acid based methods.

ISO/IEC 21571:2005, Foodstuffs – Methods of analysis for the detections of genetically modified organisms and derived products – Nucleic acid extraction.

ISO/IEC 24276:2006, Foodstuffs – Methods of analysis for the detections of genetically modified organisms and derived products – General requirements and definitions.

LODISH, Harvey et al. **Biologia Celular e Molecular**. Tradução de Ana Leonor Chies Santiago. Porto Alegre, Artmed, 2005 1054p.

MESQUITA, Ricardo Alves et al. Avaliação de três métodos de extração de DNA de material parafinado para amplificação de DNA genômico pela técnica da PCR. *Pesqui Odontol Bras*, v. 15, n. 4, p. 314-319, out./dez. 2001.

MOREIRA, J.A.N.; NÓBREGA, M.B.M.; VIEIRA, R.M.. **Engenharia genética no algodoeiro**. In. BELTRÃO, N.E.M., ed. O agronegócio do algodão no Brasil. Brasília: EMBRAPA Comunicação para transferência de tecnologia, 1999. p. 391-404.

NOVAIS, Caroline Monteiro; ALVES, Melissa Pires. PCR em tempo real: uma inovação tecnológica da Reação em Cadeia da Polimerase. Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento, ed. 33 jul. dez. 2004.

SIMÕES, Débora da Costa; BURNQUIST, Heloisa Lee. **Impactos Potenciais do Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança nas Exportações Brasileiras de Soja**. RESR, Piracicaba, SP, vol. 48, nº 02, p. 283-306, abr/jun 2010.

VIDAL, Márcia Soares; CARVALHO Julita M' Frota Chagas. **Regeneração e Transformação Genética de Plantas**. Revista Circular Técnica 64, Embrapa. Campina Grande- PB. Dezembro, 2002. p.1-8.

CLONAGEM MOLECULAR, EXPRESSÃO HETERÓLOGA E PRODUÇÃO DE PROTEÍNA RECOMBINANTE

Rodrigo da Silva Santos*

Nathalie Martelli de Paula*

Mônica Santiago Barbosa*

INTRODUÇÃO

Muitas são as enzimas envolvidas com a virulência e patogenicidade do fungo *P. brasiliensis*, dentre elas tem-se, a gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase descrita por Fonseca *et al.*, (1) a qual está envolvida na via glicolítica do fungo e apresenta ainda funções não relacionadas com a glicólise (2).

Devido ao fato de *P. brasiliensis* apresentar uma importância médica relevante, o fungo vem sendo objeto de estudo de vários laboratórios. No estado de Goiás, os autores deste artigo estudam o fungo sob diversos aspectos bioquímicos e moleculares, um deles envolve a expressão heteróloga de proteínas, que estão relacionadas ao processo infeccioso. Nesse sentido vários trabalhos vêm sendo publicados, entre os mais recentes estão: Pereira *et al.* (3), que através de experimentos com cDNA da enzima triosefosfato isomerase de *P. brasiliensis* e experimentos de purificação, realizaram ensaios enzimáticos e avaliaram sua reatividade imunológica por meio de análises de *Western Blot*; Borges *et al.* (4), avaliaram a atividade catalítica da enzima formamidase, tanto na fase de levedura, quanto na fase de micélio do fungo *P. brasiliensis* avaliando ainda seu possível papel como antígeno; Barbosa *et al.* (2), através de experimentos de purificação, citolocalização e *Western Blot* verificaram que a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) além de estar presente no citoplasma, desempenhando funções relacionadas às reações metabólicas da via glicolítica, também está localizada na parede celular, onde provavelmente é receptora comum de proteínas da matriz extracelular, a qual desempenha papel crucial para a aderência de *P. brasiliensis* aos tecidos do hospedeiro.

*Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás (ICB-UFG).

A enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) vem sendo estudada ao longo dos anos em uma gama de organismos desde *Escherichia coli* até *Homo sapiens* (5). Essa enzima é um homotetrâmero e possui uma massa molecular de 36 kDa. É considerada enzima chave do mecanismo de glicólise, via metabólica comum entre todos os organismos que utilizam a glicose como fonte de energia.

Berry (6) relata o envolvimento da GAPDH com o sinal de iniciação celular para a cascata de eventos que compõem a apoptose em diversos tipos celulares, o que acarreta em uma série de doenças neurodegenerativas, como, Parkinson e Alzheimer, podendo gerar ainda doenças hepáticas. Embora oligodeoxinucleotídeos anti-sense de GAPDH, situados no núcleo celular, evite com que a GAPDH seja super expressa, controlando a apoptose celular, se a GAPDH, não for expressa em níveis normais celulares, as células não receberão o sinal de apoptose. Dessa forma, as células poderão começar a se dividir desordenadamente gerando tumores (7). Barbini *et al.*, (7), citam ainda que a GAPDH é utilizada de forma invariante para o controle da expressão de diferentes genes.

A GAPDH em *P.brasiliensis* é uma molécula reativa com soro de pacientes portadores de paracoccidiodomicose e não reativa com soro de pacientes portadores de outras micoses (1,8). Em função desses resultados, Barbosa *et al.* (9,2), continuaram a investigação a respeito do envolvimento da enzima em mecanismos de patogenicidade, onde sequências codificantes para a GAPDH foram clonadas e caracterizadas, sendo deduzido que a seqüência protéica é constituída por 338 aminoácidos. Foi também descrito que a expressão da GAPDH é regulada durante o desenvolvimento das fases em *P.brasiliensis* sugerindo que a proteína esteja associada na interação do fungo com o hospedeiro

Barbosa *et al.* (2), demonstraram que a GAPDH está associada à parede de *P.brasiliensis*, onde é capaz de se ligar a componentes da matriz extracelular, como laminina, fibronectina e colágeno tipo I. Além disso, foi demonstrado que a GAPDH é capaz de mediar a aderência e internalização de *P.brasiliensis* em cultura de células *in vitro*, o que sugere o seu potencial papel no estabelecimento da doença.

Como funções não-glicolíticas relativas à GAPDH, Ferreira-da-Silva *et al.* (10) citaram seu envolvimento com membranas de fusão, interações com microtúbulo, reparo de DNA, regulação da transcrição gênica, atividade de fosfotransferase,

transporte vesicular entre o retículo endoplasmático rugoso e o complexo de Golgi e envolvimento com doenças neurodegenerativas. Assim, afirma-se que esta enzima possui localizações subcelulares diferentes de acordo com a função desempenhada, embora seja de localização citoplasmática na maioria dos organismos estudados (11).

O desenvolvimento de técnicas e métodos para purificação protéica tem sido pré-requisito essencial para vários avanços tecnológicos. O uso de proteínas puras é o primeiro passo para a determinação de sequências de aminoácidos e para o estabelecimento de hipóteses sobre relações evolutivas entre proteínas de diversos organismos, e para a investigação de sua função bioquímica. A partir dos cristais, geralmente formados ao final da purificação, pode-se através de técnicas de raios-X obter dados que forneçam um quadro da estrutura terciária proteica (12).

Para a obtenção da proteína é necessário mais de um passo de purificação. A chave de uma purificação eficiente e bem sucedida está no fato de selecionar de forma correta as técnicas a serem utilizadas, otimizá-las, combinando o número de passos a serem utilizados e a quantidade de proteína que se deseja obter, já que quanto maior o número de passos a serem seguidos, menor será o rendimento de extrato purificado.

Vários protocolos de purificação da proteína na sua forma ativa vêm sendo aplicados com base nas suas características, como: solubilidade, tamanho, carga e afinidade de ligação específica. De forma geral, as proteínas são sujeitas a uma série de separações, sendo cada uma baseada em diferentes propriedades até que se obtenha a proteína pura. Em cada etapa da purificação, a preparação é avaliada para que se determine a concentração protéica, sendo o rendimento global da purificação um aspecto fundamental. Várias são as técnicas de purificação disponíveis, dentre elas: *Salting out*, Diálise, Cromatografia de troca iônica e Cromatografia de afinidade (12).

A cromatografia de afinidade permite a separação das proteínas com base em suas especificidades de ligação. Desta forma, as proteínas se ligam especificamente a um ligante, que está ancorado às esferas. Após a etapa de lavagem, para a eliminação das proteínas que não se ligaram à matriz, a proteína ligada é eluída por uma solução que possui o ligante (13).

Com o objetivo de caracterizar bioquimicamente a GAPDH de *P. brasiliensis*, foi realizada a clonagem molecular, expressão e purificação da enzima recombinante.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo e condições de crescimento.

Foi utilizado o isolado 01 (coleção ATCCMYA-826) de *P. brasiliensis*, já caracterizado e padronizado em laboratório. O fungo foi cultivado e mantido em meio de cultura Fava-Netto (14) por 7 dias na temperatura de 36°C para a forma leveduriforme e 22°C para a forma miceliana, durante 14 dias.

Amplificação do cDNA codificante para a GAPDH do fungo *P. brasiliensis* através de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Baseando-se na sequência proposta por Barbosa *et al.* (9), foram sintetizados oligonucleotídeos para a realização da amplificação do cDNA codificante para a GAPDH de *P. brasiliensis* através da Reação em Cadeia da Polimerase. O sistema de amplificação, continha 1µL dos oligonucleotídeos sensepetgapdh (5' CAA CAG AAT TCA TGG TCG TCA AG 3') e antisensepetgapdh (5' GCT GCC TCG ACG TAT TTG CCA G 3') na concentração de 50µM, 50ng de cDNA de *P. brasiliensis*, 2µL de dNTP na concentração de 2,5 mM cada, tampão para a Taq DNA Polimerase, 2µL de MgCL₂ 15mM; 0,5µL de Taq DNA Polimerase 2,5U (GE Healthcare©) e água Milli-Q para um volume final de 50µL. As condições de amplificação foram: desnaturação a 94°C por 2 min, seguido por 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 45s, anelamento a 45°C por 1 min e 15s, extensão por 2 min a 72°C. Os produtos de amplificação foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,0%, corado com brometo de etídeo a uma concentração de 10mM. A visualização do gel foi feita via transluminador de luz ultravioleta.

Preparo de Células Termo Competentes para Transformação

Bactérias *E. coli*, da linhagem DH5α, foram cultivadas em meio Luria Bertani (LB) sólido e mantidas a 37°C por 12h. Uma colônia foi inoculada em 5mL de LB líquido e cultivada a 37°C por 16 h. Após este período, 500µL do pré-inóculo foram colocados em 250mL de meio LB líquido. O material foi incubado a 37°C, sob agitação, até atingir a D.O. de 0,5 no comprimento de onda de 600nm. A cultura foi então resfriada por 1h. As células foram coletadas por centrifugação a 5000g por 5 min a 4°C.

O sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em 30 mL de solução CaCl_2 100mM com 15% de glicerol a 4°C e incubadas em gelo por 30 min. As células foram centrifugadas, a 5.000g durante 7 min. Novamente as células foram ressuspensas na solução acima, aliqüotadas em volumes de 150µL e armazenadas em freezer a -80°C até o momento de uso (15).

Ligações dos Fragmentos, obtidos via PCR, ao Vetor de Clonagem PCR[®] 2.1 TOPO[®]

Os fragmentos obtidos pela amplificação do cDNA de *P. brasiliensis*, via PCR, foram ligados ao vetor de clonagem TOPO (Invitrogen[®]), segundo a descrição do fabricante. A reação foi composta de 0,5µL de inserto, 1µL do vetor TOPO, 1µL de tampão e quantidade de água Milli-Q para um volume final de 6µL. O sistema foi incubado por 30min a temperatura ambiente.

Transformação de células *E.coli* por choque térmico

A transformação foi realizada segundo o protocolo do Kit da Invitrogen[®], para o vetor TOPO. Uma alíquota de bactérias DH5α foram transformadas, por choque térmico, com 2µL da reação de ligação. Imediatamente após o choque térmico adicionou-se 250µL de meio LB líquido e as células foram incubadas a 37°C, por 1 h, sob uma agitação de 200rpm. Após esse período, as bactérias foram semeadas em placas de Petri contendo meio LB sólido, ampicilina (100µg/mL), 5mM de IPTG e 1,5µg/mL de X-Gal e as placas incubadas a 37°C por 16h.

Preparo e Análise de Insertos de DNA Plasmidial

Colônias de coloração branca foram inoculadas em 10mL de LB líquido contendo ampicilina (100µg/mL) e glicose (20mM). As células foram incubadas a 37°C a uma rotação de 200rpm, durante um período de 16h. Em seguida o DNA plasmidial foi extraído utilizando o kit comercial Flex Prep (GE Healthcare[®]).

Digestão do DNA Plasmidial

O DNA plasmidial foi digerido com as endonucleases de restrição *EcoRI* e *XhoRI*, em uma reação contendo 20µL de DNA plasmidial, 10U de cada enzima de restrição no tampão apropriado para a enzima e 14µL água Milli-Q para um volume final de 40µL. Após a incubação a 37°C em banho-maria por 16h, as reações foram analisadas, através de eletroforese em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio. Após a análise da digestão, o inserto foi eluído do gel de agarose, para a sua ligação no vetor de expressão, pET 32a (plasmid for expression by T7 RNA polimerase), utilizando o sistema comercial (QIAEX II Gel Extraction) seguindo o método de eluição proposto pelo protocolo do fabricante.

Preparo do Vetor de Expressão (pET 32a)

Para a obtenção do vetor de expressão, pET 32a, foi realizado um pré-inóculo contendo células de *E. coli*, DH5α, transformadas com o vetor de expressão, em 25mL de meio LB líquido, ampicilina (100µg/mL), e glicose (20mM), incubado a 37°C a uma rotação de 200rpm, durante um período de 16h. Os sistemas de digestão e eluição utilizados foram os mesmos propostos para a digestão e eluição do inserto da GAPDH no vetor TOPO.

Ligação e Transformação do Inseto GAPDH no Vetor de Expressão (pET 32a)

Para o sistema de ligação inserto-vetor foram utilizados, 1µL tampão 10X, 1 µL de ATP, 200U da enzima DNA ligase, 25,4ng de inserto, 20ng pET 32a, em um volume final de 10µL. A ligação foi incubada a 4°C, durante 72h e mantida a esta temperatura até o momento de uso. A transformação foi feita com 150µL de células de *E. coli* DH5α estocadas no freezer -80°C e 3µL da reação de ligação realizada previamente. O protocolo realizado é o mesmo descrito no item 4. Para a semeadura do sistema foram utilizadas 2 placas de Petri, cada uma contendo 20mL de meio LB líquido, ampicilina (100µg/mL), glicose (20mM), sendo que uma placa continha 100 e a outra 50µL da ligação. As placas foram mantidas em uma estufa de cultura durante 16h a 37°C.

Indução da Expressão da Proteína Recombinante

Foi realizado um pré-inóculo contendo células de expressão C43 (*E. coli*) transformadas com o vetor pET 32a, em 25mL de meio LB líquido, ampicilina (100 µg/mL), e glicose (20mM), incubado a 37°C a uma rotação de 200rpm, durante um período de 16h. Após o período de incubação transferiu 1% do pré-inóculo realizado para 400 mL de meio LB líquido com ampicilina (100µg/ µL). O sistema foi incubado a 37°C sob agitação, até que fosse atingida uma D.O. de 0,6 no comprimento de onda de 600nm. Em seguida, adicionou-se ao sistema IPTG (Isopropil-β-D-galactopiranosídeo) para a concentração final de 1mM, prosseguindo-se com incubação adicional por 4h. A cultura foi centrifugada a 3.500g por 10 minutos e o sobrenadante foi descartado. As células foram ressuspensas em 50µL de PBS 1X gelado, para cada mL de cultura. Foram avaliadas amostras colhidas em diferentes tempos (2h, 3h e 4h), na ausência e presença de IPTG. Uma alíquota desse material foi analisada em SDS-PAGE e o restante foi estocado a -20°C.

Solubilização Proteica

Para a solubilização da GAPDH foi utilizado o protocolo Ni-NTA Purification (Invitrogen®), modificado, visando à obtenção de proteínas solubilizadas em condições desnaturantes. Foram acrescentados 8mL do tampão de guanidina, pH 7,8 ao precipitado de células obtido de um volume de 50mL de indução. O material foi sonificado em banho de gelo durante 30min e, a cada 10min, foi congelado com nitrogênio-líquido e descongelado em banho-maria a 37°C. Como etapa final, o sistema foi centrifugado uma vez a 10.000g durante 10min para se obter um sobrenadante com proteína solúvel para posterior purificação. Parte deste sobrenadante foi utilizada para análises em SDS-PAGE.

Purificação da GAPDH

Para a purificação da GAPDH foi utilizado o protocolo Ni-NTA Purification (Invitrogen®), com o objetivo de se obter a GAPDH purificada sob condições híbridas, ou seja, com o uso de tampões em condição de purificação tanto desnaturante, quanto nativa, no intuito de preservar a atividade catalítica da GAPDH.

Inicialmente foi feita uma coluna com resina de níquel, seguindo os passos do fabricante. Posteriormente foram adicionados 8mL da solubilização realizada com tampão de guanidina à coluna preparada e o sistema foi deixado ligado por 30min sob agitação. A coluna foi lavada com 4mL do tampão de ligação desnaturante por duas vezes, e o sistema foi centrifugado a 800g. Após essa etapa, a coluna foi lavada por mais duas vezes com 4mL do tampão de lavagem desnaturante e centrifugada sob a mesma rotação.

Após o procedimento de lavagem em condição de purificação desnaturante, foram adicionados ao sistema, 8mL de tampão de lavagem de purificação em condição nativa para lavar a resina. Este passo foi repetido por 4 vezes. Ao fim das lavagens, a coluna foi colocada em posição vertical, sua extremidade final foi cortada, encaixada em um eppendorf e para a eluição do sistema foram adicionados 8mL de tampão de eluição em condição de purificação nativa. Os sobrenadantes de todas as etapas de purificação foram coletados e armazenados a 4°C, para posterior análise em SDS-PAGE.

RESULTADOS

Amplificação do cDNA do fungo *P. brasiliensis* através de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Baseado na sequência de nucleotídeos da GAPDH de *P. brasiliensis*, proposta por Barbosa *et al.* (9), foram construídos oligonucleotídeos visando a amplificação do cDNA codificante para a GAPDH do fungo, que apresenta 1.717 pares de bases e a sequência genômica é constituída por cinco *éxons*, intercalados por quatro *íntrons*. A sequência deduzida da proteína é constituída por 338 aminoácidos.

Com os oligonucleotídeos foi possível à obtenção de um fragmento de 1,0Kb, como mostra a Figura 1. O produto da PCR foi eluído do gel de agarose 1% e clonado no vetor TOPO (Invitrogen®).

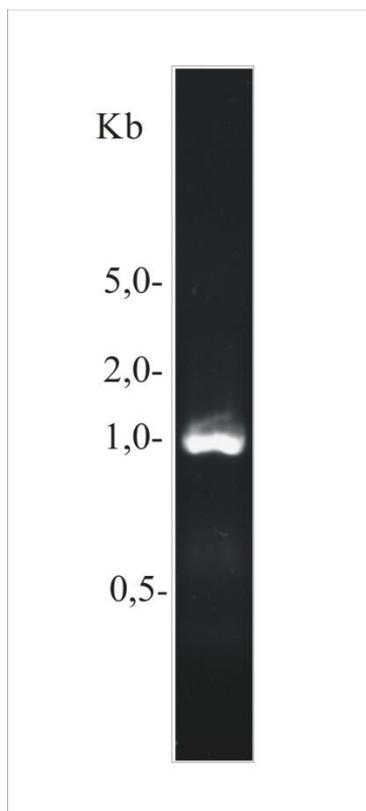


Figura 1: Análise por eletroforese em gel de agarose a 1% com brometo de etídeo, do produto de PCR obtido por oligonucleotídeos (antisensepetgapdh e sensepetgapdh) na amplificação de cDNA de *Paracoccidioides brasiliensis*, isolado *Pb01*. Os números à esquerda referem-se ao marcador de tamanho molecular 500 pb - DNA Ladder - (Invitrogen®). O fragmento de 1,0Kb refere-se ao tamanho do inserto da GAPDH.

Preparo e Análise de Insetos de DNA Plasmidial

Colônias de coloração branca foram coletadas das placas de Petri e inoculadas em LB líquido durante 16 horas. Em seguida foi realizada a extração e a purificação de seu DNA plasmidial com o Flex Prep Kit (GE Healthcare©). O material clonado por intermédio do vetor TOPO (Invitrogen®) foi digerido pelas endonucleases de restrição *EcoRI* (Invitrogen®) e *XhoRI* (Invitrogen®). As amostras foram analisadas em gel de agarose 1% (Figura 2).

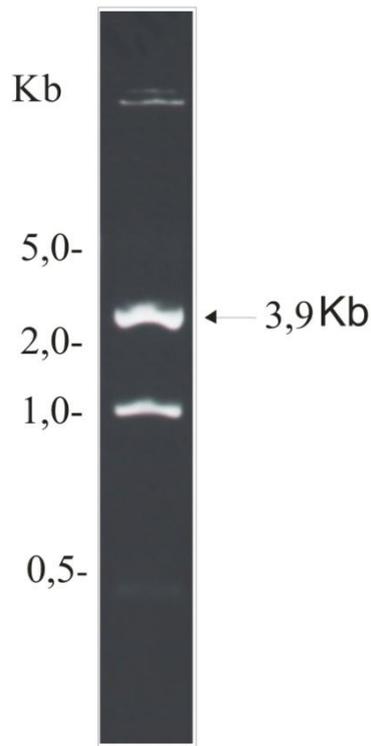


Figura 2: Análise, através de eletroforese em gel de agarose 1% com brometo de etídeo, do produto de digestão do vetor TOPO (Invitrogen®) e do inserto de GAPDH, com as endonucleases de restrição *EcoRI* e *XhoII* (Invitrogen®). O valor à direita de 3,9Kb corresponde ao tamanho molecular do vetor. Os números à esquerda correspondem ao marcador peso molecular 500pb (DNA Ladder) (Invitrogen®) e o valor de 1Kb corresponde ao tamanho do inserto de GAPDH.

Indução da Expressão da Proteína GAPDH Recombinante.

Foram avaliadas amostras coletadas de hora em hora (2h, 3h e 4h) na ausência e presença do fator controlador da expressão gênica, IPTG (0,1mM). Uma alíquota de cada material coletado nestes respectivos pontos foi analisada por SDS-PAGE (Figura 3) e o restante foram estocados a -20°C.

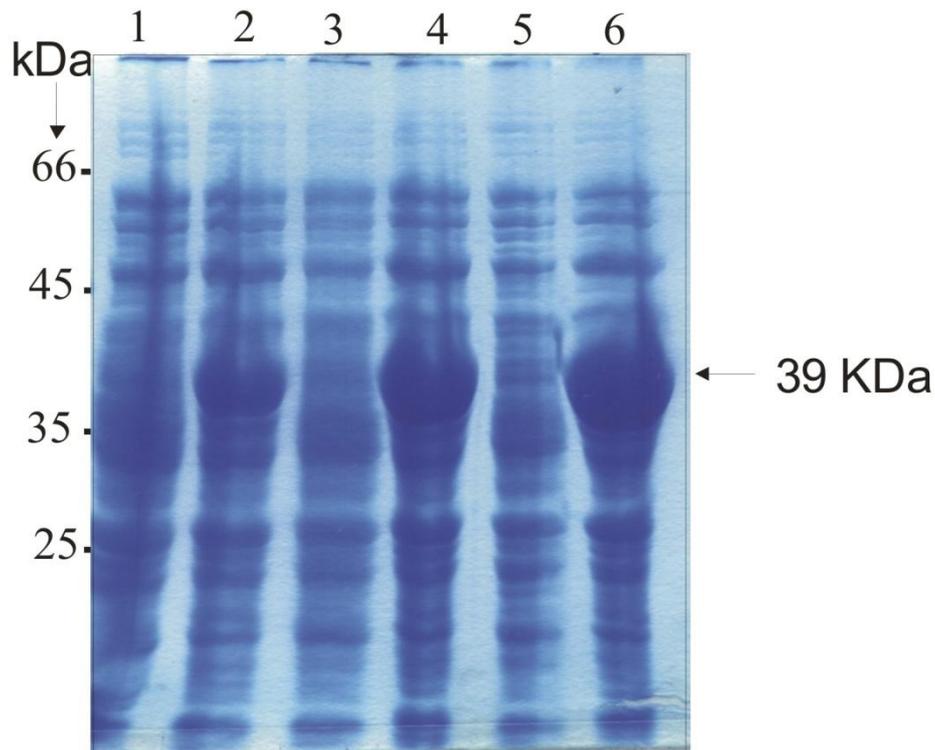


Figura 3: Análise em SDS-PAGE, da indução de GAPDH utilizando-se a linhagem C43 de *E. coli*. As linhas 1 e 2 correspondem às amostras coletadas com 2h de indução, as linhas 3 e 4 correspondem as amostras coletadas com 3h de indução e as linhas 5 e 6 correspondem as amostras coletadas com 4h de indução. As linhas 1, 3 e 5 correspondem às células que não foram induzidas com IPTG (0,1mM) e as linhas 2, 4 e 6 correspondem às células que foram induzidas com IPTG (0,1mM). Os números à esquerda correspondem aos valores do marcador e o número a direita corresponde à massa molecular da GAPDH fusionada.

Purificação Proteica

A purificação da GAPDH foi realizada de acordo com o protocolo NI-NTA Purification (Invitrogen®), de condições híbridas para purificação, ou seja, a solubilização foi realizada utilizando tampão em condição desnaturante e a purificação foi realizada utilizando tampões tanto para purificação em condição desnaturante, quanto tampões para purificação em condição nativa. Após avaliações em SDS-PAGE 5%-15%, corado com Azul de Coomassie, foi identificada uma espécie proteica de 39 kDa correspondente à proteína (GAPDH) purificada (Figura 4).

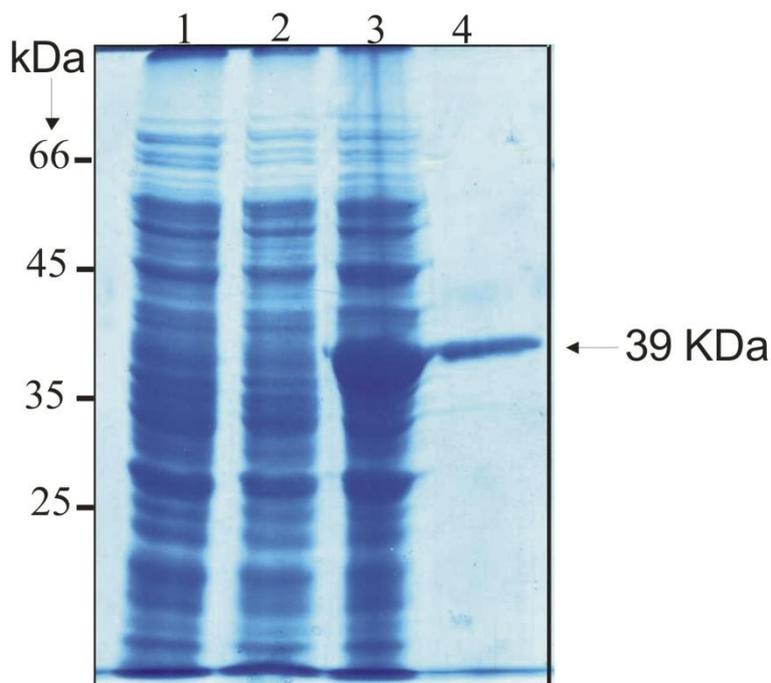


Figura 4: Análise através de eletroforese unidimensional da purificação da GAPDH. A linha 1 corresponde à célula C43 sem o plasmídeo pET 32a-GAPDH, a linha 2 corresponde à célula C43 contendo o plasmídeo pET 32a-GAPDH crescida na ausência de IPTG, a linha 3 corresponde à célula contendo o plasmídeo pET 32a-GAPDH na presença de IPTG (1mM) e a linha 4 corresponde a proteína GAPDH purificada. Os números à esquerda representam o marcador molecular e o número a direita representa a massa molecular.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

As enzimas da via glicolítica, incluindo a GAPDH estão presentes tanto em micro-organismos quanto em macro-organismos. Essas enzimas além de estarem envolvidas na rota metabólica da glicólise, estão também relacionadas com várias patologias, por isso, vêm sendo frequentemente estudadas. A exemplo, a enzima enolase tem sido encontrada associada à proteína glucana de parede celular, em *Saccharomyces cerevisiae* sendo secretada junto com a GAPDH, promovendo a regeneração da parede celular (16). Em *Candida albicans*, as enzimas fosfoglicerato quinase, álcool desidrogenase e GAPDH, tem sido encontradas na parede celular, onde estão envolvidas aparentemente no processo de infecção (17).

Em *Streptococcus pyogenes* e *oralis*, foi demonstrado que durante o processo infeccioso, a enzima GAPDH age como uma molécula de adesão, possibilitando a invasão aos tecidos hospedeiros (18). GAPDH também foi descrita, na superfície celular de bactérias Gram negativas, como, *E. coli* enterohemorrágica e enteropatogênica, onde

provavelmente está envolvida com a adesão e virulência. Além de estar presente na superfície celular, GAPDH foi secretada por essas cepas patogênicas, o que não foi observado em cepas não patogênicas reforçando o seu papel no processo infeccioso (19). A enzima GAPDH, ainda vem sendo encontrada na superfície do protozoário como *Schistosoma mansoni* (10).

A GAPDH em *P.brasiliensis* é uma molécula reativa com soro de pacientes portadores de paracoccidiodomicose (1,8). Em função desses resultados, sequências codificantes para a GAPDH, foram clonadas e caracterizadas.

Barbosa *et al.*(2), demonstraram que a GAPDH está associada à parede de *P.brasiliensis*, onde é capaz de se ligar a componentes da matriz extracelular, como laminina, fibronectina e colágeno tipo I. Além disso, foi demonstrado que a GAPDH é capaz de mediar a aderência e internalização de *P.brasiliensis* em cultura de células *in vitro*, o que sugere o seu potencial papel no estabelecimento da doença. Segundo Bailão *et al.* (20), o transcrito codificante para GAPDH em células leveduriformes, recuperadas de camundongos infectados, foi mais abundante, quando comparado com células leveduriformes obtidas de culturas, o que suporta o potencial dessa molécula na patogênese do fungo.

Com o intuito de proceder os estudos no entendimento do papel da GAPDH em *P. brasiliensis*, realizou-se a purificação da proteína recombinante. Embora GAPDH já tivesse sido purificada em trabalhos recentes, nesse trabalho padronizou-se outro sistema de purificação mais estável do que o proposto por Barbosa *et al.* (2). Nesse novo sistema foi utilizado o vetor de expressão pET 32a, e a cepa C43, pelo fato de apresentar uma maior expressão em relação as demais. A purificação foi realizada de maneira híbrida, ou seja, utilizando tanto condições desnaturantes, quanto nativas. Esse sistema foi escolhido na tentativa de reverter-se a conformação da proteína desnaturada, com a finalidade de obter-se a mesma na forma nativa, para posteriores ensaios de atividade catalítica.

A tecnologia do DNA recombinante é atualmente muito utilizada para os estudos de sequências gênicas e expressões protéicas. Utilizando ferramentas, como amplificação, clonagem gênica, transformação e expressão de proteínas heteróloga, pôde-se obter como resultado uma maior expressão e a obtenção de uma maior quantidade de proteína GAPDH purificada. Sendo assim, o sistema pET32a demonstrou

maior eficácia no processo de produção heteróloga de proteínas recombinantes. Tendo alcançado o objetivo que era expressar e purificar através de cromatografia por afinidade a GAPDH, tem-se a perspectiva de realizar estudos de atividade enzimática, cristalografia, ensaios de imunoproteção e análises de prováveis vias secretoras da proteína GAPDH.

REFERÊNCIAS

- (1) FONSECA, C. A., R. S. A. JESUÍNO, M. S. S. FELIPE, D. A. CUNHA, W. A. BRITO & C. M. A. SOARES. Two-dimensional electrophoresis and characterization of antigens from *Paracoccidioides brasiliensis*. **Microbes Infection**, v. 3, n. 7, p. 535-42. 2001.
- (2) BARBOSA, M. S., S. N. BÁO, P. F. ANDREOTTI, F. P. FARIA, M. S. S. FELIPE, L. S. FEITOSA, M. J. S. MENDES-GIANNINI & C. M. A. SOARES. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of *Paracoccidioides brasiliensis* is a cell surface protein involved in fungal adhesion to extracellular matrix proteins and interaction with cells. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 1, p. 382-389. 2006.
- (3) PEREIRA, L. A., M. PEREIRA, M. S. S. FELIPE, R. M. ZANCOPE-OLIVEIRA & C. M. A. SOARES. Proteomic identification, nucleotide sequence, heterologous expression and immunological reactivity of the triosephosphate isomerase of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Microbes Infection**, v. 6, n. 1, p. 892-900. 2004.
- (4) BORGES, C. L., M. PEREIRA, M. S. S. FELIPE, F. P. FARIA, F. J. GOMEZ, J. S. D. JR. & C. M. A. SOARES. The antigenic and catalitically active formamidase of *Paracoccidioides brasiliensis*: protein characterization, cDNA and gene cloning, heterologous expression and functional analysis of the recombinant protein. **Microbes Infection**, v. 7, n. 1, p. 66-77. 2004.
- (5) ROBIEN, M. A., J. BOSCH, F. S. BUCKNER, W. C. VAN VOORHIS, E. A. WORTHEY, P. MYLER, E. E. BONI, O. KATYUZHIY, L. ANDERSON, A. LAURICELLA, S. GULDE, J. R. LUFT, G. DE TITTA, J. M. CARUTHERS, K. O. HODGSON, M. SOLTES, F. ZUCKER, C. L. VERLINDE, E. A. MERITT, L. W. SCHOENFELD & W. G. HOL. Crystal structure of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Plasmodium falciparum* at 2.25 Å resolution reveals intriguing extra electron density in the active site. **Proteins**, v. 62, n. 3, p. 570-577. 2006.
- (6) BERRY, M. D. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase as a target for small-molecule disease-modifying therapies in human neurodegenerative disorders. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, v. 29, n. 5, p. 337-345. 2004.
- (7) BARBINI, L., J. RODRÍGUEZ, F. DOMINGUEZ & F. VEJA. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase exerts different biologic activities in apoptotic and

proliferating hepatocytes according to its subcellular localization. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 1, n. 2, p. 9-28. 2007.

(8) SANTOS, R. S. **Caracterização imunológica da proteína recombinante gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase do fungo *Paracoccidioides brasiliensis***. 2005, 51f. Monografia (Bacharelado em Biologia) Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia-Goiás, 2005.

(9) BARBOSA, M. S., D. A. C. PASSOS, M. S. S. FELIPE, R. S. JESUINO, M. PEREIRA & C. M. DE A. SOARES. The glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase homologue is differentially regulated in phases of *Paracoccidioides brasiliensis*: molecular and phylogenetic analysis. **Fungal Genetics and Biology**, v. 41, n. 7, p. 667-75. 2004.

(10) FERREIRA-DA-SILVA, F., P. J. B. PEREIRA, L. GALES, M. ROESSLE, D. I. SVERGUN, P. MORADAS-FERREIRA & A. M. DAMAS. The Crystal and Solution Structures of Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase Reveal Different Quaternary Structures. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 44, p. 33433-33440. 2006.

(11) FOURRAT L, IDDAR A, SOUKRI A. Purification and characterization of cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from the *Dromedary camel*. **Acta Biochemistry and Biophysics**, v. 39, n. 2, p. 148-54. 2007.

(12) STRYER, L., J. L. TYMOCZKO & J. M. BERG. **Bioquímica Básica**. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, RJ. 1059 p. 2004.

(13) LEHNINGER, A. NELSON & COX. **Princípios de Bioquímica**. Ed. Savier, 2 Ed. São Paulo, p.297-304, 2004.

(14) FAVA-NETTO, C. Estudos quantitativos sobre a fixação de complemento na blastomicose sul-americana, com antígeno polissacarídico. **Arquivos de cirurgia clínica e experimental**, n. 18, v. 1, p.197-254. 1955.

(15) SAMBROOK, J., E. F. FRITSCH & T. MANIATIS. **Molecular cloning: a laboratory manual**. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor. New York, NY. 1000 p. 1989.

(16) WANTANABLE, Y., Y. IKEUCHI & Y. TAMAI. Identification and characterization of a thermolabile antigen (TLAb, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) in *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 13, n. 2, p. 269-276. 1991.

(17) GIL, M. L., S. DAGAN, R. EREN & D. GOZALBO. Evaluation of the usefulness of anti- glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase antibodies as a treatment for invasive candidiasis in a murine model. **Springer Netherlands**, v. 89, n. 1, p. 345-350. 2006.

(18) TERAQ, Y., H. Y. YAMAGUCHI, S. HAMADA & S. KAWABATE. Multifunctional glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of *Streptococcus pyogenes*

is essential for evasion from neutrophils. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 20, p. 14215-14223. 2006.

(19) ÉGEO, L., L. AGUILERA, R. GIMENEZ, M. A. SOROLLA, J. AGUILAR, J. BADÍA & L. BALDOSA. Role of secreted glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in the infection mechanism of enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: Interaction of the extracellular enzyme with human plasminogen and fibrinogen. **Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 6, p. 1190-203. 2007.

(20) BAILÃO, A. M., A. SCHRANK, C. L. BORGES, V. DUTRA, E. E. W. I. MOLINARI-MADLUM, M. S. S. FELIPE, M. J. S. MENDES-GIANNINI, W. S. MARTINS, M. PEREIRA & C. M. DE A. SOARES. Differential Gene Expression by *Paracoccidioides brasiliensis* in host interaction conditions: Representational difference analysis identifies candidate genes associated with fungal pathogenesis. **Microbes Infection**, v.8, n. 1, p. 2686-697. 2006.

REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA EM FUNGOS: MECANISMOS BIOQUÍMICOS E MOLECULARES.

Rodrigo da Silva Santos ¹

Aline Helena da Silva Cruz ¹

Lorena Cardoso Cintra ²

INTRODUÇÃO

Os fungos se constituem em um reino próprio e são eucariotos primitivos de vida livre e saprobiótica, desempenhando um papel fundamental ao ser um dos constituintes da base de cadeias e teias alimentares, fazendo a decomposição da matéria orgânica. A importância econômica dos fungos é inegável, uma vez que são utilizados na produção de um grande número de produtos biotecnológicos. Por outro lado, muitos fungos são fitopatógenos, causando enormes perdas para a agricultura ou são patógenos humanos e animais, causando desde micoses cutâneas até sistêmicas (Murray et al., 2004; Schaechter et al., 2002).

Visto que os microrganismos evoluíram em ambientes hostis, onde muitos nutrientes vitais eram escassos e a competição intensa, a sua sobrevivência está diretamente ligada à adaptação a alterações ambientais como temperatura, salinidade, pH, entre outros. A quantidade de nutrientes no meio em que vivem (fontes de carbono, nitrogênio e fosfato) também interfere no seu desenvolvimento e durante a interação com o hospedeiro, no caso dos patógenos. Esta interação é um processo dinâmico, envolvendo a capacidade do organismo em atravessar o epitélio, disseminar para diversos tecidos e resistir aos mecanismos de defesa do hospedeiro (Kumamoto, 2008). Vários aspectos envolvidos nos estudos da patogenicidade fúngica estão ainda na sua fase inicial (Albrecht et al., 2008), porém estudos pioneiros de modelagem teórica da interação patógeno hospedeiro baseando-se em infecções causadas por *Candida albicans* tem elucidado diversos mecanismos biológicos importantes (Hummert et al., 2010).

¹ União das Faculdades Alfredo Nasser, Faculdade de Medicina, Instituto de Ciências da Saúde (FAMED-ICS- UNIFAN).

² Universidade de Brasília, Programa de Pós-graduação em Biologia Molecular (UnB). Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Setor de Patologia (EVZ-UFG).

É descrito que o pH homeostático governa o crescimento, a diferenciação e a viabilidade de todos os seres vivos, e que as células alteram sua resposta metabólica em função dos fatores abióticos presentes. Os microrganismos possuem a capacidade de adaptar-se ao pH ambiente modulando a expressão gênica para ajustes fisiológicos adequados. A expressão gênica ocorre de forma coordenada na célula em resposta a sinais internos ou externos, e dados experimentais comprovam que certos mecanismos de patogenicidade dependem direta ou indiretamente dos genes responsáveis pelo monitoramento do pH extracelular (Nozawa et al., 2003; Ferreira-Nozawa et al., 2006).

Tanto para explorar economicamente os fungos, quanto para controlar as infecções causadas por eles é fundamental entender os processos de sensoriamento do ambiente, a cascata de eventos fisiológicos que ocorre em função desse sensoriamento e os mecanismos moleculares envolvidos nas respostas adaptativas. A compreensão das respostas metabólicas que governam a homeostase e o sensoriamento do pH ambiente, e a captação de nutrientes, é importante para os dermatófitos, fungos patogênicos queratinofílicos, uma vez que estes mecanismos estão possivelmente envolvidos na instalação, virulência, desenvolvimento e sobrevivência desses microrganismos no hospedeiro (Martinez-Rossi et al., 2011).

Dermatofitoses e a interação dermatófito-hospedeiro

A habilidade que os microrganismos possuem para causarem infecções está diretamente ligada com a relação complexa existente no processo de interação entre o patógeno e o hospedeiro. A instabilidade entre a resposta do hospedeiro e os mecanismos de virulência pode desencadear os processos que caracterizam a infecção, tais como: adesão, instalação, invasão e proliferação do microrganismo. A virulência e a patogenicidade destes organismos são determinadas por uma íntima relação com as estratégias que estes utilizam para infectar e sobreviver aos mecanismos de defesa e a resposta imune do hospedeiro. Portanto, o sucesso da infecção requer uma rápida adaptação do patógeno por meio de mudanças na expressão de determinados repertórios gênicos requeridos frente aos diferentes nichos do hospedeiro. Portanto, os estudos envolvendo análises de perfil transcricional vêm sendo amplamente utilizados na determinação dos mecanismos de adaptação, sobrevivência e patogenicidade desencadeados pelo patógeno durante o processo infeccioso (Kumamoto, 2008).

Estima-se que as infecções fúngicas superficiais afetem 20 a 25% da população mundial, sendo que sua incidência continua a aumentar. A maioria é causada por dermatófitos, que são fungos que necessitam de queratina para crescer, o que restringe o seu crescimento à pele, unhas e cabelo, poupando as mucosas (Sobera e Elewski, 2008). Os dermatófitos constituem um grupo de fungos que são inter-relacionados pela similaridade morfológica, fisiológica e de patogenicidade, e que em vida parasitária, têm a capacidade de invadir tecidos queratinizados de humanos e de outros animais, causando infecções denominadas dermatofitoses. As dermatofitoses são enfermidades infectocontagiosas, cujos agentes etiológicos pertencem aos gêneros *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*, que constituem um dos grupos de infecções fúngicas mais frequentes na prática dermatológica. Além disso, podem ser divididos em conformidade com seu habitat primário, sendo que espécies geofílicas habitam o solo, zoofílicas os animais e as antropofílicas os seres humanos (Weitzman e Summerbell, 1995; Seebacher et al., 2008)

As dermatofitoses estão entre as doenças infecciosas cosmopolitas mais diagnosticadas no mundo e os dermatófitos estão entre os agentes etiológicos mais comuns de infecção no homem, não existindo povos ou regiões geográficas sem terem sido acometidas por eles. Essas infecções afetam aproximadamente 40% da população mundial, representando 30% de todas as infecções fúngicas cutâneas. Além disso, registros epidemiológicos apontam o predomínio das espécies *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* como um dos principais agentes causadores de dermatofitoses em humanos, nas mais diversas manifestações clínicas (Ameen, 2010).

Atualmente, as infecções causadas por dermatófitos e outros fungos vêm aumentando consideravelmente entre crianças, idosos e principalmente na população imunocomprometida (Mukherjee et al., 2003). As dermatofitoses, também chamadas de *tinea*, são infecções muito comuns no mundo inteiro e têm como agente etiológico mais comum o fungo filamentosos e antropofílico *T. rubrum*, sendo isolado principalmente dos pés (*tinea pedis*), das unhas (*tinea unguinum*), das virilhas (*tinea cruris*) e do corpo (*tinea corporis*) (Weitzman e Summerbell, 1995; Elliset al., 2000). Estudos envolvendo este patógeno são cada vez mais importantes devido à sua incidência, ao aparecimento de linhagens resistentes aos medicamentos antifúngicos disponíveis no mercado e ao comportamento invasivo deste agente em pacientes com o sistema imune comprometido. Estes fatos levam à necessidade de se ampliar o conhecimento sobre a biologia deste microrganismo na tentativa de se desenvolver estratégias terapêuticas

mais eficazes. Desta maneira, o genoma de *T. rubrum* e outras seis espécies de dermatófitos foram sequenciados, anotados e disponibilizados pelo *Broad Institute of MIT and Harvard* para a comunidade científica (<http://www.broad.mit.edu/annotation/genome/dermatophytecomparative.2/MultiHome.html>), revelando que o tamanho do genoma de *T. rubrum* corresponde a 22,5 MB, corroborando com estudos anteriores que pela técnica de eletroforese em campo pulsado (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*), descreveram que o genoma da espécie apresentava 22MB (Cervellati et al., 2004; Martinez et al., 2012).

Fungos antropofílicos causam uma infecção crônica, de progressão lenta, sugerindo que o fungo tenha se adaptado ao hospedeiro humano. A transmissão das dermatofitoses ou *tineas* ocorre por contato direto com animais e humanos infectados, ou indireto por fômites contaminados, e as formas clínicas variam de acordo com o agente etiológico (espécie) e o sítio anatômico acometido. Os sintomas podem ser brandos ou severos dependendo do estado imunológico do hospedeiro, e geralmente não ocorre invasão de tecidos subcutâneos ou órgãos internos (Weitzman e Summerbell, 1995; White et al., 2008, Peres et al., 2010a). As lesões características nas infecções de pele são circulares, eritematosas e pruriginosas, sendo consequentes da ação direta do fungo ou reações de hipersensibilidade ao microrganismo e/ou a seus produtos metabólicos. Nas infecções de unha (onicomicoses) pode ocorrer descolamento das bordas, espessamento, aparecimento de manchas brancas e até distrofia total das unhas (Figura 01) (Degreef, 2008; Peres et al., 2010a).



Figura 01: Principais manifestações clínicas de dermatofitoses (*Tinea unguium* e *Tinea corporis*) causadas pelo patógeno *Trichophyton rubrum* (Fonte: Degreef, 2008 e <http://www.dermatlas.net>).

Durante o processo infeccioso, os dermatófitos se deparam com os mecanismos primários de defesa do hospedeiro, como a pele e sua microbiota normal, exposição à luz ultravioleta, falta de umidade, pH ácido e alta temperatura. Uma das mais importantes barreiras contra infecções é a queratinização dos tecidos superficiais, que consiste no processo de renovação do estrato córneo da pele, realizado pelos queratinócitos, levando a descamação epitelial. Para evitar a eliminação juntamente com a descamação do epitélio, o fungo deve se aderir à superfície do tecido. Para tanto, *T. rubrum* expressa proteínas que funcionam como adesinas e fatores de transcrição que regulam essas possíveis adesinas, responsáveis por mantê-lo na superfície da célula do hospedeiro (Kaufman et al., 2007; Vermout et al., 2008).

O microrganismo, já aderido à célula, necessita de nutrientes para seu desenvolvimento e manutenção. Para isso, o fungo utiliza macromoléculas presentes no tecido do hospedeiro para sua sobrevivência. Entretanto, devido à seletividade da membrana plasmática, é necessário que ocorra a degradação destes compostos em moléculas menores, para que possam ser transportadas até o interior das células e então metabolizadas. A degradação destes compostos é realizada por enzimas hidrolíticas secretadas que apresentam especificidade para diferentes substratos. Esta maquinaria enzimática é um dos fatores de virulência mais bem caracterizados nos dermatófitos, permitindo a hidrólise de componentes estruturais da pele e possibilitando a invasão tecidual (Kaufman et al., 2007; Vermout et al., 2008). Uma vez estabelecidos, os dermatófitos desenvolvem uma resposta adaptativa regulada pelo pH ambiente, uma via intracelular bem conhecida em fungos modelo, e pela disponibilidade de nutrientes. Esta resposta é baseada na expressão de uma diversidade de proteínas com a finalidade de captação de nutrientes, regulação de prováveis fatores de virulência, desenvolvimento e sobrevivência do organismo (Ferreira-Nozawa et al., 2003; Peres et al., 2010a, Martinez-Rossi et al. 2011).

O fator de transcrição PacC e a resposta ao pH ambiente

A adaptação a mudanças ambientais, como variações de pH extracelular e limitação de fosfato inorgânico tem sido amplamente estudada em fungos modelos, como *Aspergillus nidulans* e *Neurospora crassa*, cujo principal objetivo são as abordagens biotecnológicas. Devido ao aumento da incidência de dermatofitoses em pacientes imunocomprometidos nos últimos anos, o estudo da adaptabilidade fúngica a

variações ambientais tem sido de fundamental importância para a compreensão dos mecanismos de patogenicidade e resistência aos inibidores em organismos patogênicos (Nahas et al., 1982; Caddick et al., 1986; Peleg et al., 1996; Wu et al., 2004).

Em 1965, o pesquisador Dorn, utilizando-se da genética clássica, iniciou os primeiros estudos relacionados ao entendimento sobre regulação da expressão gênica em resposta ao pH ambiente no organismo *A. nidulans*. Esses estudos demonstraram que em concentrações limitantes de fosfato e em pH 6,5, mutações nos genes *pal* (*A*, *B*, *C*, *F*) apresentavam níveis altos de fosfatase ácida e baixos níveis de fosfatase alcalina, enquanto que os mutantes *pacC* apresentam altos níveis de fosfatase alcalina e redução de fosfatase ácida. Mas foi somente em 1982, que Nahas e colaboradores descreveram pela primeira vez a resposta adaptativa ao pH, quando foi demonstrado que, no fungo *N. crassa*, a secreção, mas não a síntese das fosfatases é pH dependente (Dorn, 1965; Nahas et al., 1982). O envolvimento dos genes *pal/pacC* no sensoriamento do pH ambiente foi descrito por Caddick e colaboradores (1986) no fungo *A. nidulans*, demonstrando que a resposta ao pH é mediada por uma via de sinalização constituída por pelo menos sete genes: os genes *pal* (*palA*, *B*, *C*, *F*, *H* e *I*) e o gene *pacC*.

No fungo *A. nidulans*, o gene *pacC* codifica um fator de transcrição de 678 aminoácidos (72KDa), contendo três dedos de zinco (*zinc-finger*) *Cis*₂*His*₂, o qual reconhece a região consenso 5'-GCCAR(A/G)G-3' na região promotora de genes responsivos ao pH. Foi proposto um modelo de regulação pelo pH ambiente em *A. nidulans*, no qual o fator de transcrição PacC seria responsável pela ativação da transcrição de genes alcalino-específicos e repressão da transcrição de genes ácido-específicos, modulado por um sinal gerado pelos produtos dos genes *pal* (*A*, *B*, *C*, *F*, *H* e *I*) em resposta ao pH alcalino, em meios complexos (Tilburn et al., 1995; Freitas et al., 2011).

Estudos experimentais revelaram que o fator de transcrição PacC seria mantido inativo em pH ácido por interações intramoleculares na extremidade C-terminal. Em pH alcalino, os produtos dos genes *pal* introduzem uma modificação estrutural, ocasionando a quebra das interações intramoleculares e expondo uma região da proteína PacC à proteólise, o que deixaria esse fator de transcrição ativo e funcional, sendo capaz de induzir a transcrição de genes alcalinos e reprimir a transcrição de genes ácidos (Orejas et al., 1995). No entanto, existem evidências de que o fator de transcrição PacC é funcional tanto em meio ácido como alcalino, e que os mecanismos moleculares envolvidos na regulação da expressão gênica pelo pH em *A. nidulans* dependem das

condições nutricionais encontradas pelo fungo (Freitas et al., 2007; Silva et al., 2008; Freitas et al., 2011; Rossi et al., 2013).

O fungo filamentosso *Sclerotinia sclerotiorum* é um fitopatógeno capaz de causar perdas significativas para culturas agrícolas economicamente importantes. O sucesso do processo infeccioso desencadeado por esse fungo se deve inicialmente à síntese e secreção de ácido oxálico, que é dependente do pH do meio, via PacC. O pH neutro ou ligeiramente alcalino do tecido do hospedeiro estimula a síntese de oxalato, resultando em uma acidificação do meio extracelular que tem sido mostrada como um sinal chave na diferenciação entre o crescimento saprobiótico e o crescimento necrotrófico. O oxalato secretado além de ser diretamente tóxico à planta funciona como quelante de íons cálcio, desestabilizando o sistema bioquímico funcional do hospedeiro, sequestrando o cálcio da parede celular, suprimindo o estresse oxidativo gerado pela planta pela neutralização das espécies reativas de oxigênio e diminuindo a afinidade da ligação entre as poligalacturonases do fungo com os inibidores de poligalacturonases do hospedeiro (Rollins et al., 2001; Favaron et al., 2004; Durman et al., 2005).

Para que ocorra uma colonização bem sucedida do hospedeiro, os microrganismos devem inicialmente aderir a tecidos alvos e concomitantemente obter nutrientes essenciais para o seu crescimento. Estes organismos desenvolveram estratégias complexas para aquisição de micronutrientes, tais como o ferro, sendo que para muitos desses microrganismos a disponibilidade desse elemento é um sinal para a indução da expressão de fatores de virulência. No fungo patogênico *Cryptococcus neoformans* foi demonstrado que o excesso de ferro promove a exacerbação da meningite em um modelo animal de infecção cerebral e estudos recentes revelam que a absorção de ferro é regulada por uma rede de fatores de transcrição, incluindo o PacC, que atua na regulação de genes envolvidos na manutenção da homeostase de ferro, sensoriamento nutricional e biogênese da parede celular (Kronstad et al., 2013).

Nos patógenos *Candida albicans* e *C. neoformans* vários genes que respondem ao pH ambiente, incluindo o gene *pacC*, que codifica uma proteína homóloga da família PacC/Rim101p dos reguladores de transcrição em função do pH estão diretamente ligados a patogenicidade desses fungos. Em *C. albicans*, análises do fator de transcrição Rim101 revelaram que existem diferenças significativas na maneira como *rim101* é processado, os níveis relativos de ativação ou repressão da transcrição, assim como os tipos de genes regulados por ele, quando comparado aos seus homólogos Rim101 de *Saccharomyces cerevisiae* e PacC de *A. nidulans*. Porém, *C. albicans* tem aperfeiçoado

sua via de sinalização em resposta ao pH, para se adaptar a sítios específicos de infecção dentro do hospedeiro humano. Já em *C. neoformans*, a linhagem mutante *Cnrim101*, é mais susceptível ao pH elevado e à privação de ferro, duas condições existentes no hospedeiro. Além disso, verificou-se em modelos experimentais de criptococose que essa linhagem apresenta dificuldades para fixação da cápsula, o principal fator de virulência para este fungo patogênico (Selvig e Alspaugh, 2011).

No dermatófito *T. rubrum* foi identificada uma proteína homóloga a PacC, cuja inativação gênica demonstrou que o desenvolvimento em queratina e a consequente degradação desta molécula estão de alguma forma sob regulação deste gene, interferindo na secreção e/ou atividade de proteases que apresentam atividade ótima em pH alcalino (Ferreira-Nozawa et al., 2006; Peres et al., 2010a). O fator de transcrição PacC está provavelmente associado à virulência do dermatófito *T. rubrum*, visto que para o estabelecimento da infecção, *T. rubrum* precisa mobilizar uma maquinaria enzimática, em função do pH ambiente, baseada na expressão de proteases que estão ativas em uma ampla faixa de pH. Em 2004, foi proposto um modelo de regulação das enzimas proteolíticas pelo pH ambiente durante o processo infeccioso por dermatófitos. Nos estágios iniciais da infecção, ao entrar em contato com o pH ácido da pele, o patógeno sintetiza queratinases e proteases não específicas que atuam com atividade ótima em pH ácido. Estas atuam tanto em substratos queratinosos quanto em não queratinosos, gerando peptídeos que são hidrolisados em aminoácidos, que são utilizados pelo fungo como fonte de carbono, nitrogênio e enxofre. A metabolização de alguns aminoácidos, como a glicina, resulta na liberação de amônia elevando o pH do meio, adequando-o para ação das queratinases com atividade ótima em pH alcalino, o que possibilita a manutenção da infecção. Esta maquinaria metabólica permite que os dermatófitos utilizem proteínas para captação de nutrientes em um amplo espectro de pH, possibilitando a completa instalação, desenvolvimento e permanência do dermatófito no tecido hospedeiro (Martinez-Rossi et al., 2004; Martinez-Rossi et al., 2011).

Recentemente, estudos de genômica funcional, utilizando a linhagem mutante *pacC-1*, demonstraram que o fator de transcrição PacC atua direta ou indiretamente na regulação e modulação da expressão de uma gama de genes, que executam diversas funções celulares e que podem estar relacionados com a sobrevivência, patogenicidade e resposta adaptativa ao pH pelo dermatófito *T. rubrum*. Os genes identificados possuem funções biológicas relacionadas, desde as necessidades básicas celulares até mesmo a

glicosilação proteica, que é um processo de manutenção da integridade da parede celular e consequente virulência de algumas espécies fúngicas, uma vez que essas enzimas também atuam na adesão do organismo à célula do hospedeiro (Cazzaniga, 2011; Mendes et al., 2012).

O fator de transcrição Nuc-1

O fosfato inorgânico (Pi) é um nutriente essencial em todos os organismos, necessário tanto para a estrutura e crescimento celular, como para respostas metabólicas, síntese de ácidos nucleicos e fosfolipídeos de membrana, sendo componente de inúmeros metabólitos celulares (Paytan e McLaughlin, 2007). Assim, a assimilação de fosfato do ambiente, em procariotos e em eucariotos primitivos, é um dos processos mais importantes de aquisição de nutrientes (Furukama et al., 1987). Os fungos *N. crassa* e *S. cerevisiae* são utilizados como modelos biológicos para a realização de estudos experimentais que visam o entendimento dos mecanismos moleculares desencadeados pela oscilação da concentração de Pi no ambiente. Nesses fungos, a aquisição celular, o estoque, a liberação e a integração metabólica do Pi dependem da participação de muitas enzimas, como nucleases, fosfatases ácida e alcalina, permeases e outras, cuja expressão depende dos níveis intracelulares de Pi (Ogawa et al., 2000; Peleg et al., 1996; Persson et al., 2003).

Quando o fungo filamentoso *N. crassa* é cultivado em meio contendo quantidades limitantes de Pi, ou com ácidos nucleicos como única fonte de Pi, diversas enzimas são sintetizadas com a finalidade de disponibilizar mais fosfato para a célula. Em resposta a essa limitação, *N. crassa*, e provavelmente todos os organismos vivos, sintetiza fosfatases, nucleases e fosfato permeases para atender a demanda intracelular desse nutriente (Metzenberg e Chia, 1979; Nahas et al., 1982). Quando o Pi é insuficiente, as fosfatases são sintetizadas e secretadas no meio, sendo que alguns estudos demonstram que o pH extracelular é determinante para a secreção das fosfatases Pirepressíveis, como a fosfatase alcalina, codificada pelo gene *pho-2* (Grotelueschen et al., 1994), a qual é preferencialmente secretada quando o pH do meio é 8,0 (Nahas et al., 1982; Nozawa et al., 2002). Entretanto, é importante ressaltar que em *S. cerevisiae*, a indução de vários genes em pH alcalino ocorre por mecanismos independentes da via de sinalização de pH mediada por PacC (Lamb et al., 2001). Em *N. crassa*, embora o gene *pho-2* seja induzido tanto em pH ácido como alcalino, a forma estável e ativa da

enzima é extensivamente secretada somente em pH alcalino, um processo dependente de glicosilação (Han et al., 1987; Palma et al., 1989; Thedei Jr et al., 1997).

Os mecanismos moleculares envolvidos no sensoriamento de fosfato e na sinalização celular para a biossíntese de enzimas e permeases envolvidas na homeostase de Pi, foram muito bem estabelecidos em *N. crassa* através de abordagens genéticas e bioquímicas, revelando que esse mecanismo de resposta ao Pi é mediado por pelo menos quatro genes regulatórios: *nuc-1*, *nuc-2*, *preg* e *pgov* (Metzenberg e Chia, 1979). Esses genes envolvidos na aquisição de Pi, mostram-se bastante conservados entre os fungos modelo *N. crassa* e *S. cerevisiae* (Davis, 2000).

Leal e colaboradores em 2007 propuseram uma modificação para o modelo de regulação da aquisição de fosfato em *N. crassa*, proposto anteriormente por Metzenberg em 1979. De acordo com esse modelo, a ação do produto do gene *nuc-1* permite a expressão de genes estruturais envolvidos na captação de Pi. A ação de NUC-1 é antagonizada pelos produtos dos genes *preg* e *pgov*, os quais são antagonizados pelo produto do gene *nuc-2*. NUC-2 é o componente que transmite o sinal de ativação desse circuito regulatório e sua ação é inativada pelo Pi ou um co-repressor derivado dele. Sendo assim, em baixa concentração de Pi, NUC-2 inibe o funcionamento do complexo PREG-PGOV, ativando assim o fator de transcrição NUC-1 e a expressão de fosfatases ácida e alcalina, fosfato permeases e nucleases, entre outras. Assim, Leal e colaboradores em 2007, descreveram que os genes *nuc-1*, *nuc-2*, *preg* e *pgov* participam não apenas na regulação da transcrição de genes estruturais desse sistema, mas também no controle de modificações pós-transcricionais e/ou na secreção das fosfatases. (Metzenberg, 1979; Leal et al., 2007). Recentemente foi demonstrado que uma MAP quinase (MAK-2) representa um novo componente desta via, provavelmente interagindo com o complexo PREG-PGOV em condições repressíveis, como alta concentração de Pi extracelular, adicionando um novo componente ao modelo (Gras et al. 2013).

O gene *nuc-1* é expresso constitutivamente, independente das concentrações de Pi, e a atividade da proteína NUC-1, é positivamente regulada em condições limitantes de Pi, onde NUC-1 promove a ativação de fosfatases alcalinas Pi-repressível e fosfato permeases (Kang e Metzenberg, 1990). O fator de transcrição NUC-1 apresenta aproximadamente 802 aminoácidos, além de possuir na sua região carboxi-terminal um domínio funcional básico contendo um motivo de ligação ao DNA do tipo hélice-volta-hélice (ou *basic helix-loop-helix* – *bHLH*), que está presente em um grande número de fatores de transcrição envolvidos numa variedade de processos celulares, incluindo

diferenciação, desenvolvimento, proliferação celular e resposta ao estresse. Esses fatores de transcrição, do tipo *bHLH* ligam-se às sequências consensos 5'-CACGTG-3' presentes no DNA formando dímeros ou combinações de heterodímeros com outras proteínas *bHLH* (Peleg e Metzenberg, 1994; Chen e Lopes, 2007).

O fator de transcrição NUC-1 é considerado uma proteína HLH atípica, pois apresenta algumas diferenças estruturais, em relação aos outros fatores de transcrição HLH, uma vez que NUC-1 possui adicionalmente um domínio de dimerização constituído por um motivo do tipo zíper, identificado também em outras proteínas HLH, as quais foram classificadas como proteínas HLH/Z. Porém, o motivo zíper identificado em NUC-1 apresenta regiões de repetições de alanina e metionina e não resíduos de leucina, como normalmente são encontrados nas proteínas HLH/Z (Peleg e Metzenberg, 1994). Outra característica estrutural da proteína NUC-1 descrita por Peleg e Metzenberg em 1994, por estudos proteômicos, é de que os domínios de hélice II e zíper são essenciais para a dimerização da proteína, enquanto que o domínio de hélice I está envolvido na ligação ao DNA. Além de possuir outros domínios funcionais, potencialmente envolvidos na interação com os fatores regulatórios negativos PREG/PGOV e com a ativação transcricional.

C. albicans é um patógeno oportunista que pode se proliferar no trato intestinal de pacientes criticamente imunocomprometidos, sendo um dos principais agentes responsáveis por doenças infecciosas causadas por fungos. Estudos experimentais envolvendo análises funcionais da linhagem mutante *pho4* de *C. albicans*, homólogo a *nuc-1*, revelaram que essa linhagem é mais virulenta quando comparada à selvagem, uma vez que a ausência da proteína PHO4 estimulou uma extensa filamentação em resposta à limitação de fosfato, indicando a importância dos genes *pho* na absorção e utilização de fosfato durante a infecção. A capacidade de sequestrar fosfato sem dúvida beneficia fungos para competir com a microbiota normal e representa uma aptidão para a adaptação ao ambiente com escassez nutricional (Dongliang et al., 2004; Romanowski et al., 2012). Embora as pesquisas avançaram rumo à compreensão da resposta adaptativa e do sensoriamento dos fungos aos níveis de Pi disponíveis no ambiente, ainda não encontram-se totalmente esclarecidos os mecanismos moleculares envolvidos na regulação da expressão gênica do fator de transcrição NUC-1 em resposta à diferentes fontes nutricionais e seu papel na patogenicidade, adaptabilidade e na infectividade de fungos patogênicos, como o dermatófito *T. rubrum*.

O fator de transcrição bZIP/Cys-3

Estudos realizados em nosso laboratório por Silva e colaboradores (2008), utilizando a técnica de Hibridização Subtrativa Supressiva (SSH), avaliaram a expressão diferencial de genes na linhagem mutante de *A. nidulans biA1palA1*, com o objetivo de identificar genes responsivos ao pH ambiente dependentes da proteína codificada pelo gene *pala*. Conforme mencionado anteriormente, os genes da família *pal* participam da cascata sinalizadora do pH ambiente promovendo a ativação da proteína PacC, responsável pela cascata de sinalização em resposta ao pH. Nesse estudo foi mostrado o acúmulo do transcrito do gene que codifica um fator de transcrição da família *bZIP* (ANID_4361.3) na linhagem mutante *biA1palA1* (Silva et al, 2008).

Os reguladores do tipo bZIP são caracterizados pela presença da região denominada bZIP que apresenta usualmente 60 a 80 resíduos de aminoácidos específicos, sendo subdividida em dois domínios. O primeiro, denominado zíper de leucinas, é caracterizado por repetições de resíduos de leucina a cada sete aminoácidos numa extensão de 30 a 40 resíduos, sendo responsável por interações entre bZIPs, promovendo assim dimerizações. O segundo, adjacente ao zíper de leucinas, denominado domínio básico, sendo constituído por aproximadamente 30 resíduos dos quais a maioria deles apresenta caráter básico. Esse domínio é responsável pela interação com o sítio alvo do DNA, que apresenta afinidade para sequências de DNA que apresentam um motivo 5'-ACGT-3' (domínio G-box). Vários estudos mostraram que os bZIPs apresentam preferências em relação às bases que flanqueiam o motivo 5'-ACGT-3' e estas definem a afinidade e especificidade da interação do diferentes fatores de transcrição bZIPs e o DNA (Foster et al., 1994; Williams et al., 1992).

Apesar dos reguladores do tipo bZIP apresentarem um domínio relativamente simples de ligação com o DNA, eles são capazes de reconhecer um grande número de sequências de DNA discriminando-as suficientemente a fim de regular a transcrição de diversos genes com diferentes promotores (Riechmann e Ratcliffe, 2002). Estudos filogenéticos realizados por Vincentz e colaboradores (2001 e 2003) demonstraram que o conjunto completo e não redundante dos fatores de transcrição bZIP de *Arabidopsis thaliana* foi agrupado em 13 sub-famílias. Essa classificação permitiu organizar 85 grupos de genes de cana-de-açúcar que codificam bZIPs, porém algumas sub-famílias de *A. thaliana* não foram encontradas em cana de açúcar, provavelmente devido ao baixo nível de expressão destas sub-famílias. Uma proteína bZIP de cana-de-açúcar,

SCbZIP I, foi clonada e caracterizada bioquimicamente, e ensaios de mobilidade eletroforética mostraram que esta proteína liga-se fortemente a sondas de DNA do tipo G-box (*core* ACGT). Além disso, o perfil de expressão dos 85 genes que codificam bZIPs de cana-de-açúcar foi avaliado por microarranjos de cDNA sendo que, destes, 15 foram diferencialmente expressos durante o desenvolvimento das plântulas ou modulados por ação hormonal.

Corrêa e colaboradores (2008) demonstraram que *AtbZIP9* é um fator de transcrição do tipo bZIP, de *A. thaliana*, participando da adaptação de *Arabidopsis* ao estresse osmótico (salino ou hídrico) e que possivelmente sua atividade seja modulada por regulações pós-transcricionais. Em vegetais, o fator de transcrição bZIP designado *TabZIP1* é superexpresso durante o processo de infecção causado pelo fitopatógeno *Puccinia striiformis* e durante condições de estresse ambiental, tais como: temperatura, pH e salinidade (Zhang et al., 2009). A expressão do gene que codifica para uma proteína putativa do tipo bZIP de uma espécie de castanha-do-Brasil (homólogo ao gene *Opaco-2/bZIP* de milho e bZIP encontrado em raiz de mandioca), foi avaliada em experimentos de RT-PCR semi-quantitativa, que mostraram que este gene é expresso em grandes quantidades nas folhas e apresenta expressão regulada durante o desenvolvimento da semente, o que corrobora com a descrição já existente na literatura, onde o fator é descrito como ativador de genes de reserva de sementes em diferentes espécies vegetais (Souza et al., 2003; Segal et al., 2003).

Em fungos, os bZIPs são descritos como ativadores da transcrição de diversos genes envolvidos nos processos de divisão celular e no metabolismo de assimilação do enxofre. Em *N. crassa*, mutantes para o gene *cys3*, que codifica o fator de transcrição *Cys3* pertencente à família *bZIP* e homólogo ao encontrado em *A. nidulans* (Silva et al. 2008), apresentaram baixa viabilidade celular, assim como comprometimento de atividades celulares básicas (Paietta, 2008; Kent et al., 2004). Em *A. nidulans* o gene *flbB* (um fator de transcrição do tipo bZIP) é expresso em hifas vegetativas e ativa a expressão do gene *brlA*, o principal regulador do processo de conidiação. Cepas mutantes para *flbB* apresentaram um padrão de ramificação das hifas defeituoso, revelando um papel importante no crescimento vegetativo, sendo um fator-chave na transição para o desenvolvimento assexuado (Etxebeste et al., 2009).

Os microrganismos crescem em habitats onde permanentemente são confrontados com uma variedade de agressões externas. Em *A. nidulans*, uma das estratégias para sobreviver ao estresse ambiental é o desenvolvimento de conídios

resistentes. Hagiwara e colaboradores (2008) demonstraram que *A. nidulans* super-expressa em conídios o gene *atfA* que codifica para um fator de transcrição bZIP, que desempenha um papel crucial na tolerância contra o estresse oxidativo e variações de temperatura. No patógeno humano *C. albicans*, um fator de transcrição bZIP denominado CAP1 está envolvido na resistência a múltiplas drogas, principalmente em tratamentos utilizando o antifúngico fluconazol. Também está envolvido na proteção deste microrganismo contra os danos oxidativos causados pelos mecanismos de defesa do hospedeiro (Alarco e Raymond, 1999). No fungo filamentosso *Podospora anserina*, o fator de transcrição bZIP, teve sua expressão induzida durante o processo de morte celular (Dementhon et al., 2004).

O controle molecular da autofagia e o papel de Atg8 e Atg15

A autofagia (autodigestão) é um processo catabólico, conservado evolutivamente, que degrada e recicla componentes celulares. Esse mecanismo celular é disparado quando um sinal pró-autofágico (indutor de autofagia) é percebido pela célula, tanto fisiologicamente quanto em circunstâncias patológicas. Alguns sinais pró-autofágicos são classicamente descritos, tais como: proteínas danificadas, proteínas de longa vida e presença de compostos citotóxicos. Porém, condições de estresse como a variação e a privação de nutrientes e oxigênio, também são descritos como indutores do processo. Portanto, a autofagia está envolvida em diversos processos fisiológicos ou patológicos, como o desenvolvimento e a manutenção da homeostase, diferenciação celular, infecção, entre outros (Levine e Yuan, 2005).

São descritos na literatura pelo menos três formas de autofagia: a autofagia mediada por chaperonas, a microautofagia e a macroautofagia. Essas três formas diferem-se em relação à forma pela qual os componentes citoplasmáticos são levados ao lisossomo (Rubinsztein et al., 2007; Levine e Kroemer, 2008). No processo de autofagia mediada por chaperonas (CMA), as proteínas citoplasmáticas que possuem chaperonas ligadas são entregues aos lisossomos para degradação, e nesse caso a chaperona mais requisitada para o processo é a Hsp70. Chaperonas são as proteínas do retículo endoplasmático rugoso, responsáveis pelo dobramento correto das proteínas celulares. Nesse processo, as proteínas que são mal dobradas e permanecem com chaperonas ligadas são reconhecidas pelos lisossomos, sendo desdobradas e translocadas para degradação e reutilização dos produtos de degradação pela célula. Outros tipos de

processos de autofagia degradam conjuntos de componentes celulares ao mesmo tempo, entretanto, a CMA degrada apenas certas proteínas e não organelas, e caracteriza-se pela autofagia de uma proteína por vez, o que caracteriza esse processo como bastante seletivo em relação ao componente celular que é degradado (Massey et al., 2006). Já no processo de microautofagia, os componentes celulares são englobados e degradados diretamente pelos lisossomos das células, por invaginação, protusão e/ou septação da membrana do lisossomo, e posteriormente os produtos da autofagia são reutilizados pela célula (Levine e Kroemer, 2008).

No decorrer deste trabalho, será referido como autofagia o processo denominado como macroautofagia. Este processo é responsável por mais de 90% da autofagia celular, sendo ainda um processo enigmático para diversos organismos, inclusive os fungos e seus processos patológicos, no entanto, é a autofagia mais estudada e conhecida para outros organismos eucariotos. Neste processo, o qual é induzido por sinais pró-autofágicos como drogas, hipóxia ou privação de nutrientes, existe o envolvimento de diversas proteínas, tais como a fosfatidilinositol 3-cinase classe III (PI3K III) e os membros da família Atg, principais controladores da autofagia (Behrends et al., 2010).

Como estamos descrevendo um processo evolutivamente conservado, vale ressaltar que a maquinaria molecular de controle da autofagia foi primeiramente descrita em leveduras, sendo regulada e coordenada por um grupo de genes da família Atg. As proteínas geradas a partir destes genes possuem funções específicas e fundamentais durante as diferentes etapas do processo autofágico, recebendo uma numeração de 1 a 16, além de outras nomenclaturas específicas (Suzuki et al., 2001). O início do processo de autofagia envolve a participação de diversos membros da família das proteínas Atgs, como Atg5, 6, 7, 10, 12 e 16, sendo que os três principais membros desse complexo são Atg6, Atg5 e Atg12. No início, um sistema de conjugação envolvendo as proteínas Atg12 e Atg5 é utilizado na formação do autofagossomo. A proteína Atg12 é covalentemente ligada a Atg5 e direcionada à membrana do autofagossomo, sendo que essa conjugação é mediada pelas enzimas Atg7 e Atg10, funcionalmente semelhantes às ubiquitina-ligases E1 e E2, respectivamente. Finalmente, o membro da família Atg mais importante no processo de sequestro e formação do autofagossomo, o Atg8 (também chamada de LC3-II), sofre uma lipidação por Atg7 e, em consequência, se acopla à membrana do autofagossomo em formação. Outra proteína, muito importante durante a finalização do processo de autofagia é Atg15, uma lipase necessária para a lise

intravacuolar dos corpos autofágicos, liberando os produtos finais da degradação celular (Mizushima et al., 1998; Suzuki et al., 2001; Wirawan et al., 2012).

Desta maneira, no início do processo de macroautofagia, uma dupla membrana de origem desconhecida forma uma estrutura chamada fagóforo. Essa membrana se expande sequestrando partes do citoplasma, como proteínas isoladas ou fragmentos de organelas, formando vesículas chamadas autofagossomo. Durante a maturação dessa vesícula, proteínas Atg8 são recrutadas para a membrana (Rubinsztein et al., 2007). Essas vesículas fundem-se com lisossomos, formando o autofagolisossomo, que por sua vez atua na degradação de proteínas e organelas que não são mais necessárias para o metabolismo celular (Okada e Mak, 2004; Maiuri et al., 2007). Já é descrito que em todas as células, encontra-se um nível basal do processo autofágico, uma vez que o mesmo é necessário e importante para a manutenção da homeostase celular (Mizushima et al., 1998).

Esta autodigestão pode representar uma adaptação ao estresse causado por privação ou variação de fontes nutricionais prevenindo a morte celular, resistência à drogas ou até mesmo uma rota alternativa para a morte celular (Reggiori e Klionsky, 2002; Okada e Mak, 2004). Por meio do processo de autofagia a célula adapta seu metabolismo à falta de nutrientes no ambiente extracelular, ao estresse ambiental como extremos de pH e temperatura ou à diminuição de metabólitos no ambiente intracelular. Pelo catabolismo de macromoléculas, a autofagia gera substratos que suprem as necessidades bioenergéticas das células (Maiuri et al., 2007).

Em microrganismos, estudos vêm demonstrando a importância da autofagia em diversos processos biológicos, entre os quais podemos citar a adaptação, a diferenciação e o desenvolvimento celular. O envolvimento mais conhecido e bem descrito do processo de autofagia é no que se refere ao controle da homeostase de micronutrientes, visando a adaptação das células a nutrientes específicos e/ou na sobrevivência do organismo em condições de estresse (Takeshige et al., 1992; Onodera e Ohsumi, 2005).

Todos os fungos têm mecanismos homeostáticos para assegurar que quantidades mínimas de micronutrientes essenciais estejam disponíveis para suas necessidades metabólicas. Quando o fungo filamentoso patogênico *Aspergillus fumigatus* foi cultivado na ausência de micronutrientes essenciais, mimetizando as condições encontradas no hospedeiro durante o processo infeccioso, apresentava deficiência de crescimento, e o fungo passava a realizar processos autofágicos, reciclando proteínas associadas à micronutrientes pré-existentes. Dessa maneira ocorre a liberação de íons

metálicos, deixando-os livres para utilização em processos metabólicos necessários para o crescimento do fungo e restabelecimento da homeostase, estabelecendo assim uma relação entre os processos biológicos de autofagia e homeostase de micronutrientes. Vale ressaltar que quando acrescentados os micronutrientes essenciais aos meios de cultura pobres, o crescimento do microrganismo foi normalizado (Richie e Askew, 2008).

No fitopatógeno *Magnaporthe oryzae*, agente causador da brusone, doença infecciosa que ataca culturas de arroz, a inativação dos genes *atgs* envolvidos na regulação da maquinaria autofágica causaram perda da patogenicidade do fungo durante experimentos de infecções *in vitro* em plantas hospedeiras. Esses resultados sugerem o envolvimento da autofagia na patogenicidade, auxiliando no desenvolvimento de novas estratégias de controle da doença. Porém, ainda existem muitas questões que precisam ser respondidas, sobre a maquinaria e a vias de sinalização envolvidas no processo de ativação e regulação da autofagia em fungos patogênicos (Liu et al., 2012).

Portanto, a autofagia é um processo celular onipresente nos eucariotos, que foi evidenciado há muitos anos, mas o conhecimento sobre esse processo sofreu um grande avanço na década passada, especialmente através de estudos genéticos em *S. cerevisiae* (Reggiori e Klionsky, 2002; Reggiori e Klionsky, 2005). Entretanto, mesmo levando-se em conta os inúmeros estudos realizados sobre autofagia em leveduras, poucos trabalhos têm focado este processo em fungos filamentosos (Cole et al., 1998; Reggiori e Klionsky, 2005).

A glicoproteína SOWgp

A adesão dos fungos no tecido do hospedeiro constitui um alvo potencial dos fármacos antifúngicos. E essa adesão é mediada pela ligação de proteínas de adesão fúngica aos receptores da célula hospedeira. Nas leveduras, a adesão é mediada por aspartil proteases e fosfolipases. Na atualidade, estão sendo desenvolvidos compostos que bloqueiam as interações de adesão entre as células fúngicas e as células de mamíferos. A composição da parede celular dos fungos desempenha um importante papel na patogenia das infecções fúngicas e patógenos como *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum* e *Paracoccidioides brasiliensis* modulam o comportamento e a composição de glicoproteínas em suas paredes celulares em resposta a interações com o sistema imune do hospedeiro (Ruiz-Herrera et al., 2006).

As glicoproteínas de parede celular são descritas como importantes fatores de virulência, facilitando a adesão dos microrganismos aos nichos específicos do hospedeiro, estabelecendo assim o processo de infecção fúngica. Um dos mecanismos de virulência de fungos patogênicos decorre de uma glicoproteína denominada SOWgp (*Spherule Outer Wall*), localizada na parede celular dos esporos, preferencialmente expressa na fase parasitária, a qual é indispensável para o reconhecimento do sistema imune, e para a opsonização destas proteínas por anticorpos específicos. Essa proteína permite ao microrganismo evadir das defesas do hospedeiro degradando imunoglobulinas e proteínas do sistema complemento, permitindo assim que cepas virulentas escapem da detecção e destruição pelo sistema imune do hospedeiro. (Moroyoqui e Figueroa, 2008).

O gênero *Coccidioides* (composto pelas duas espécies patogênicas que causam infecção, *Coccidioides immitis* e *Coccidioides posadasii*) é considerado um dos mais virulentos e infectantes patógenos fúngicos, sem predileção por sexo, raça e idade. *C. immitis* é o agente causador da coccidioidomicose, uma doença crônica que causa comprometimento pulmonar. Um dos principais fatores de virulência de *Coccidioides sp.* é a glicoproteína presente na parede externa de esporos SOWgp, codificada por um gene de cópia única no genoma, e que também é considerada um antígeno imunodominante, que estimula tanto a resposta imune mediada por células quanto por anticorpos (Johannesson et al., 2005). Este gene foi identificado por Hung e colaboradores (2002), e ensaios *in vitro*, com a proteína recombinante (rSOWp) mostraram que esta se liga à laminina, fibronectina e colágeno do tipo IV, sugerindo que este antígeno de superfície celular possa funcionar como uma adesina. A deleção do gene *sowgp* resultou na perda parcial da capacidade dos esporos em se ligar às proteínas da matriz extracelular (MEC), bem como uma significativa redução da virulência durante infecção de camundongos (Hung et al., 2002).

O fungo *C. immitis* expressa também uma metaloproteinase (MEP1) que atua na digestão da glicoproteína SOWgp na superfície dos esporos, evitando seu reconhecimento pelo sistema imune, sugerindo que MEP1 desempenha um papel determinante na patogenicidade do gênero *Coccidioides* e contribui, assim, para a capacidade do patógeno de persistir no seu hospedeiro e escapar da resposta imune (Nosanchuk et al., 2007; Moroyoqui e Figueroa, 2008).

Entretanto, pouco se sabe sobre a relação da proteína SOWgp e os mecanismos de virulência fúngica em outros fungos patogênicos. No entanto, a aplicação de métodos baseados em genômica para estudos de interações patógeno-hospedeiro, será capaz de desvendar a função biológica dessa proteína durante a progressão da infecção causada por fungos filamentosos, assim como a sua relação com outros fatores de virulência (Hung et al., 2007).

REFERÊNCIAS

Achterman RR, White TC. A foot in the door for dermatophyte research. **Plos Pathog.** 8(3) e1002564, 2012.

Alarco A. M. e Raymond M. The bZip Transcription Factor Cap1p Is Involved in Multidrug Resistance and Oxidative Stress Response in *Candida albicans*. **J Bacteriol** 181 (3), 700-708. 1999.

Albrecht D, Guthke R, Kniemeyer O, Brakhage AA. **Systems biology of human-pathogenic fungi**. In: Daskalaki A. (Ed.), Handbook of Research on Systems Biology Applications in Medicine. Vol. 1. IGI Global, pp. 403–421. 2008.

Ameen M. Epidemiology of superficial fungal infections. **Clin Dermatol**; 28 (2): 197-201. 2010.

Apodaca, G. e Mckerrow, J. H. Regulation of *Trichophyton rubrum* proteolytic activity. **Infect Immun** 57(10): 3081-90.1989.

Atlas RM. **Handbook of microbiological media**. Edited by Lawrence C. Perks.Ed. 1993.

Baeza LC, Bailão AM, Borges CL, Pereira M, Soares CMA, Mendes-Giannini MJ. cDNA representational difference analysis used in the identification of genes expressed by *Trichophyton rubrum* during contact with keratin. **Microbes Infect** 9, 1415-1421. 2007.

Bailão AM, Schrank A, Borges CL, Dutra V, Molinari-Madlum WIE, Soares Felipe MS, Soares, CMA. Differential gene expression by *Paracoccidioides brasiliensis* in host interaction conditions: representational difference analysis identifies candidate genes associated with fungal pathogenesis. **Microbes Infect** 8, 2686-2697. 2006.

Bailão AM, Shrank A, Borges CL, Parente JA, Dutra V, Felipe MS, Fiúza RB, Pereira M, de Almeida Soares CMA. The transcriptional profile of *Paracoccidioides brasiliensis* yeast cells is influenced by human plasma. **FEMS Immunol Med Microbiol.** (1): 43-57. 2007.

Bartholomew, C. R., T. Suzuki, Z. Du, S. K. Backues, M. Jin. Ume6 transcription factor is part of a signaling cascade that regulates autophagy. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 109: 11206–11210. 2012.

Behrends C, Sowa ME, Gygi SP, Harper JW. Network organization of the human autophagy system. **Nature.** 466: 68-76. 2010.

Blommaert EF, Krause U, Schellens JP, Vreeling-Sindelárová H, Meijer AJ. The phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors wortmannin and LY294002 inhibit autophagy in isolated rat hepatocytes. **Eur J Biochem.** 1997.

Brouta, F, Descamps, F, Fett, T, Losson, B, Gerday, C, Mignon, B. Purification and characterization of a 43 center dot 5kDa keratinolytic metalloprotease from *Microsporum canis*. **Med Mycol.** 39, 269-275. 2001.

Caddick, M. X., A. G. Brownlee e H. N. Arst. Regulation of gene-expression by pH of the growth-medium in *Aspergillus nidulans*. **Mol Gen Genet,** 203, 346-353. 1986.

Catlett, N. L., Lee, B. N., Yoder, O. C. e Turgeon, B. G. Split-marker recombination for efficient targeted deletion of fungal genes. **Fungal Genet Newsl** 50, 9-11. 2003.

Cazzaniga, R. A. Caracterização funcional do fator de transcrição PacC do dermatófito *Trichophyton rubrum*: regulação da expressão gênica em resposta ao pH ambiente e na interação com moléculas do hospedeiro. (Tese de Doutorado em Genética) - Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, **Universidade de São Paulo**, 2011.

Cervelatti, E. P., Ferreira-Nozawa, M. S., Aquino-Ferreira ,R., Fachin, A. L. e Martinez-Rossi, N. M. Electrophoretic molecular karyotype of the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. **Genet. Mol. Biol.,** 27, 99-102. 2004.

Chakraborty BN, Kapoor M. Transformation of filamentous fungi by electroporation. **Nucleic Acids Res,** 18(22):6737. 1990.

Chang YY, Juhász G, Goraksha-Hicks P, Arsham AM, Mallin DR, Muller LK, Neufeld TP. Nutrient-dependent regulation of autophagy through the target of rapamycin pathway. **Biochem Soc Trans.** (1):232-6. 2009.

Chen, M.; Lopes, J. M. Multiple basic helix-loop-helix proteins regulate expression of the *ENO1* gene of *Saccharomyces cerevisiae*. **Eukaryot. cell**, 6: 786-96. 2007.

Cole, L.; Orlovich, D. A.; Ashford, A. E. Structure, Function, and Motility of Vacuoles in Filamentous. **Fungal Genet. Biol.**, 24, 86-100. 1998.

Corrêa LG, Riaño-Pachón DM, Schrago CG, dos Santos RV, Mueller-Roeber B, Vincentz M. The role of bZIP transcription factors in green plant evolution: adaptive features emerging from four founder genes. **Plos One**. 13, 2944-60. 2008.

Cove DJ. The induction and repression of nitrate reductase in the fungus *Aspergillus*. **CRC Press**. 786. 1966.

Davis, R.H. **Neurospora: Contributions of a Model Organism**. Oxford University Press, Inc. New York. 319. 2000.

Degreef H. Clinical forms of dermatophytosis (ringworm infection). **Mycopathologia** 166, 257-265. 2008.

Dementhon K, Saupe SJ, Clavé C. Characterization of IDI-4, a bZIP transcription factor inducing autophagy and cell death in the fungus *Podospora anserina*. **Mol Microbiol** 53(6), 1625-40. 2004.

Dennis PB, Jaeschke A, Saitoh M, Fowler B, Kozma SC, Thomas G. Mammalian TOR: a homeostatic ATP sensor. **Science**. 2001.

Dobrowolska, A. e Staczek, P. Development of transformation system for *Trichophyton rubrum* by electroporation of germinated conidia. **Curr Genet** 55, 537-542. 2009.

Dongliang W, Dou X, Hashmi SB, Osmani SA. The Pho80-like cyclin of *Aspergillus nidulans* regulates development independently of its role in phosphate acquisition. **J Biol Chem**, (36): 37693-703, 2004.

Dorn, G. Phosphatase mutants in *Aspergillus nidulans*. **Science**, 150, 1183-1184. 1965.

Duek L, Kaufman G, Ulman Y, Berdicevsky I: The pathogenesis of dermatophyte infections in human skin sections. **Journal of Infection**, 48 (2): 175-180. 2004.

Durman, S.B., Menendez, A.B., Godeas, A.M., Variation in oxalic acid production and mycelial compatibility within field populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Soil Biol & Biochem**, 37, 2180–2184, 2005.

Ellis, D., D. Marriott, R. A. Hajjeh, D. Warnock, W. Meyer e R. Barton. Epidemiology: surveillance of fungal infections. **Med Mycol**, 38 (1), 173-82. 2000.

Esquenazi D, de Souza W, Alviano CS, Rozental S. The role of surface carbohydrates on the interaction of microconidia of *Trichophyton mentagrophytes* with epithelial cells. **FEMS micro. biol. lett.** 35(2):113-123. 2003.

Esquenazi D, Alviano CS, de Souza W, Rozental S. The influence of surface carbohydrates during in vitro infection of mammalian cells by the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. **Res. Microbiol**, 155(3):144-153. 2004.

Etxebeste O, Herrero-García E, Araújo-Bazán L, Rodríguez-Urra AB, Garzia A, Ugalde U, Espeso EA. The bZIP-type transcription factor FlbB regulates distinct morphogenetic stages of colony formation in *Aspergillus nidulans*. **Mol Microbiol**. 73, 775-89.2009.

Ewing, B. e P. Green. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. **Genome Res**, 8, 186-94. 1998.

Fachin AL, Ferreira-Nozawa MS, Maccheroni W Jr, Martinez-Rossi NM. Role of the ABC transporter TruMDR2 in terbinafine, 4-nitroquinoline N-oxide and ethidium bromide susceptibility in *Trichophyton rubrum*. **J Med Microbiol** 55, 1093-1099. 2006.

Fachin AL, Maffei CM, Martinez-Rossi NM. *In vitro* susceptibility of *Trichophyton rubrum* isolates to griseofulvin and tioconazole. Induction and isolation of a resistant mutant to both antimycotic drugs. Mutant of *Trichophyton rubrum* resistant to griseofulvin and tioconazole. **Mycopathologia** 135(3):141-143. 1996.

Fang Y, Vilella-Bach M, Bachmann R, Flanigan A, Chen J. Phosphatidic acid-mediated mitogenic activation of mTOR signaling. **Science**. 30; 294 (5548): 1942-5. 2001.

Favaron, F., Sella, L. e D'Ovidio, R. Relationships Among Endo-Polygalacturonase, Oxalate, pH, and Plant Polygalacturonase-Inhibiting Protein (PGIP) in the Interaction Between *Sclerotinia sclerotiorum* and Soybean. **MPMI**, 17, 12, 1402-1409, 2004.

Ferreira-Nozawa, M. S., S. R. Nozawa, N. M. Martinez-Rossi e A. Rossi. The dermatophyte *Trichophyton rubrum* secretes an EDTA-sensitive alkaline phosphatase on high-phosphate medium. **Braz J Microbiol**, 34, 161-164. 2003.

Ferreira-Nozawa, M. S., Silveira, H. C., Ono, C. J. Fachin, A. L., Rossi, A. e Martinez-Rossi, N. M. The pH signaling transcription factor PacC mediates the growth of *Trichophyton rubrum* on human nail *in vitro*. **Med Mycol** 44, 641-645. 2006.

Fleck CB, Schöbel F, Brock M. Nutrient acquisition by pathogenic fungi: Nutrient availability, pathway regulation, and differences in substrate utilization. **Int J Med Microbiol.** 301: 400-407. 2011.

Foster R, Izawa T e Chua N-H. Plant bZIP proteins gather at ACGT elements. **FASEB J.** 8, 192-200. 1994.

Freitas, J. S., E. M. Silva e A. Rossi. Identification of nutrient-dependent changes in extracellular pH and acid phosphatase secretion in *Aspergillus nidulans*. **Genet Mol Res,** 6, 721-9. 2007.

Freitas, J. S., E. M. Silva, J. Leal, D. E. Gras, N. M. Martinez-Rossi, L. D. Dos Santos, M. S. Palma e A. Rossi. Transcription of the Hsp30, Hsp70, and Hsp90 heat shock protein genes is modulated by the PalA protein in response to acid pH-sensing in the fungus *Aspergillus nidulans*. **Cell Stress Chap,** 16, 565-72. 2011.

Fujii Y, Shimizu T, Toda T, Yanagida M, Hakoshima T. Structural basis for the diversity of DNA recognition by bZIP transcription factors. **Nat Struct Biol.**7 (10): 889-893. 2000.

Furukama, K; Hasunuma, K; Shinohara, Y. Characterization of Pirepressible enzymes secreted in culture media by *Neurospora crassa* wild-type cells and null type mutants. **J Bacteriol.** 169 (10): 4790-4795. 1987.

Gibson, K. E.; Kobayashi, H.; Walker, G. C. Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. **Annu. Rev. Genet.,** 42, 413-441, 2008.

Gras DE, Persinoti GF, Peres NT, Martinez-Rossi NM, Tahira AC, Reis EM, Prade RA, Rossi A. Transcriptional profiling of *Neurospora crassa* Δ mak-2 reveals that mitogen-activated protein kinase MAK-2 participates in the phosphate signaling pathway. **Fungal Genet Biol.** 2013.

Grotelueschen J; Peleg, Y; Glass, N.L; Metzenberg, R.L. Cloning and characterization of the *pho-2+* gene encoding a repressible alkaline phosphatase in *Neurospora crassa*. **Gene.** 144(1): 147-148. 1994.

Hagiwara D, Asano Y, Yamashino T, Mizuno T. Characterization of bZIP-type transcription factor AtfA with reference to stress responses of conidia of *Aspergillus nidulans*. **Biosci Biotechnol Biochem,** 72, 2756-60. 2008.

Han, S. W., Nahas, E. e Rossi, A. Regulation of synthesis and secretion of acid and alkaline phosphatases in *Neurospora crassa*. **Current Genetics,** 11, 521-527. 1987.

Huang X, Li Y, Niu Q, Zhang K. Suppression Subtractive Hybridization (SSH) and its modifications in microbiological research. **Appl Microbiol Biotechnol** 76, 753-760. 2007.

Huang, X. e A. Madan. CAP3: A DNA sequence assembly program. **Genome Res**, 9, 868-77. 1999.

Hummert S, Hummert C, Schröter A, Hube B, Schuster S. Game theoretical modelling of survival strategies of *Candida albicans* inside macrophages. **J Theor Biol**, 64: 312–318. 2010.

Hung, C.-Y., Yu, J.-J., Seshan, K. R., Reichard, U., e Cole, G.T. A parasitic hase-specific adhesin of *Coccidioides immitis* contributes to the virulence of this respiratory fungal pathogen. **Infect. Immun**, 70: 3443–3456. 2002.

Hung, YC, Xue, J, Cole, GT. Virulence Mechanisms of *Coccidioides*. **Ann. NY Acad. Scienc**, 1111, 225-235. 2007.

Inoue, Y., Suzuki, T., Hattori, M., Yoshimoto, K., Ohsumi, Y., Moriyasu, Y. AtATG genes, homologs of yeast autophagy genes, are involved in constitutive autophagy in Arabidopsis root tip cells. **Plant Cell Physiol**, 47, 1641–1652. 2006.

Jacob, T. R., Peres, N. T., Persinoti, G. F., Silva, L. G., Mazucato, M., Rossi, A. e Martinez-Rossi, N. M. *rpb2* is a reliable reference gene for quantitative gene expression analysis in the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. **Med Mycol**, 50 (4): 368-77. 2012.

Johannesson H, Townsend JP, Hung CY, Cole GT, Taylor JW. Concerted evolution in the repeats of an immunomodulating cell surface protein, SOWgp, of the human pathogenic fungi *Coccidioides immitis* and *C. posadasii*. **Genetics**, 171: 109–117. 2005.

Jousson, O., Lechenne, B., Bontems, O., Mignon, B., Reichard, U., Barblan, J., Quadroni, M. and Monod, M. Secreted subtilisin gene family in *Trichophyton rubrum*. **Gene**, 339: 79-88. 2004.

Kang, S.; Metzenberg, R. L. Molecular analysis of *nuc-1+*, a gene controlling phosphorus acquisition in *Neurospora crassa*. **Mol. Cell. Biol**, 10: 5839-5848. 1990.

Kato-Maeda, M.; Gao Q.; Small, P. M.; Microarray analysis of pathogens and their interaction with hosts. **Cell. Microbiol.**, 3, 713-719, 2001.

Kaufman, G., B. A. Horwitz, L. Duek, Y. Ullman e I. Berdicevsky. Infection stages of the dermatophyte pathogen *Trichophyton*: microscopic characterization and proteolytic enzymes. **Med Mycol**, 45, 149-55. 2007.

Kent N. A., Eibert S. M., Mellor J. Cbf1p is Required for Chromatin Remodeling at Promoter-proximal CACGTG Motifs in Yeast. **J Biol Chem** 279 (26), 27116 – 27123. 2004.

Khan IA, Lu JP, Liu XH, Rehman A, Lin FC: Multifunction of autophagy-related genes in filamentous fungi. **Microbiol Res**, 167 (6):339-345. 2012.

Kronstad JW, Hu G, Jung WH. An encapsulation of iron homeostasis and virulence in *Cryptococcus neoformans*. **Trends Microbiol.** 21(9): 457-65, 2013.

Kuck U, Hoff B. New tools for the genetic manipulation of filamentous fungi. **Appl Microbiol Biotechnol**, 86 (1): 51-62, 2010.

Kumamoto, CA. Molecular mechanisms of mechanosensing and their roles in fungal contact sensing. **Nature Rev. Microbiol.** 6, 667-673. 2008.

Lamb, T. M., Xu, W., Diamond, A. e Mitchell, A. P. Alkaline response genes of *Saccharomyces cerevisiae* and their relationship to the *RIM101* pathway. **J. Biol. Chem.**, 276, 1850-1856. 2001.

Leal, J., Squina, F. M., Martinez-Rossi, N. M. e Rossi, A. The transcription of the gene for iso-orotate decarboxylase (IDCase), an enzyme of the thymidine salvage pathway, is downregulated in the *preg^c* mutant strain of *Neurospora crassa* grown under phosphate starvation. **Can J Microbiol**, 53, 1011-1015. 2007.

Lee, Geon-Ho, Jae-Han Bae, Min-Jung Suh, In-Hwan Kim, Ching T. Hou, e Hak-Ryul Kim. New Finding and Optimal Production of a Novel Extracellular Alkaline Lipase from *Yarrowia lipolytica* NRRL Y-2178. **J. Microb. Biotech.**, Korea, 17, 6, 1054–1057, 2007.

Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. **Cell.** 132 (1): 27-42. 2008.

Levine, B. e Yuan, J. Autophagy in cell death an innocent convict? **J. Clin. Invest.** 115 (10): 2679-88. 2005.

Lin, Chin Jia, e Barbosa, Angela Silva. Técnicas de Análise da Regulação da Transcrição Gênica e suas Aplicações na Endocrinologia Molecular. **Arq. Bras. Endoc Metabol**, 46 (4), 330-340. 2002.

Liu XH, Gao HM, Xu F, Lu JP, Devenish RJ, Lin FC. Autophagy vitalizes the pathogenicity of pathogenic fungi. **Autophagy**. 8 (10): 1415-25. 2012.

Maiuri MC, Zalckvar E, Kimchi A, Kroemer G. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.** 8 (9): 741-52. 2007.

Mansour, S., Beckerich, J. M. e Bonnarme, P. Lactate and amino acid catabolism in the cheese-ripening yeast *Yarrowia lipolytica*. **Appl Environ Microbiol** 74 (21): 6505-12.2008.

Maranhão, F. C., Paião, F. G. e Martinez-Rossi, N. M. Isolation of transcripts overexpressed in human pathogen *Trichophyton rubrum* during growth in keratin. **Microb Pathog**, 43 (4): 166-72.2007.

Maranhão, F. C., Silveira, H. C., Rossi, A. e Martinez-Rossi, N. M. Isolation of transcripts overexpressed in the human pathogen *Trichophyton rubrum* grown in lipid as carbon source. **Can J Microbiol** 57 (4): 333-8.2011.

Martinez, D. A., B. G. Oliver, Y. Graser, J. M. Goldberg, W. Li, N. M. Martinez-Rossi, M. Monod, E. Shelest, R. C. Barton, E. Birch, A. A. Brakhage, Z. Chen, S. J. Gurr, D. Heiman, J. Heitman, I. Kostic, A. Rossi, S. Saif, M. Samalova, C. W. Saunders, T. Shea, R. C. Summerbell, J. Xu, S. Young, Q. Zeng, B. W. Birren, C. A. Cuomo e T. C. White. Comparative Genome Analysis of *Trichophyton rubrum* and Related Dermatophytes Reveals Candidate Genes Involved in Infection. **mBio**, 3 (5), 2012.

Martinez-Rossi N.M; Persinoti G.F; Peres N.T; Rossi A. Role of pH in the pathogenesis of dermatophytoses. **Mycoses**. (doi: 10.1111/j.1439-0507.2011.02162). 2011.

Martinez-Rossi, N. M., M. S. Ferreira-Nozawa, M. A. S. Graminha, S. R. Nozawa, A. L. Fachin, E. P. Cervelatti, R. A. Prade e A. Rossi. Molecular aspects of dermatophyte-host interactions. In: R. K. S. Kushwaha (Ed.). **Fungi in human and animal health**. Jodhpur, India: Scientific Publishers, 9. Molecular aspects of dermatophyte-host interactions, 143-165. 2004.

Massey, AC, Zhang, C e Cuervo, AM. Chaperone-mediated autophagy in aging and disease. **Curr. Top. Dev. Biol.** 73: 205-35. 2006.

Maza PK, Straus AH, Toledo MS, Takahashi HK, Suzuki E. Interaction of epithelial cell membrane rafts with *Paracoccidioides brasiliensis* leads to fungal adhesion and Src-family kinase activation. **Microbes Infect.** 10 (5): 540-7, 2008.

McGinnis MR. **Laboratory handbook of medical mycology.** Academic Press, New York. 1980.

McMahon JP, Wheat J, Sobel ME, Pasula R, Downing JF, Martin WJ 2nd. Murine laminin binds to *Histoplasma capsulatum*. A possible mechanism of dissemination. **J Clin Invest.** 96 (2):1010-7. 1995.

Meevootisom, V. e D. J. Niederpruem. Control of exocellular proteases in dermatophytes and especially *Trichophyton rubrum*. **Sabouraudia**, 17, 91-106. 1979.

Mendes, N. S., Trevisan, G. L., Cruz, A. H. S., Santos, R. S., Peres, N. T., Martinez-Rossi, N. M. e Rossi, A. Transcription of *N*- and *O*-linked mannosyltransferase genes is modulated by the *pacC* gene in the human dermatophyte *Trichophyton rubrum*. **FEBS OpenBio**, 2: 294-7. 2012.

Meshi T e Iwabuchi M. Plant transcription factors. **Plant Cell Physiol.** 36 (8), 1405-1420. 1995.

Metzenberg, R. L.; Chia, W. Genetic control of phosphorus assimilation in *Neurospora crassa*: dose-dependent dominance and recessive ness in constitutive mutants. **Genetics**, 93: 625-43. 1979.

Metzenberg, R.L. Implications of some genetic control mechanisms in *Neurospora*. **Microbiol Rev.** 43 (3): 361-383. 1979.

Mizushima N, Noda T, Yoshimori T, Tanaka Y, Ishii T, George MD, Klionsky DJ, Ohsumi M, Ohsumi Y. A protein conjugation system essential for autophagy. **Nature.** 395: 395-98. 1998.

Monod M. Secreted proteases from dermatophytes. **Mycopathologia**, 166, 285-294. 2008.

Moroyoqui, N. L. A.; Figueroa, S. S. R. Coccidioidomycosis. **Med. Int. México.** 24 (2), 125 – 141. 2008.

Mukherjee PK, Leidich SD, Isham N, Leitner I, Ryder NS, Ghannoum MA. Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. **Antimicrob Agents Chemother**, 47, 82-86.2003.

Murray, P. R., G. S. Kobayashi, M. A. Pfaller e K. S. Rosenthal. **Microbiologia Médica**. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, RJ. 755 pgs. 2004.

Myers LC, e Kornberg RD. Mediator of transcriptional regulation. **Annu Rev Biochem**, 69, 729-49. 2000.

Nahas, E., H. F. Terenzi e A. Rossi. Effect of carbon source and pH on the production and secretion of acid-phosphatase (EC3.1.3.2) and alkaline-phosphatase (EC3.1.3.1) in *Neurospora crassa*. **J Gen Microbiol**, 128, 2017-2021. 1982.

Ninomiya Y, Suzuki K, Ishii C, Inoue H. Highly efficient gene replacements in *Neurospora* strains deficient for non-homologous end-joining. **Proc Natl Acad Sci**, 101(33):12248-12253. 2004.

Nishizawa M, Tanigawa M, Hayashi M, Maeda T, Yazaki Y, Saeki Y, Toh-e A. Pho85kinase, a cyclin-dependent kinase, regulates nuclear accumulation of the Rim101transcription factor in the stress response of *Saccharomyces cerevisiae*. **Eukaryot Cell**. 9 (6): 943-51, 2010.

Nosanchuk, Jieh-Juen, Y.; Chung-Yu, H.; Casadevall A.; Cole, G. T. *Coccidioides posadasii* produces melanin in vitro and during infection. **Fungal Genet Biol**, 44 (6), 517- 520.2007.

Nozawa, S. R., G. Thedei, L. S. P. Crott, J. E. Barbosa e A. Rossi. The synthesis of phosphate-repressible alkaline phosphatase does not appear to be regulated by ambient pH in the filamentous mould *Neurospora crassa*. **Braz. J. Microb.**, 33, 92-95. 2002.

Nozawa, SR; Ferreira-Nozawa, MS; Martinez-Rossi, NM; Rossi, A. The pH-induced glycosylation of secreted phosphatases is mediated in *Aspergillus nidulans* by the regulatory gene *pacC*-dependent pathway. **Fungal Genet Biol**, 39, 286-295. 2003.

Ogawa, N; DeRisi, J; Brown, P.O. New components of a system for phosphate accumulation and polyphosphate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* revealed by genomic expression analysis. **Mol Biol Cell**. 11(12): 4309-4321. 2000.

Okada, H e Mak, TW. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumor cells. **Nat. Rev. Cancer**. 4 (8): 592-603. 2004.

Onodera J., Ohsumi, Y. Autophagy is required for maintenance of amino acid levels and protein synthesis under nitrogen starvation. **J Biol Chem**. 280: 31582–31586. 2005.

Orejas, M., E. A. Espeso, J. Tilburn, S. Sarkar, H. N. Arst e M. A. Peñalva. Activation of the *Aspergillus* PacC transcription factor in response to alkaline ambient pH requires proteolysis of the carboxy-terminal moiety. **Genes Dev** (9), p.1622-1632. 1995.

Paietta, John V. DNA-binding specificity of the CYS3 transcription factor of *Neurospora crassa* defined by binding-site selection. **Fungal Genet Biol**, 45, 1166-1171. 2008.

Palma, M. S., Han, S. W. e Rossi, A. Dissociation and Catalytic Activity of Phosphate-Repressible Alkaline-Phosphatase from *Neurospora crassa*. **Phytochemistry** 28, 3281-3284. 1989.

Paytan, A.; McLaughlin, K. The oceanic phosphorus cycle. **Chem. Rev.**, 107: 563-576. 2007.

Peleg, Y.; Aramayo, R.; Kang, S.; Hall, J. G.; Metzenberg, R. NUC-2, a component of phosphate-regulated signal transduction pathway in *Neurospora crassa*, is an ankyrin repeat protein. **Mol. Gen. Genet.** 252, 709-716. 1996.

Peleg, Y.; Metzenberg, R. L. Analysis of the DNA-binding and dimerization activities of *Neurospora crassa* transcription factor NUC-1. **Mol. Cell Biol.**, 14: 7816-26. 1994.

Peres NTA. Perfil transcricional do fungo patogênico *Trichophyton rubrum* durante a interação com células da epiderme e o efeito de antifúngicos que interferem com a resposta osmótica. (Tese de Doutorado em Imunologia Básica e Aplicada) - Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, **Universidade de São Paulo**, 2009.

Peres, N. T., Maranhao, F. C., Rossi, A. e Martinez-Rossi, N. M. Dermatophytes: host-pathogen interaction and antifungal resistance. **An Bras Dermatol**, 85 (5): 657-67. 2010a

Peres, N.T.A.; Sanches, P.R.; Falcão, J.P.; Silveira, H.C.S.; Paião, F. G.; Maranhão, F.C.A.; Gras, D.E.; Segato, F.; Cazzaniga, R. A.; Mazucato, M.; Cursino-Santos, J.R.; Aquino-Ferreira, R.; Rossi, A.; Martinez-Rossi, N. M. Transcriptional profiling reveals the expression of novel genes in response to various stimuli in the human dermatophyte *Trichophyton rubrum*. **BMC Microbiology**.10 (39).1-10. 2010b.

Persson, B. L.; Lagerstedt, J. O.; Pratt, J. R.; Granberg-Pattison, J.; Lundh, K.; Shokrollahzadeh, S.; Lundh, F. Regulation of phosphate acquisition in *Saccharomyces cerevisiae*. **Curr. Genet.**, 43: 225-244. 2003.

Pollack JK, Harris SD, Marten MR. Autophagy in filamentous fungi. **Fungal Genet Biol**. 46(1):1-8, 2009.

Ramón AM, Fonzi WA. Diverged binding specificity of Rim101p, the *Candida albicans* ortholog of PacC. **Eukaryot Cell.** 2 (4):718-28, 2003.

Rappleye CA, Goldman W E. Defining virulence genes in the dimorphic fungi. **Annu Rev Microbiol.** 60: 281-303. 2006.

Reggiori, F., Klionsky DJ. Autophagy in the eukaryotic cell. **Eukaryot Cell.**1 (1): 11-21. 2002.

Reggiori, F., Klionsky, D. J. Autophagosomes: biogenesis from scratch? **Curr. Opin. Cell Biol.,** 17, 415-422, 2005.

Reggiori F, Klionsky DJ. Autophagic processes in yeast: mechanism, machinery and regulation. **Genetics.** 194(2):341-61, 2013.

Richie, D. L e Askew D.S. Autophagy a role in metal ion homeostasis? **Landes Bioscience,** 4:1, 115-117. 2008.

Riechmann JL, Ratcliffe OJ. Arabidopsis transcription factors and the regulation of flowering time: a genomic perspective. **Curr. Mol. Biol.** 4, 77-91. 2002.

Rollins, J.A, Dickman, M.B. pH Signaling in *Sclerotinia sclerotiorum*: Identification of a *pacC/RIM1* Homolog. **App. Envir Microbiol,** 67, 01, 75-81, 2001.

Romanowski K, Zaborin A, Valuckaite V, Rolfes RJ, Babrowski T, Bethel C, Olivas A, Zaborina O, Alverdy JC. *Candida albicans* isolates from the gut of critically ill patients respond to phosphate limitation by expressing filaments and a lethal phenotype. **Plos One,** 7 (1), 2012.

Rossi, A, Cruz, AHS, Santos, RS, Silva, PM, Silva, EM, Mendes, NS, Martinez-Rossi, NM. Ambient pH Sensing in Filamentous Fungi: Pitfalls in Elucidating Regulatory Hierarchical Signaling Networks. **IUBMB Life,** 2013.

Rubinsztein DC, Gestwick, JE, Murphy LO, Klionsky, DJ. Potential therapeutic applications of autophagy. **Nat. Rev. Drug Discov.** 6 (4): 304-12. 2007.

Ruiz-Diez B. Strategies for the transformation of filamentous fungi. **J Appl Microbiol,** 92 (2): 189-195. 2002.

Ruiz-Herrera J, Victoria Elorza M, Valentin E. Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. **FEMS Yeast Res.** 6:14-29. 2006.

Sambrook, J., E. F. Fritsch e T. Maniatis. **Molecular cloning: a laboratory manual**. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989.

Schaechter, M., N. C. Engleberg, B. J. Eisenstein e G. Medoff. **Microbiologia: Mecanismos das Doenças Infecciosas**. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, RJ. 642 pgs. 2002.

Seebacher, C., J. P. Bouchara e B. Mignon. Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. **Mycopathologia**, 166, 335-52. 2008.

Segal DJ, Stege JT, Barbas CF. Zinc Fingers and green thumb: manipulating gene expression in plants. **Curr. Opin. Plant Biol.** 6,163-168. 2003.

Selvig, K. e Alspaugh, J.A. pH response pathways in fungi: adapting to host-derived and environmental signals. **Mycobiol** 39, 249–256. 2011.

Shelest E. Transcription factors in fungi. **FEMS Microbiol Lett**, 286 (2): 145-51. 2008.

Shpilka T, Weidberg H, Pietrokovski S, Elazar Z: Atg8: an autophagy-related ubiquitin-like protein family. **Genome Biol** 12 (7): 226, 2011.

Sikander, A.; Hameedullah R.; Ikram, U. H. Production of an extracellular lipase from *Candida lipolytica* and parameter significance analysis by Plackett Burman design. **Revista Eng. Life Science**, Pakistan, 10, 5, 465-473, 2010.

Silva, E. M., Freitas, J. S., Gras, D. E. Squina, F. M., Leal, J. Silveira, H. C. S., Martinez-Rossi, N. M. e Rossi, A. Identification of genes differentially expressed in a strain of the mold *Aspergillus nidulans* carrying a lost-of-function mutation in the *palA* gene. **Can J Microbiol** 54, 803-811. 2008.

Silveira, H. C., Gras, D. E., Cazzaniga, R. A., Sanches, P. R., Rossi, A. e Martinez-Rossi, N. M. Transcriptional profiling reveals genes in the human pathogen *Trichophyton rubrum* that are expressed in response to pH signaling. **Microb Pathog** 48 (2): 91-6.2010.

Sobera JO, Elewski BE. **Fungal Diseases**. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP, editors. *Dermatology*. 2ª ed. Madrid: Mosby Elsevier; p.1135-48, 2008.

Souza, C. R. B., Almeida ERP ; Carvalho LJCB, Gander ES. Studies Toward The Identification of Transcription Factors In *Cassava* Storage Root. **Braz. J. Plant Phys.** 15, 167-170. 2003.

Squina FM, Leal J, Cipriano VT, Martinez-Rossi NM, Rossi A. Transcription of the *Neurospora crassa* 70-kDa class heat shock protein genes is modulated in response to extracellular pH changes. **Cell Stress Chap.** 2010.

Suzuki K, Kirisako T, Kamada Y, Mizushima N, Noda T, Ohsumi Y. The pre-autophagosomal structure organized by concerted functions of ATG genes is essential for autophagosome formation. **Embo J.** 20 (21): 5971-81. 2001.

Takehige, K., M. Baba, S. Tsuboi, T. Noda, e Y. Ohsumi. Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. **J. Cell Biol.** 119: 301–311. 1992.

Thedei Jr., G., Nozawa, S.R., Simões, A.L., Rossi, A. Gene *pho-2* codes for the multiple active forms of Pi-repressible alkaline phosphatase in the mould *Neurospora crassa*. **World J. Microb. Biotech.** 13, 609-611. 1997.

Thedei Jr., G., T. H. Doubowetz e A. Rossi. Effect of carbon source and extracellular pH on the acidification of the culture medium and phosphatase excretion in *Neurospora crassa*. **Braz J Med Biol Res**, 27, 1129-34. 1994.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. e Higgins, D. G. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Res** 25 (24): 4876-82.1997.

Tilburn, J., S. Sarkar, D. A. Widdick, E. A. Espeso, M. Orejas, J. Mungroo, M. A. Peñalva e H. N. Arst, Jr. The *Aspergillus* PacC zinc finger transcription factor mediates regulation of both acid- and alkaline-expressed genes by ambient pH. **EMBO J**, 14, 779-90. 1995.

Trevisan, G. L., Oliveira, E. H., Peres, N. T., Cruz, A. H.S., Martinez-Rossi, N. M. e Rossi, A. Transcription of *Aspergillus nidulans* *pacC* is modulated by alternative RNA splicing of *palB*. **FEBS Lett** 585 (21): 3442-5.2011.

Tsuboi, R., I. J. Ko, K. Takamori e H. Ogawa. Isolation of a keratinolytic proteinase from *Trichophyton mentagrophytes* with enzymatic activity at acidic pH. **Infect Immun**, 57, 3479-3483. 1989.

Vermout, S., J. Tabart, A. Baldo, A. Mathy, B. Losson e B. Mignon. Pathogenesis of dermatophytosis. **Mycopathologia**, 166, 267-75. 2008.

Vicentini, A. P.; Gesztesi, J.L.; Franco, M.F.; de Souza, W.; de Moraes, J.Z.; Travassos, L.R.; Lopes, J.D. Binding of *Paracoccidioides brasiliensis* to laminin through surface

glycoprotein gp43 leads to enhancement of fungal pathogenesis. **Infect. Immun.** 62, 1465-1469. 1994.

Vincentz, M, Schlögl, PS, Corrêa, LG, Küne, F, Leite, A. Phylogenetic relationships between Arabidopsis and sugarcane bZIP transcriptional regulatory factors. **Genet. Mol. Biol.** 24, 55-60. 2001.

Vincentz, M. ; Bandeira-Kobarg, C. ; Gauer, I. ; Schlögl, P. S. ; Leite, A. Evolutionary Pattern of Angiosperm bZIP Factors Homologous to the Maize Opaque2 Regulatory Protein. **J. Mol. Evol.** 56, 105-116. 2003.

Weitzman, I. e R. C. Summerbell. The Dermatophytes. **Clin Microbiol Rev**, 8, 240-259. 1995.

Whiston E, Zhang Wise H, Sharpton TJ, Jui G, Cole GT, Taylor JW. Comparative transcriptomics of the saprobic and parasitic growth phases in *Coccidioides spp.* **Plos One.** 2012.

White, T., B. G. Oliver, Y. Gräser e M. R. Henn. Generating and testing molecular hypotheses in the Dermatophytes. **Eukariotic Cell.** 2008.

Williams ME, Foster R e Chua N. Sequences flanking the hexameric G-Box core CACGTG affect the specificity of protein binding. **The Plant Cell.** 4, 485-496. 1992.

Wirawan E, Vanden Berghe T, Lippens S, Agostinis P, Vandenabeele P. Autophagy: for better or for worse. **Cell Res.** 22 (1): 43-61, 2012.

Wise RP, Moscou MJ, Bogdanove AJ, Whitham SA. Transcript profiling in host-pathogen interactions. **Ann. Rev. Phytopathol** 45, 329-369. 2007.

Wu, D; Dou, X; Hashmi, SB; Osmani, SA. The Pho80-like cyclin of *Aspergillus nidulans* regulates development independently of its role in phosphate acquisition. **J. Biol. Chem.**, 279, 37693-703. 2004.

Wu J, Dang Y, Su W, Liu C, Ma H, Shan Y, Pei Y, Wan B, Guo J, Yu L. Molecular cloning and characterization of rat LC3A and LC3B--two novel markers of autophagosome. **Biochem Biophys Res Commun.** 6, 339 (1): 437-42, 2006.

Yorimitsu T, Klionsky DJ: Autophagy: molecular machinery for self-eating. **Cell Death Differ** 12 (2): 1542-1552, 2005.

Yu JH, Hamari Z, Han KH, Seo JA, Reyes-Dominguez Y, Scazzocchio C: Double-joint PCR: a PCR-based molecular tool for gene manipulations in filamentous fungi. **Fungal Genet Biol** 41 (11): 973-981. 2004.

Zacchi LF, Gomez-Raja J, Davis DA. Mds3 regulates morphogenesis in *Candida albicans* through the TOR pathway. **Mol Cell Biol**, 30:3695-710. 2010.

Zhang Y.; Zhang G.; Ning G.; Wang X.; Huang L.; Kang Z. Cloning and characterization of a bZIP transcription factor gene in wheat and its expression in response to stripe rust pathogen infection and abiotic stress. **Phys. mol plant pathology** .73, 88-94. 2009.

HEMICELULOSE: PROPRIEDADES, BIODEGRADAÇÃO E APLICAÇÕES

Lorena Cardoso Cintra^{1,2,3}

Amanda Gregorim Fernandes^{1,2}

*Rodrigo da Silva Santos*⁴

*Rosália Santos A. Jesuíno*¹

Cirano José Ulhoa^{1,2}

*Fabricia Paula de Faria*¹

INTRODUÇÃO

A conversão da biomassa vegetal em bioetanol por hidrólise enzimática representa uma alternativa para a utilização desses resíduos agroindustriais, tais como, o bagaço de cana-de-açúcar (BCA), farelo de trigo, sabugo de milho, palha de arroz, dentre outros. Os fungos desempenham um papel central na degradação da biomassa vegetal, visto que eles são capazes de secretar diversas enzimas que degradam os polissacarídeos da parede vegetal.

Os resíduos agrícolas são abundantes e apresentam custo baixo quando comparados ao petróleo. Além disso, a biomassa vegetal pode ser produzida em diversos países que não apresentam alta ou nenhuma extração de petróleo, criando uma nova rota para a fabricação de combustíveis orgânicos. Aproximadamente 150 a 200 bilhões de toneladas de matéria orgânica seca são produzidas anualmente no mundo na forma de vegetação nas florestas, pastos, oceanos, estuários, lagos, rios, pântanos, entre outros. Esta biomassa vegetal é composta principalmente por materiais lignocelulósicos formados por celulose (40-50%), hemicelulose (15-30%) e lignina (10-30%) (LYND et al., 2002).

¹Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (ICB-UFG).

²Universidade de Brasília, Programa de Pós-graduação em Biologia Molecular (UnB).

³Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Setor de Patologia (EVZ-UFG)

⁴União das Faculdades Alfredo Nasser, Faculdade de Medicina, Instituto de Ciências da Saúde (FAMED-ICS- UNIFAN).

A celulose e hemicelulose são polissacarídeos que podem ser convertidos a etanol por um processo composto de três etapas: uma etapa de pré-tratamento que pode remover a lignina e a hemicelulose ou apenas aumentar a porosidade das fibras de celulose, com a finalidade de auxiliar o acesso das enzimas às fibras; uma etapa de sacarificação, onde as frações de celulose e hemicelulose são hidrolisadas por enzimas a monômeros; e por último, uma etapa de fermentação alcoólica onde os açúcares são convertidos a etanol. A sacarificação dos materiais lignocelulósicos pode ser alcançada pela hidrólise ácida ou enzimática (SÁNCHEZ, 2009).

Um dos desafios para a produção de etanol a partir da biomassa, consiste na produção de enzimas lignocelulolíticas em larga escala e de baixo custo. Algumas estratégias têm sido propostas para alcançar este objetivo como, por exemplo, a prospecção de micro-organismos produtores de celulasas e hemicelulasas, obtenção de micro-organismos superprodutores de enzimas por meio de melhoramento dos processos fermentativos ou programas de melhoramento genético e ainda a obtenção de enzimas recombinantes que possam complementar o complexo enzimático produzido por micro-organismos com atividades específicas.

O custo elevado das enzimas é um obstáculo para que o processo de produção de bioetanol de segunda geração se torne economicamente viável. Uma das várias estratégias para diminuir o custo da etapa de hidrólise é a suplementação de misturas enzimáticas microbianas selvagens com enzimas recombinantes com atividades definidas (coquetéis enzimáticos).

As hemiceluloses representam a maior fração polissacarídica desperdiçada durante os processos para produção de etanol em todo o mundo. Isso se deve, principalmente, a remoção da fração de hemicelulose dos materiais lignocelulósicos durante a etapa de pré-tratamento, além da sua baixa capacidade de fermentação pelas linhagens microbianas industriais mais comuns (GÍRIO et al., 2010).

A conversão da fração de hemicelulose é essencial para aumentar o rendimento da produção de etanol a partir de resíduos lignocelulósicos. Nesse processo, são requeridas enzimas, celulasas e hemicelulasas, para a hidrólise dos polissacarídeos a monômeros de açúcares. Vale ressaltar que as hemicelulasas facilitam a hidrólise da celulose, expondo as fibras de celulose, tornando-as mais acessíveis à ação das celulasas.

A xilose obtida após a hidrólise da hemicelulose pode ser utilizada para fermentação a etanol, xilitol, a ácido láctico, a furfural e outros produtos de valor

agregado. Neste capítulo, a estrutura da biomassa vegetal e, detalhadamente, da hemicelulose serão abordadas, bem como as principais enzimas que atuam na sua degradação e por fim, exemplo de fungo produtor de hemicelulases e aplicação dessas enzimas na hidrólise da biomassa vegetal.

BIOMASSA VEGETAL: LIGNOCELULOSE

A biomassa vegetal representa a fonte renovável mais abundante encontrada na natureza, abrangendo predominantemente, os materiais agroindustriais, os resíduos urbanos e as madeiras de angiospermas e gimnospermas. A lignocelulose é constituída de carboidratos como, celulose e hemicelulose, lignina, pectina, proteínas, cinzas, sal e minerais. Estes polímeros encontram-se conectados por ligações covalentes e não covalentes, formando uma malha entrelaçada na parede das células vegetais (Figura 1).

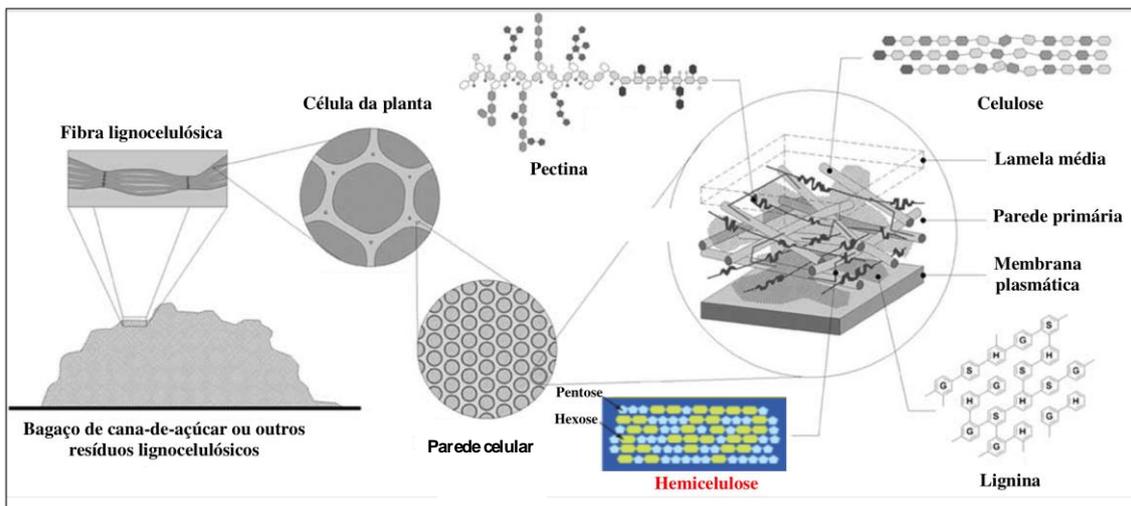


Figura 2 - Estrutura da parede celular do bagaço de cana-de-açúcar ou outros resíduos agroindustriais (adaptado de SIQUEIRA, F. G.; FILHO, E. X. F., 2010).

A composição de vários materiais lignocelulósicos tem sido reportada na literatura e pode variar dependendo da espécie, do tecido vegetal, da fase de crescimento, idade, dentre outros. O bagaço de cana de açúcar (BCA) e o Farelo de Trigo (FT), bem como os demais resíduos lignocelulósicos, apresentam teor de celulose, hemicelulose e lignina que pode variar dependendo das variedades, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição aproximada de alguns resíduos agroindustriais que podem ser usados para sacarificação para a produção de bioetanol.

Biomassa	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Referência
Bagaço de cana de açúcar	35 - 42.2%	25 - 27.6%	22 %	(REZENDE et al., 2011; ROCHA et al., 2015)
Palha de trigo	35 - 46%	23 - 27%	19 - 21%	(CHEN et al., 2015; ZHONG et al., 2015)
Palha de arroz	32-41%	21-24%	09-18%	(VAN DYK; PLETSCHE, 2012)
Sabugo de milho	45%	35%	15%	(HOWARD et al., 2004)
Farelo de trigo	11%	39%	5%	(CRIPWELL et al., 2015)

Na natureza, a biodegradação da biomassa vegetal acontece como um processo lento, principalmente, em função da presença da lignina que restringe o acesso das enzimas hidrolíticas aos componentes dos polissacarídeos (BERLIN et al., 2007).

A lignina é uma macromolécula complexa que apresenta uma estrutura tridimensional altamente irregular em sua constituição sendo composta por unidades de fenil propano. Além disso, é composta por 9 unidades de carbono, derivadas do álcool cinamil substituído, que são cumaril, coniferil e álcool siringil. As ligninas são altamente ramificadas, não cristalinas, com estrutura e composição química variando de acordo com a fonte de origem. A lignina do tipo G-S-H (Guaiacila-Siringila- ρ -Hidroxifenila) normalmente é encontrada em gramíneas (FELDMAN, 1985). Há estudos mostrando que o ácido fórmico e as unidades precursoras de lignina inibem enzimas como celulasas (PANAGIOTOU; OLSSON, 2007). Além disso, a hidrofobicidade da lignina pode promover a adsorção das enzimas (JØRGENSEN; OLSSON, 2006).

Várias pesquisas tem focado na investigação das vias de regulação dos genes que produzem componentes da lignina e formas para reorganizar a composição da lignina, alterando a proporção relativa das suas subunidades visando a hidrólise mais eficiente da biomassa vegetal (SIMMONS; LOQUÉ; RALPH, 2010). Trabalhos que analisam especificamente a influência da proporção siringila (S)/Guaiacila (G) nas propriedades físicas e químicas da parede celular tem sido reportadas (CHEN; DIXON, 2007; PAPA et al., 2012; STUDER et al., 2011; RUBINELLI et al., 2013), além de

estudos que mostram que modificação das ligações químicas dentro e entre estes componentes da lignina podem melhorar a facilidade de desconstrução da biomassa vegetal, o que leva à maior liberação de açúcares monoméricos durante o processo de hidrólise (FURTADO et al., 2014).

A pectina é um heteropolissacarídeo complexo composto por ligações axiais de unidades de ácido α -1,4-D-galacturônico composto por ramosse, arabinose e galactose. As principais enzimas envolvidas na hidrólise da pectina são pectina liases (EC 4.2.2.10), pectato liases (EC 4.2.2.2), e poligalacturonase liases (EC 3.2.1.15 e EC 3.2.1.67) (DE VRIES; VISSER, 2001).

A celulose é um homopolímero linear, formada por monômeros de glicose unidas por ligações glicosídicas do tipo β -1,4. As cadeias de celulose se conectam por ligações de hidrogênio formando fibras de celulose com regiões altamente ordenadas (região cristalina) e regiões onde as fibras estão menos organizadas (região amorfa). Cada resíduo de glicose tem uma orientação de 180° em relação ao resíduo adjacente, formando uma unidade repetitiva que se denomina celobiose. A extremidade da cadeia de celulose em que se encontra um carbono anomérico livre é chamada de extremidade redutora, e a extremidade em que o carbono anomérico não está disponível é chamada de não redutora (BAYER et al., 1998).

As celulasas constituem um complexo de enzimas envolvidas na conversão da celulose a glicose. As enzimas do sistema celulolítico foram classificadas com base no modo de catálise sobre a fibra de celulose e em fungos há três classes principais de enzimas hidrolíticas: endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases (BHAT; BHAT, 1997).

As endoglucanases (EGLs - EC 3.2.1.4) clivam ligações internas nas microfibrilas que se encontram nas regiões amorfas da fibra de celulose, diminuindo o comprimento das mesmas e, conseqüentemente, gerando novas extremidades livres; as exoglucanases ou celobiohidrolases (CBHs - EC 3.2.1.91) agem de maneira progressiva nas extremidades redutoras (CBHI) ou não-redutoras (CBHII) da celulose, com maior afinidade por celulose insolúvel ou microcristalina, liberando glicose e principalmente moléculas de celobiose como produtos; as β -glicosidases (BGLs - EC 3.2.1.21) atuam nos celooligossacarídeos e celobiose liberados e os hidrolisam a glicose (LYND et al., 2002). As BGLs são muito importantes para a degradação de celulose, pois elas impedem a ação inibitória da celobiose sobre as celulasas (BHAT; BHAT, 1997).

Em estudos realizados por Hu e colaboradores (2015) foi demonstrado que as celulases atuam de forma sinérgica. Além disso, as celulases são amplamente utilizadas em interação com as hemicelulases a fim de melhorar os rendimentos na hidrólise da celulose (HU et al., 2013).

HEMICELULOSE

Ao contrário da celulose, a hemicelulose não é quimicamente homogênea. Por serem polímeros heterogêneos, as hemiceluloses podem conter pentoses (β -D-xilose, α -L-arabinose), hexoses (β -D-manose, β -D-glicose, α -D-galactose), ácidos urônicos (α -D-glucurônico, α -D-4-O-metilgalacturônico e α -D-ácidos galacturônico) sendo geralmente formadas por 2 a 6 açúcares diferentes unidos por ligações do tipo β -1,4 e, às vezes, por ligações do tipo β -1,3-glicosídicas (SÁNCHEZ, 2009). As hemiceluloses são classificadas, de acordo com a identidade dos principais açúcares presentes, como glucanas, xilanas, mananas, galactanas e galacturanas. Outros açúcares, como a α -L-ramnose e α -L-fucose podem também estar presentes em pequenas quantidades e os grupos hidroxilas dos açúcares podem ser parcialmente substituídos por grupos acetil (GÍRIO et al., 2010).

A xilana constitui o principal componente da hemicelulose e é o segundo polissacarídeo constituinte da biomassa vegetal mais abundante na natureza após a celulose. A celulose, a hemicelulose e a lignina interagem através de ligações covalentes e não covalentes, sendo a xilana o polissacarídeo encontrado na interface entre a lignina e a celulose. Acredita-se que sua importância está na coesão da fibra e na integridade da parede celular das plantas (COLLINS; GERDAY; FELLER, 2005).

A xilana é um heteropolissacarídeo formado por uma cadeia principal de resíduos de D-xilopiranosose unidos por ligações do tipo β -1,4 podendo conter cadeias laterais nas posições 2 e 3 de resíduos α -L-arabinofuranose, ácido D-glucurônico ou grupamento acetil (ASPINALL, G. O., 1959; COUGHLAN; HAZLEWOOD, 1993). Além disso, os resíduos de L-arabinofuranosil nas cadeias laterais podem ser esterificados com ácido ferúlico e ácido p-cumárico (COUGHLAN; HAZLEWOOD, 1993; KULKARNI; SHENDYE; RAO, 1999).

Considerando o tipo de ramificação presente na cadeia central, as xilanas podem ser denominadas de arabinoxilanas, glucuronoxilanas, arabinoglucuronoxilanas e glucuronoarabinoxilana (DEKKER, R. F. H., 1989). A xilana é ligada quimicamente à lignina pela ligação do tipo ester entre o C-5 do resíduo de α -L-arabinofuranose e o ácido ferúlico (KROON et al., 1999). A arabinoxilana é um dos principais componentes de

matérias-primas que são atualmente estudadas como uma fonte para os biocombustíveis (LAGAERT et al., 2014). O grau de substituição e a natureza dos substituintes da cadeia lateral dependem da fonte e da espécie a partir da qual a xilana foi isolada (GÍRIO et al., 2010).

Algumas xilanas são comercializadas purificadas como, por exemplo, a xilana de madeira de faia (*beechwood*) (Sigma®) que apresenta 83,7% de xilose, 9,4% de ácido glucurônico e 6,9% de outros açúcares em sua composição. A arabinoxilana de trigo (*wheat arabinoxylan*) distribuída pela Megazyme apresenta em sua constituição 36% de arabinose, 51% de xilose, 6,5% de glicose, 4,4% de manose e 1,6% de galactose. A xilana de aveia (*oat spelt*) apresenta 81,4% de xilose, 9,7% de arabinose, 1,1% de galactose e 3,4% de ácido glucurônico (Sigma®) (KORMELINK; VORAGEN, 1993).

A conversão da xilana em unidades de xilose requer a ação sinérgica de um complexo de enzimas denominado sistema xilanolítico (Figura 2). As endoxilanases (EC 3.2.1.8) hidrolisam as ligações glicosídicas do tipo β -1,4 dentro da cadeia da xilana produzindo xilo-oligossacarídeos, os quais são convertidos em xilose pela β -xilosidase (EC 3.2.1.37). A conversão da xilana requer ainda a ação de enzimas acessórias como: arabinofuranosidases (EC 3.2.1.55) que clivam a ligação entre o resíduo lateral de arabinofuranose e a xilose da cadeia central; glucuronidasas (CE 3.2.1.139) que clivam as ligações glicosídicas do tipo α -1,2 entre o ácido glucurônico lateral e a xilose da cadeia central; acetil xilana esterase (CE 3.1.1.72), que clivam as ligações entre o ácido acético e os C-2 e C-3 dos resíduos de xilose; ácido cumárico esterase e ácido fenólico esterase que clivam as ligações do tipo éster entre ácido cumárico e ácido fenólico e os resíduos de arabinofuranose. Todas estas enzimas atuam sinergisticamente para converter a xilana em unidades de xilose (POLIZELI et al., 2005, SÁNCHEZ et al. 2009, GÍRIO et al., 2010).

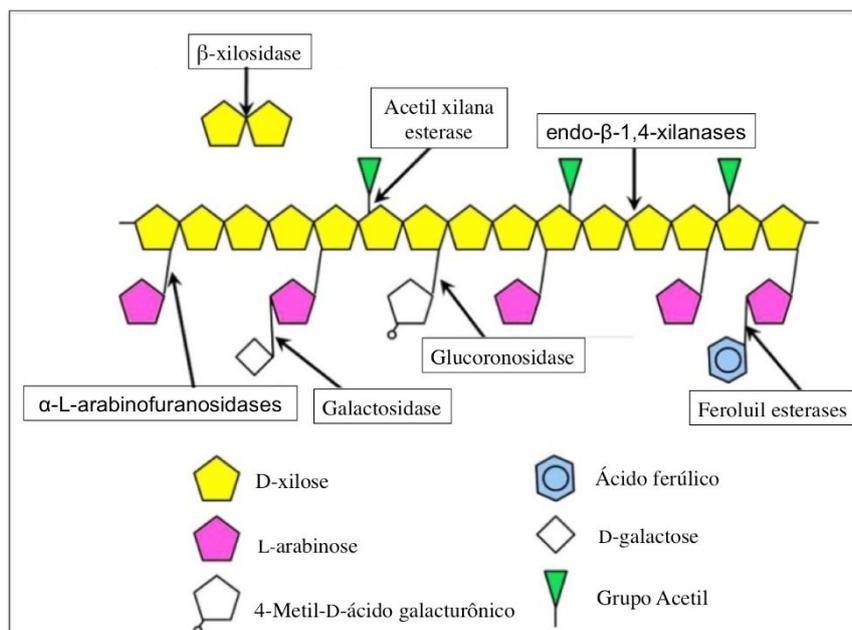


Figura 3 - Enzimas envolvidas na degradação da xilana (Adaptado de RATANAKHANOKCHAI et al., 2013)

Várias enzimas xilanolíticas têm sido empregadas em diversas aplicações biotecnológicas como, por exemplo, para melhorar a digestibilidade na alimentação animal, produção de adoçantes, produtos farmacêuticos, produção de biocombustíveis e fabricação de papel. As xilanases também são empregadas na etapa de hidrólise enzimática para a produção de bioetanol, onde são incluídas nas formulações de celulases para melhorar o rendimento da hidrólise da fração de celulose de resíduos lignocelulósicos por aumentar o acesso de celulases à fibra de celulose (POLIZELI et al., 2005).

Algumas enzimas agem sobre as ligações entre um resíduo da cadeia principal e um substituinte, ao passo que outras enzimas clivam ligações internas ou terminais da cadeias laterais. As enzimas acessórias, são enzimas que atuam sobre os substituintes das cadeias laterais (DE VRIES; VISSER, 2001). Dentre as enzimas que atuam na cadeia principal da xilana, pode-se citar as endo-xilanases e as β -xilosidases e um exemplo de enzima acessória as α -L-arabinofuranosidases. A seguir, será descrito as funções e mecanismos de ação dessas três enzimas.

ENDO-XILANASES

As endo- β -1,4-xilanases (EXLs - EC 3.2.1.8) são as principais enzimas envolvidas na hidrólise da xilana e clivam as ligações glicosídicas do tipo β -1,4 entre os

resíduos de xilose da cadeia central liberando xilooligossacarídeos (XOs) (COLLINS; GERDAY; FELLER, 2005). Os XOs, exibem várias atividades biológicas, como atividade antioxidante e antibacteriana e também podem atuar como anti-tumorigênico e prebióticos (AACHARY; PRAPULLA, 2011). Além disso, os XOs tem sido utilizados na indústria cosmética e farmacêutica.

As endo- β -1,4-xilanases são enzimas complexas que podem ter diferentes propriedades físico-químicas, estruturais, atividades específicas e rendimentos. Essas enzimas formam o maior grupo de enzimas hidrolíticas envolvidas na degradação da xilana (BIELY et al., 1997).

As enzimas que degradam biomassa vegetal, que são enzimas ativas em carboidratos (CAZy - <http://www.cazy.org/>) são agrupadas em diferentes famílias com base nas sequências de aminoácidos. As glicosil hidrolases (EC 3.2.1.-) são um grupo de enzimas que são capazes de hidrolisar a ligação glicosídica entre dois ou mais carboidratos ou entre um carboidrato e uma porção não-carbohidrato (HENRISSAT; DAVIES, 1997).

As EXLs são classificadas nas famílias 5, 8, 10, 11 e 43 das glicosil hidrolases (CANTAREL et al., 2009), entretanto, estão em sua maioria nas famílias 10 (GH10) (41%) e 11 (GH11) (55%). As EXLs pertencentes a essas duas famílias diferem entre si de acordo com suas propriedades físico-químicas (massa molecular e ponto isoelétrico), bem como na sua ação sobre os polissacarídeos e XOs (BIELY et al., 1997).

As xilanases GH 10, geralmente, apresentam massa molecular maior e baixo ponto isoelétrico comparado com as EXLs da família GH 11 que apresentam uma massa molecular média de cerca de 40 kDa. Além disso, as EXLs GH 10 têm um domínio catalítico que exhibe um enovelamento do tipo barril (β/α)₈, ao passo que as EXLs GH 11, têm uma estrutura do tipo β -jelly roll (COLLINS; GERDAY; FELLER, 2005).

A ação das endo-xilanases nos materiais lignocelulósicos é limitada pelo número de substituições de unidades xilopiranosil. Membros da GH 10 são capazes de clivar as ligações glicosídicas na cadeia principal da xilana, próxima dos substituintes, de ácido-4-O-metil-glucurônico, α -L-arabinofuranose e grupamento acetil. As endo-xilanases da família GH 10 exibem maior afinidade por produtos de hidrólise mais curtos que os membros da família GH11 (BIELY et al., 1997).

Estudo comparando duas EXLs termoestáveis de *Thermobacillus xylanilyticus* sobre o farelo de trigo indicaram que uma EXL da família GH11 foi mais eficiente que

uma EXL da GH10 na conversão do farelo de trigo em oligossacarídeos solúveis (BEAUGRAND et al., 2004).

EXLs recombinantes de *Nonomuraea flexuosa* (GH11 - Xyn11A) e de *Thermoascus aurantiacus* (GH10 - Xyn10A) foram purificadas e mostraram-se termoestáveis. Xyn10A exibiu maior eficiência hidrolítica que Xyn11A sobre diversos substratos lignocelulósicos, liberando mais açúcares redutores. Devido à elevada atividade catalítica e termoestabilidade, a Xyn10A demonstrou um grande potencial para hidrólise de materiais lignocelulósicos, enquanto que a Xyn11A apresentou maior potencial para a produção de XOs (ZHANG et al., 2011).

As EXLs podem ser utilizadas em diversos setores da indústria, tais como o biobranqueamento da polpa de celulose para remover as hemiceluloses, a utilização da biomassa hemicelulósica para produzir biocombustíveis, alimentação humana e animal, panificação e produção de xilitol (JUTURU; WU, 2012).

β -XILOSIDASES

As β -xilosidases (XYL) são enzimas-chave no sistema xilanolítico e podem ser utilizadas em muitos processos biotecnológicos como, por exemplo, em sinergismo com celulasas e outras hemicelulasas na produção de bioetanol ou na produção de XOs que são utilizados como prebióticos em indústrias de alimentos (REDDY; KRISHNAN, 2015). Além disso, pode ser utilizada em combinação com EXLs em vários processos para melhorar as propriedades de cozimento da massa de pão, melhorar a digestibilidade de alimentos para animais e na produção de xilose para a formação de xilitol (KNOB; TERRASAN; CARMONA, 2010).

XYLs são parte importante do sistema xilanolítico, atacando as extremidades não redutoras dos XOs para liberar xilose ou outros oligossacarídeos. As funções das XYLs incluem não somente a degradação de XOs, mas também desempenham um papel importante na degradação da xilana, removendo o produto final que inibe as EXLs e que pode limitar a hidrólise da xilana (POLIZELI et al., 2005).

Com base nas sequências de aminoácidos, as β -xilosidases têm sido classificadas nas famílias 3, 39, 43, 52 e 54 das glicosil hidrolases (GH) (<http://www.cazy.org/Glycoside-Hydrolases.html>) (HENRISSAT; DAVIES, 1997).

Muitas XYLs de bactérias e fungos foram purificadas e caracterizadas bioquimicamente (BHATTACHARYYA et al., 1997; KNOB; TERRASAN;

CARMONA, 2010; PAN; YAO; LI, 2001; TENG et al., 2011; YAN et al., 2008). A maioria dos membros da família GH 43 são produzidos por bactérias. Para os fungos filamentosos, a maioria das XYLs descritas estão agrupadas na família GH3 (HENRISSAT; DAVIES, 1997) enquanto apenas algumas XYLs descritas são pertencentes à família GH 43 (TENG et al., 2011; SUZUKI et al., 2010; RAVANAL et al., 2013; YANG et al., 2014).

Várias XYLs fúngicas e bacterianas têm sido relatadas como enzimas bifuncionais, apresentando atividade de β -xilosidase e α -L-arabinofuranosidase (HUY et al., 2013; RAVANAL et al., 2013; SAKKA et al., 1993; UTT et al., 1991; VIBORG et al., 2013). As atividades bifuncionais de β -xilosidases são, devido às semelhanças espaciais entre D-xilopiranosose and L-arabinofuranose, em particular as suas ligações glicosídicas e grupos hidroxilas (HUY et al., 2013).

As XYLs pertencentes às famílias 3, 39, 52 e 54 das glicosil hidrolases operam com retenção da configuração anomérica, enquanto as XYLs da família GH43 atuam tipicamente com inversão do centro do carbono anomérico (JUTURU; WU, 2012). As BXLs são capazes de mediar reações de transxilosilação, que é a capacidade de formar novas ligações glicosídicas, originando mais cadeias de oligossacarídeos (transglicosilação) (DROUET; ZHANG; LEGOY, 1994). Vários estudos relataram β -xilosidases fúngicas com capacidade de transxilosilação (BENASSI et al., 2013; DILOKPIMOL et al., 2011; NIETO-DOMÍNGUEZ et al., 2015; PAN; YAO; LI, 2001; XIA et al., 2015). As XYLs da família GH43 não apresentam transxilosilação em concentrações elevadas de substrato (JORDAN et al., 2007).

Muitas XYLs podem catalisar a transferência de resíduos de xilopiranosil para diversos receptores como, por exemplo, monossacarídeos, dissacarídeos, álcoois (metanol, etanol, isopropanol, butanol e glicerol), componentes fenólicos e hidroquinonas (KNOB; TERRASAN; CARMONA, 2010).

As XYLs, podem ser secretadas ou, na maioria dos casos, elas se encontram aderidas às células e isso pode variar dependendo das condições de cultivo ou do micro-organismo. A temperatura de crescimento e a fonte de carbono pode interferir na secreção de XYL (LENARTOVICZ et al., 2003). No caso dos fungos filamentosos, as XYLs podem permanecer associadas ao micélio durante os estágios iniciais de crescimento e podem ser liberadas no meio mais tarde, quer por secreção ou como um resultado de lise celular. No caso de bactérias e leveduras, as XYLs estão associadas às

células e quando isso ocorre, é necessário que os xilooligossacarídeos entrem na célula antes da hidrólise (PECIAROVÁ; BIELY, 1982).

Dado o exposto e devido a sua importância biotecnológica, vários trabalhos têm sido realizados para isolamento, produção, purificação e caracterização de β -xilosidases.

ARABINOFURANOSIDASES

As α -L-arabinofuranosidases (ABFs - EC 3.2.1.55) são enzimas acessórias que clivam as ligações α -L-arabinofuranosídicas entre os resíduos de arabinofuranose e xilose da cadeia central da xilana. As ABFs atuam sinergisticamente com outras hemicelulases e pectinases para a completa hidrólise da fração de hemicelulose e pectina (NUMAN; BHOSLE, 2006). Essas enzimas já foram purificadas de bactérias, fungos e plantas (FRITZ et al., 2008; LEE et al., 2003; RAWEESRI; RIANGRUNGROJANA; PINPHANICHAKARN, 2008; YAN et al., 2012).

As ABFs têm atraído o interesse de pesquisas devido às suas potenciais aplicações industriais, sendo empregadas sinergicamente com outras hemicelulases em vários desses processos. Dentre as aplicações biotecnológicas das ABFs, destaca-se a produção de compostos medicinais importantes, melhoria dos sabores do vinho, da qualidade do pão, na indústria de polpa celulósica, aumento da digestibilidade de ração animal, clarificação de suco de fruta, produção de bioetanol e a síntese de oligossacarídeos (SAHA, 2000).

As ABFs podem catalisar a hidrólise do terminal não redutor dos resíduos α -L-1,2, α -L-1,3 e α -L-1,5-arabinofuranosil de diferentes polissacarídeos e oligossacarídeos (SAHA, 2000). As ABFs tem sido classificadas, com base na sua sequência de aminoácidos, em seis famílias das glicosil hidrolases (3, 43, 51, 54, 62 e 93) (<http://www.cazy.org/Glycoside-Hydrolases.html>) (HENRISSAT; DAVIES, 1997).

Os genes que codificam as ABFs de diferentes micro-organismos têm sido clonados e expressos em vários organismos hospedeiros (fungos e bactérias), com vistas à produção, caracterização e aplicação dessas enzimas recombinantes em processos biotecnológicos e no estudo do processo de remodelamento da parede celular vegetal durante o crescimento vegetal (NUMAN; BHOSLE, 2006; POGORELKO et al., 2011).

As ABFs desempenham um papel importante por aumentar a hidrólise da fração de xilana de materiais lignocelulósicos. A adição sequencial de uma ABF

(GH43) seguido por uma EXL (GH11), ambas de *Humicola insolens*, aumentou a eficiência de hidrólise da xilana de bétula (*birchwood*) e da xilana de madeira de faia (*beechwood*). O grau de sinergia foi elevado até 1,21 vezes (YANG et al., 2015).

Dependendo da especificidade do substrato, as ABFs podem ser classificadas em três tipos: Tipo A é ativa sobre arabinooligossacarídeos e sobre o substrato sintético de *p*-nitrofenilo (*p*NP) (não ativa em todos os polímeros), o tipo B catalisa a hidrólise de arabinooligossacarídeos, *p*NP e polímeros ramificados (todos os polímeros) e tipo C só é ativa em arabinoxilana, não ativa no *p*NP (BELDMAN et al., 1997).

NUMAN e BHOSLE (2006) ainda dividem as ABFs em três subclasses: Subclasse (1) que inclui enzimas que são capazes de liberar arabinose de simples e duplos resíduos de xilose substituído e são capazes de hidrolizar o *p*NP. Subclasse (2) inclui enzimas que hidrolisam resíduos de arabinose a partir do carbono C2 ou C3 ligadas a um único resíduo de xilose e não hidrolisam *p*NP e Subclasse (3) que inclui enzimas que são capazes de liberar apenas os resíduos de arabinose do carbono C3 de duplas substituições, mas não hidrolisam *p*NP. As arabinoxilanas contêm simples e duplos resíduos de xilose substituídos.

Diferente das XYLs que, normalmente, se encontram aderidas a célula, as ABFs são enzimas extracelulares e alguns estudos demonstram que a sua produção é influenciada pela fonte de carbono e pela composição do meio de crescimento (LAURUENGTANA; PINPHANICHAKARN, 2006; MARTÍNEZ et al., 2006; SAHA; BOTHAST, 1998).

Dentre os fungos produtores de ABFs, destaca-se o fungo *Penicillium purpurogenum* que é conhecido como fungo da podridão-mole. Ele cresce bem em uma variedade de substratos naturais e secreta várias isoformas de enzimas xilanolíticas, incluindo quatro arabinofuranosidases (ABF1, ABF2, ABF3 e ABF4). Essas enzimas foram purificadas, caracterizadas e sequenciadas. A ABF1 pertence a família 54 das glicosil hidrolases, a ABF2 a família 51, a ABF3 a família 43 e a ABF4 a família 54 (CARVALLO et al., 2003; FRITZ et al., 2008; RAVANAL; CALLEGARI; EYZAGUIRRE, 2010; RAVANAL; EYZAGUIRRE, 2015).

A ABF3 é uma enzima bifuncional que apresenta atividade de α -L-arabinofuranosidase e β -xilosidase, apresenta pH ótimo de 5.0 e temperatura ótima de 50 °C. O gene ABF3 foi clonado e expresso em *P. pastoris* e a enzima heteróloga apresentou as mesmas características bioquímicas que a enzima nativa. Além disso, a

enzima recombinante ABF3 apresentou potencial para emprego na indústria de produção de alimentos, visto que foi aplicada na melhoria da qualidade do sabor do vinho. Essa enzima mostrou ser capaz de tolerar o pH ácido e altas concentrações de etanol da produção de vinhos (RAVANAL et al., 2013).

FUNGOS PRODUTORES DE HEMICELULASES - *Humicola grisea* var. *thermoidea*

Os fungos filamentosos são grandes produtores de enzimas extracelulares, além de apresentarem fácil cultivo (POLIZELI et al., 2005). Entre os fungos filamentosos, o gênero *Aspergillus* e *Trichoderma* são amplamente utilizados para a produção de enzimas hidrolíticas (HALTRICH et al., 1996).

Entre os fungos produtores de enzimas, o gênero *Humicola* tem sido reportado como produtor de celulases e hemicelulases termoestáveis. Vários genes de celulases e hemicelulases de *H. insolens* e *H. grisea* foram clonados e foi observado que estas espécies têm genes de celulase e xilanases que são altamente homólogos uns aos outros (SOUZA et al., 2014).

O fungo deuteromiceto *H. grisea* var. *thermoidea* foi isolado de compostagem na Universidade Federal de Viçosa (CHAVES, 1982). É caracterizado como um fungo aeróbico que sobrevive em temperaturas que variam de 20 a 50°C, apresentando crescimento ótimo entre 40 e 42°C. Trata-se de um fungo termofílico, que tem demonstrado a capacidade de secretar várias enzimas termoestáveis como celulases (DE AZEVEDO et al., 1990; OLIVEIRA et al., 2013), β - glicosidases (FERREIRA FILHO, 1996; PERALTA et al., 1997), xilanases (DÜSTERHÖFT et al., 1997; LUCENA-NETO; FERREIRA-FILHO, 2004), β -xilosidases (IEMBO et al., 2006) e feroluil esterases (MANDALARI et al., 2008).

As enzimas produzidas pelo fungo *H. grisea* apresentam potencial biotecnológico. Estas enzimas foram empregadas com sucesso na bioconversão de materiais lignocelulósicos (DE-PAULA; RAMOS; DE OLIVEIRA AZEVEDO, 1999). O fungo também pode ser utilizado como um doador do genes heterólogos para a produção de enzimas industriais e para complementar coquetéis enzimáticas (TAKASHIMA et al., 1999a).

O fungo *H. grisea* é capaz de secretar celulases e hemicelulases quando cultivado na presença de vários substratos lignocelulósicos como, por exemplo, bagaço

de cana-de-açúcar (BCA), sabugo de milho (SM), farelo de trigo (FT), palha de cereal e palha de arroz (PA) (CARVALHO, W. R., 2008; RAMOS, G. P., 2010).

Quando cultivado em materiais lignocelulósicos, como BCA e palha de cereal moída (Ball-Milled Straw – BMS), o fungo *H. grisea* é capaz de secretar várias enzimas hidrolíticas, dentre elas destaca-se a produção de uma proteína com cerca de 49.6 kDa que corresponde a uma celobiohidrolase (CBH1.2) (DE PAULA; POÇAS-FONSECA; DE OLIVEIRA AZEVEDO, 2003). De acordo com a fonte de carbono no meio de cultura, genes de *H. grisea* que codificam celobiohidrolases são diferencialmente expressos como o gene *cbh1.1* e o *cbh1.2* (POÇAS-FONSECA et al., 2000). O gene da *cbh1.2* de *H. grisea* foi expresso na levedura metilotrófica *Pichia pastoris* e a enzima secretada apresentou massa molecular estimada de 47 kDa, temperatura ótima de 60°C, pH ótimo de 8,5 e atividade exo e endoglucanase, sendo ativa contra papel de filtro Whatman nº1, carboximetilcelulose (CMC) e avicel (Sigma) (OLIVEIRA et al., 2013).

Na presença de FT como fonte de carbono, o fungo *H. grisea* é capaz de secretar, principalmente, xilanases, destacando-se uma endoxilanase de 23 kDa, que foi caracterizada e purificada apresentando temperatura ótima de 65 °C, pH ótimo de 5,5 e pI de 6,5 (CARVALHO, W.R., 2003). O gene que codifica essa endoxilanase de 23 kDa (*hxyn2*) foi isolado e expresso no fungo *Trichoderma reesei*, sendo ativa contra xilana “oat spelt” (DE FARIA et al., 2002). Esse gene também foi expresso em *P. pastoris* com o objetivo de purificá-la e caracterizá-la bioquimicamente. A enzima denominada de HXYN2 foi purificada e apresentou pH ótimo de 6,5, temperatura ótima de 60°C, alta estabilidade na faixa de pH entre 5,5-7,5, meia-vida de 20 min a 60°C e valores de 7,9 mg/mL e 235,4 µmol/(min.mL) para k_m e $V_{máx}$ (CARVALHO, W. R., 2008).

Para o estudo da endoxilanase HXYN2, um modelo foi construído por homologia e mostrou que essa enzima pertence à família 11 das glicosil hidrolases e esse modelo mostrou que a estabilidade térmica da proteína HXYN2, em comparação com xilanases mesófilas, pode ser explicado por uma rede eletrostática adicional e resíduos aromáticos expostos (DE FREITAS et al., 2003).

A enzima recombinante HXYN2 foi utilizada em um mix enzimático e foi aplicada no processo de hidrólise enzimática da fração de hemicelulose de BCA e palha de cana-de-açúcar (PCA) e SM. O sobrenadante de cultura do fungo *H. grisea* cultivado em BCA foi suplementado com a endoxilanase HXYN2 e observou-se uma taxa de conversão da fração de hemicelulose de 42,8 % para o SM, 9,6 % para BCA e 20 % para PCA (CARVALHO, W. R., 2008).

A enzima HXYN2 apresenta grande potencial em processos industriais, visto que além da eficiência nos processos de hidrólise, se mostrou eficiente no processo de biobranqueamento de polpa de celulose (MORIYA; GONÇALVES; FARIA, 2005) e em ensaios de panificação (BASTOS, F. M., 2008).

Além das enzimas HXYN2 e CBH1.2, outras enzimas de *H. grisea* foram expressas de forma heteróloga como BGLs (BENOLIEL et al., 2010; TAKASHIMA et al., 1999a), EGLs (EGL2, EGL3 e EGL4) (TAKASHIMA et al., 1996, 1999b), e uma CBH (CBH 1) (TAKASHIMA et al., 1996).

RAMOS (2010) analisou a produção de celulasas e xilanases pelo fungo *H. grisea* cultivado em BCA, FT, SM e PA. Os resultados demonstraram que o BCA foi o melhor indutor da produção de celulasas enquanto que o FT o melhor indutor da produção de xilanases. Em ensaios de zimograma analisou-se o perfil de celulasas e xilanases secretadas e os resultados demonstraram que o fungo secretou diferentes tipos de celulasas e xilanases quando cultivado em BCA e FT.

O sobrenadante de cultura de *H. grisea* cultivado em FT e BCA foram utilizados conjuntamente em ensaios de hidrólise da fração de xilana do BCA pré-tratado por explosão a vapor. Para melhorar a hidrólise, os sobrenadantes foram suplementados com as enzimas recombinantes: HXYN2, CBH1.2 e com uma β -xilosidase recombinante (XYNB2) da bactéria *Caulobacter crescentus* (GRACIANO et al., 2012) e testado na hidrólise da fração de xilana do BCA pré-tratado por *steam-explosion*, demonstrando que as enzimas recombinantes agiram em conjunto aumentando a eficiência de conversão da xilana a xilose. Entretanto, os experimentos de planejamento fatorial demonstraram que o uso de maior concentração da β -xilosidase pode aumentar ainda mais a conversão.

HIDRÓLISE DA FRAÇÃO DE HEMICELULOSE

A hidrólise da fração de hemicelulose é importante para alcançar rendimentos elevados de açúcares fermentescíveis. A hemicelulose é mais facilmente hidrolisada em comparação com celulose devido a sua estabilidade térmica e química que é, normalmente, inferior a da celulose devido à baixa cristalinidade e menor grau de polimerização. Os açúcares dominantes nas hemiceluloses são manose em madeiras macias (*softwoods*) e xilose em madeiras duras (*hardwoods*) e resíduos agrícolas (GÍRIO et al., 2010).

O processo de pré-tratamento é requerido com o objetivo de solubilização e

separação de um ou mais componentes da biomassa vegetal. Podem ser utilizadas as seguintes técnicas: físicas (trituração e hidrotermólise), químicas (ácida, alcalina, solventes, ozônio), físico-químicas (explosão a vapor, explosão com amônia) e biológicas, entre outras. Em cada opção a biomassa é reduzida em tamanho e sua estrutura física é desestruturada (KHOO, 2015; MOSIER et al., 2005).

O objetivo final, de qualquer tecnologia de pré-tratamento para produção de etanol, é conseguir um equilíbrio entre as taxas de produção de etanol e o custo de produção (TAO et al., 2011). Para isso, as condições ideais de pré-tratamento devem ser analisadas visando recuperação máxima de açúcares solúveis, sendo necessário verificar seus impactos sobre as matérias-primas, vantagens e desvantagens, bem como os rendimentos de fermentação (AGBOR et al., 2011).

As hemiceluloses são, normalmente, removidas durante o processo de pré-tratamento. A conversão microbiana da fração hemicelulose na forma monomérica é importante para aumentar a produção de etanol combustível a partir de resíduos lignocelulósicos (GÍRIO et al., 2010).

Dependendo do tipo do pré-tratamento empregado, algumas das hemiceluloses, principalmente a xilana de resíduos agrícolas e de madeira, permanecem associadas com a fração insolúvel da celulose. Em função disso, as hemiceluloses solúveis podem inibir a atividade da celulase. O acesso limitado das celulasas na celulose é um fator que exige a utilização de doses relativamente elevadas de enzimas para atingir a hidrólise da celulose eficaz (ARANTES; SADDLER, 2011).

A adição de xilana *birchwood* reduz a hidrólise enzimática realizada pelas celulasas (endoglucanases e celobiohidrolases) de palha de trigo e avicel, diminuindo drasticamente a formação de celobiose (ZHANG; TANG; VIIKARI, 2012). Um dos principais efeitos benéficos da suplementação de xilanases durante a sacarificação de biomassa é a acessibilidade melhorada à celulose como resultado da solubilização da xilana (HU; ARANTES; SADDLER, 2011).

O sinergismo entre enzimas que atuam na cadeia principal e enzimas acessórias desramificadoras também é necessário para a completa desconstrução da xilana. Dentre as enzimas acessórias que removem ramificações da xilana estão as α -glicuronidasas, α -L-arabinofuranosidase, feruloil e p-cumaroil esterases e acetil xilana esterases (SUN et al., 2015).

A adição de pequenas quantidades de endoxilanase, feruloil esterase e uma acetil xilana esterase aumentou significativamente (13-84%) a hidrólise da celulose de

palha de milho pela CBH I (Cel7A) de *T. reesei* (SELIG et al., 2008). A adição de endoxilanase em um mix de celulases comerciais melhorou significativamente a conversão de bagaço de sorgo em glicose bem como uma redução do tempo de conversão demonstrando ser promissor para a indústria por reduzir custos e tempo de hidrólise (PENGILLY et al., 2015).

A utilização de enzimas termoestáveis durante o processo de hidrólise enzimática apresenta várias vantagens. As temperaturas elevadas reduzem o risco de contaminação por micro-organismos mesófilos além de melhorar desempenho de hidrólise devido à termoestabilidade das enzimas a altas temperaturas, além de serem mais resistentes ao pH e reagentes químicos em meios de reação (ARORA; BEHERA; KUMAR, 2015).

Durante a hidrólise da lignocelulose, muitas enzimas com diferentes atividades são requeridas para garantir a hidrólise eficiente das frações de celulose e hemicelulose. Estes estudos incluem a utilização de misturas com diferentes celulases, com atividades de endo e exoglucanases, (FANG; XIA, 2015), β -glicosidases (DOTSENKO et al., 2015), endo-xilanases (GONÇALVES et al., 2015), feroluil esterases (ZHANG et al., 2015), expansinas (BUNTERNGSOOK et al., 2015) e enzimas oxidativas (SUN et al., 2015).

Para potencializar a utilidade industrial de uma enzima, pode-se usar um sistema de expressão heteróloga, por exemplo, *Escherichia coli* e *P. pastoris*. Várias enzimas já foram expressas por esses sistemas. Enzimas lignocelulolíticas precisam estar disponíveis em grandes quantidades e a um preço baixo para permitir processos biotecnológicos sustentáveis e econômicos.

Nos últimos anos, a levedura *P. pastoris*, tornou-se um hospedeiro atraente para a produção de proteínas heterólogas, devido algumas propriedades favoráveis como: altos níveis de expressão sob o controle do promotor *AOX1* que permite a transcrição dos produtos gênicos a ele fusionados sob regulação de metanol, integração do cassete de expressão no genoma da levedura de forma estável, além de ser capaz de realizar modificações pós-traducionais (CEREGHINO; CREGG, 2000). Além disso, o meio de cultura simples e o fácil manuseio em biorreatores permitem culturas de *P. pastoris* em larga escala e de baixo custo. Todas estas características contribuem para o elevado potencial da *P. pastoris* para a redução de custos durante a produção de enzimas lignocelulolíticas (MELLITZER et al., 2012).

Proteínas acessórias também podem melhorar a eficiência da hidrólise. Um exemplo disso são as expansinas, que são proteínas de parede celular vegetal que clivam as ligações de hidrogênio, afrouxando a fibra e aumentando a acessibilidade de outras enzimas aos polissacarídeos (COSGROVE et al., 2002). Proteínas relacionadas a expansina já foram identificadas em bactérias e fungos, e ao que parece elas colaboram com a invasão microbiana no corpo da planta. O efeito da suplementação com expansinas bacterianas em coquetéis enzimáticos, contendo celulosas/hemicelulosas durante a hidrólise mostrou ser eficiente, apresentando o maior efeito em arabinoxilana com até 12,2 vezes mais açúcares redutores do que a reação com as enzimas sozinhas (BUNTERNGSOOK et al., 2015).

Quando o efeito de duas ou mais enzimas atuando em cooperação é maior do que o efeito de enzimas individuais trata-se de sinergismo. A suplementação de uma mistura contendo xilanase, β -xilosidase e acetil xilana esterase com uma arabinofuranosidase de *Streptomyces* sp. PC22 apresentou efeito sinérgico significativo na degradação da xilana *oat spelt*, SM e casca de milho com um aumento de 1,25, 1,32 e 1,21 vezes na quantidade de açúcares redutores liberados, respectivamente (RAWEEESRI; RIANGRUNGROJANA; PINPHANICHAKARN, 2008).

Além disso, foi demonstrado que a ordem das reações de suplementação podem alterar a liberação de açúcares redutores e conseqüentemente a sinergia. O maior grau de sinergia foi obtido nas reações sequenciais quando foi realizada uma reação prévia utilizando as enzimas desramificadoras (ABFs) seguida das que hidrolisam a cadeia principal (xilanase/ β -xilosidase) (RAHMAN et al., 2003; RAWEEESRI; RIANGRUNGROJANA; PINPHANICHAKARN, 2008).

O sinergismo entre duas β -xilosidases e um endoxilanase de *H. insolens* foi demonstrado sobre a degradação de xilana *beechwood*, *birchwood* e *wheat arabinoxylan*, apresentando um grau de sinergismo de 1,29 com as duas enzimas (YANG et al., 2014). Uma β -xilosidase termo-tolerante de *Aspergillus* sp. BCC125 produzida em *P. pastoris* KM71 demonstrou sinergia com uma xilanase, também de *Aspergillus* sp. BCC125, durante a hidrólise da xilana *birchwood*, bem como durante a sacarificação e fermentação simultâneas (SSF) *in vivo* com *Pichia stipitis* (WONGWISANSRI et al., 2013).

Misturas enzimáticas contendo uma endoxilanase, β -xilosidase e uma α -L-arabinofuranosidase recombinantes de *Fusarium graminearum* produzidas na bactéria *E. coli* foram testadas na hidrólise da xilana obtida de aveia. Os melhores resultados

foram obtidos com a mistura enzimática contendo as três enzimas, promovendo um aumento de 14 a 60 vezes na concentração de xilose, quando comparado com a utilização das enzimas isoladamente, demonstrando assim a importância da utilização das misturas reacionais com diferentes atividades enzimáticas (CARAPITO et al., 2009).

A adição de uma arabinofuranosidase de *Pleurotus ostreatus* aumentou a hidrólise enzimática de vários substratos lignocelulósicos por coquetéis comerciais. A recuperação de xilose foi de até 56,4% quando a mistura foi suplementada com uma arabinofuranosidase (MARCOLONGO et al., 2014).

Uma endoxilanasase de *A. nidulans* e uma α -L-arabinofuranosidase de *A. niger*, foram aplicados em um coquetel de enzimas comerciais para hidrólise enzimática de palha de trigo pré-tratadas por explosão a vapor. Ambas enzimas trabalham sinergicamente e sua suplementação resultou em maior liberação de açúcar (ALVIRA; NEGRO; BALLESTEROS, 2011).

Para estudos de hidrólise, nem sempre são utilizadas enzimas nativas ou recombinantes purificadas. Muitas vezes, fungos ou bactérias crescidos em meio indutor secretam enzimas hidrolíticas e seu sobrenadante de cultura pode ser utilizado no processo de hidrólise enzimática. Três fungos (*Trametes multicolor*, *Sclerotium rolfsii* e *N. crassa*) foram cultivados em diferentes substratos e a produção de várias enzimas hidrolíticas e oxidativas extracelulares envolvidas na degradação da pectina, hemicelulose e celulose foram monitoradas. Posteriormente, a capacidade dos sobrenadantes de cultura para hidrolisar polpa de beterrada pré-tratada foi avaliada. Verificou-se que a combinação de várias atividades (pectinolítica, hemicelulolítica e celulolítica) atuou sinergicamente na hidrólise de polpa de beterraba liberando um teor maior de açúcares redutores (KRACHER et al., 2014).

Métodos para promover a degradação da xilana dos materiais lignocelulósicos de forma mais eficiente são requeridos a fim de se recuperar a fração de hemicelulose, a qual é abundante na natureza. As aplicações comerciais das enzimas do complexo xilanolítico exigem que elas sejam capazes de trabalhar em ampla faixa de pH, que apresentem uma alta atividade específica, alta estabilidade térmica e especificidade de substrato. Portanto, é necessário encontrar enzimas que possam hidrolisar a biomassa sob condições extremas do processamento industrial. Assim, o *screening* por novos micro-organismos produtores de enzimas do sistema xilanolítico torna-se de fundamental importância.

REFERÊNCIAS

- AACHARY, A. A.; PRAPULLA, S. G. Xylooligosaccharides (XOS) as an emerging prebiotic: microbial synthesis, utilization, structural characterization, bioactive properties, and applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 1, p. 2–16, 2011.
- AGBOR, V. B. et al. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 675–685, nov. 2011.
- ALVIRA, P.; NEGRO, M. J.; BALLESTEROS, M. Effect of endoxylanase and α -L-arabinofuranosidase supplementation on the enzymatic hydrolysis of steam exploded wheat straw. **Bioresource technology**, v. 102, n. 6, p. 4552–4558, 2011.
- ARANTES, V.; SADDLER, J. N. Cellulose accessibility limits the effectiveness of minimum cellulase loading on the efficient hydrolysis of pretreated lignocellulosic substrates. **Biotechnology for Biofuels**, v. 4, n. 1, p. 1–17, 2011.
- ARORA, R.; BEHERA, S.; KUMAR, S. Bioprospecting thermophilic/thermotolerant microbes for production of lignocellulosic ethanol: A future perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 51, p. 699–717, 2015.
- ASPINALL, G. O. Structural chemistry of the hemicelluloses. v. 14, p. 429–68, 1959.
- BASTOS, F. M. **Expressão heteróloga do gene Hxyn2 do fungo *Humicola grisea* var. *thermoidea* em *Pichia pastoris*: Produção e purificação da enzima HXYN2r e aplicação em testes de panificação**. Dissertação (Mestrado em Biologia)—Goiânia, Goiás: Universidade Federal de Goiás, Mai 2008.
- BAYER, E. A. et al. Cellulose, cellulases and cellulosomes. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 8, n. 5, p. 548–557, out. 1998.
- BEAUGRAND, J. et al. Impact and efficiency of GH10 and GH11 thermostable endoxylanases on wheat bran and alkali-extractable arabinoxylans. **Carbohydrate research**, v. 339, n. 15, p. 2529–2540, 2004.
- BELDMAN, G. et al. Arabinans and arabinan degrading enzymes. **Adv. Macromol. Carbohydr. Res**, v. 1, n. 1, p. 64, 1997.
- BENASSI, V. M. et al. Immobilization and biochemical properties of a β -xylosidase activated by glucose/xylose from *Aspergillus niger* USP-67 with transxylosylation activity. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 89, p. 93–101, maio 2013.
- BENOLIEL, B. et al. Expression of a Glucose-tolerant β -glucosidase from *Humicola grisea* var. *thermoidea* in *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 160, n. 7, p. 2036–2044, 1 abr. 2010.
- BERLIN, A. et al. Optimization of enzyme complexes for lignocellulose hydrolysis. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 97, n. 2, p. 287–296, 2007.

- BHAT, M. K.; BHAT, S. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. **Biotechnology Advances**, v. 15, n. 3–4, p. 583–620, 1997.
- BHATTACHARYYA, S. et al. Purification and Characterization of an Extracellular β -Xylosidase of *Termitomyces clypeatus*. **Biotechnology Progress**, v. 13, n. 6, p. 822–827, 1997.
- BIELY, P. et al. Endo- β -1, 4-xylanase families: differences in catalytic properties. **Journal of biotechnology**, v. 57, n. 1, p. 151–166, 1997.
- BUNTERNGSOOK, B. et al. Binding characteristics and synergistic effects of bacterial expansins on cellulosic and hemicellulosic substrates. **Bioresource technology**, v. 176, p. 129–135, 2015.
- CANTAREL, B. L. et al. The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for glycogenomics. **Nucleic acids research**, v. 37, n. suppl 1, p. D233–D238, 2009.
- CARAPITO, R. et al. Efficient hydrolysis of hemicellulose by a *Fusarium graminearum* xylanase blend produced at high levels in *Escherichia coli*. **Bioresource technology**, v. 100, n. 2, p. 845–850, 2009.
- CARVALHO, W.R. **Produção e Purificação da Xilanase de 23 kDa do Fungo Termofílico *Humicola grisea* var. *thermoidea*. Faculdade de Engenharia Química de Lorena-SP. 2003.**, 2003.
- CARVALHO, W. R. **Caracterização bioquímica da endoxilanase recombinante (HXYN2r) do fungo termofílico *Humicola grisea* var. *thermoidea* e sua aplicação na sacarificação de resíduos agrícolas.** Tese (Doutorado em Ciências da Saúde)—Goiania, Goiás: Universidade Federal de Goiás, 30 jun. 2008.
- CEREGHINO, J. L.; CREGG, J. M. Heterologous protein expression in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. **FEMS microbiology reviews**, v. 24, n. 1, p. 45–66, 2000.
- CHAVES, V.M.G. Algumas características fisiológicas e propriedades do complexo celulase de um fungo termófilo isolado de compostagem. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Viçosa-MG. 1982.
- CHEN, F.; DIXON, R. A. Lignin modification improves fermentable sugar yields for biofuel production. **Nat Biotech**, v. 25, n. 7, p. 759–761, jul. 2007.
- CHEN, H. et al. A comparison of several organosolv pretreatments for improving the enzymatic hydrolysis of wheat straw: Substrate digestibility, fermentability and structural features. **Applied Energy**, v. 150, p. 224–232, 15 jul. 2015.
- COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, n. 1, p. 3–23, 1 jan. 2005.
- COSGROVE, D. J. et al. The growing world of expansins. **Plant and Cell Physiology**, v. 43, n. 12, p. 1436–1444, 2002.

COUGHLAN, M.; HAZLEWOOD, G. beta-1,4-D-xylan-degrading enzyme systems: biochemistry, molecular biology and applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 17, n. 3, p. 259–289, 1993.

CRIPWELL, R. et al. Utilisation of wheat bran as a substrate for bioethanol production using recombinant cellulases and amylolytic yeast. **Applied Energy**, 2015.

DE AZEVEDO, M. O. et al. Cloning, sequencing and homologies of the cbh-1 (exoglucanase) gene of *Humicola grisea* var. *thermoidea*. **Journal of general microbiology**, v. 136, n. 12, p. 2569–2576, 1990.

DE FARIA, F. P. et al. Expression and processing of a major xylanase (XYN2) from the thermophilic fungus *Humicola grisea* var. *thermoidea* in *Trichoderma reesei*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 34, n. 2, p. 119–123, 2002.

DE FREITAS, S. M. et al. Structural Contributions for Thermostability of a New Endo-1, 4- β -xylanase from the Fungus *Humicola grisea*. **Internet Electronic Journal of Molecular Design**, v. 2, p. 835–851, 2003.

DEKKER, R. F. H. Biodegradation of the Hetero-1,4-Linked Xylans. In: **Plant Cell Wall Polymers**. ACS Symposium Series. [s.l: s.n.]. v. 399p. Chapter 45, 619–629.

DE-PAULA, E. H.; RAMOS, L. P.; DE OLIVEIRA AZEVEDO, M. The potential of *Humicola grisea* var. *thermoidea* for bioconversion of sugar cane bagasse. **Bioprocessing and Characterization of Lignocellulosics**, v. 68, n. 1, p. 35–41, abr. 1999.

DE PAULA, E.; POÇAS-FONSECA, M.; DE OLIVEIRA AZEVEDO, M. The product of *Humicola grisea* var. *thermoidea* cbh1.2 gene is the major expressed protein under induction by lignocellulosic residues. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 19, n. 6, p. 631–635, 1 ago. 2003.

DE VRIES, R. P.; VISSER, J. *Aspergillus* enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 65, n. 4, p. 497–522, 2001.

DILOKPIMOL, A. et al. Enzymatic synthesis of β -xylosyl-oligosaccharides by transxylosylation using two β -xylosidases of glycoside hydrolase family 3 from *Aspergillus nidulans* FGSC A4. **Carbohydrate Research**, v. 346, n. 3, p. 421–429, 15 fev. 2011.

DOTSENKO, G. S. et al. Heterologous β -glucosidase in a fungal cellulase system: comparison of different methods for development of multienzyme cocktails. **Process Biochemistry**, 2015.

DROUET, P.; ZHANG, M.; LEGOY, M. D. Enzymatic synthesis of alkyl β -D-xylosides by transxylosylation and reverse hydrolysis. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 43, n. 11, p. 1075–1080, 1994.

DÜSTERHÖFT, E.-M. et al. Purification, characterization, and properties of two xylanases from *Humicola insolens*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 20, n. 6, p. 437–445, 1 maio 1997.

FANG, H.; XIA, L. Cellulase production by recombinant *Trichoderma reesei* and its application in enzymatic hydrolysis of agricultural residues. **Fuel**, v. 143, p. 211–216, 2015.

FELDMAN, D. Wood—chemistry, ultrastructure, reactions, by D. Fengel and G. Wegener, Walter de Gruyter, Berlin and New York, 1984, 613 pp. Price: 245 DM. **Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition**, v. 23, n. 11, p. 601–602, 1985.

FERREIRA FILHO. Purification and characterization of a beta-glucosidase from solid-state cultures of *Humicola grisea* var. *thermoidea*. *Can J Microbiol.* v. 42(1), p. 1–5, 1996.

FRITZ, M. et al. A family 51 α -l-arabinofuranosidase from *Penicillium purpurogenum*: purification, properties and amino acid sequence. **Mycological Research**, v. 112, n. 8, p. 933–942, ago. 2008.

FURTADO, A. et al. Modifying plants for biofuel and biomaterial production. **Plant Biotechnology Journal**, v. 12, n. 9, p. 1246–1258, 2014.

GÍRIO, F. M. et al. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. **Special Issue on Lignocellulosic Bioethanol: Current Status and Perspectives**, v. 101, n. 13, p. 4775–4800, jul. 2010.

GONÇALVES, G. A. et al. Synergistic effect and application of xylanases as accessory enzymes to enhance the hydrolysis of pretreated bagasse. **Enzyme and microbial technology**, v. 72, p. 16–24, 2015.

GRACIANO, L. et al. The cloning, expression, purification, characterization and modeled structure of *Caulobacter crescentus* β -Xylosidase I. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 9, p. 2879–2888, 1 set. 2012.

HALTRICH, D. et al. Production of fungal xylanases. **Bioresource Technology**, v. 58, n. 2, p. 137–161, 1996.

HENRISSAT, B.; DAVIES, G. Structural and sequence-based classification of glycoside hydrolases. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 7, n. 5, p. 637–644, out. 1997.

HOWARD, R. L. et al. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 12, p. 602–619, 2004.

HU, J. et al. The synergistic action of accessory enzymes enhances the hydrolytic potential of a “cellulase mixture” but is highly substrate specific. **Biotechnol Biofuels**, v. 6, n. 1, p. 112, 2013.

HU, J.; ARANTES, V.; SADDLER, J. N. The enhancement of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic substrates by the addition of accessory enzymes such as xylanase: is it an additive or synergistic effect? **Biotechnology for biofuels**, v. 4, n. 1, p. 1–14, 2011.

HUY, N. D. et al. Characterization of a recombinant bifunctional xylosidase/arabinofuranosidase from *Phanerochaete chrysosporium*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 116, n. 2, p. 152–159, ago. 2013.

- IEMBO, T. et al. Purification and partial characterization of a new β -xylosidase from *Humicola grisea* var. *thermoidea*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 5, p. 475–479, 1 maio 2006.
- JORDAN, D. B. et al. Structure-function relationships of a catalytically efficient β -D-xylosidase. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 141, n. 1, p. 51–76, 2007.
- JØRGENSEN, H.; OLSSON, L. Production of cellulases by *Penicillium brasilianum* IBT 20888—Effect of substrate on hydrolytic performance. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, n. 3–4, p. 381–390, 1 fev. 2006.
- JUTURU, V.; WU, J. C. Microbial xylanases: Engineering, production and industrial applications. **Special issue on ACB 2011**, v. 30, n. 6, p. 1219–1227, nov. 2012.
- KHOO, H. H. Review of bio-conversion pathways of lignocellulose-to-ethanol: Sustainability assessment based on land footprint projections. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 46, p. 100–119, jun. 2015.
- KNOB, A.; TERRASAN, C. R. F.; CARMONA, E. C. β -Xylosidases from filamentous fungi: an overview. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 389–407, 1 mar. 2010.
- KORMELINK, F. J. M.; VORAGEN, A. G. J. Degradation of different [(glucurono) arabino] xylans by a combination of purified xylan-degrading enzymes. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 38, n. 5, p. 688–695, 1993.
- KRACHER, D. et al. Fungal secretomes enhance sugar beet pulp hydrolysis. **Biotechnology journal**, v. 9, n. 4, p. 483–492, 2014.
- KROON, P. et al. Release of ferulic acid dehydrodimers from plant cell walls by feruloyl esterases. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 3, p. 428–434, 1999.
- KULKARNI, N.; SHENDYE, A.; RAO, M. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 23, n. 4, p. 411–456, 1 jul. 1999.
- LAGAERT, S. et al. β -Xylosidases and α -l-arabinofuranosidases: Accessory enzymes for arabinoxylan degradation. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 2, p. 316–332, mar. 2014.
- LAURUENGTANA, V.; PINPHANICHAKARN, P. Optimization of culture medium and conditions for α -L-arabinofuranosidase production by *Streptomyces* sp. PC22. **J Sci Res Chula Univ**, v. 31, p. 57–66, 2006.
- LEE, R. C. et al. Bifunctional Family 3 Glycoside Hydrolases from Barley with α -l-Arabinofuranosidase and β -d-Xylosidase Activity CHARACTERIZATION, PRIMARY STRUCTURES, AND COOH-TERMINAL PROCESSING. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 7, p. 5377–5387, 2003.
- LENARTOVICZ, V. et al. Temperature and carbon source affect the production and secretion of a thermostable β -xylosidase by *Aspergillus fumigatus*. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1775–1780, 31 jul. 2003.

LUCENA-NETO, S. DE A.; FERREIRA-FILHO, E. X. Purification and characterization of a new xylanase from *Hemicola grisea* var. *thermoidea*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 1-2, p. 86–90, 2004.

LYND, L. R. et al. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n. 3, p. 506–577, set. 2002.

MANDALARI, G. et al. Production of feruloyl esterases and xylanases by *Talaromyces stipitatus* and *Hemicola grisea* var. *thermoidea* on industrial food processing by-products. **Exploring Horizons in Biotechnology: A Global Venture**, v. 99, n. 11, p. 5130–5133, jul. 2008.

MARCOLONGO, L. et al. The effect of *Pleurotus ostreatus* arabinofuranosidase and its evolved variant in lignocellulosic biomasses conversion. **Fungal Genetics and Biology**, v. 72, p. 162–167, 2014.

MARTÍNEZ, C. et al. Production of *Rhodotorula glutinis*: a yeast that secretes alpha-L-arabinofuranosidase. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 4, p. 0–0, 2006.

MELLITZER, A. et al. Expression of lignocellulolytic enzymes in *Pichia pastoris*. **Microb Cell Fact**, v. 11, n. 1, p. 61, 2012.

MORIYA, R. Y.; GONÇALVES, A. R.; FARIA, F. P. **Enzymatic bleaching of organosolv sugarcane bagasse pulps with recombinant xylanase of the fungus *Hemicola grisea* and with commercial cartazyme HS xylanase** Twenty-Sixth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals. **Anais...Springer**, 2005

MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 6, p. 673–686, abr. 2005.

NIETO-DOMÍNGUEZ, M. et al. Characterization of a novel pH-stable GH3 β -xylosidase from *Talaromyces amestolkiae*: An enzyme displaying regioselective transxylosylation. **Applied and environmental microbiology**, p. AEM. 01744–15, 2015.

NUMAN, M.; BHOSLE, N. α -L-Arabinofuranosidases: the potential applications in biotechnology. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 247–260, 1 abr. 2006.

OLIVEIRA, G. S. et al. An alkaline thermostable recombinant *Hemicola grisea* var. *thermoidea* cellobiohydrolase presents bifunctional (endo/exoglucanase) activity on cellulosic substrates. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 1, p. 19–26, 1 jan. 2013.

PANAGIOTOU, G.; OLSSON, L. Effect of compounds released during pretreatment of wheat straw on microbial growth and enzymatic hydrolysis rates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 96, n. 2, p. 250–258, 2007.

PAN, I.-H.; YAO, H.-J.; LI, Y.-K. Effective extraction and purification of β -xylosidase from *Trichoderma koningii* fermentation culture by aqueous two-phase partitioning. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 28, n. 2–3, p. 196–201, 1 fev. 2001.

PECIAROVÁ, A.; BIELY, P. β -xylosidases and a nonspecific wall-bound β -glucosidase of the yeast *Cryptococcus albidus*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 716, n. 3, p. 391–399, 16 jun. 1982.

PENGILLY, C. et al. Enzymatic hydrolysis of steam-pretreated sweet sorghum bagasse by combinations of cellulase and endo-xylanase. **Fuel**, v. 154, p. 352–360, 2015.

PERALTA, R. M. et al. A highly thermostable β -glucosidase activity from the thermophilic fungus *Humicola grisea* var. *thermoidea*: purification and biochemical characterization. **FEMS Microbiology Letters**, v. 146, n. 2, p. 291–295, 1997.

POÇAS-FONSECA, M. J. et al. Substrate-dependent differential expression of *Humicola grisea* var. *thermoidea* cellobiohydrolase genes. **Canadian journal of microbiology**, v. 46, n. 8, p. 749–752, 2000.

POGORELKO, G. et al. Post-synthetic modification of plant cell walls by expression of microbial hydrolases in the apoplast. **Plant Molecular Biology**, v. 77, n. 4-5, p. 433–445, 1 nov. 2011.

POLIZELI, M. L. T. M. et al. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, n. 5, p. 577–591, 1 jun. 2005.

RAHMAN, A. S. et al. A role of xylanase, α -L-arabinofuranosidase, and xylosidase in xylan degradation. **Canadian journal of microbiology**, v. 49, n. 1, p. 58–64, 2003.

RAMOS, G. P. **Produção de células e xilanases pelo fungo termofílico *Humicola grisea* var. *thermoidea* em diferentes substratos lignocelulósicos**. Dissertação — Goiânia, Goiás: Universidade Federal de Goiás, Ago 2010.

RATANAKHANOKCHAI, K. et al. *Paenibacillus curdlanolyticus* strain B-6 multienzyme complex: A novel system for biomass utilization. **Biomass Now-Cultivation and Utilization**, 2013.

RAVANAL, M. C. et al. *Penicillium purpurogenum* produces two GH family 43 enzymes with β -xylosidase activity, one monofunctional and the other bifunctional: Biochemical and structural analyses explain the difference. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 540, n. 1–2, p. 117–124, dez. 2013.

RAVANAL, M. C.; CALLEGARI, E.; EYZAGUIRRE, J. Novel Bifunctional α -L-Arabinofuranosidase/Xylobiohydrolase (ABF3) from *Penicillium purpurogenum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 15, p. 5247–5253, ago. 2010.

RAVANAL, M. C.; EYZAGUIRRE, J. Heterologous expression and characterization of α -L-arabinofuranosidase 4 from *Penicillium purpurogenum* and comparison with the other isoenzymes produced by the fungus. **Fungal Biology**, v. 119, n. 7, p. 641–647, jul. 2015.

RAWEESRI, P.; RIANGRUNGROJANA, P.; PINPHANICHAKARN, P. α -L-Arabinofuranosidase from *Streptomyces* sp. PC22: Purification, characterization and its synergistic action with xylanolytic enzymes in the degradation of xylan and agricultural residues. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 18, p. 8981–8986, dez. 2008.

- REDDY, S. S.; KRISHNAN, C. Production of high-pure xylooligosaccharides from sugarcane bagasse using crude β -xylosidase-free xylanase of *Bacillus subtilis* KCX006 and their bifidogenic function. **LWT - Food Science and Technology**, In Press, Accepted Manuscript 2015.
- REZENDE, C. A. et al. Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility. **Biotechnology for biofuels**, v. 4, n. 1, p. 1–19, 2011.
- ROCHA, G. J. DE M. et al. Influence of mixed sugarcane bagasse samples evaluated by elemental and physical–chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p. 52–58, fev. 2015.
- RUBINELLI, P. M. et al. Constitutive expression of the *Corngrass1* microRNA in poplar affects plant architecture and stem lignin content and composition. **Biomass and Bioenergy**, v. 54, p. 312–321, jul. 2013.
- SAHA, B. C. α -l-Arabinofuranosidases: biochemistry, molecular biology and application in biotechnology. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 5, p. 403–423, ago. 2000.
- SAHA, B. C.; BOTHAST, R. J. Effect of carbon source on production of α -L-arabinofuranosidase by *Aureobasidium pullulans*. **Current microbiology**, v. 37, n. 5, p. 337–340, 1998.
- SÁNCHEZ, C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 2, p. 185–194, mar. 2009.
- SELIG, M. J. et al. Synergistic enhancement of cellobiohydrolase performance on pretreated corn stover by addition of xylanase and esterase activities. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4997–5005, 2008.
- SIMMONS, B. A.; LOQUÉ, D.; RALPH, J. Advances in modifying lignin for enhanced biofuel production. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 13, n. 3, p. 312–319, jun. 2010.
- SIQUEIRA, F. G.; FILHO, E. X. F. Plant Cell Wall as a Substrate for the Production of Enzymes with Industrial Applications. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v. 7, n. 1, p. 54 – 60, 2010.
- SOUZA, F. H. M. et al. Gene cloning, expression and biochemical characterization of a glucose-and xylose-stimulated β -glucosidase from *Humicola insolens* RP86. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 106, p. 1–10, 2014.
- STUDER, M. H. et al. Lignin content in natural *Populus* variants affects sugar release. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 15, p. 6300–6305, 2011.
- SUN, F. F. et al. Accessory enzymes influence cellulase hydrolysis of the model substrate and the realistic lignocellulosic biomass. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 79, p. 42–48, 2015.

- SUZUKI, S. et al. Characterization of *Aspergillus oryzae* glycoside hydrolase family 43 β -xylosidase expressed in *Escherichia coli*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 109, n. 2, p. 115–117, fev. 2010.
- TAKASHIMA, S. et al. Cloning, sequencing, and expression of the cellulase genes of *Humicola grisea* var. *thermoidea*. **Journal of Biotechnology**, v. 50, n. 2–3, p. 137–147, 1 out. 1996.
- TAKASHIMA, S. et al. Molecular cloning and expression of the novel fungal β -glucosidase genes from *Humicola grisea* and *Trichoderma reesei*. **Journal of Biochemistry**, v. 125, n. 4, p. 728–736, 1999a.
- TAKASHIMA, S. et al. Comparison of gene structures and enzymatic properties between two endoglucanases from *Humicola grisea*. **Journal of Biotechnology**, v. 67, n. 2–3, p. 85–97, 22 jan. 1999b.
- TAO, L. et al. Process and techno-economic analysis of leading pretreatment technologies for lignocellulosic ethanol production using switchgrass. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 24, p. 11105–11114, dez. 2011.
- TENG, C. et al. High-level expression of extracellular secretion of a β -xylosidase gene from *Paecilomyces thermophila* in *Escherichia coli*. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 2, p. 1822–1830, jan. 2011.
- VAN DYK, J. S.; PLETSCHE, B. I. A review of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes—Factors affecting enzymes, conversion and synergy. **Special issue on ACB 2011**, v. 30, n. 6, p. 1458–1480, nov. 2012.
- WONGWISANSRI, S. et al. High-level production of thermotolerant β -xylosidase of *Aspergillus* sp. BCC125 in *Pichia pastoris*: Characterization and its application in ethanol production. **Bioresource technology**, v. 132, p. 410–413, 2013.
- YANG, X. et al. Two xylose-tolerant GH43 bifunctional β -xylosidase/ α -arabinosidases and one GH11 xylanase from *Humicola insolens* and their synergy in the degradation of xylan. **Food Chemistry**, v. 148, p. 381–387, 1 abr. 2014.
- YANG, X. et al. A New GH43 α -Arabinofuranosidase from *Humicola insolens* Y1: Biochemical Characterization and Synergistic Action with a Xylanase on Xylan Degradation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, n. 4, p. 1960–1970, 1 fev. 2015.
- YAN, Q. et al. Purification and characterization of a novel thermostable α -l-arabinofuranosidase (α -l-AFase) from *Chaetomium* sp. **Biomass-derived pentoses**, v. 47, n. 3, p. 472–478, mar. 2012.
- YAN, Q. J. et al. A xylose-tolerant β -xylosidase from *Paecilomyces thermophila*: Characterization and its co-action with the endogenous xylanase. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5402–5410, set. 2008.

ZHANG, J. et al. Thermostable recombinant xylanases from *Nonomuraea flexuosa* and *Thermoascus aurantiacus* show distinct properties in the hydrolysis of xylans and pretreated wheat straw. **Biotechnology for biofuels**, v. 4, n. 1, p. 12, 2011.

ZHANG, J.; TANG, M.; VIKARI, L. Xylans inhibit enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials by cellulases. **Bioresource technology**, v. 121, p. 8–12, 2012.

ZHANG, S.-B. et al. Expression of feruloyl esterase A from *Aspergillus terreus* and its application in biomass degradation. **Protein Expression and Purification**, 2015.

ZHONG, C. et al. Selective hydrolysis of hemicellulose from wheat straw by a nanoscale solid acid catalyst. **Carbohydrate Polymers**, v. 131, p. 384–391, 20 out. 2015.

**CARACTERIZAÇÃO TEMPORAL DA COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA
DO RIO MEIA PONTE E DO RIBEIRÃO JOÃO LEITE: MANANCIAIS DE
SUPERFÍCIE UTILIZADOS NO ABASTECIMENTO PÚBLICO DE GOIÂNIA,
GOIÁS, BRASIL.**

*Wedeusleia Alves de Oliveira*¹

*Maria Tereza Faria*²

INTRODUÇÃO

A demanda por água tem aumentado significativamente e a disponibilidade hídrica em condições de utilização para fornecimento à população não tem crescido na mesma proporção (CARNEIRO *et al.*, 2005). Sendo um dos principais fatores limitantes ao desenvolvimento das cidades. Os mananciais de água doce têm como prioridade o abastecimento público principalmente em situações de escassez e devem ser alvos de atenção especial por parte do poder público e da população em geral (BRASIL, 2003).

A comunidade fitoplanctônica é constituída por organismos microscópicos fotossintetizantes, adaptados a passar parte ou todo o tempo da sua vida em suspensão em águas abertas oceânicas ou continentais como rios, lagos e lagoas (REYNOLDS, 2006).

O mesmo autor afirma que os ambientes aquáticos possuem comunidades fitoplanctônica com variedade, abundância e distribuição próprias que dependem de características abióticas (temperatura, luz, oxigênio dissolvido e concentração de nutrientes) e bióticas (predadores, parasitas, competição). Devido às diferenças observadas nos ambientes de água doces e marinhos, a composição do fitoplâncton nesses dois ambientes é diferenciada.

¹ Acadêmica do curso de Ciências Biológicas - Licenciatura - Faculdade Araguaia

² Professora Titular do curso de Ciências Biológicas - Licenciatura - Faculdade Araguaia GO; Professor orientador do Curso Especialização em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia (ETAEB- UFG).

A ocorrência e a densidade de determinados grupos fitoplanctônicos podem alterar as características da água. Em geral, águas limpas e pobres em nutrientes apresentam uma comunidade fitoplanctônica pouco abundante, com alta diversidade, enquanto que águas ricas em nutrientes apresentam grande número de organismos, pertencentes a poucas espécies (CETESB, 2005).

Em mananciais que recebem despejos domésticos, industriais ou de fontes agrícolas difusas, ocorrem altas concentrações de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio (PEREIRA, 2012). Este fenômeno de desequilíbrio ecológico, conhecido como eutrofização ou enriquecimento das águas, favorece a proliferação rápida de algas e cianobactérias.

A presença excessiva de organismos fitoplanctônicos em mananciais de superfície pode causar sérios problemas relacionados à qualidade de água, por exemplo, a produção de cor, odor e sabor, diminuição da concentração de oxigênio dissolvido em todo corpo d'água, alteração no pH, dificuldade de penetração de luz na coluna d'água pelo acúmulo de algas na superfície, afetar o desenvolvimento de outras formas de vida e causar mortandade de peixes (ESTEVES, 1998; REYNOLDS, 2006). Esta situação acarreta dificuldades e acréscimos nos custos do tratamento da água e principalmente a liberação de toxinas representando um risco para saúde humana (FIGUEIREDO, 2005; CETESB, 2005; XAVIER *et al.*, 2005).

Sendo assim, as modificações na comunidade fitoplanctônica, podem adquirir caráter preditivo sobre as possíveis mudanças no meio onde ocorrem (HUSZAR, 2000). Logo, a sua identificação e quantificação são de grande interesse para avaliar as condições ecológicas de um ecossistema aquático, além de prevenir ou controlar situações indesejáveis ou incompatíveis com a finalidade de utilização de um determinado mananciais (GENTIL, 2007; CETESB, 2005).

Os dois principais mananciais que abastecem a região metropolitana de Goiânia são o rio Meia Ponte (RMP) e ribeirão João Leite (RJL) que fornecem respectivamente 52% e 48% de água potável para a população (ANA, 2010).

O crescimento urbano desordenado, o intenso e diversificado desenvolvimento industrial ocorrido nas últimas décadas, refletiram significativamente na qualidade da água destes mananciais (AMMA, 2000).

No Estado de Goiás, são poucos os dados referentes à comunidade fitoplanctônica do rio Meia Ponte e do ribeirão João Leite. A maioria se apresenta na forma de relatórios técnicos elaborados pela empresa de saneamento estadual e por

entidades governamentais de proteção ambiental (FEMAGO, 1991; SANEAGO, 1996; AMMA, 2000). Portanto, será de grande importância quando integrado a estudos futuros, a fim de realizar uma melhor caracterização ambiental destes mananciais.

O presente trabalho visou realizar a caracterização temporal da comunidade fitoplanctônica nos pontos de captação de água bruta do rio Meia Ponte e do ribeirão João Leite. Além de analisar e comparar a composição taxonômica, a diversidade e a densidade fitoplanctônica destes dois mananciais no período de seca e de chuva no ano de 2012.

METODOLOGIA

Área de estudo

A área de estudo compreendeu os pontos de captação do rio Meia Ponte e do seu principal afluente o ribeirão João Leite.

O rio Meia Ponte nasce nas proximidades de Ituaçu e Taquaral de Goiás (60 km de Goiânia) e percorre 471 km até atingir o rio Paranaíba, abaixo da cidade de Cachoeira Dourada (232 km da capital), na divisa com o estado de Minas Gerais. O município de Goiânia é cortado no sentido norte-sul e alimentado por 21 sub-bacias, com cursos d'água que variam entre 2-20 km de extensão (COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO MEIA PONTE, 2003).

O ribeirão João Leite tem suas nascentes no município de Ouro Verde na Serra do Sapato Arcado (CASSETI, 1990). Sua bacia é formada por córregos dos municípios de Anápolis, Campo Limpo, Goianápolis, Goiânia, Nerópolis, Ouro Verde e Terezópolis. Apresenta uma área aproximada de 765km², sendo que o curso d'água principal, o ribeirão João Leite, tem uma extensão de 135 km, recebendo contribuição dos córregos Mata Pasto, Cunha, Posse, Fundão Alongá, Barreiro, Descoberto, Seco, Bandeira e Palmito (margem direita) e Invernada, Olaria, Maria Paula, Rosa, Grama, Carapina, Tamanduá, Macaúba, Onça, Pedreira e Jenipapo (margem esquerda) (SANEAGO, 2010).

Pontos de coleta

As coletas das amostras de água foram executadas pela equipe técnica da Saneago – Saneamento de Goiás S.A. As amostragens foram realizadas mensalmente de janeiro a dezembro de 2012, nos dois pontos de captação utilizados pela empresa

estadual de abastecimento público, as coletas foram realizadas no período da manhã e enviadas refrigeradas ao Laboratório Central de Análise de Água (P-SLA) da SANEAGO.

Nas figuras 1 e 2 estão apresentadas as bacias hidrográficas e a localização dos pontos de amostragem e no quadro 1 encontra-se as coordenadas geográficas dos pontos de coleta utilizados no desenvolvimento deste estudo.

Quadro 1. Coordenadas geográficas dos pontos de amostragem. Fonte: W.A.O, 2015.

Local	Coordenadas - UTM	
	E	N
Captação Ribeirão João Leite	686.736.00	8.159.186.88
Captação Meia Ponte	678.291.24	8.167.297.84

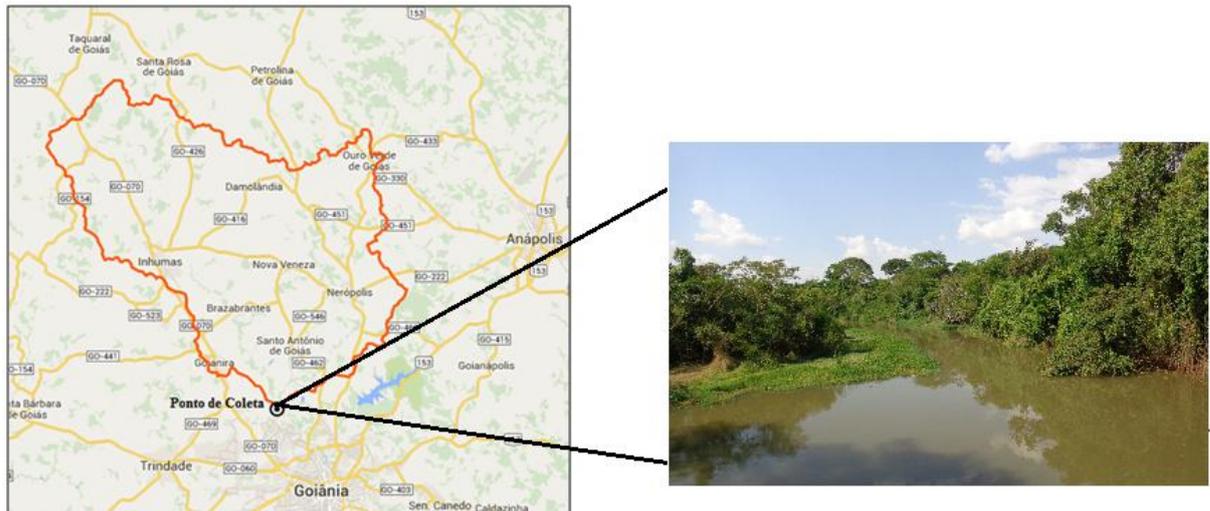


Figura 1. Localização do ponto de coleta rio Meia Ponte. Fonte: W.A.O, 2015.



Figura 2. Localização do ponto de coleta do ribeirão João Leite. Fonte: W.A.O, 2015.

Amostragem

As coletas para as análises qualitativas foram realizadas com auxílio de rede de nylon com porosidade de 20 μ m, cujo objetivo foi concentrar a amostra em um frasco de polietileno com capacidade de 200 mL, por se tratar de amostra viva não foi adicionado nenhum tipo de conservante ao material coletado.

As coletas para as análises quantitativas foram realizadas nas profundidades de 15 cm a 30 cm aproximadamente. Foram utilizados frascos de vidro de cor âmbar, com capacidade de 1L contendo 5 mL de solução de lugol acético modificado. Esta solução tem o objetivo de conservar a amostra e favorecer a sedimentação dos organismos. Todas as amostras foram acondicionadas em caixa térmicas com gelo e transportadas ao Laboratório Central de Análise de Água (P-SLA) da SANEAGO.

Análises das amostras

As análises quantitativas e qualitativas da comunidade fitoplanctônica das amostras coletadas foram executadas pela equipe técnica do Laboratório Central de Análise de Água (P-SLA) da SANEAGO.

Para a quantificação do fitoplâncton utilizou-se a técnica recomendada para sedimentação em câmara de Utermöhl (1958) descrita em APHA (2005) e Norma Técnica CETESB L5303 (2005).

A identificação de algas e de cianobactérias baseou-se em literaturas especializadas e em chaves de identificação descritas nos trabalhos publicados dos seguintes autores: Nogueira (1991), Comas (1996), Nogueira (1999), Komárek e Anagnostidis (1998 e 2005), Hindák (2011), Bicudo e Menezes (2006), Calijuri *et al.*, (2006) e Sant'ana *et al.*, (2006). Os organismos foram identificados em nível de gêneros e espécies, porém alguns foram incluídos em categorias taxonômicas superiores como famílias, ordens ou classes.

Dados pluviométricos

As médias mensais de precipitação pluviométrica de 2012 para o município de Goiânia foram obtidas no portal da Estação Evaporimétrica da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás.

Análise dos dados

Para a realização deste estudo foi executado uma avaliação estatística descritiva simples, foram elaboradas tabelas e gráficos para melhor visualização dos dados obtidos.

Através dos laudos de análises emitidos pelo laboratório de água da SANEAGO, foi realizada a classificação dos organismos encontrados em nível de classe, logo após foi calculado a porcentagem das densidades de todas as classes encontradas.

As densidades de cianobactérias encontradas nas amostras foram confrontadas com os limites estabelecidos pela Resolução do CONAMA N° 357 de 17 de março de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes.

A diversidade dos organismos fitoplanctônicos foi considerada como o número total de táxons encontrados nas amostras.

Após a tabulação dos dados foi realizado a comparação da composição e da variação temporal da diversidade do fitoplâncton dos dois pontos de coleta avaliados.

RESULTADOS

Dados pluviométricos

Goiânia assim como todo o estado de Goiás é caracterizada por um período chuvoso (outubro a abril) e outro seco (maio a setembro). No mês de setembro com o início da primavera as chuvas, geralmente, passam a ser mais intensas e frequentes, marcando o período de transição entre as duas estações. No verão, há registro de índice pluviométrico oscilando entre 1.200 e 2.500 mm entre os meses de setembro a abril. Em relação à temperatura ambiente, a média histórica demonstra que os meses de agosto e setembro apresentam maiores índices térmicos, alcançando valores médios em torno de 34°C. Por outro lado nos meses de junho e julho são os mais frios, indicando valores médios em torno de 12°C (GOIÁS, 2006).

Na Tabela 1, estão apresentados os dados da precipitação mensal e anual, as temperaturas médias mensais, a média da temperatura mínima e média da temperatura máxima registradas no período do estudo.

Durante o período de janeiro a dezembro/12, a precipitação acumulada foi de 1.648,7 mm. Os meses com maiores incidências de chuva foram novembro (262,6 mm), janeiro (435,2 mm) e fevereiro (308,5 mm), e no período de seca destaca-se os meses de julho (1,6 mm) e agosto (0,0 mm). Observa-se que nesse período as chuvas se concentraram nos meses de primavera-verão, iniciando-se em setembro (Fig. 3).

As temperaturas médias mais baixas foram observadas nos meses de julho (11,6 °C) e agosto (12,6 °C) e nos primeiros meses da primavera foram registradas as médias de temperatura mais altas 33,5 °C em setembro e 34,4 °C em outubro (Fig. 4).

Tabela 1. Dados meteorológicos registrados de janeiro a dezembro de 2012.

	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Temp. Média (°C)	3,9	4,7	4,8	5,2	2,1	2,1	0,6	1,3	4,5	6,4	5,3	5,9
Média Temp. Max (°C)	8,7	0,7	1,1	1,6	8,7	9,7	9,7	0	3,5	4,4	0,3	1,7
Média Temp. Min (°C)	9,2	8,6	8,6	8,8	5,4	4,6	1,6	2,6	5,6	8,4	0,2	0,1
Precipitação Acumulada (mm)	35,2	08,5	06,2	6,2	5,6	4,8	,6	,0	8,8	5,9	62,6	73,3
Precipitação Acumulada Anual (mm)	.648,7											

Fonte: Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (UFG).

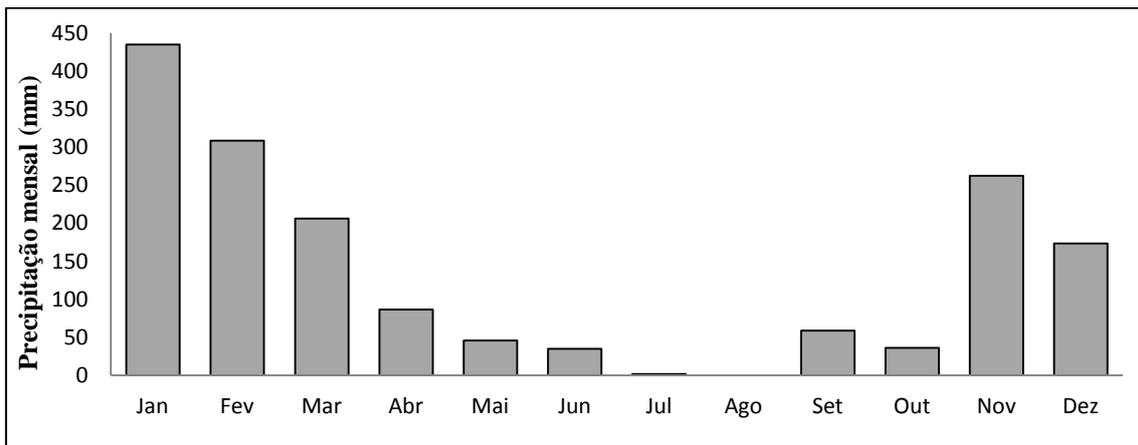


Figura 3. Precipitação mensal – Período Janeiro a dezembro de 2012.

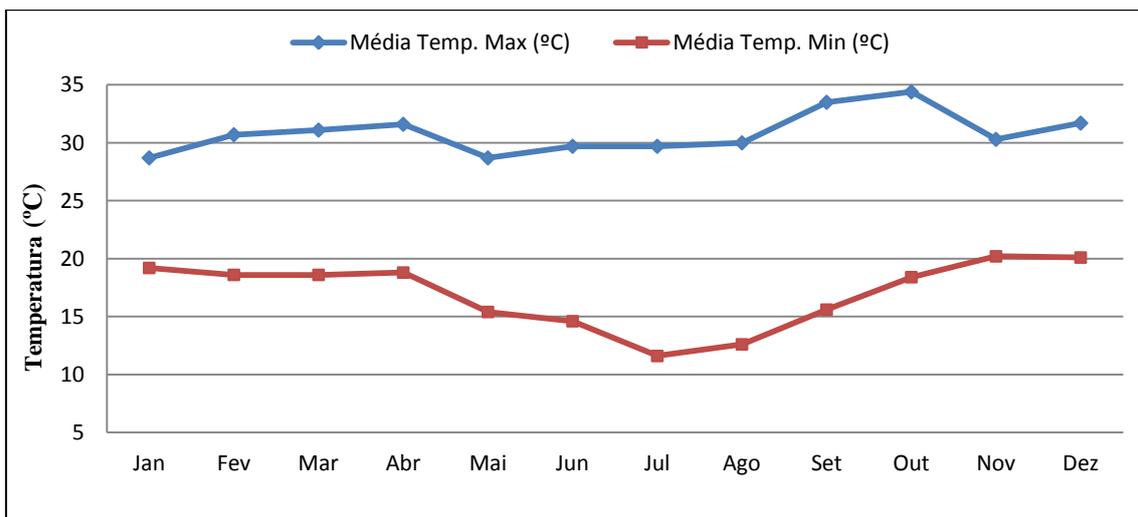


Figura 4. Médias das temperaturas mínimas e máximas – Período Jan a dez de 2012.

Composição Taxonômica

O estudo taxonômico da comunidade fitoplânctônica realizado nas amostras coletadas no rio Meia Ponte resultou na identificação de 38 táxons distribuídos em nove classes: Bacillariophyceae (3), Chlamydoephyceae (1), Chlorophyceae (10), Chrysophyceae (3), Coscinodiscophyceae (3), Cryptophyceae (1), Cyanophyceae (14), Euglenophyceae (2) e Zygnemaphyceae (1) (Tabela 3, Fig. 5). Enquanto o ribeirão João Leite nesse período de estudo esteve constituído por 63 táxons, distribuídos em 10 classes: Bacillariophyceae (4), Chlamydoephyceae (1), Chlorophyceae (26),

Chrysophyceae (6), Coscinodiscophyceae (4), Cryptophyceae (2), Cyanophyceae (16), Dinophyceae (1), Euglenophyceae (1) e Zygnemaphyceae (2) (Tabela 3; Fig. 5).

Tabela 3. Número de táxons encontrados no rio Meia ponte e no rib. João Leite em Jan a dez/2012.

TÁXONS	rio Meia Ponte	rib. João Leite
BACILLARIOPHYCEAE	3	4
CHLAMYDOPHYCEAE	1	1
CHLOROPHYCEAE	10	26
CHRYSOPHYCEAE	3	6
COSCINODISCOPHYCEAE	3	4
CRYPTOPHYCEAE	1	2
CYANOPHYCEAE	14	16
DINOPHYCEAE	0	1
EUGLENOPHYCEAE	2	1
ZYGNEMAPHYCEAE	1	2
TOTAL DE TÁXONS	38	63

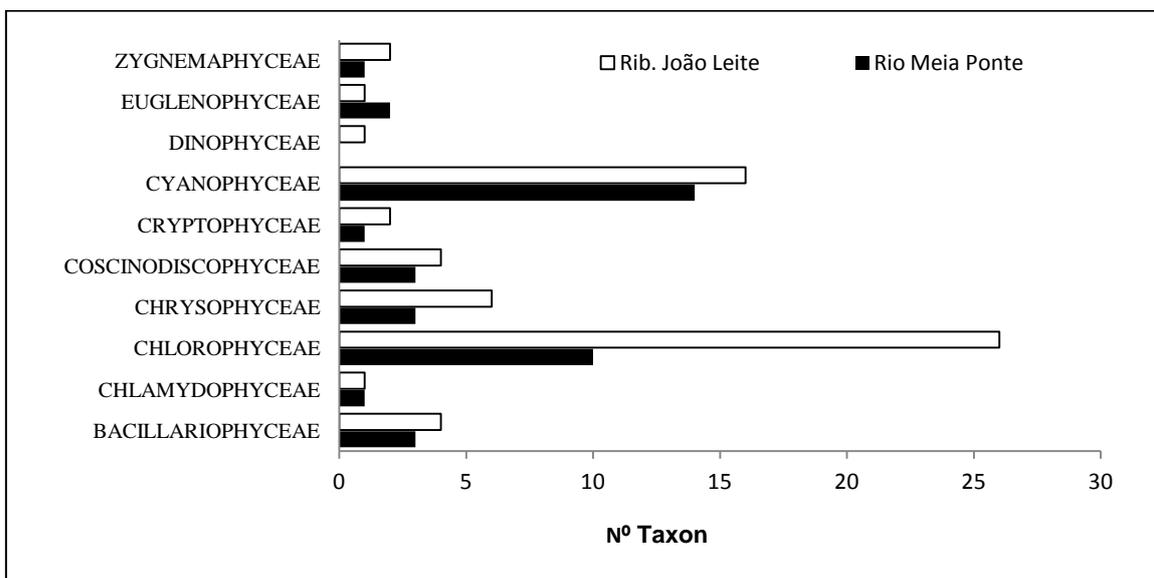


Figura 5. Táxons identificados nos pontos avaliados – Período Jan a dez de 2012.

No rio meia Ponte a variação taxonômica encontrada foi (1-10 táxons) e no ribeirão João Leite (7-18 táxons) (Tabela 4). No período chuvoso foram detectados 33 táxons no RMP e 92 no RJL e na estiagem foram observados apenas 17 táxons no RMP e 59 no RJL (Tabela 4, Fig. 6).

Tabela 4. Número de táxons encontrados no RMP e no RJL em Jan a dez/2012.

TÁXONS	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Agos	Set	Out	Nov	Dez
RMP			0									
RJL	8	6	0	6	7	4		1			2	3

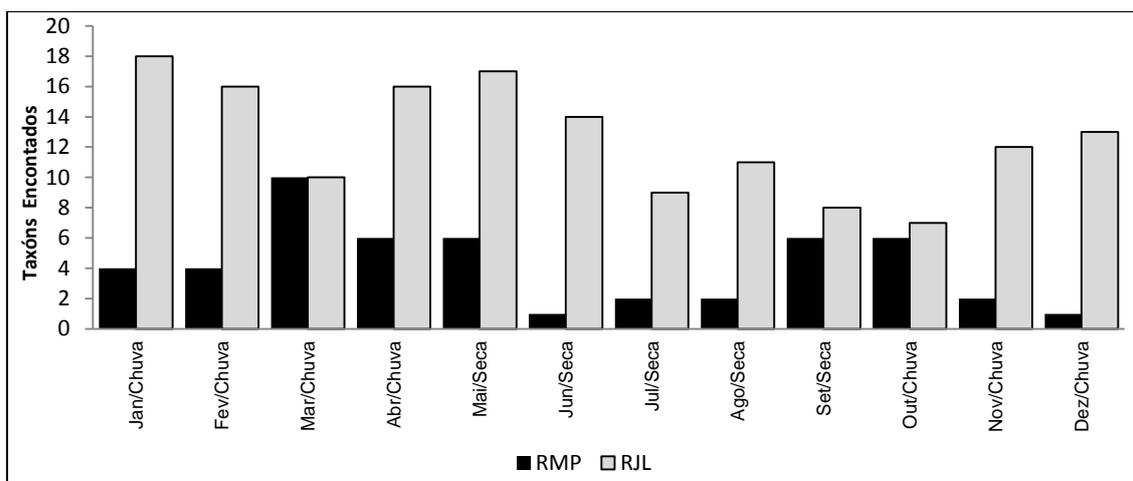


Figura 6. Número de táxons encontrados no RMP e no RJL em Jan a dez/2012.

Durante o período de estudo os grupos e os organismos mais representativos registrados nas amostras do rio Meia Ponte foram as Cyanophyceae (14 táxons) destacando as ocorrências dos organismos *Pseudanabaena catenata* Lauterborn (1915) e *Phormidium* sp.1, seguido pelo grupo Chlorophyceae (10 táxons) com os organismos mais frequentes *Crucigenia* sp.1 e *Desmodesmus* sp.1 (Tabela 5; Figs 7,8 e 9).

Nas amostras analisadas no ribeirão João Leite, teve o predomínio da classe Chlorophyceae (26 táxons) com destaque para os organismos *Geminella* sp. 1, *Scenedesmus* sp.1, *Coenocystis* sp.1 e *Elakatothrix* sp.1, seguido pela Cyanophyceae (16 táxons) com os organismos mais frequentes *Aphanocapsa holsatica* (Lemmermann) Cronberget Komárek 1994, *Chroococcus minimus* (Keissler) Lemmermann 1904 e *Planktolynghya limnetica* (Lemmermann) Komárková-Legnerová et Cronberg 1992 (Tabela 5; Figs 7,8 e 9).

Tabela 5. Inventário dos táxons identificados no rio Meia ponte e no rib. João Leite em Jan a dez/2012.

TÁXON	RIO MEIA PONTE	RIB. JOÃO LEITE
BACILLARIOPHYCEAE		
<i>Bacillariophyceae</i>	X	X
<i>Encyonema sp.1</i>		X
<i>Gomphonema sp.1</i>	X	X
<i>Pennales</i>	X	X
CHLAMYDOPHYCEAE		
<i>Chlamydomonas sp.1</i>	X	X
CHLOROPHYCEAE		
<i>Botryococcus sp.1</i>		X
Chlorococaceae	X	X
<i>Chlorobium sp.1</i>		X
Chlorophyceae	X	X
Chlorophyta	X	X
<i>Coelastrum reticulatum</i> (Dangeard) Senn 1899	X	
Coelastrum sp 1		X
<i>Coenocystis sp.1</i>		X
<i>Crucigenia sp.1</i>	X	X
<i>Crucigeniella sp.1</i>		X
<i>Desmodesmus sp.1</i>	X	X
<i>Dictyosphaerium sp.1</i>	X	X
<i>Elakatothrix sp.1</i>		X
<i>Elakatothrix sp.2</i>		X
<i>Eutetramorus sp.1</i>		X
<i>Geminella sp.1</i>		X
<i>Hariotina reticulata</i> P.A Dangeard 1889		X
<i>Hariotina sp. 1</i>		X
<i>Monoraphidium irregularare</i> (G.M. Smith) Komárková-Legnerová 1969	X	X
<i>Monoraphidium sp.1</i>	X	
<i>Nephrochlamys sp.1</i>		X
<i>Oocystis sp.1</i>		X
<i>Possonia sp.1</i>		X
<i>Quadrigula sp.1</i>		X
Radiococcaceae		X
<i>Radiococcus sp.1</i>		X
<i>Scenedesmus sp.1</i>		X
<i>Tetraëdron sp.1</i>		X
<i>Thorakochloris sp.1</i>	X	
CHRYSOPHYCEAE		
<i>Chromulina sp. 1</i>	X	
Chrysophyceae		X
<i>Dinobryon sp.1</i>	X	X
<i>Dinobryon sp.1</i>		X
<i>Kephyrion sp.1</i>		X
<i>Mallomonas sp.1</i>	X	X
<i>Pseudokephyrion sp.1</i>		X
COSCINODISCOPHYCEAE		
<i>Aulacoseira sp.1</i>	X	

	TÁXON	RIO MEIA PONTE	RIB. JOÃO LEITE
	Coscinodiscophyceae		X
	<i>Cyclotella</i> sp.1		X
	<i>Discotella</i> sp.1		X
	<i>Melosira</i> sp. 1	X	X
	<i>Urosolenia</i> sp.1	X	
	CRYPTOPHYCEAE		
	<i>Cryptomonas</i> sp.1	X	X
	<i>Cryptomonas</i> sp.2		X
	CYANOPHYCEAE		
	<i>Aphanocapsa</i> cf. <i>delicatissima</i>		X
	<i>Aphanocapsa delicatissima</i> W. et G.S. West 1912		X
	<i>Aphanocapsa holsatica</i> (Lemmermann) Cronberg et Komárek 1994		X
1994	<i>Aphanothece</i> cf. <i>minutissima</i> (W. West) Komárková-Legnerová et Cronberg		X
	<i>Aphanothece</i> sp.1		X
	<i>Aphanocapsa elachista</i> W. West e G.S. West 1894	X	
	<i>Chroococcus minimus</i> (Keissler) Lemmermann 1904		X
	<i>Chroococcus minutus</i> (Kützing) Nägeli 1849		X
	<i>Cyanodictyon</i> sp.1		X
	<i>Geitlerinema splendidum</i> (Greville ex Gomont) Anagnostidis 1989		X
	<i>Geitlerinema unigranulatum</i> (R. N. Singh) Komárek et Azevedo 2000		X
	<i>Merismopedia</i> sp.1	X	X
	<i>Merismopedia warmingiana</i> Lagerheim 1883	X	
	<i>Microcystis</i> sp.1	X	
	<i>Oscillatoria</i> sp.	X	
	<i>Phormidium chlorinum</i>	X	
	<i>Phormidium</i> sp.	X	
	<i>Phormidium</i> sp.1	X	
	<i>Planktothrix isothrix</i> (Skuja) Komárek et Komárková 2004	X	
	<i>Planktothrix</i> sp.1	X	
	<i>Planktolyngbya limnetica</i>		X
1992	<i>Planktolyngbya limnetica</i> (Lemmermann) Komárková-Legnerová et Cronberg		X
	<i>Pseudanabaena catenata</i> Lauterborn 1915	X	X
	<i>Pseudanabaena limnetica</i> (Lemmermann) Komárek 1974	X	
	<i>Pseudanabaena</i> sp.1	X	
	<i>Pseudanabaenaceae</i>	X	
	<i>Synechocystis aquatilis</i> Sauvageau 1892		X
	<i>Synechocystis sminuscula</i> Voronichin 1926		X
	EUGLENOPHYCEAE		
	<i>Phacus</i> sp.1	X	
	<i>Trachelomonas</i> sp.1	X	X
	ZYGNEMAPHYCEAE		
	<i>Closterium</i> sp.1	X	
	<i>Gonatozygon</i> sp.1		X
	<i>Euastrum</i> sp.1		X
	DINOPHYCEAE		
	<i>Dinophyceae</i>		X

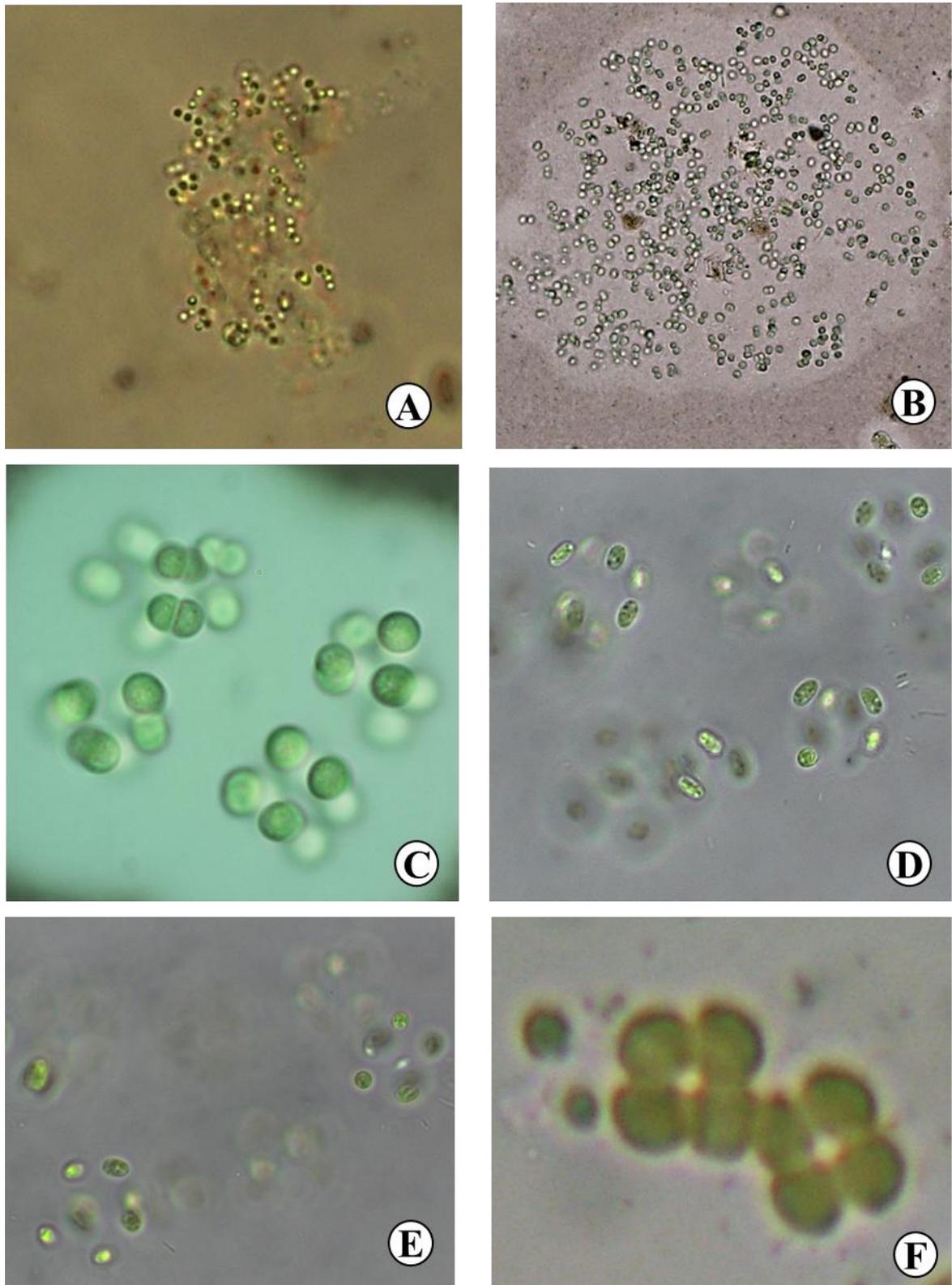


Figura 7. A. *Aphanocapsa holsatica*; B. *Aphanocapsa holsatica*; C. *Chroococcus* sp.; D. *Coenocystis* sp.; E. *Coenocystis* sp.; F. *Crucigenia* sp. (Fotos: SANEAGO - Aumentos utilizados 400x e 1000x).

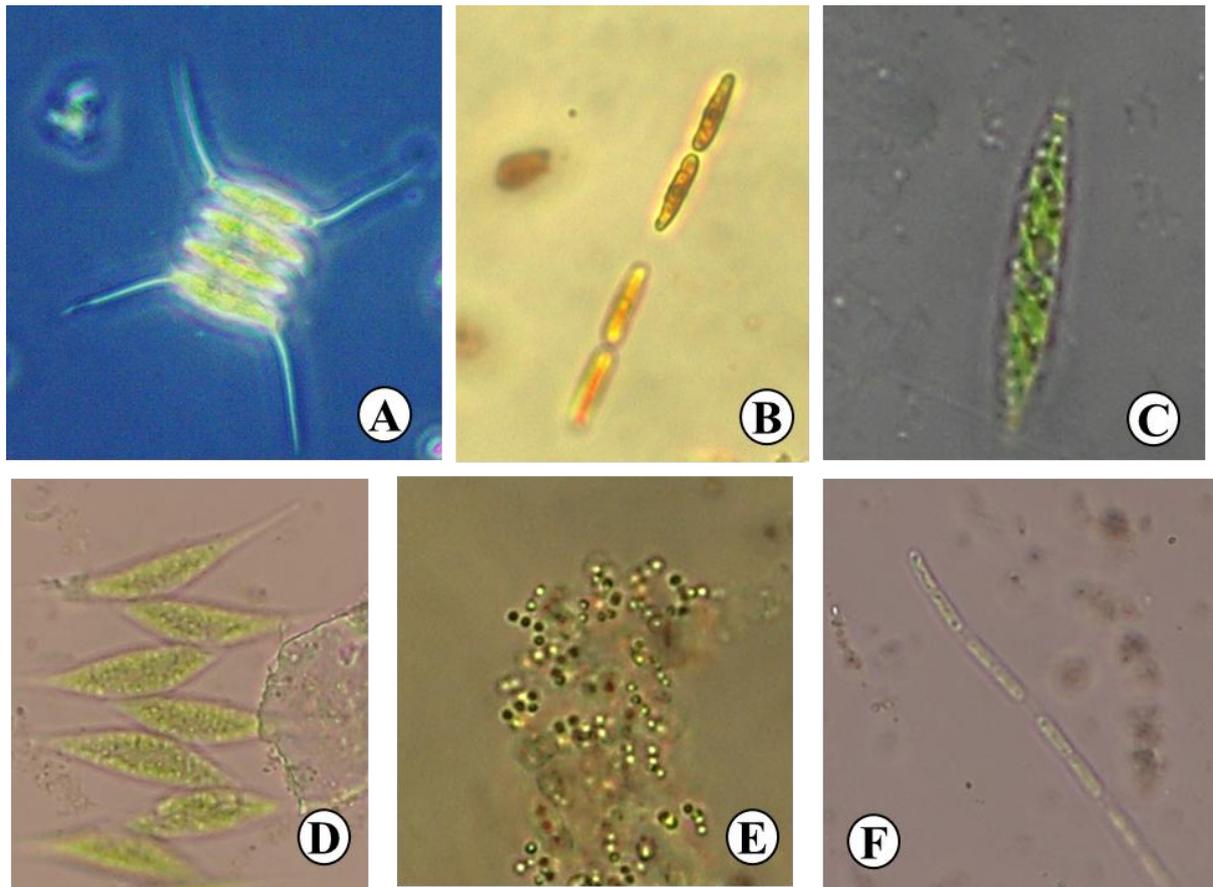


Figura 8. A. *Desmodesmus* sp.; B. *Elakatothrix* sp.; C. *Elakatothrix* sp.; D. *Scenedesmus* sp.; E. *Aphanocapsa* sp.; F. *Geminella* sp. (Fotos: SANEAGO - Aumentos utilizados 400x e 1000x).

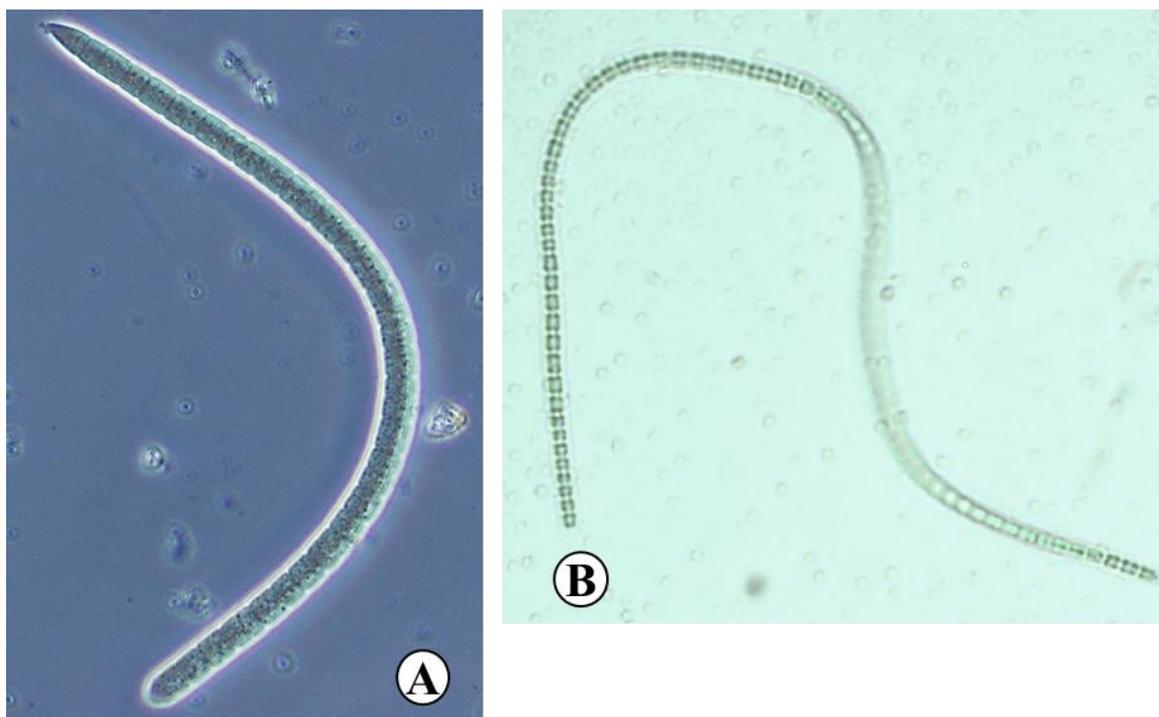


Figura 9. A. *Phormidium* sp.; B. *Pseudanabaena* sp. (Fotos: SANEAGO - Aumentos utilizados 400x e 1000x).

Densidade Total da Comunidade Fitoplanctônica

A densidade total da comunidade de fitoplâncton (cianobactérias e algas) apresentou variação significativa durante o ciclo anual. No rio Meia Ponte, a densidade total variou de 42 ind/mL (junho/2012) a 649 ind/mL (setembro/2012) (Tabela 6). No ribeirão João Leite, a variação foi de 627 ind/mL (outubro/2012) a 3.528 ind/mL (fevereiro/2012) (Tabela 7). O período chuvoso foi responsável por 61% do total da densidade fitoplanctônica encontrada no rio Meia Ponte e 68% no ribeirão João Leite (Figs 10-11).

Tabela 6. Densidade total encontrada no rio Meia ponte em Jan a dez/2012.

Densidade (Nº ind/mL)	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
BACILLARIOPHYCEAE		3	2	2					2	1		
CHLAMYDOPHYCEAE	25								6			
CHLOROPHYCEAE	16	3	28	3	2				08	8		
CHRYSOPHYCEAE		3						75		2		
COSCINODISCOPHYCEAE												

				1					6	2		
CRYPTOPHYCEAE												
		91	2									
CYANOPHYCEAE	4		92	1	15	2	2	2		2	6	8
EUGLENOPHYCEAE			2		1							
ZYGNEMAPHYCEAE												
FITOFLAGELADOS			2									
									97			
TOTAL	25	40	48	77	08	2	67	2	49	45	6	8

Tabela 7. Densidade total encontrada no ribeirão João Leite em Jan a dez/2012.

Densidade (Nº ind/mL)	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
BACILLARIOPHYCEAE			2				6	8	3	18	2	2
CHLAMYDOPHYCEAE				2	4				2	8	14	
CHLOROPHYCEAE	.130	97	58	35	26	60	67	52	33	96	54	30
CHRYSOPHYCEAE	8	58	2			2		8				
COSCINODISCOPHYCEAE	4	38			4	2	6				1	6
CRYPTOPHYCEAE	40	41			9		2		25			
CYANOPHYCEAE	8	.602	56	.290	.099	16	75	29	58	35	.099	.235
DINOPHYCEAE		6										
EUGLENOPHYCEAE							6	8				6
ZYGNEMAPHYCEAE		6						6				
FITOFLAGELADOS												
	4		50	66	4	33		14				2
TOTAL	.574	.528	.748	.333	.196	.293	72	85	.041	27	.560	.741

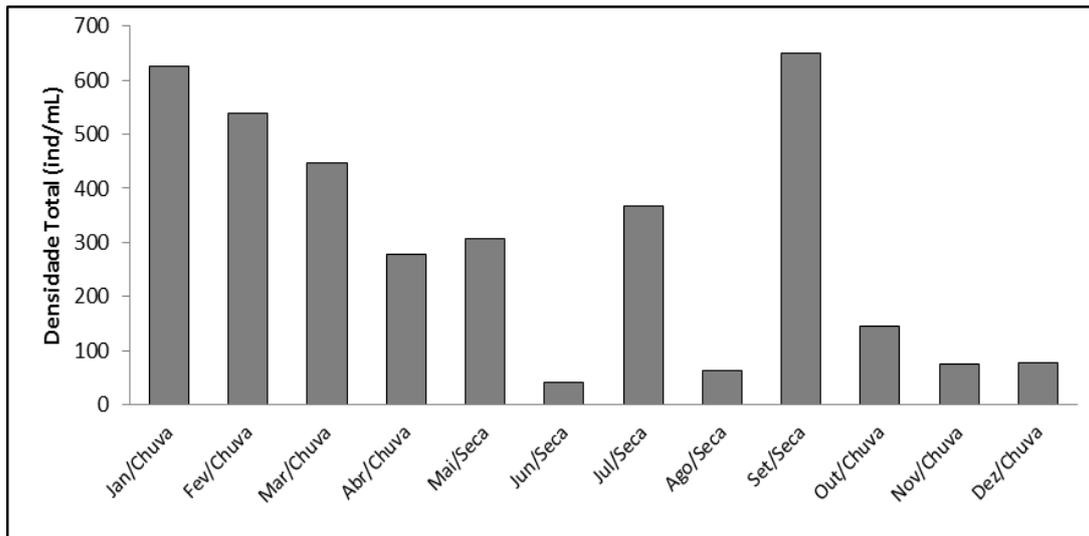


Figura 10. Densidade total encontrada no rio Meia Ponte em Jan a dez/2012.

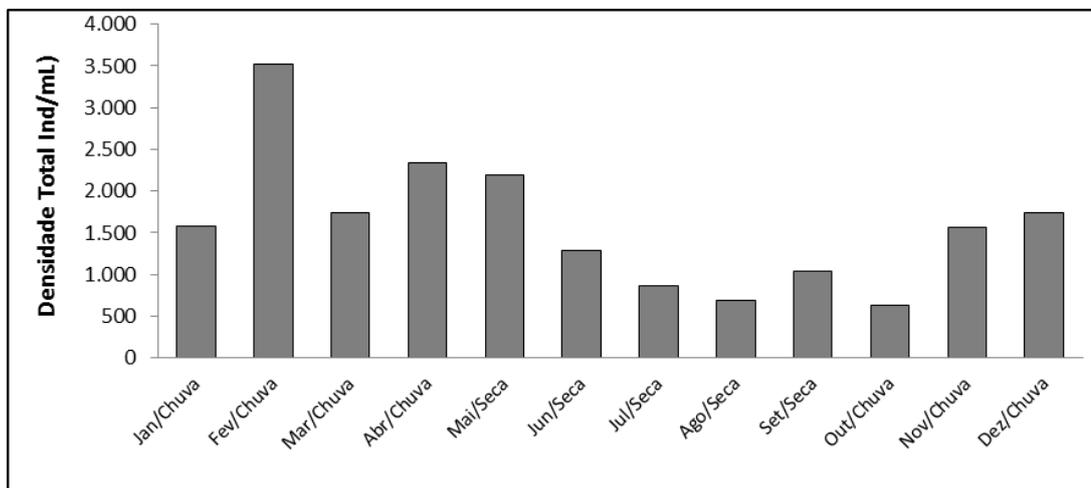


Figura 11. Densidade total encontrada no ribeirão João Leite em Jan a dez/2012.

A densidade total da comunidade fitoplancônica no rio Meia Ponte, no período em estudo, foi representada pelas clorófitas (25,9%) seguidas pelas cianófitas (25,3%) e no ribeirão João Leite o grupo mais representativo foi cianófitas (46,7%) e clorófitas (30,4%) (Tabela 8).

Tabela 8. Porcentagens das densidades encontradas no rio Meia Ponte e no ribeirão João Leite em Jan a dez/2012.

Densidade (%)	Rio Meia Ponte	Ribeirão João Leite
BACILLARIOPHYCEAE	9,4	2,5
CHLAMYDOPHYCEAE	4,5	2,1
CHLOROPHYCEAE	25,9	30,4

Densidade (%)	Rio	Ribeirão
	Meia Ponte	João Leite
CHRYSOPHYCEAE	10,2	3,4
COSCINODISCOPHYCEAE	2,2	1,9
CRYPTOPHYCEAE	8,9	6,1
CYANOPHYCEAE	25,3	46,7
DINOPHYCEAE	0	0,2
EUGLENOPHYCEAE	1,7	0,7
ZYGNEMAPHYCEAE	0,9	0,6
FITOFLAGELADOS	11,0	5,3

Densidade de Cianobactéria

Devido à grande ocorrência de florações ou proliferações de cianobactérias em mananciais de superfície e sendo este um problema sério de saúde pública, o Brasil através da resolução CONAMA nº 357 de março de 2005 exige o cumprimento da mesma pelas concessionárias de captação e distribuição de água potável e que mantenham o monitoramento de cianobactérias tanto na identificação como na contagem das células e fixa o valor máximo para a densidade de cianobactérias em 50.000 cél/mL para água de classe II (BRASIL, 2005). Ressalta-se que devido à falta de enquadramento dos rios do estado de Goiás, os corpos de água deverão ser considerados classe II tanto para fins de uso como para emissão de efluentes.

Com relação à densidade de cianobactéria, foram registrados baixos valores nas amostras coletadas no rio Meia Ponte, a densidade média encontrada no período de estudo foi 2.722 cél/mL, a maior densidade foi registrada no mês de agosto com 5.765 cél/mL e não houve registro deste grupo nos meses de fevereiro e setembro (Tabela 9 e Fig. 12).

Porém no ribeirão João Leite, nos meses de fevereiro e dezembro foram detectadas densidades de cianobactérias acima do estabelecido pelo CONAMA 357/2005 (50.000 cél/mL), a média registrada no período avaliado foi 32.094 cél/mL, a maior densidade foi observada em fevereiro com 82.127 cél/mL e a menor em janeiro com 1.098 cél/mL. Temporalmente, as cianobactérias no ribeirão João Leite mostraram um maior desenvolvimento nos meses de chuva, especialmente em dezembro e fevereiro (Tabela 9 e Fig. 13).

Tabela 9. Densidades de cianobactérias (cél/mL), encontradas no rio Meia Ponte e no ribeirão João Leite em Jan a dez/2012.

	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
MP	40	D	.639	.159	.636	.329	.007	.765	D	95	.364	.490
JL	.098	2.127	1.427	1.677	6.428	1.604	.216	6.509	4.433	1.844	0.659	2.107

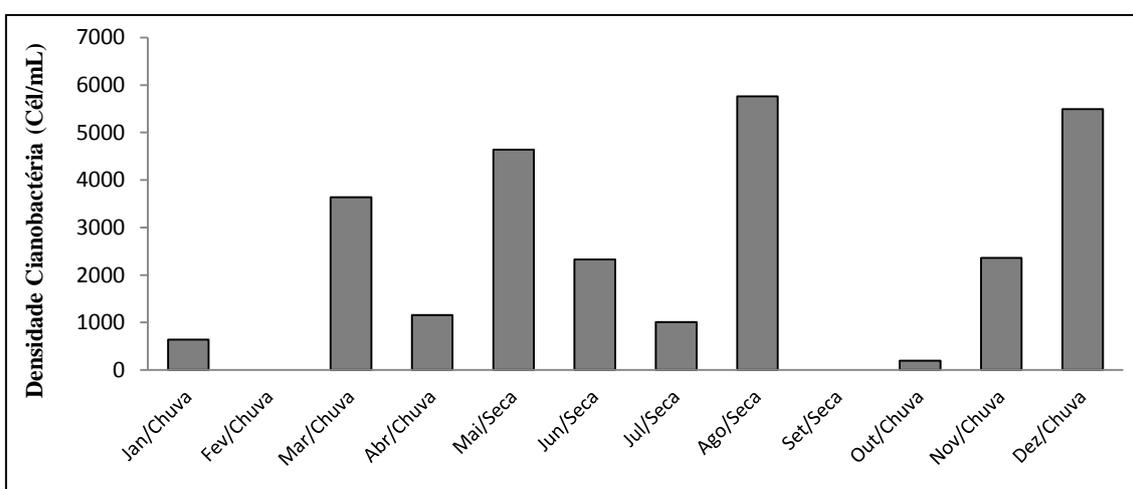


Figura 12. Densidades de cianobactérias (cél/mL), encontradas no rio Meia Ponte em Jan a dez/2012.

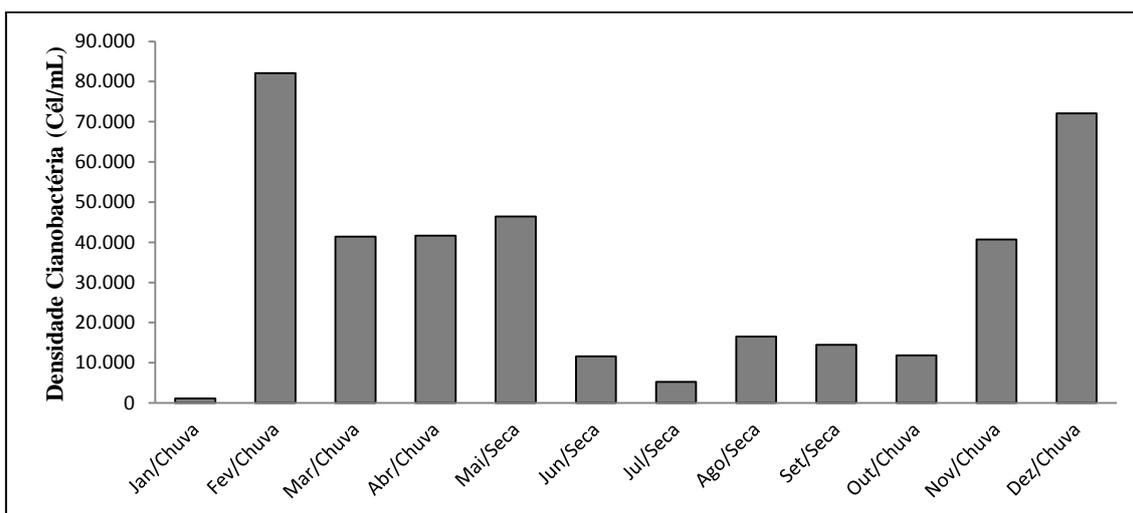


Figura 13. Densidades de cianobactérias (cél/mL), encontradas no ribeirão João Leite em Jan a dez/2012.

DISCUSSÃO

Análise da Composição Taxonômica

A comunidade fitoplanctônica encontrada no período de janeiro a dezembro de 2012 nos dois mananciais avaliados apresentou números de táxons relativamente baixos (Tabela 3). No rio Meia Ponte foram identificados 38 táxons e no ribeirão João Leite 63.

Resultados similares foram obtidos nos estudos realizados por Rodrigues (2004) na foz dos rios do delta do Jacuí no Rio Grande do Sul, no período de dezembro de 2000 a dezembro 2001, onde foi constatada a presença de 59 táxons no rio Gravataí, 55 no rio dos Sinos, 47 no rio Caí e 49 no rio Jacuí.

Nos estudos de Moura *et al.* (2007), os autores observaram no reservatório de Duas Unas, localizado no município de Jaboatão dos Guararapes, região metropolitana de Recife, a presença de 51 táxons no período de março/2000 a fevereiro/2001.

Corroborado com dados de Silva *et al.* (2011), onde o fitoplâncton no Lago Azul localizado em uma Área de Proteção Permanente em Alagoas, no período de abril a setembro de 2008 esteve representado por 27 táxons.

No rio Meia Ponte foram detectados 33 táxons no período chuvoso e apenas 17 no período de seca, sendo que no ribeirão João Leite 92 táxons foram registrados no período de chuva e 59 no período de seca. Apesar de observar um pico no mês de maio, período de seca (Fig. 10; Tabela 9).

Esta variação temporal do fitoplâncton também foi observada por Rodrigues *et al.* (2015) na avaliação do médio curso do rio Pindaré no Maranhão em 2011 onde registraram 88 espécies no período chuvoso e 63 durante a estiagem na região estudada.

Na composição taxonômica do rio Meia Ponte e do ribeirão João Leite observou-se a predominância das classes Chlorophyceae e Cyanophyceae.

Esta composição também foi observada por Figueiredo (2005) nos rios Vermelho e Negrinho, mananciais abastecedores de São Bento do Sul- SC no período de agosto de 2003 a julho de 2004, assim como detectado por Gentil *et al.* (2008) nos estudos realizados no Lago das Garças do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga localizado no município de São Paulo entre os meses de janeiro/1997 a março/1998. Porém, diverge dos resultados obtidos por Nabout e Nogueira (2008) no lago dos Tigres em Goiás, por Silva *et al.* (2011) em um lago na Área de Proteção Permanente em

Alagoas e Costa (2011) no reservatório das Águas Minerais e no rio Jaguaribe, nesses ambientes as classes que mais se destacaram foram Chlorophyceae e Bacillariophyceae.

Recentemente, Rodrigues *et al.* (2015) observaram no Rio Pindaré, Maranhão, uma considerável diversidade de organismos. O fitoplâncton no médio curso do rio Pindaré, apresentou 98 táxons distribuídos em quatro classes taxonômicas: Bacillariophyceae (34%), Chlorophyceae (26%), Cyanophyceae (8%) e Cyanophyceae (8%).

Nota-se que a classe Chlorophyceae é o grupo que esteve presente em todos os mananciais acima mencionados. De acordo com Train *et al.* (2006), as Chlorophyceae são consideradas o grupo mais importante em número de espécies em ambientes de água doce e são favorecidas por apresentarem alta variabilidade morfológica, podendo assim desenvolver-se em diversos habitats. Algumas Chlorophyceae são muito oportunistas e se desenvolvem bem em condições extremas, principalmente em águas com grau elevado de eutrofização (HAPPEY-WOOD, 1988).

Análise da Densidade Total da Comunidade de Fitoplanctônica

Nos dois mananciais analisados verificou-se que a densidade total da comunidade fitoplanctônica apresentou uma grande variação durante os meses avaliados, o rio Meia Ponte variou (42 a 649 ind/mL) e o ribeirão João Leite (627 a 3.528 ind/mL) (Tabelas 6-7).

Esta variação também foi observada por Figueiredo (2005), avaliando três estações nas barragens do rio Vermelho e do rio Negrinho em São Bento do Sul – SC, no período de agosto de 2003 a julho de 2004, que apresentou na estação 1 variação de (27 a 1.091,1 ind/mL), na estação 2 (16 a 1.346 ind/mL) e na estação 3 (57 a 2.128 ind/mL).

E na avaliação de Gonçalves (2005), onde a densidade numérica do fitoplâncton na lagoa Juparanã em Linhares no Espírito Santo, durante um ciclo anual (2003-2004), mostrou valores variando de 102 a 1.887 ind/mL.

Neste estudo observou-se que a densidade total da comunidade fitoplanctônica apresentou uma diferenciação temporal, o rio Meia Ponte registrou 2.189 ind/mL (61%) no período chuvoso e 1.428 ind/mL (39%) na seca e o ribeirão João Leite 13.111

ind/mL (68%) no período de chuva e 6.087 (32%) ind/mL na estiagem. O mesmo foi observado por Moura *et al.* (2007) no reservatório de Duas Unas, no período de março/2000 a fevereiro/2001, onde no período chuvoso foi registrado mais de 60% da densidade total do fitoplâncton. Corroborando Gomes (2007) encontrou nas zonas litorâneas da Lagoa Bonita no Distrito Federal, uma densidade algal máxima no período chuvoso de 2005.

Resultados contrários foram encontrados por Oliveira (2010), no reservatório de Cachoeira Dourada-GO, no período de dez/2006 a nov/2007, onde os valores da densidade da comunidade fitoplanctônica foram maiores no período de baixa precipitação pluviométrica e assim condições adequadas para o desenvolvimento da comunidade fitoplanctônica.

Análise da Densidade de Cianobactéria

Com relação à densidade de cianobactéria, verificou-se uma diferenciação significativa entre os dois mananciais, no rio Meia Ponte densidade total encontrada no período avaliado foi 27.224 cél/mL e no ribeirão João Leite 385.129 cél/mL.

No ribeirão João Leite observou-se que a densidade total de cianobactéria apresentou uma variação temporal, no período chuvoso registrou 290.939 cél/mL (76%) e na estiagem detectou 94.190 cél/mL (24%). Porém esta situação não foi encontrada no rio Meia Ponte onde a densidade total de cianobactéria no período chuvoso representou 49,5 % e no período de seca 50,5%.

De acordo com Figueiredo (2005), as chuvas podem ser consideradas como fontes significativas de fosfato e nitrogênio, estes nutrientes são levados para os cursos de água por carreamento contribuindo para sua eutrofização e conseqüentemente a floração de cianobactérias.

Destaca-se também que, a densidade total de cianobactéria nos meses de fevereiro (72.107 cél/mL) e dezembro (82.127 cél/mL) no ribeirão João Leite, ultrapassou os limites estabelecidos para classe II do CONAMA 357/05 (50.000 cél/mL).

A importância do monitoramento da densidade de cianobactérias está relacionada à capacidade destes organismos produzirem toxinas que, em grande quantidade, afetam a saúde humana e o equilíbrio do ambiente aquático (CHORUS; BARTRAM, 1999).

Durante o período de estudo foi verificado que as cianobactérias de maior ocorrência nas amostras do rio Meia Ponte e do ribeirão João Leite foram: *Pseudanabaena catenata* Lauterborn (1915) e *Phormidium* sp.1, *Aphanocapsa holsatica* (Lemmermann) Cronberget Komárek 1994, *Chroococcus minimus* (Keissler) Lemmermann 1904 e *Planktolyngbya limnetica* (Lemmermann) Komárková-Legnerová et Cronberg 1992.

Cabe destacar que a maioria dos táxons encontrados é citada como potencialmente produtores de cianotoxinas. Dentre eles estão os gêneros: *Phormidium*, *Pseudanabaena*, (CHORUS; BARTRAM, 1999; WILLÉN, 2000), *Aphanocapsa* (FRANCESCHINI *et al.*, 2010) e *Planktolyngbya* (SANT'ANNA; AZEVEDO, 2000).

Para Calijuri *et al.* (2006), a toxicidade das cianobactérias varia de espécie para espécie e dentro dos gêneros pode haver cepas produtoras e não produtoras de toxinas. As causas para a produção de toxina ainda não estão bem esclarecidas, alguns pesquisadores acreditam que as cianotoxinas desempenham funções protetoras contra a predação (herbivoria) e outros sugerem que estão relacionadas às condições de crescimento ou à competição por recursos.

Sabe-se que é a exposição humana a cianotoxinas podem causar inúmeros problemas de saúde tais como: irritações na pele, respostas alérgicas, irritações das mucosas, paralisia de músculos respiratórios, diarreia, danos ao fígado e rins e em casos mais severos pode levar ao óbito (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008).

Compete às empresas de saneamento e abastecimento público assegurar a qualidade da água tratada, para isso é fundamental que seja realizado um monitoramento adequado da água bruta. Para Di Bernardo *et al.* (2010), existe três requisitos que simultaneamente, contribuem para que um sistema de tratamento de água bruta seja considerado apropriado: qualidade da água bruta, tecnologia de tratamento e capacidade de sustentação.

O poder público e a sociedade como um todo, têm o dever de preservar os mananciais superficiais, evitando a degradação da qualidade da água bruta. Lembrando que quanto melhor a qualidade da água bruta, menores serão os custos envolvidos no tratamento e menores serão os riscos à saúde pública (MÜLLER *et al.*, 2012).

CONCLUSÃO

Com a caracterização temporal da comunidade fitoplanctônica do rio Meia Ponte e do ribeirão João Leite, os dois maiores mananciais de abastecimento público de Goiânia, permitiu concluir que os pontos de captação apesar de estarem localizados na mesma região geográfica, apresentaram composição e densidade fitoplanctônicas bem diferenciadas.

O ribeirão João Leite apresentou maior diversidade, densidade total e maior densidade de cianobactéria em relação ao detectado no rio Meia Ponte.

A composição taxonômica encontrada no rio Meia Ponte foi de 38 táxons com destaque para as Cyanophyceae (14 táxons) e Chlorophyceae (10 táxons). E no ribeirão João Leite foram detectados 63 táxons com maior ocorrência de Chlorophyceae (26 táxons) seguidas pelas Cyanophyceae (14 táxons).

Verificou-se uma variação temporal marcante na composição taxonômica nos mananciais estudados, onde os maiores números de táxons ocorreram no período chuvoso.

A densidade total da comunidade fitoplanctônica foi maior no ribeirão João Leite (19.198 ind/mL), com destaque para as Cyanophyceae (8.962 ind/mL) e a densidade total encontrada no rio Meia Ponte foi (3.617 ind/mL) destacando as Chlorophyceae (938 ind/mL). Foi observado também que as maiores densidades foram registradas no período de chuva.

Em relação à densidade total de cianobactéria, o ribeirão João Leite apresentou 385.129 cél/mL e o rio Meia Ponte 27.224 cél/mL, observou-se que o período de chuva favoreceu o aumento da densidade de cianobactérias no ribeirão João Leite, situação não detectada no rio Meia Ponte.

Nos dois mananciais avaliados foram encontrados gêneros de cianobactérias considerados potencialmente produtores de cianotoxinas: *Pseudanabaena*, *Phormidium*, *Planktolyngbya* e *Aphanocapsa*.

Ocorreram florações de cianobactérias nos meses de fevereiro/2012 e dezembro/2012 no ribeirão João Leite, e no rio Meia Ponte as densidades estiveram dentro dos padrões estabelecidos pelo CONAMA 357/05 (50.000 cél/mL) para classe II.

Diante dos resultados obtidos e da grande importância desses mananciais para o abastecimento do município de Goiânia é extremamente necessária a realização e a

continuidade de monitoramentos de algas e principalmente de cianobactérias, especialmente nos períodos de chuva.

AGRADECIMENTOS

À empresa Saneago, na pessoa do Eng. Ivaltemir Barros Carrijo (Tinil), pela autorização de uso e divulgação dos dados. Aos profissionais e colegas do laboratório de Hidrobiologia da P-SLA (Saneago), especialmente à Bioquímica Keyle Borges, a Bióloga Silvia Moreira e a Técnica Elaine da Costa que gentilmente cederam os laudos das análises e as fotos dos organismos.

REFERÊNCIAS

- AMMA. AGÊNCIA MUNICIPAL DO MEIO AMBIENTE. **Relatório anual do monitoramento da qualidade das águas do rio Meia Ponte, Goiânia: 2000.** Disponível em <<http://www.goiania.go.gov.br/html/semma/index.htm>>. Acesso em: 12.08.2015.
- ANA. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Atlas de abastecimento de água,** Brasília: 2010. Disponível em: <[AGhttp://atlas.ana.gov.br/Atlas/forms/analise](http://atlas.ana.gov.br/Atlas/forms/analise)>. Acesso em: 02.08.2015.
- APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of the Examination of Water and Wastewater.** Washington, DC: APHA, 2005.
- BICUDO, C.E.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil (chave para identificação e descrições).** 2ª Ed., São Carlos: RiMa, 2006. 502p.
- BRASIL. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano.** Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2003. p. 56. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cinobacterias_toxicas_agua.pdf>. Acesso em: 15.03.2015.
- CARNEIRO, C.; PEGORINI, E. S.; ANDREOLI, C. V. **Introdução.** In: ANDREOLI, C. V.; CARNEIRO, C. (Editores) *Gestão Integrada de Mananciais de Abastecimento Eutrofizados.* Curitiba: SANEPAR/FINEP. Cap.1. p. 25-44, 2005
- CALIJURI, M. C.; ALVES, M. S. A.; SANTOS, A. C. A. **Cianobactéria e cianotoxinas em águas continentais.** São Paulo, RiMa, 2006.
- CASSETI, V. **Concentração de Sedimentos em Suspensão no Baixo Ribeirão João Leite - Goiânia-Go.** Boletim Goiano de Geografia, vol.9 e 10.1-2 eds. 71-97p, 1990.

CETESB. (São Paulo). L5. 303: Determinação de fitoplâncton de água doce métodos qualitativo e quantitativo: método de ensaio. São Paulo, 2005.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo**. 2005.

COMAS, A. Las Chlorococcales Du'lciaucicolas de Cuba. **Bibliotheca Phycológica**, 99:1-192, 1996.

COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO MEIA PONTE. **Reconciliando o ambiente e o homem**. 2003. In: PASQUALETO, A.; ALCÂNTARA, C.R.; RAMOS, F.P.; PATRÍCIO, G.M.R.; SILVA, H, M. **Escassez da Água como Limitador do Desenvolvimento da Região Metropolitana de Goiânia**. Goiânia, 2003. Disponível em: <<http://www2.ucg.br/nupenge/pdf/artigo002.pdf>>. Acesso em: 04.05.2015.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **RESOLUÇÃO CONAMA nº 357 de 03/2005**. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Ministério do Meio Ambiente. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 mar. 2005. Seção 1, p.58-63.

COSTA, D. F. **Ecologia da comunidade fitoplanctônica em diferentes ecossistemas aquáticos urbanos da região metropolitana de João Pessoa**, PB. 2011.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. Toxic cyanobacteria in water. London: E & FN Spon, 1999.

DI BERNARDO, L.; MINILLO, A.; DANTAS, A.D.B. **Florações de Algas e de Cianobactérias: Suas influências na Qualidade da Água e nas Tecnologias de Tratamento**. São Paulo, Ed. LDiBe Ltda, 2010.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro-RJ: Interciência, 1998.

FEMAGO. FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE DE GOIÁS. **Índice de qualidade das águas do rio Meia Ponte**. Goiânia: FEMAGO, 53 p. 1991.

FIGUEIREDO, N. F. **Diagnóstico da qualidade da água dos mananciais abastecedores de São Bento do Sul/SC**, com ênfase nas comunidades de cianobactérias e algas. 2005. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal.

FRANCESCHINI, I.M.; BURLIGA, A.L.; REVIERS, B.; PRADO, J.F.; RÉZIG, S.H. **Algas: Uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica**. Porto Alegre, Artmed, 2010.

GENTIL, R.C. **Estrutura da comunidade fitoplanctônica de pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo, SP, em dois períodos: primavera e verão**. Tese de Doutorado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2007.

GENTIL, R. C.; TUCCI, A.; SANT'ANNA, C. L. **Dinâmica da comunidade fitoplanctônica e aspectos sanitários de um lago urbano eutrófico em São Paulo, SP.** *Hoehnea*, v. 35, n. 2, p. 265-280, 2008.

GONÇALVES, M. A. **Algas fitoplanctônicas na Lagoa Jupará (Linhares-ES): Variação espacial, temporal e bioindicadores do estado trófico.** 2005. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo.

GOIÁS (Estado). Secretaria de Indústria e Comércio. Superintendência de Geologia e Mineração. **Caracterização Climática do Estado de Goiás.** Por Silvano Carlos da Silva, Neiva Maria Pio de Santana, José Cardoso Pelegrini. Goiânia, 2006.

GOMES, P. P. **Variação espacial e temporal da comunidade fitoplanctônica da Lagoa Bonita, DF.** 2007.

HAPPEY-WOOD, C.M. **Ecology of freshwater planktonic green algae.** In SANDGREW, C.D. ed. **Growth and reproduction strategies of freshwater phytoplankton.** Cambridge, Cambridge University Press, 442p. 1988.

HINDÁK, F. **Fotografický atlas mikroskopických siníc.** Bratislava: VEDA, 2011.

HUSZAR, V.L.M. **Fitoplâncton.** Pp.91-104. In: Bozelli, R.L.; Esteves, F.A. & Roland, F. (Eds.). **Lago Batata: impacto e recuperação de um ecossistema amazônico.** Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000.

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. **Cyanoprokaryota 1. Teil Chroococcales.** In: H. Ettl, G. Gartner, H. Heynig, D. Möllenhauer (Eds.). **Sübwasserflora von Mitteleuropa.** Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1998.

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. **Cyanoprokaryota 2. Teil Oscillatoriales.** In: B. Büdel, L. Krienitz, G. Gärtner, & M. Schagerl (Eds.). **Sübwasserflora von Mitteleuropa.** Elsevier: Spektrum Akademischer Verlag, Munique, 2005.

MOURA, A. N.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; MENDONÇA, D. F. P.; OLIVEIRA, H. S. B.; DANTAS, E. W.; PIMENTEL, R. M. M. **Microalgas e qualidade da água de manancial utilizado para abastecimento público localizado na região metropolitana da cidade do Recife.** PE, Brasil—*Revista de Geografia*, v. 24, p. 154-178, 2007.

MÜLLER, C. C.; CYBIS, L. F.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. **Monitoramento do Fitoplâncton para a Qualidade da Água de Abastecimento Público—Estudo de Caso de Mananciais do Rio Grande do Sul.** *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, v. 17, p. 203-211, 2012.

NABOUT, J. C.; NOGUEIRA, I. S. **Distribuição vertical da comunidade fitoplanctônica do lago dos Tigres (Goiás, Brasil)** -DOI: 10.4025/actascibiolsci; vol. 30i1. 1446. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 30, n. 1, p. 47-55, 2008.

NABOUT, J. C.; NOGUEIRA, I. S. **Variação temporal da comunidade fitoplanctônica em lagos urbanos eutróficos** - DOI: 10.4025/actascibiolsci.; v. 33i4. 5955. Acta Scientiarum. Biological Sciences, v. 33, n. 4, p. 383-391, 2011.

NOGUEIRA, I. S. **Chlorococcales sensu lato (Chlorophyceae) do município do Rio de Janeiro e arredores, Brasil: inventário e considerações taxonômicas**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1991.

NOGUEIRA, I. S. **Estrutura e dinâmica da comunidade Fitoplânctonica da Represa samambaia, Goiás, Brasil**. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 341p, 1999.

OLIVEIRA, M. T. **O fitoplâncton como instrumento de biomonitoramento da qualidade da água do Reservatório de Cachoeira Dourada – Rio Paranaíba – GO/MG**. São Carlos, UFSCar, 2010.

PEREIRA, B. G. **Comunidade Fitoplanctônica da Lagoa Mãe-Bá e Barragem Norte (ES): Variação espacial, temporal e grupos funcionais**. Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF). Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/pgecologia_5718_1378409630.pdf>. Acesso em 08.03.2015.

REYNOLDS, C.S. 1995. **River Plankton: the paradigm regained**. In: MATSUURA, P. **Assembleias fitoplanctônicas no gradiente longitudinal barragem-jusante do reservatório de Itaipu, rio Paraná (Brasil/Paraguai)**. Trabalho de conclusão do curso de Ciências Biológicas apresentado à Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, São Paulo, 2011.

REYNOLDS, C.S. **Ecology of Phytoplankton**. Cambridge University Press. 2006. 535 p. Disponível em: <http://www.jlakes.org/book/ecology-of-phytoplankton_2006.pdf>. Acesso em: 17.03.2015.

RODRIGUES, S. C. **Estudo comparativo da estrutura da comunidade fitoplanctônica na Foz dos rios formadores do Delta do Jacuí, Rio Grande do Sul, Brasil**. Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2004.

RODRIGUES, E. H. C.; BARRETO, L. N.; FERREIRA-CORREIA, M. M; SILVA, M. R. C. **Variação temporal do fitoplâncton em um rio tropical pré-amazônico (rio PINDARÉ, Maranhão, Brasil)**. Ciência & Natura, v. 37, n. 2, p. 242-252, 2015.

SANT'ANA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; AGUJARO, L. F.; CARVALHO, M. C.; CARVALHO, L. R.; SOUZA, R. C. **Manual Ilustrado para Identificação e Contagem de Cianobactérias Planctônicas de Águas Continentais Brasileiras**. Rio de Janeiro: Interciência, 2006.

SANT'ANA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P. **Contribution to the knowledge of potentially toxic cyanobacterium from Brazil**. Nova Hedwigia, v. 71 (3/4), p. 359 – 385, 2000. In: FIGUEIREDO, N. F. et al. **Diagnóstico da qualidade da água dos**

mananciais abastecedores de São Bento do Sul/SC, com ênfase nas comunidades de cianobactérias e algas. 2005.

SANEAGO. SANEAMENTO DE GOIÁS S.A. **Relatório do monitoramento do ribeirão João Leite.** Período 94-95. Goiânia: SANEAGO, 66p. 1996.

SANEAGO. SANEAMENTO DE GOIÁS S.A. **Procedimento e Relatório de Monitoramento Intensivo na Área do Reservatório do João Leite.** Goiânia, 2010.

SILVA, K. P. B.; COSTA, M. M. S.; GUEDES, E. A. C. **Variação temporal do fitoplâncton de um lago pertencente à Área de Proteção Permanente no estado de Alagoas, nordeste do Brasil.** Acta Bot Bras, v.25, n. 4, p. 890-898, 2011.

TUNDISI, J.G; MATSUMURA-TUNDISI, T. M. **Limnologia.** São Paulo, Oficina de textos, 2008.

TRAIN, S.; RODRIGUES, L. C.; JATI, S.; BORGES, P. A. F.; BOVO, V. M.; MARENGONI, E. **Avaliação preliminar da viabilidade econômica e ambiental de cultivo de inverno de tilápia nilótica em tanques-rede.** Maringá: Pronex/Nupleia/Universidade Estadual de Maringá. p. 107-110. 2006.

UFG. UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. Escola de Agronomia. Estação pluviométrica. **Laudos pluviométricos 2012.** Disponível em: <http://www.agro.ufg.br/up/68/o/ANO_2012.pdf?1360060085>. Acesso em: 30.03.2015.

UTERMÖHOL, H. **Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton methodik,** Mitt. Int. Ver. Limnol, 9: 1-38, 1958.

XAVIER, C. F.; DIAS, L. N.; BRUNKOW, R. F. **Eutrofização.** In: ANDREOLI, C. V.; CARNEIRO, C. (Editores) **Gestão Integrada de Mananciais de Abastecimento Eutrofizados.** Curitiba: SANEPAR/FINEP. Cap. 8. p.271-302, 2005.

WILLÉN, E. Phytoplankton in water quality assessment – an indicator concept. Hydrobiological and limnological aspects of lake monitoring, p. 58 – 80, 2000. In: FIGUEIREDO, N. F. et al. Diagnóstico da qualidade da água dos mananciais abastecedores de São Bento do Sul/SC, com ênfase nas comunidades de cianobactérias e algas. 2005.

ESTRUTURA FÍSICO-QUÍMICA DE DIFERENTES NANOSSISTEMAS CARREADORES DE FÁRMACOS

*Stela Ramirez de Oliveira*¹

*Marco Júnio Peres Filho*²

Nanotecnologia significa a criação e utilização de materiais, dispositivos e sistemas através do manejo da matéria na escala submicrométrica, ou seja, no nível dos átomos, moléculas e estruturas supramoleculares (FARAJI; WIPF, 2009). O prefixo “nano” deriva do grego “nanos”, significando “anão”. O nanômetro é uma unidade de medida métrica e equivale a 10^{-9} metro (BUZEA; BLANDINO; ROBBIE, 2007; JANA et al., 2013). Os nanoproductos já têm sido usados comercialmente em várias áreas, como medicina, química, comunicação, engenharia, robótica e cosmética, no sentido de desenvolver novos produtos e criar novos mercados, trazendo benefícios para a vida cotidiana (FARAJI; WIPF, 2009; JAIN, 2010; LO et al., 2012; PARVEEN et al., 2012; SAHOO; LABHASETWAR, 2003).

Na área farmacêutica as nanopartículas são bastante utilizadas como sistemas de liberação de fármacos biocompatíveis e biodegradáveis. Possuem tamanho submicrométrico e podem ter muitos arranjos estruturais em termos de tamanho, forma e materiais utilizados na sua preparação, dependendo do fim a que se destinam e do fármaco que vão carrear. Compreendendo essa variedade de materiais, podem ser citados polímeros (partículas poliméricas, micelas e dendrímeros), lipídios (lipossomas), vírus (nanopartículas virais), e até compostos organometálicos (nanotubos) (CHO et al., 2008; HALEY; FRENKEL, 2008; VASIR; LABHASETWAR, 2007).

Essas nanoestruturas podem atuar como ferramenta terapêutica ou diagnóstica. Além de a composição ser variada, a carga superficial e suscetibilidade à opsonização também variam muito, influenciando no perfil farmacocinético.

¹ União das Faculdades Alfredo Nasser – Instituto de Ciências da Saúde (ICS-UNIFAN).

² Universidade Estadual de Goiás (UEG).

As nanopartículas são sistemas de liberação mais vantajosos que os convencionais, pois podem promover redução de efeitos colaterais e toxicidade, proteção do fármaco contra degradação, aumento no tempo de liberação do fármaco, liberação direcionada, aumento da biodisponibilidade e aumento da solubilidade do fármaco (NAAHIDI et al., 2013; MOLINO; WANG, 2014).

Entre as nanopartículas baseadas em carbono destacam-se os nanotubos de carbono e os fulerenos. Os fulerenos estão bem estabelecidos e são constituídos exclusivamente por átomos de carbono em sua forma molecular. Eles têm atraído diversos pesquisadores por possuírem propriedades físicas, químicas, elétricas e estruturais únicas e específicas. Entre as formas de fulerenos estáveis já isoladas a formada por 60 átomos de carbono (C_{60}) é a mais abundante e representativa, além de possuir alta simetria (Figura 1) (BAKRY et al., 2007; SANTOS et al., 2010; CHEN, MAO, LIU, 2012; NAAHIDI et al., 2013).

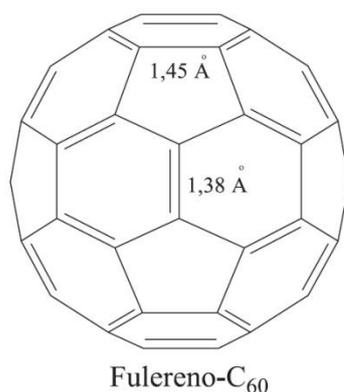


Figura 1. Estrutura do Fulereno – C_{60} . Fonte: Adaptado de Santos e colaboradores(2010).

Embora rica em elétrons, a molécula C_{60} se comporta como uma espécie eletronegativa capaz de aceitar reversivelmente de um até seis elétrons, formando os ânions correspondentes. Como essa molécula possui baixa solubilidade aquosa, essa dificuldade tem sido superada por várias práticas, dentre as quais duas se destacam: modificação química da superfície da estrutura para obtenção de fulereno funcionalizado covalentemente e a complexação do C_{60} ou derivados com outras moléculas, como ciclodextrinas (BAKRY et al., 2007; SANTOS et al., 2010).

Os fulerenos e seus derivados são utilizados atualmente para entrega celular de fármacos e genes, possibilitando que o fármaco carregado atravesse a membrana e

chegue até o núcleo da célula. Eles possuem alta biodisponibilidade devido ao seu tamanho pequeno, de aproximadamente 1 nm (BAKRY et al., 2007).

Os fulerenos possuem atividade antioxidante, sendo de grande vantagem para uso medicinal pela sua habilidade de localizarem-se na mitocôndria ou outras estruturas celulares, onde está a produção de radicais livres em estados patológicos (BAKRY et al., 2007). Fulerenoderivatizado pode atravessar a membrana celular e se ligar às mitocôndrias (FOLEY et al., 2002; BAKRY et al., 2007).

Existem dois tipos principais de nanotubos de carbono, os de parede simples (NCPS) e os de parede múltipla (NCPM). Os nanotubos de carbono, em geral, são tubos que possuem as paredes com apenas um átomo de carbono de espessura (NCPS), essa estrutura em forma de tubo é formada por uma folha de grafite enrolada (Figura 2), sendo os NCPS formados por uma única camada e os NCPM formados por vários NCPS (ROMERO et al., 2002; SANTOS et al., 2010; NAAHIDI, et al., 2013). Com propriedades peculiares os nanotubos de carbono têm atraído bastante atenção dos pesquisadores para sua utilização como carreadores de fármacos. Eles possuem um formato de “nanoagulha” com estrutura monolítica oca e alta resistência mecânica. Por ter grande área superficial oferecem vários locais de ligação para os fármacos, em suas camadas externas podem-se também ancorar grupos funcionais além do fármaco. Outra característica importante na entrega de fármacos é que os nanotubos de carbono têm elevada capacidade de atravessar membranas celulares (MADANI et al., 2011; SAHOO et al., 2011).

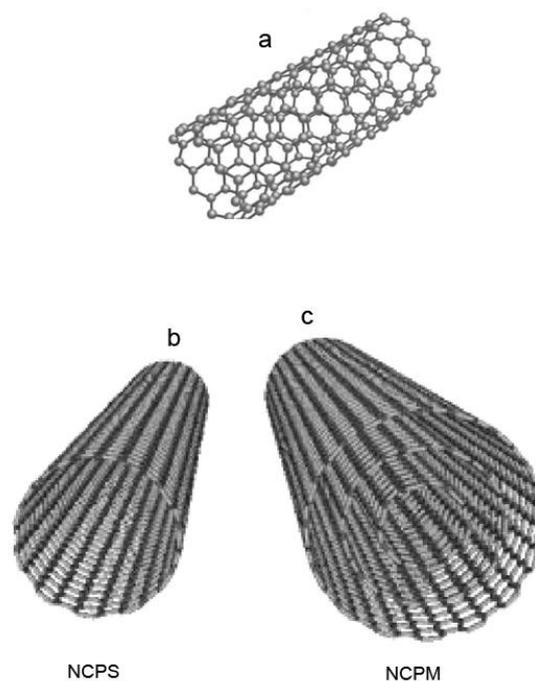


Figura 2. Estruturas de Nanotubos de Carbono, a – visão lateral, b- nanotubo de carbono de parede simples (NCPS), c- nanotubo de carbono de parede múltipla (NCPM). **Fonte:** Adaptado de Scarselli; Castrucci; DeCrescenzi(2012).

Os dendrímeros são considerados uma nova classe de polímeros com uma estrutura tridimensional hiper-ramificada e alta possibilidade de funcionalização. Sua forma, tamanho, comprimento de ramificação, densidade e funcionalidade podem ser controlados e são bem definidos (Figura 3). Eles diferem de muitos polímeros clássicos por serem bem definidos, com alto grau de uniformidade, baixo índice de polidispersão, e uma superfície altamente funcional (D'EMANUELE; ATTWOOD, 2005; NAAHIDI, et al., 2013). O núcleo determina a forma, tamanho, direção e multiplicidade de dendrímeros. Os dendrímeros são estruturas quase esféricas de dimensão nanométrica, geralmente entre 2 e 10 nm. Por serem sintéticos consegue-se obter um peso molecular previsível, biodegradabilidade e biocompatibilidade, que são características essenciais para carreamento de fármacos. Os dendrímeros projetados para a entrega de fármacos têm o intuito de melhorar a farmacocinética e biodistribuição do fármaco, além de possibilitarem liberação controlada do fármaco (SILVA JR; MENACHO; CHORILLI, 2012).



Figura 3. Estrutura do dendrímico. Fonte: Adaptado de Labuzek e colaboradores (2013).

As ciclodextrinas (Figura 4) são nanossistemas que conferem características úteis para a liberação de fármacos em sítios específicos, além de melhorarem a estabilização do fármaco e sua absorção. Elas são oligossacarídeos cíclicos, compostas por moléculas de açúcar (D-glicopiranosose), unidas por ligações glicosídicas α -1,4, e por isso são denominadas também de cicloamilases. São biodegradáveis com alta capacidade de alterar características físicas, químicas e biológicas do fármaco por formação de um complexo de inclusão. Elas isolam o fármaco do ambiente externo encapsulando-o totalmente ou parcialmente em sua cavidade, dando-lhe assim a proteção contra degradação (LI; LOH, 2008; SÁ BARRETO; CUNHA-FILHO, 2008; ZAFAR; FESSI; ELAISSARI, 2014).

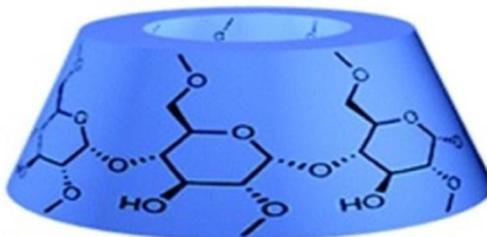


Figura 4. Estrutura da ciclodextrina. Fonte: Adaptado de Zafar; Fessi; Elaissari (2014).

A pesquisa e o estudo de lipossomas, por sua vez, têm se expandido consideravelmente nas últimas décadas, quando tornaram-se carreadores farmacêuticos de escolha para numerosas aplicações práticas. A estrutura dos lipossomas (Figura 5) é determinada, assim como no caso das partículas poliméricas, pelas matérias-primas que são utilizadas na sua preparação e pelas interações que ocorrem por semelhança de polaridade na bicamada lipídica e com o meio aquoso durante a sua formação (BANERJEE, 2001; TORCHILIN, 2005).

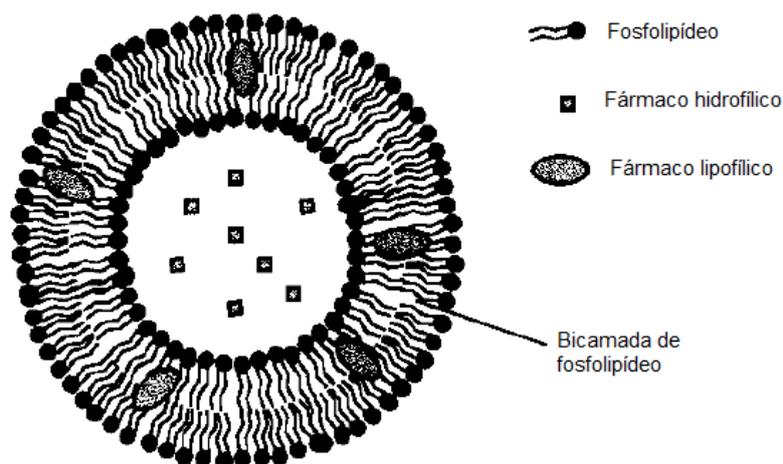


Figura 5. Esquema de um lipossoma. Fonte: Adaptado de MASSING e FUXIUS (2000).

Essas nanoestruturas já foram exploradas na clínica para aplicações diversas, como agentes de diagnóstico por imagem de tumores e sítios de infecção, para produção de vacinas e sistemas de carreamento de genes, para o tratamento de infecções e do câncer, de doenças pulmonares e da pele (ALLEN; CULLIS, 2013).

Lipossomas são vesículas esféricas formadas por uma ou várias bicamadas lipídicas concêntricas, com compartimento aquoso no interior e entre as bicamadas de lipídios naturais ou sintéticos (fosfo ou esfingolipídios) (Figura 5). Essas vesículas são compostas por materiais biocompatíveis, causam nenhuma ou poucas reações antigênicas, pirogênicas, alérgicas e tóxicas, são facilmente biodegradáveis; protegem o paciente de efeitos colaterais indesejáveis causados pelo princípio ativo, e ao mesmo tempo protegem o fármaco encapsulado da inativação causada por agentes do meio fisiológico. Fármacos com lipofilicidades variadas podem ser encapsulados em lipossomas, seja na própria bicamada de fosfolipídios, na sua interface ou no volume aquoso aprisionado (LASIC, 1997; SHARMA; SHARMA, 1997; TORCHILIN, 2005; TORCHILIN, 2010).

Em relação ao tamanho, lipossomas que contém uma única bicamada (lamela) são chamados vesículas unilamelares (ULVs, unilamelarvesicles, do inglês), que podem ser pequenas (20-100 nm) ou grandes (>100 nm), enquanto aqueles que têm mais que uma bicamada são vesículas multilamelares ou MLVs (>500 nm) (CAGDAS et al., 2011; EDWARDS; BAEUMNER, 2006; GÓMEZ-HENS; FERNÁNDEZ-ROMERO, 2006; LI; ZHAO, 2007; WALDE; ICHIKAWA, 2001).

As propriedades físico-químicas dos lipídios que compõem os lipossomas influenciam as características dessas vesículas, como fluidez da membrana, densidade

de carga, impedimento estérico e permeabilidade, determinando as suas interações com componentes do plasma e outros tecidos após administração sistêmica (SHARMA; SHARMA, 1997; LASIC, 1997).

Dentre os lipídios empregados na preparação de lipossomas podem ser citados as fosfatidilcolinas e o colesterol. As fosfatidilcolinas representam a mais abundante classe de lipídios em membranas de mamíferos e são um importante componente em organismos eucarióticos. São também constituintes do surfactante pulmonar humano, de lipoproteínas séricas e da bile e representam os lipídios mais amplamente usados em estudos de modelo de membranas (KOYNOVA; CAFFREY, 1998).

A característica típica de lipídios formadores de bicamada, como as fosfatidilcolinas, é sua natureza anfifílica: uma cabeça polar ligada covalentemente a uma ou duas caudas hidrofóbicas de hidrocarboneto. Quando esses lipídios são expostos ao ambiente aquoso, interações entre eles mesmos (pontes de hidrogênio entre os grupos polares e ligações de van der Waals entre as cadeias de hidrocarboneto) e com a água (interações hidrofílicas, efeito hidrofóbico) levam à formação de vesículas (FRÉZARD, 1999; OHVO-REKILA et al., 2002).

A fluidez da bicamada lipossomal, quando feita de um único lipídio, depende da temperatura de transição de fase desse lipídio (T_c). Em temperatura superior à T_c do lipídio da bicamada, a membrana dos lipossomas encontra-se na fase líquida-cristalina fluida, um estado desordenado, em que as moléculas têm mais liberdade de movimento. Ao contrário, em temperaturas inferiores à T_c do fosfolipídio que forma a bicamada lipossomal, a membrana dos lipossomas se encontra na fase gel ou “rígida” e os lipídeos têm movimento restrito e suas cadeias de hidrocarboneto apresentam conformação “toda-trans”. Assim, dependendo da T_c do lipídio, diferentes membranas compostas por distintos lipídios podem exibir diferentes níveis de fluidez à mesma temperatura (FRÉZARD, 1999; FRÉZARD et al., 2005; PAPAHAADJOPOULOS et al., 1973).

Outro componente lipídico importante, que entra muitas vezes na composição dos lipossomas, é o colesterol (Figura 6).

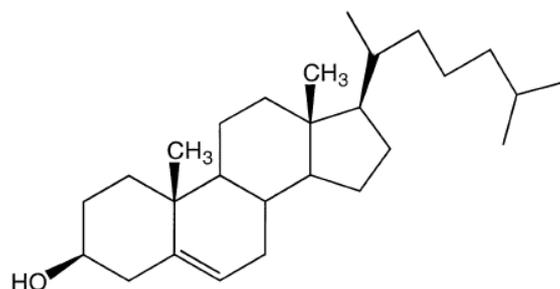


Figura 6. Estrutura química do colesterol. Fonte: O próprio autor

Por causa de sua estrutura plana, do anel rígido e do pequeno grupamento polar, o colesterol é adequado para ter contato próximo com fosfolipídios que possuem cadeias saturadas, e é capaz de influenciar o empacotamento dos lipídios. Na bicamada dos lipossomas, seu grupo hidroxil polar fica na interface com a fase aquosa e o anel esteroide hidrofóbico posiciona-se paralelamente e entre as cadeias de fosfolipídios. Ao posicionar-se assim, o colesterol aumenta a rigidez das membranas no estado líquido-cristalino e reduz a rigidez e os defeitos estruturais das membranas no estado gel. Isso explica o importante papel desse constituinte das membranas biológicas, que exerce regulação da elasticidade e da permeabilidade das bicamadas lipídicas. No caso particular dos lipossomas, a permeabilidade da bicamada influencia na liberação dos fármacos encapsulados (FRÉZARD, 1999; FRÉZARD et al., 2005; HEERKLOTZ; TSAMALOUKAS, 2007; HALLING et al., 2008; OHVO-REKILA et al., 2002).

REFERÊNCIAS

- AGNIHOTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 100, p. 5–28, 2004.
- ALLEN, T. M.; CULLIS, P. R. Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, p. 36–48, 2013.
- BAKRY, R.; VALLANT, R. M.; NAJAM-UL-HAQ, M.; RAINER, M.; SZABO, Z.; HUCK, C. W.; BONN, G. K. Medicinal applications of fullerenes. **International Journal of Nanomedicine**, v. 2, n. 4, p. 639-649, 2007.
- BANERJEE, R. Liposomes: applications in medicine. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 16, n. 3, p. 3-21, 2001.
- BUZEA, C.; BLANDINO, I. I. P.; ROBBIE, K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. **Biointerphases**, v. 2, n. 4, p. MR17 - MR172, 2007.

CAGDAS, F. M.; ERTUGRAL, N.; BUCAK, S.; ATAY, N. Z. Effect of preparation method and cholesterol on drug encapsulation studies by phospholipid liposomes. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 16, n. 4, p. 408–414, 2011.

CHEN, Z.; MAO, R.; LIU, Y. Fullerenes for Cancer Diagnosis and Therapy: Preparation, Biological and Clinical Perspectives. **Current Drug Metabolism**, v. 13, p. 1035-1045, 2012.

CHO, K.; WANG, C.; NIE, S.; CHEN, Z.; SHIN, D. M. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 14, p. 1310-1316, 2008.

D'EMANUELE, A.; ATTWOOD, D. Dendrimer–drug interactions. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 2147-2162, 2005.

EDWARDS, K. A.; BAEUMNER, A. J. Liposomes in analyses. **Talanta**, v. 68, p. 1421–1431, 2006.

FARAJI, A. H.; WIPF, P. Nanoparticles in cellular drug delivery. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 2950–2962, 2009.

FOLEY, S.; CROWLEY, C.; SMAIHI, M.; BONFILS, C.; ERLANGER, B. F.; SETA, P.; LARROQUE, C. Cellular localisation of a water-soluble fullerene derivative. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 294, p. 116-119, 2002.

FRÉZARD, F. Liposomes: from biophysics to the design of peptide vaccines. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, p. 181-189, 1999.

FRÉZARD, F.; SCHETTINI, D. A.; ROCHA, O. G. F.; DEMICHELI, C. Lipossomas: propriedades físico-químicas e farmacológicas, aplicações na quimioterapia à base de antimônio. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 511-518, 2005.

GAN, Q.; WANG, T. Chitosan nanoparticle as protein delivery carrier—Systematic examination of fabrication conditions for efficient loading and release. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 59, p. 24–34, 2007.

GARCIA-FUENTES, M.; ALONSO, M. J. Chitosan-based drug nanocarriers: Where do we stand? **Journal of Controlled Release**, v. 161, p. 496-504, 2012.

GÓMEZ-HENS, A.; FERNÁNDEZ-ROMERO, J. M. Analytical methods for the control of liposomal delivery systems. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 167-178, 2006.

HALEY, B.; FRENKEL, E. Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 26, p. 57–64, 2008.

HALLING, K. K.; RAMSTEDT, B.; NYSTRÖM, J. H.; SLOTTE, J. P.; NYHOLM, T. K. M. Cholesterol interactions with fluid-phase phospholipids: effect on the lateral organization of the bilayer. **Biophysical Journal**, v. 95, p. 3861–3871, 2008.

- HEERKLOTZ, H.; TSAMALOUKAS, A. Gradual change or phase transition: characterizing fluid lipid-cholesterol membranes on the basis of thermal volume changes. **Biophysical Journal**, v. 91, p. 600–607, 2006.
- HEJAZI, R.; AMIJI, M. Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 89, p. 151–165, 2003.
- JAIN, K. K. Advances in the field of nanooncology. **BMC Medicine**, v. 8, p. 1-11, 2010.
- JANA, S.; MAJI, N.; NAYAK, A. K.; SEM, K. K.; KUMAR BASU, S. K. Development of chitosan-based nanoparticles through inter-polymeric complexation for oral drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 870-876, 2013.
- JONASSEN, H.; KJØNIKSEN, A.-L.; HIORTH, M. Effects of ionic strength on the size and compactness of chitosan nanoparticles. **Colloid and Polymer Science**, v. 290, p. 919-929, 2012.
- KOYNOVA, R.; CAFFREY, M. Phases and phase transitions of the phosphatidylcholines. **Biochimica and Biophysica Acta**, v. 1376, p. 91–145, 1998.
- LASIC, D. D. Recent developments in medical applications of liposomes: sterically stabilized liposomes in cancer therapy and gene delivery in vivo. **Journal of Controlled Release**, v. 48, p. 203–222, 1997.
- LI, J.; LOH, X. J. Cyclodextrin-based supramolecular architectures: Syntheses, structures, and applications for drug and gene delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 1000-1017, 2008.
- LI, P.; ZHAO, L. Developing early formulations: Practice and perspective. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 341, p. 1–19, 2007.
- LO, C. C.; WANG, C. H.; CHIEN, P. Y.; HUNG, C. W. An empirical study of commercialization performance on nanoproducts. **Technovation**, v. 32, p. 167-178, 2012.
- MADANI, S. Y.; NADERI, N.; DISSANAYAKE, O.; TAN, A.; SEIFALIAN, A. M. A new era of cancer treatment: carbon nanotubes as drug delivery tools. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 2963-2979, 2011.
- MAESTRELLI, F.; GARCIA-FUENTES, M.; MURA, P.; ALONSO, M. J. A new drug nanocarrier consisting of chitosan and hydroxypropylcyclodextrin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 63, p. 79-86, 2006.
- MASSING, U.; FUXIUS, S. Liposomal formulations of anticancer drugs: selectivity and effectiveness. **Drug Resistance Updates**, v. 3, p. 171–177, 2000.
- MOLINO, N. M.; WANG, S-W. Caged protein nanoparticles for drug delivery. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 28, p. 75-82, 2014.

NAAHIDI, S.; JAFARI, M.; EDALAT, F.; RAYMOND, K.; KHADEMHOSEINI, A.; CHEN, P. Biocompatibility of engineered nanoparticles for drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 166, p. 182–194, 2013.

OHVO-REKILÄ, H.; RAMSTEDT, B.; LEPPIMÄKI, P.; SLOTTE, P. Cholesterol interactions with phospholipids in membranes. **Progress in Lipid Research**, v. 41, p. 66–97, 2002.

PAPAHADJOPOULOS, D.; JACOBSON, K.; NIR, S.; ISAC, T. Phase transitions in phospholipid vesicles fluorescence polarization and permeability measurements concerning the effect of temperature and cholesterol. **Biochimica and Biophysica Acta**, v. 311, p. 330-348, 1973.

PARVEEN, S.; MISRA, R.; SAHOO, S. K. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 8, p. 147–166, 2012.

ROMERO, J. G. V.; LUENGO, C. A.; HUBER, J. G.; ROSOLEN, J. M.; Síntese de nanotubos de carbono de parede simples por sublimação de grafite em atmosfera de hélio. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 59-61, 2002.

SÁ BARRETO, L. C. L.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Ciclodextrina: Importante Excipiente Farmacêutico Funcional. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 4, p. 629-636, 2008.

SAHOO, N. G.; BAO, H.; PAN, Y.; PAL, M.; KAKRAN, M.; CHENG, H. K. F.; LI, L.; TAN, L. P. Functionalized carbon nanomaterials as nanocarriers for loading and delivery of a poorly water-soluble anticancer drug: a comparative study. **Chemical Communications**, v. 47, p.5235–5237, 2011.

SAHOO, S. K.; LABHASETWAR, V. Nanotech approaches to drug delivery and imaging. **Drug Discovery Today**, v. 8, n. 24, p. 1112-1120, 2003.

SANTOS, L. J.; ROCHA, G. P.; ALVES, R. B.; FREITAS, R. P. Fulereo[C₆₀]: Química e Aplicações. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 680-693, 2010.

SHARMA, A.; SHARMA, U. S. Liposomes in drug delivery: progress and limitations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 154, p. 123-140, 1997.

SILVA JR, N. P.; MENACHO F. P.; CHORILLI, M. Dendrimers as potential platform in nanotechnology-based drug delivery systems. **Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 5, p. 23-30, 2012.

TORCHILIN, V. P. Passive and active drug targeting: drug delivery to tumors as an example. **Handbook of Experimental Pharmacology**, Springer: Berlin, v. 97, p. 3-53, 2010.

TORCHILIN, V. P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. **Drug Discovery**, v. 4, p. 145-160, 2005.

VASIR, J. K.; LABHASETWAR, V. Biodegradable nanoparticles for cytosolic delivery of therapeutics. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 718–728, 2007.

WALDE, P.; ICHIKAWA, S. Enzymes inside lipid vesicles: preparation, reactivity and applications. **Biomolecular Engineering**, v. 18, p. 143–177, 2001.

YOKSAN, R.; JIRAWUTTHIWONGCHAI, J.; ARPO, K. Encapsulation of ascorbylpalmitate in chitosan nanoparticles by oil-in-water emulsion and ionic gelation processes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 76, p. 292–297, 2010.

ZAFAR, N.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Cyclodextrin containing biodegradable particles: From preparation to drug delivery applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 461, p. 351-366, 2014.

ZHENG, F.; SHI, X.-W.; YANG, G.-F.; GONG, L.-L.; YUAN, H.-Y.; CUI, Y.-J.; WANG, Y.; DU, Y.-M.; LI, Y. Chitosan nanoparticle as gene therapy vector via gastrointestinal mucosa administration: Results of an in vitro and in vivo study. **Life Sciences**, v. 80, p. 388–396, 2007.

DESCRIÇÃO DE PARÂMETROS E INDICADORES DE QUALIDADE DAS ÁGUAS

*Lindomar Gomes dos Santos*¹

*Rodrigo da Silva Santos*²

Desde as civilizações mais remotas tem-se observado uma preocupação constante do homem em relação à qualidade da água e a transmissão de doenças. O homem comum prefere a água da fonte, por ser cristalina e rejeita a água dos rios por ser turva, embora, muito frequentemente, a água cristalina, da fonte seja transmissora de germes patogênicos e esta última não (SCHULZE et al., 2004).

O rápido crescimento das cidades brasileiras se baseia na industrialização, que tem como característica principal uma estreita relação das questões ambientais com o desenvolvimento de suas atividades (HOBOLT, 2007). E este elevado desenvolvimento industrial tem sido um dos principais responsáveis pela contaminação de nossas águas e solos, seja pela negligência no seu tratamento antes de despejá-las nos rios ou por acidentes e descuidos cada vez mais frequentes, que propiciam o lançamento de muitos poluentes nos ambientes aquáticos (KAWAI et al., 2003). Previamente ao lançamento no meio ambiente, preconiza-se que os efluentes sejam tratados para reduzir a sua carga poluente a níveis compatíveis com a legislação ambiental vigente (MAGNAN, 2010).

A água contém, geralmente, diversos componentes, os quais provêm do próprio ambiente natural ou foram introduzidos a partir de atividades humanas (MOTA, 1997), lhe causando alterações. A presença desses constituintes merece uma atenção especial devido às características que conferem às águas (SANTOS, 2011). O grau de poluição das águas é medido através de características físicas, químicas e biológicas das impurezas existentes, que, por sua vez, são identificadas por parâmetros de qualidade das águas físicos, químicos e biológicos (PEREIRA, 2004).

¹ Biólogo. Especialista em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia pela Universidade Federal de Goiás (UFG).

² Biólogo. Doutor em Ciências Biológicas (Genética) pela Universidade de São Paulo (USP).

Os elementos encontrados na água se tornam poluentes quando alcançam valores superiores aos estabelecidos para determinado uso (SANTOS, 2011), sendo que para a água potável os valores são bem restritivos.

Richter e Azevedo Netto (2000) consideram que água potável é uma água própria para o consumo humano, cujos parâmetros microbiológicos físicos, químicos e radioativos atendam os padrões de potabilidade e que não ofereça riscos à saúde. Os valores limites dos padrões de qualidade das águas de consumo em geral, bem como os valores de referência das águas subterrâneas variam de país para país (REBOUÇAS, 1996). Estes padrões normalmente são embasados nas Legislações Municipal, Estadual e Federal e nesse quesito o Brasil é considerado um dos países que tem das melhores legislações do mundo (VARGAS, 2003), sendo que atualmente os padrões de potabilidade da água no Brasil são determinados pelo Ministério da Saúde, através de sua Portaria 2914, de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011).

De uma maneira geral, as características físicas são analisadas sob o ponto de vista de sólidos (suspensos, coloidais e dissolvidos na água) e gases. As características químicas, nos aspectos de substâncias orgânicas e inorgânicas e as biológicas sob o ponto de vista da vida animal, vegetal e organismos unicelulares (algas) (PEREIRA, 2004).

Dentro do vasto universo de dados e informações levantadas, o trabalho limitou-se em descrever os seguintes parâmetros de qualidade de água:

- *Parâmetros Físicos*: cor, turbidez, sabor e odor, temperatura e condutividade elétrica.
- *Parâmetros Químicos*: carbono orgânico dissolvido (COD) e carbono orgânico total (COT), pH (acidez e alcalinidade), dureza, oxigênio dissolvido (OD), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), nitrogênio amoniacal (NH₃), nitrato (NO₃) e fósforo total (PT).
- *Parâmetros Biológicos*: bactérias do grupo coliforme e clorofila.

Muitos fatores físico-químicos tais como pH, dureza, a temperatura, o oxigênio dissolvido e as taxas de fluxo, afetam as propriedades tóxicas de um composto para a espécie aquática em águas não poluídas (HOBOLT, 2007). Para melhor compreensão

das finalidades de utilização destes parâmetros, faz-se a seguir, esclarecimentos sobre cada um deles.

PARÂMETROS FÍSICOS DE QUALIDADE DAS ÁGUAS

Cor

A água é considerada virtualmente ausente de cor, sendo que a presença de substâncias dissolvidas ou em suspensão é que ocasiona alteração na cor da água, dependendo da natureza e da quantidade do material presente. Em razão disso, as águas superficiais estão mais sujeitas a ter cor do que águas subterrâneas. Em combinação com o ferro, a matéria orgânica pode produzir cor de elevada intensidade (SANTOS, 2011). Quando pura e em grandes volumes, a água é azulada. Quando rica em ferro, é arroxeadada. Quando rica em manganês, é negra e quando rica em ácidos húmicos é amarelada (ANA, 2002).

A cor de uma amostra de água está associada ao grau de redução de intensidade que a luz sofre ao atravessá-la (e esta redução dá-se por absorção de parte da radiação eletromagnética), ocasionada pela presença de sólidos dissolvidos, especialmente material em estado coloidal orgânico e inorgânico. Dentre os coloides orgânicos, podem ser mencionados os ácidos húmico e fúlvico, substâncias naturais resultantes da decomposição parcial de compostos orgânicos presentes em folhas, dentre outros substratos (CETESB, 2009). A presença de substâncias de natureza orgânica (taninos, lignina e produtos de sua decomposição) ou inorgânica (íons férricos e humatos férricos) pode manchar materiais como tecidos, dificultando processos industriais, além de ocasionar certa repulsa ao aspecto sujo da água (FIGUEIREDO, 2002).

Os esgotos domésticos também se caracterizam por apresentarem predominantemente matéria orgânica em estado coloidal, além de diversos efluentes industriais, que contêm taninos (efluentes de curtumes, por exemplo), anilinas (efluentes de indústrias têxteis, indústrias de pigmentos etc.), lignina e celulose (efluentes de indústrias de celulose e papel, da madeira etc.) (CETESB, 2009).

A remoção da cor obedece normas para atender efeitos estéticos, e também para eliminar ou diminuir a presença de orgânicos dissolvidos. Com a descoberta de que tais substâncias são, potencialmente, precursoras de formação de trihalometanos (THM) e de outros compostos organo-halogenados se a desinfecção for feita com cloro livre, a

quantificação da cor passou a ser muito importante (DI BERNARDO & DANTAS, 2005 apud ZIPF, 2010).

Há também compostos inorgânicos capazes de causar cor na água. Os principais são os óxidos de ferro e manganês, que são abundantes em diversos tipos de solo. Alguns outros metais presentes em efluentes industriais conferem-lhes cor, mas, em geral, íons dissolvidos pouco ou quase nada interferem na passagem da luz. É importante ressaltar que a coloração, realizada na rede de monitoramento, consiste basicamente na observação visual do técnico de coleta no instante da amostragem (CETESB, 2009).

De acordo com Hardenbergh (1964) apud Santos (2011), a cor verdadeira da água é devida a matérias em solução e coloides, entretanto essa cor pode se converter em cor aparente pelo efeito das partículas em suspensão. Neste sentido Di Bernardo (2002) apud Zipf (2010) observa que a cor aparente é aquela derivada da medida feita na amostra da água em seu estado natural, já a cor verdadeira é feita com o sobrenadante da amostra de água centrifugada por 30 minutos, com rotação de 3.000 rpm, ou de água filtrada em membrana de 0,45 m.

Turbidez

Altas concentrações de material em suspensão limitam a qualidade da água bruta, por estarem relacionadas com a turbidez, a salinidade e dureza da água (PEREIRA, 2004).

A turbidez é uma característica da água devida à presença de partículas suspensas com tamanho variando desde suspensões grosseiras aos coloides, dependendo do grau de turbulência. A presença dessas partículas provoca a dispersão e a absorção da luz, dando a água uma aparência nebulosa, esteticamente indesejável e potencialmente perigosa (RICHTTER E AZEVEDO NETTO, 2002 apud SCURACCHIO, 2010). Essas partículas podem ser constituídas por plâncton, bactérias, argila, areia, fontes de poluição e outros (LEITE et al., 2003).

Os esgotos domésticos e diversos efluentes industriais também provocam elevações na turbidez das águas. Um exemplo típico deste fato ocorre em consequência das atividades de mineração, onde os aumentos excessivos de turbidez têm provocado formação de grandes bancos de lodo em rios e alterações no ecossistema aquático

(CETESB, 2009). A produção de agregados para construção civil tem como impacto a geração de areia e aumento da turbidez (FARIAS, 2002).

Alta turbidez provoca a redução da fotossíntese da vegetação enraizada submersa e das algas. Esse desenvolvimento reduzido de plantas pode, por sua vez, suprimir a produtividade de peixes. Logo, a turbidez pode influenciar nas comunidades biológicas aquáticas (CETESB, 2009). Favorece ainda o desenvolvimento de bactérias e fungos, que se proliferam nessas partículas (SILVA, 1990). Além disso, afeta adversamente os usos doméstico, industrial e recreacional de uma água (CETESB, 2009).

A erosão das margens dos rios em estações chuvosas, que é intensificada pelo mau uso do solo, é um exemplo de fenômeno que resulta em aumento da turbidez das águas e que exige manobras operacionais, tais como alterações nas dosagens de coagulantes e auxiliares, nas Estações de Tratamento de Águas (CETESB, 2009), influenciando assim, no aspecto econômico do tratamento da água com vistas a torná-la potável (SILVA, 1990).

Sabor e Odor

As características de sabor e odor são consideradas em conjunto, pois geralmente a sensação de sabor origina-se do odor (RICHTER e AZEVEDO NETTO, 2002 apud SANTOS, 2011). Os produtos que conferem odor e/ou sabor a água são originados por impurezas dissolvidas, matéria orgânica em decomposição, certos tipos de organismos microscópicos e compostos químicos voláteis (HARDENBERG, 1964 apud SANTOS, 2011).

O sabor e o cheiro da água são determinações organolépticas de determinação subjetiva, para as quais não existem instrumentos de observação, nem registros, nem unidades de medida. Tem um interesse evidente nas águas potáveis destinadas ao consumo humano (STURNIOLO, 2008). A detecção do sabor e odor e sua quantificação são bastante difíceis, pois depende exclusivamente da sensibilidade dos sentidos humanos. Além disso, essa sensibilidade varia de indivíduo para indivíduo e tende a diminuir com constatare exposição. (SANTOS, 2011)

As águas ganham um sabor salgado a partir dos 300 ppm de Cl, e um gosto salgado e amargo com mais de 450 ppm de SO₄⁼. O CO₂ livre dá um gosto picante.

Traços de fenóis ou outros compostos orgânicos conferem uma cor e sabor desagradável (STURNIOLO, 2008).

Temperatura

Este parâmetro é de fundamental importância para os sistemas aquáticos terrestres, já que os organismos possuem diferentes reações às mudanças deste fator (QUEIROZ, 2006). Variações de temperatura são parte do regime climático normal e corpos de água naturais apresentam variações sazonais e diurnas, bem como estratificação vertical. A temperatura superficial é pode ser influenciada por fatores como latitude, altitude, estação do ano, período do dia, taxa de fluxo e profundidade. Já a elevação da temperatura em um corpo d'água geralmente é ocasionada pela presença de despejos industriais (indústrias canaveiras, por exemplo) e usinas termoeletricas (CETESB, 2009).

Altas temperaturas, tanto na água como no ar, provocam reações adversas nos indivíduos, tais como a desnaturação das proteínas. A maior parte dos organismos aquáticos tem sua temperatura determinada por fatores externos (QUEIROZ, 2006), apresentando limites de tolerância térmica superior e inferior, temperaturas ótimas para crescimento, temperatura preferida em gradientes térmicos e limitações de temperatura para migração, desova e incubação do ovo (CETESB, 2009). Portanto nestes organismos a velocidade de suas reações metabólicas também depende da temperatura da água. A elevação desta temperatura, por introdução de águas mais quentes (poluição térmica) acelera os mecanismos de respiração, nutrição, reprodução e movimentação. Caso haja abaixamento de temperatura o efeito é contrário (QUEIROZ, 2006).

A temperatura desempenha um papel crucial no meio aquático, condicionando as influências de uma série de variáveis físico-químicas. Em geral, à medida que a temperatura aumenta, de 0 a 30°C, viscosidade, tensão superficial, compressibilidade, calor específico, constante de ionização e calor latente de vaporização diminuem, enquanto a condutividade térmica e a pressão de vapor aumentam (CETESB, 2009). Influenciando também na concentração de outras variáveis, como oxigênio dissolvido (O.D.) e matéria orgânica (MO), sendo a radiação solar, a principal variável que controla a temperatura da água de pequenos rios. Além disso, a solubilidade dos sais minerais, geralmente, cresce com o aumento da temperatura da água (MACEDO, 2002 apud QUEIROZ, 2006).

Condutividade Elétrica

A condutividade está relacionada com a capacidade que a água possui de conduzir corrente elétrica. Este parâmetro está relacionado com a presença de íons dissolvidos na água, que são partículas carregadas eletricamente. Quanto maior for a quantidade de íons dissolvidos, maior será a condutividade elétrica na água (ZIPF, 2010). Para o controle da qualidade da água, a medida de condutividade é a das mais importantes, pois tal grandeza fornece a concentração aproximada de eletrólitos dissolvidos nela. Quaisquer alterações no valor da condutividade podem indicar possíveis contaminações na água (SANTOS, 2011).

A condutividade também fornece uma boa indicação das modificações na composição de uma água, especialmente na sua concentração mineral, mas não fornece nenhuma indicação das quantidades relativas dos vários componentes. A condutividade da água aumenta à medida que mais sólidos dissolvidos são adicionados (ZIPF, 2010). Pode indicar problemas de corrosão, como por exemplo, nas tubulações da caldeira ou a presença de minerais que foram absorvidos pela água em contato com o solo rico nesses íons, ou ainda a presença de contaminantes metálicos.

PARÂMETROS QUÍMICOS

Carbono Orgânico Total (COT)

O carbono orgânico total é a concentração de carbono orgânico oxidado a CO_2 , em um forno a alta temperatura, e quantificado por meio de analisador infravermelho. Existem dois tipos de carbono orgânico no ecossistema aquático: carbono orgânico particulado - COP e carbono orgânico dissolvido – COD (CETESB, 2009).

A análise de COT considera as parcelas biodegradáveis e não biodegradáveis da matéria orgânica, não sofrendo interferência de outros átomos que estejam ligados à estrutura orgânica, quantificando apenas o carbono presente na amostra (CETESB, 2009). A análise de COT mede todo o carbono liberado na forma de CO_2 e deve-se ter o cuidado de remover as fontes inorgânicas de carbono, tais como carbonatos e bicarbonatos, ou corrigir os resultados (SAWYER et al., 2003 apud ZOBY JÚNIOR, 2011)

O carbono orgânico em água doce origina-se da matéria viva e também como componente de vários efluentes e resíduos. Sua importância ambiental deve-se ao fato de servir como fonte de energia para bactérias e algas, além de complexar metais. A parcela formada pelos excretos de algas cianofíceas pode, em concentrações elevadas, tornar-se tóxica, além de causar problemas estéticos. O carbono orgânico total na água também é um indicador útil do grau de poluição do corpo hídrico (CETESB, 2009).

O carbono orgânico total é medido diretamente, ao contrário da determinação indireta que acontece na DQO e na DBO da determinação do oxigênio consumido (SAWYER et al., 2003 apud ZOBY JÚNIOR, 2011).

pH (acidez e alcalinidade)

O pH representa a concentração de íons hidrogênio, H^+ , dando uma indicação das condições de acidez, neutralidade e basicidade da água. Trata-se de um parâmetro de caráter operacional importante e deve ser acompanhado para otimizar os processos de tratamento (BAIRD, 2004 apud SCURACCHIO, 2010). A escala compreende valores de 0 a 14, sendo que o 7 é considerado o valor neutro. O valor 0 (zero) representa a acidez máxima e o valor 14 a alcalinidade máxima. As substâncias são consideradas ácidas quando o valor de pH está entre 0 e 7 e alcalinas (ou básicas) entre 7 e 14 (FELIZBERTO, 2015).

O pH da água depende de sua origem e características naturais, mas pode ser alterado pela introdução de resíduos (SANTOS, 2011). Os valores de pH variam muito de um ambiente para outro, como por exemplo, rios ou lagos que recebem grande quantidade de matéria orgânica geralmente apresentam-se ácidos, já os que possuem carbonatos ou bicarbonatos dissolvidos em suas águas são ligeiramente alcalinos. Naturalmente, nesses casos, o pH reflete o tipo de solo pelo qual a água percorre (LIMA, 2013 apud NUNES, 2013). De um modo geral, águas com pH baixo tendem a ser corrosivas ou agressivas a certos metais, enquanto que, águas com altos teores de pH tendem a formar incrustações (SANTOS, 2011). Geralmente, um pH muito ácido ou muito alcalino está associado à presença de despejos industriais em corpos aquáticos (LIMA, 2013 apud NUNES, 2013).

Para ambientes aquáticos presentes em locais que tenham, por exemplo, boa quantidade de carbonato de cálcio em sua composição apresenta-se alcalino ou ligeiramente alcalino, no entanto, as comunidades aquáticas podem interferir no valor

do pH (LIMA, 2013 apud NUNES, 2013). O pH é diretamente influenciado pelas taxas de fotossíntese do ecossistema, pois quando esta se eleva, favorecida pelo enriquecimento da água por nitrogênio e fósforo, o pH da água tende a aumentar, ou seja, tornar-se mais alcalino em decorrência da diminuição das concentrações de gás carbônico na água (WETZEL, 2001 apud BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013).

Nas estações de tratamento de águas, são várias as unidades cujo controle envolve as determinações de pH. A coagulação e a floculação que a água sofre inicialmente é um processo unitário dependente do pH; existe uma condição denominada “pH ótimo” de floculação que corresponde à situação em que as partículas coloidais apresentam menor quantidade de carga eletrostática superficial. A desinfecção pelo cloro é um outro processo dependente do pH. Em meio ácido, a dissociação do ácido hipocloroso formando hipoclorito é menor, sendo o processo mais eficiente. A própria distribuição da água final é afetada pelo pH (SCURACCHIO, 2010).

Dureza

A presença de sais de cálcio e magnésio pode ser prejudicial aos usos domésticos e industriais. Esses sais dão origem na água à chamada “dureza” (SANTOS, 2011). A dureza resulta da presença, principalmente, de sais alcalinos terrosos (cálcio e magnésio), ou de outros metais bivalentes, em menor intensidade, em teores elevados; causa sabor desagradável e efeitos laxativos; reduz a formação da espuma do sabão, aumentando o seu consumo (ZIPF, 2010). De acordo com Filho (1976) apud Santos (2011), as concentrações desses sais em águas doces podem variar de 10 a 200 ppm, alcançando valores maiores, como por exemplo, em águas salgadas, onde as concentrações podem chegar a 2500 ppm. A dureza é expressa em termos de miligramas de CaCO_3 por litro. O cálcio e o magnésio podem levar à formação incrustações onde há troca de calor, reduzindo a transferência de calor, aceleram corrosões e bloqueio dos tubos de caldeiras e trocadores de calor.

Segundo Di Bernardo & Dantas (2005) apud Zipf (2010), dureza é definida como a soma de cátions polivalentes presentes na água e expressa em termos de uma quantidade equivalente de CaCO_3 . Sendo que os principais íons metálicos, que conferem dureza à água são o cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+} – quase sempre associado ao íon sulfato), todavia em menor grau há também dureza provocada pelos íons de ferro

(Fe^{2+} – associado ao nitrato), do manganês (Mn^{2+} - associado ao nitrato) e do estrôncio (Sr^{2+} – associado ao cloreto).

Yim (2006) apud Hobolt (2007) cita a dureza da água como fator principal que influencia nos efeitos tóxicos de metais pesados em peixes. Geralmente, em águas não poluídas, como a dureza aumenta, ocorrem diminuições de toxicidade do metal pesado devido à competição entre o metal pesado presente com os íons de Ca^{+2} e Mg^{+2} . Os metais pesados são geralmente uma ordem de valor mais tóxica na água mole do que na água dura.

Zipf (2010) considera que na maioria dos casos, a dureza ocorre em decorrência da associação do cálcio ao bicarbonato, que origina o carbonato (pouco solúvel) por aquecimento ou elevação do pH, tendo-se neste caso a dureza temporária. Já a dureza decorrente de cátions associados a outros ânions é denominada dureza permanente

Oxigênio Dissolvido (OD)

O oxigênio dissolvido (O.D.) é a quantidade de gás oxigênio contido na água, geralmente expressa em parte por milhão numa temperatura e numa pressão atmosférica específica (QUEIROZ, 2006). Provém, em geral, da dissolução do oxigênio atmosférico, naturalmente ou artificialmente, e também, da produção liberada por alguns microrganismos vivos na água (algas e bactérias) (WEIBULL, 2001). É uma medida da capacidade de água para sustentar organismos aquáticos. A água com conteúdo de oxigênio dissolvido muito baixo, que é geralmente causada por lixos em excesso ou imprópriamente tratados, não sustentam peixes e organismos similares (QUEIROZ, 2006). O oxigênio dissolvido (OD) é geralmente medido em miligramas por litro (mg/l) da água analisada (WEIBULL, 2001).

Para finalizar, o oxigênio dissolvido (OD) é necessário para a respiração de microrganismos aeróbios, bem como outras formas de vida (ZOBY JÚNIOR, 2011). O nível de disponibilidade de OD na água vai depender do balanço entre a quantidade consumida por bactérias para oxidar a matéria orgânica (fontes pontuais e difusas) e a quantidade produzida no próprio corpo d'água através de organismos fotossintéticos, processos de aeração natural e/ou artificial (WEIBULL, 2001). A concentração de oxigênio dissolvido na água varia com a altitude local, temperatura e a salinidade da água, pressão parcial do gás, sólidos em suspensão, entre outros (ZOBY JÚNIOR,

2011) havendo aumento da solubilidade do oxigênio na água com a redução da altitude local, temperatura e salinidade da água (MACEDO, 2002 apud QUEIROZ, 2006).

Se o balanço do nível de OD permanece negativo por tempo prolongado, o corpo d'água pode tornar-se anaeróbico (ausência de oxigênio), causando a geração de maus odores, o crescimento de outros tipos de bactérias e morte de diversos seres aquáticos aeróbicos, inclusive peixes (WEIBULL, 2001). Caso o oxigênio seja realmente totalmente consumido, tem-se a geração de condições redutoras, aumentando a toxicidade de muitos elementos químicos, que assim tornam-se mais solúveis, como por exemplo, os metais (BALLS et al., 1996 apud PEREIRA, 2004).

O oxigênio dissolvido é um dos principais parâmetros para controle dos níveis de poluição das águas. Ele é fundamental para manter e verificar as condições aeróbicas num curso d'água que recebe material poluidor (PEREIRA, 2004). A solubilidade do OD é função da altitude e da temperatura do corpo de água. Em geral, ao nível do mar e à temperatura de 20°C, a concentração de saturação é de 9.2 mg/l (WEIBULL, 2001).

Altas concentrações de oxigênio dissolvido são indicadores da presença de vegetais fotossintéticos e baixos valores indicam a presença de matéria orgânica (provavelmente originada de esgotos), ou seja, alta quantidade de biomassa de bactérias aeróbicas decompositoras (O'CONNOR, 1967 apud PEREIRA, 2004).

Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

A Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) é a quantidade de oxigênio necessária para oxidar a matéria orgânica biodegradável presente na água (PEREIRA, 2004), por decomposição microbiana aeróbia para uma forma inorgânica estável (CETESB, 2009). É medida em miligrama por litro (SANTOS, 2013). A matéria orgânica é formada por inúmeros componentes, como compostos de proteína, carboidratos, ureia, surfactantes (detergentes), gordura, óleos, fenóis, pesticidas, etc. (WEIBULL, 2001).

Esta matéria, carbonácea, apresenta-se em suspensão ou dissolvida, podendo ser biodegradável ou não. Dada a diversidade dos compostos e formas como se apresenta no corpo d'água, procura-se quantificá-la, indiretamente, medindo-se sua capacidade de consumo de oxigênio dissolvido na água, que se dá através das bactérias oxidantes (WEIBULL, 2001).

Se a quantidade de matéria orgânica baixa, as bactérias decompositoras necessitarão de pequena quantidade de oxigênio para decompô-la, então a DBO será baixa. As moléculas orgânicas de estruturas complexas e altos valores energéticos da matéria orgânica são utilizados pelas bactérias como fonte de alimento e energia (PEREIRA, 2004).

A DBO é normalmente considerada como a quantidade de oxigênio consumido durante um determinado período de tempo, numa temperatura de incubação específica (CETESB, 2009). A DBO padrão representa o consumo de oxigênio no processo de oxidação da matéria orgânica presente em uma amostra de água durante o período de 5 dias e incubada a 20° C (WEIBULL, 2001), por isso é frequentemente usado e referido como DBO_{5,20} (CETESB, 2009). É o parâmetro mais usual para quantificar a concentração da matéria orgânica biodegradável presente em efluentes sanitários ou industriais. É uma indicação indireta do carbono orgânico biodegradável (THEROUX et al. apud ZOBY JÚNIOR, 2011).

Resumindo, DBO alta significa presença de poluição através da matéria orgânica proveniente de fontes pontuais e/ou difusas de origem doméstica ou industrial (WEIBULL, 2001).

Nitrogênio Amoniacal (NH₃)

Weibull (2001) aponta que o nitrogênio manifesta-se no ambiente de diversas formas, sejam elas:

- Nitrogênio molecular (N₂), livre na atmosfera;
- Nitrogênio orgânico (dissolvido e em suspensão no corpo d'água);
- Amônia (livre – NH₃ e ionizada – NH₄);
- Nitrito (NO₂);
- Nitrato (NO₃).

As formas orgânicas de nitrogênio nos ecossistemas aquáticos ocorrem pela assimilação do nitrogênio inorgânico e conseqüente incorporação por algas e bactérias (WETZEL, 2001 apud BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013).

Sua origem pode ser natural (água da chuva, material orgânico e inorgânico de origem alóctone e a fixação de nitrogênio molecular) ou artificial sendo proveniente,

principalmente, de efluentes domésticos, industriais e agrícolas (BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013). Nos esgotos domésticos frescos, predominam o nitrogênio em forma de amônia e o orgânico (WEIBULL, 2001).

Por ser um dos elementos mais importantes no metabolismo de ecossistemas aquáticos, o nitrogênio atua como fator limitante na produção primária de ecossistemas, sendo que concentrações elevadas desse nutriente favorecem esta produção. Por isso, é um dos nutrientes responsáveis pelo processo de eutrofização, que se caracteriza por um excesso crescimento das algas (STURNIOLO, 2008) e, conseqüentemente, influencia na quantidade de oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica e clorofila existente no meio, podendo causar a diminuição da biodiversidade existente no local (Wetzel, 2001; Esteves, 2011 apud BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013).

A importância do conhecimento da presença e quantificação do nitrogênio nas suas diversas formas na água refere-se ao consumo de OD necessário durante o processo de nitrificação, isto é, a conversão de nitrogênio amoniacal a nitrito e este a nitrato e, principalmente, na já referida eutrofização (WEIBULL, 2001). A identificação da forma predominante do nitrogênio também pode fornecer informações sobre o estágio de poluição. Assim quando a poluição for recente, o perigo para a saúde será maior, pois nesse caso o nitrogênio se apresenta na forma orgânica e amoniacal, forma mais tóxica (PEREIRA, 2004). Torna-se importante registrar que amônia na forma livre (NH_3) é tóxica aos peixes e na forma ionizada (NH_4) não é tóxica (SANTOS, 2013).

O nitrogênio amoniacal ocorre naturalmente nas águas de superfície e em águas residuárias, pois a amônia é o principal produto de excreção dos organismos aquáticos (CAMPBELL, 1973 apud PEREIRA, 2004).

Portanto, a medição do nitrogênio amoniacal, geralmente avaliado em miligramas por litro (mg/l) é importante não só para se constatar a presença de esgotos domésticos lançados recentemente no corpo d'água, mas também como um indicador de futuro consumo de oxigênio no processo de nitrificação anteriormente citado e possível crescimento de algas (WEIBULL, 2001).

Nitrato (NO_3)

O nitrato é a forma mais estável do nitrogênio, sendo um dos principais nutrientes dos produtores primários (PEREIRA, 2004). Como citado anteriormente, o

nitrogênio sob forma de amônia, se transforma com o tempo, dependendo das condições física e química do meio aquático, em nitrito e, posteriormente, em nitrato (nitrificação) (WEIBULL, 2001). E a presença de nitrato no corpo d'água é um indicador de poluição antiga relacionada ao final do período do processo de nitrificação ou pode caracterizar o efluente de uma estação de tratamento de esgotos sanitários a nível terciário, onde o processo de nitrificação é induzido e controlado com o objetivo de redução de nutrientes (SANTOS, 2013).

O íon nitrato, NO_3 , forma sais muito solúveis e bastante estáveis, ainda que em meio reprodutor pode passar a nitrito, nitrogênio, ou amoníaco. As águas normais contém menos de 10 ppm, e a água de mar até 1 ppm, porém as águas contaminadas, principalmente por fertilizantes, podem chegar a várias centenas de ppm (STURNIOLO, 2008). Mais comumente é medido em miligramas por litro (mg/l) de amostra d'água, pode sofrer também um processo de desnitrificação onde é reduzido a nitrogênio gasoso (WEIBULL, 2001).

O nitrato em altas concentrações nas fontes domésticas de água (poços) pode trazer graves problemas de intoxicação tanto no ser humano como nos animais. Concentrações elevadas nas águas de abastecimento podem ser a causa da cianose infantil (STURNIOLO, 2008), também chamada metaemoglobinemia ou síndrome de bebê azul, que pode acometer crianças de até três meses de idade (SILVA, 1990 apud PEREIRA, 2004) e provoca alterações na composição sanguínea, levando a pele a uma coloração azulada (WEIBULL, 2001).

Industrialmente não tem efeitos muito significativos, e inclusive é útil para controlar a fragilidade do metal das caldeiras. Sua presença nas águas superficiais, juntamente com fosfatos, determina a eutrofização (STURNIOLO, 2008).

Fósforo Total (PT)

O fósforo é um elemento químico essencial à vida aquática e ao crescimento de microrganismos responsáveis pela estabilização da matéria orgânica, e na forma de fosfatos dissolvidos é um importante nutriente para produtores primários. Também pode ser o fator limitante da produtividade primária de um curso d'água (PEREIRA, 2004).

O fósforo está presente na biota em grande variedade de compostos orgânicos. É um elemento estrutural do material celular. Na forma de fosfato não participa das reações de oxirredução como o C, N e S (BOLIN, 1983 apud SANTOS, 2007). O fósforo pode ser proveniente de fontes naturais (presente na composição de rochas, carregado pelo escoamento superficial da água da chuva, material particulado presente na atmosfera e resultante da decomposição de organismos de origem alóctone) e artificiais como esgotos domésticos e industriais, fertilizantes agrícolas e material particulado de origem industrial contido na atmosfera (ESTEVES, 1988; WETZEL, 2001 apud BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013).

O fósforo é um nutriente essencial, entretanto em altas concentrações pode acelerar a proliferação de algas, aumentando o processo de eutrofização devido ao manejo inadequado (SANTOS, 2013), inclusive, tem sido apontado como o seu principal responsável, pois a sua presença em altos teores acarreta uma produção de matéria orgânica maior do que consumo e decomposição (BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013). Por outro lado, o fósforo é fundamental para o crescimento e multiplicação das bactérias responsáveis pelos mecanismos bioquímicos de estabilização da matéria orgânica (WEIBULL, 2001).

Na eutrofização, o seu acúmulo favorece o desenvolvimento de algas e macrófitas aquáticas e como consequência tem-se também o aumento da concentração de clorofila na água em virtude do crescimento exagerado do fitoplâncton no corpo hídrico, podendo trazer impactos negativos para o ecossistema aquático, como a morte de diversos organismos (BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013).

O fósforo é tóxico para o organismo humano em doses elevadas, podendo em concentrações superiores a 10 mg.kg^{-1} ser letal (RIBEIRO, 2006 apud NUNES, 2013).

PARÂMETROS BIOLÓGICOS

Todo manancial de água doce contém diferentes tipos de organismos, os macroscópicos, que são visto á olho nu, e os que são vistos através de aparelhos especiais chamados de seres microscópicos. O exame hidrobiológico em um corpo d'água é importante, pois através do mesmo pode se determinar o grau de poluição, muitos dos microrganismos se proliferam em ambientes eutrofizados, alguns deles são seres patogênicos, podendo causar doenças em seres humanos e animais que vierem a consumir água deste manancial (SCHULZE et al., 2004).

Bactérias do Grupo Coliforme (CF)

As bactérias do grupo coliforme são utilizadas como indicador biológico da qualidade das águas. A contaminação das águas por fezes humanas e/ou animal pode ser detectada pela presença de bactérias do grupo coliforme (WEIBULL, 2001).

O grupo coliforme é dividido em coliformes totais e coliformes termotolerantes ou fecais. Os coliformes totais (CT) e termotolerantes (CTo) são os indicadores de contaminação mais usados para monitorar a qualidade sanitária da água. As análises microbiológicas irão apontar a presença ou não de coliformes totais e coliformes fecais, que podem ser ou não patogênicos (BETTEGA et al., 2006 apud SCURACCHIO, 2010). Sendo medidos em número provável de coliformes por mililitros de água amostrada, a contaminação por coliformes fecais, acontece basicamente através de fezes humanas e/ou animais (SANTOS, 2013).

Geralmente, na determinação de coliformes, realiza-se a diferenciação entre os de origem fecal e não-fecal (ZULPO et al., 2006 apud SCURACCHIO, 2010). Os Coliformes fecais compreendem apenas uma porção do grupo coliformes totais e têm maior significância na avaliação da qualidade sanitária do ambiente sendo preferenciais às análises apenas de coliformes totais, menos específicas (PEREIRA, 2004).

Silva (1997) coloca que os Coliformes totais incluem bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Apresentando cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato intestinal de humanos e outros animais de sangue quente. Os coliformes não-fecais como a *Serratia* e *Aeromonas*, são encontradas no solo e vegetais, possuindo a capacidade de se multiplicarem na água com relativa facilidade (ZULPO et al., 2006 apud SCURACCHIO, 2010).

Já os Coliformes fecais são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24h a 44,5-45,5° C. Esse grupo inclui três gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo a cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* de origem não fecal. Por isso que *E. coli* é a mais conhecida, sendo seu habitat o trato gastrintestinal ela é a indicadora de contaminação fecal (SILVA, 1997). No entanto os coliformes de origem fecal, não se multiplicam facilmente no ambiente externo e são capazes de sobreviver de modo semelhante às bactérias patogênicas (ZULPO et al., 2006 apud SCURACCHIO, 2010).

No intestino dos seres humanos e animais predomina em grande número os coliformes fecais. Para se ter uma ideia, um indivíduo elimina, em média, 10 bilhões de coliformes fecais por dia. Além dos coliformes, existem, no meio intestinal outras bactérias, vírus, protozoários e vermes, em números significativamente menores. Nesse meio intestinal, podem conviver agentes patogênicos, isto é, nocivos ao homem, como alguns tipos de bactérias que podem provocar diarreias fortes, febre, náusea e a cólera, alguns tipos de protozoários, responsáveis, inclusive, pela malária e vírus perigosos como aqueles que podem levar a hepatite infecciosa, gastroenterite, febre amarela, dengue e a paralisia infantil (WEIBULL, 2001).

Portanto, os índices de coliformes fecais são bons indicadores de qualidade das águas em termos de poluição por efluentes domésticos (BAUMGARTEN E POZZA, 2001 apud PEREIRA, 2004), como também da possibilidade de coexistência de organismos patogênicos (WEIBULL, 2001).

Clorofila

O papel da clorofila é fundamental na fotossíntese, isto é, no mecanismo de nutrição dos vegetais. A clorofila faz o papel principal no processo, ao absorver a luz que, em seguida será aproveitada e transformada em outra forma de energia durante a síntese (transformação de estruturas simples em compostos orgânicos) (WEIBULL, 2001).

A clorofila-*a*, um dos tipos de clorofila, é uma importante variável nos ecossistemas aquáticos (ESTEVES, 1988 apud BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013), estando presente em todos os organismos fitoplanctônicos sejam eucarióticos (algas) ou procarióticos (cianobactérias) (KURODA et al. 2005). A relação entre a Clorofila-*a* e os outros pigmentos que intervêm na fotossíntese e entre seus produtos de degradação, proporcionam informações sobre o estado fisiológico do fitoplâncton e indiretamente, sobre a composição taxonômica de uma população (MARGALEF, 1991 apud SANTIAGO et al., 2005). Um dos problemas na determinação da clorofila-*a* é que este pigmento varia na célula fitoplanctônica conforme o estado fisiológico e a espécie. Sendo um parâmetro tão utilizado, várias propostas de metodologias de determinação da concentração de clorofila-*a* foram propostas desde a década de 60 (KURODA et al. 2005).

A determinação da clorofila-a é utilizada como parâmetro de biomassa algal, nas caracterizações de ambientes aquáticos e monitoramento da qualidade de água (KURODA et al. 2005). Koenig (1983) apud Santiago et al. (2005), o considera como sendo o parâmetro mais satisfatório para a medida da biomassa do fitoplâncton, pois fornece dados reais sobre o potencial de produção biológica do ecossistema, para os demais níveis tróficos. Evidenciando aspectos do ambiente que permitam conduzir investigações e prever problemas de ecológicos (PASSAVANTE et al., 1987/1989 apud SANTIAGO et al., 2005). Em razão disso, é usado para indicar a eutrofização do ambiente aquático, onde o principal efeito da reprodução acelerada de algas é a alteração da qualidade da água, com consequências para toda a biota (SANTIAGO et al., 2005). E tendo-se conhecimento quantitativo da clorofila é possível estimar a capacidade de reoxigenação das águas no seu próprio meio e inferir sobre a densidade da população de algas e avaliar o aporte da quantidade de nutrientes (WEIBULL, 2001).

Além disso, é de grande utilidade fazer-se um reconhecimento do manancial que abastece as Estações de Tratamento de Água (ETAs) quanto à existência de microrganismos, como as algas. Pois alguns tipos de algas são produtoras de lodo, cor, sabor e odor, causadoras de corrosão no concreto e no aço, que interferem na coagulação, diminuem a dureza da água, causam obstrução dos filtros, propiciam o desenvolvimento de bactérias, liberação de toxinas, algas parasitárias e ainda aquelas que são persistentes na distribuição de água tratada (SCHULZE et al., 2004). Em suas análises a clorofila é medida em microgramas por litro da amostra d'água (WEIBULL, 2001).

CONCLUSÃO

O rápido crescimento urbano e industrial tem prejudicado o equilíbrio do meio ambiente em vários aspectos, no tocante à qualidade da água isso pode ser bastante observado. Grandes lançamentos de esgotos sanitários e efluentes industriais alteram a qualidade da água e uma preocupação em especial é com relação aos mananciais de abastecimento. Em razão disso é feito o uso dos parâmetros de qualidade da água que foram discutidos ao longo de todo este trabalho.

A presença de certas substâncias no corpo d'água não significa necessariamente que este esteja poluído, entretanto passa-se a considerar essa substância como um

poluente, quando os seus despejos em grande quantidade, aumentam drasticamente suas concentrações na água, colocando em risco não apenas a potabilidade do manancial para o seu uso pelos seres humanos, mas também afetando a qualidade da água utilizada pelos demais organismos, como plantas aquáticas, algas e peixes, podendo causar desequilíbrios nessas populações e conseqüentemente em todo o ambiente.

Nas indústrias, principalmente nas mineradoras, a fiscalização está mais eficiente devido às pressões do poder público e das altas multas que poderão ser aplicadas nas empresas que não cumprirem as exigências dos órgãos ambientais (HOBOLT, 2007).

Um dos instrumentos mais importantes de controle da qualidade ambiental é o monitoramento. Através dele é possível avaliar as tendências de recuperação ou comprometimento da disponibilidade e qualidade das águas, da qualidade do ar, da recuperação e supressão das florestas, além do cumprimento da legislação e dos limites licenciados para atividades potencialmente poluidoras (IAP, 2009). Neste contexto, é que se verifica a importância dos Parâmetros Físicos, Químicos e Biológicos da Qualidade da Água, pois através deles é que um corpo d'água terá a sua qualidade aferida, verificando assim a sua possibilidade de uso para abastecimento, sem que se comprometa a saúde e bem estar da população, como também, através dos valores estipulados para cada parâmetro, poderá ser avaliado o seu grau de poluição e qual estratégia será feita na tentativa de recuperação desse curso d'água, ou mesmo quais os tratamentos indicados para serem feitos nas Estações de Tratamento de Água para o seu uso como fonte de abastecimento.

REFERÊNCIAS

ANA - AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS. Águas Subterrâneas. 2002. Disponível em: <<http://www.ana.gov.br/gestaoRecHidricos/InfoHidrologicas/ASubterraneas.doc>>. Acesso em 20 ago. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em: <http://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau delegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>>. Acesso em 20 jun. 2015.

BUZELLI, G. M.; CUNHA-SANTINO, M. B. Análise e diagnóstico da qualidade da

água e estado trófico do reservatório de Barra Bonita (SP). *Ambi-Agua*, Taubaté, v. 8, n. 1, p. 186-205, 2013.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem. São Paulo, 2009. Disponível em: <<http://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/32/2013/11/variaveis.pdf>> Acesso em 23 jul. 2015.

FARIAS, C. E. G. Mineração e o meio ambiente no Brasil. 2002. Disponível em: <http://www.cgee.org.br/arquivos/estudo011_02.pdf>. Acesso em 10 ago. 2015.

FELIZBERTO, J. Água pH. O que é pH. 2015. Disponível em: <http://janiziofelizberto.blogspot.com.br/2015/04/agua-ph_11.html>. Acesso em 14 ago. 2015.

FIGUEIREDO, R.M.; Programa de Redução de Patógenos e Padrões e Procedimentos Operacionais de Sanitização. Coleção Higiene dos Alimentos - vol. 01. São Paulo: Manole, 2002. p. 73-78.

HOBOLD, Valdir. Avaliação de Metodologias para Análise Toxicológica utilizando algas do tipo *Scenedesmus subspicatus* e *Daphnia magna*. Criciúma, 2007. 85 f. Monografia (Curso de Engenharia Ambiental) - Universidade do Extremo Sul Catarinense.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. Monitoramento da qualidade das águas dos rios da Bacia do Alto Iguaçu, na Região Metropolitana de Curitiba, no período de 2005 a 2009. Curitiba: IAP, 2009. p. 6.

KAWAI, Bruna et al.. Poluição por metais. 2003. Disponível em <<http://www.fernandosantiago.com.br/met90.htm>>. Acesso em 28 jun. 2015.

KURODA et al. Determinação de clorofila pelo método espectrofotométrico visando o monitoramento da eficiência do tratamento de águas para abastecimento. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 23., Campo Grande, 2005. ABES – Trabalhos Técnicos. p. 1-13.

LEITE, M.O et al. Controle de qualidade da água em indústrias de alimentos. *Revista Leite e Derivados*, n.69, março/abril, 2003.

MAGNAN, R. B. Análise da viabilidade técnica e financeira da substituição do coagulante cloreto férrico por policloreto de alumínio durante o processo físico-químico no tratamento de efluente de abatedouro avícola. Passo Fundo, 2010. Monografia (Curso de Engenharia Ambiental) – Universidade de Passo Fundo.

MOTA, SUETÔNIO. Introdução à engenharia ambiental. 1 ed. Rio de Janeiro: ABES, 1997.

NUNES, M. L. F. Distribuição e fracionamento do fósforo nos sedimentos dos Rios Bacanga e Anil na Ilha do Maranhão. São Luís, 2013. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Maranhão.

PEREIRA, R.S. Identificação e caracterização das fontes de poluição em sistemas hídricos. Revista Eletrônica de Recursos Hídricos. IPH-UFRGS. v.1, n. 1. p. 20-36, 2004.

QUEIROZ, M. T. A. Bioacumulação de metais pesados no Rio Piracicaba, minas gerais, aplicando a análise por ativação neutrônica instrumental. Coronel Fabriciano, 2006. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial). Centro Universitário do Leste de Minas Gerais, UNILEST-MG.

REBOUÇAS, A. C. Proteção ou remediação do solo e água subterrânea. CIPA, São Paulo, v. 17, n 202, p. 100-110, set. 1996.

RICHTER, C. A.; AZEVEDO NETTO, J. M. Tratamento de Água – Tecnologia Atualizada. 3ª Ed. São Paulo: Ed. Blucher, 2000, 322p.

SANTIAGO et al. Caracterização de parâmetros físicos, químicos e biológico em ambiente hipersalino, estuário do Rio Pisa Sal (Galinhas, Rio Grande do Norte, Brasil). Tropical Oceanography, Recife, v. 33, n. 1, p. 39–55, 2005.

SANTOS, A. L. B. Sedimento e comunidades de peixes como indicadores da qualidade ambiental em praias insulares e continentais na baía de Sepetiba- RJ. Seropédica, 2007. 29 f. Monografia (Curso de Engenharia Florestal) - Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SANTOS, I. B. Tratamento e Análises de Águas Industriais. 2011. Disponível em: <<http://www.trabalhosfeitos.com/ensaios/Tratamento-De-%C3%81guas-Industriais/246-701.html>>. Acesso em 22 jun. 2015.

SANTOS, M.T. Análise da qualidade ambiental da Bacia Hidrográfica do Ribeirão Guaraçau, com base no Mapa de uso da terra e aspectos morfométricos, escala 1:10.000. Guarulhos, 2013. 59 f. Dissertação (Mestrado em Análise Ambiental). Centro de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade de Guarulhos.

SCHULZE et al. Verificação de um Manancial quanto á presença de microorganismos, entre eles: Algas, Protozoários, Vermes e Bactérias. 2004. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/assemae/salpub/vermanan.pdf>>. Acesso em 10 ago. 2015.

SCURACCHIO, P. A. Qualidade da água utilizada para consumo em escolas no município de São Carlos - SP. Araraquara, 2010. 52 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”.

SILVA, M. O. S. Análises físicos químicas para controle de estações tratamento de esgotos. 1990.

SILVA, N. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. Valéria Christina Amstalden - São Paulo: Livraria Varela, 1997, p 31.

STURNIOLO, A. J. Parâmetros de Qualidade das Águas. 2008. Disponível em: <http://www.unitekdobrasil.com.br/produtosradiacao.phpid_lib_tecnica=6>. Acesso em 03 ago. 2015.

VARGAS, G. B. F. Elaboração de uma proposta de projeto de tratamento de águas residuárias da indústria de tintas. Trabalho Curso Engenharia Ambiental, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2003.

WEIBULL, W. W. Poluição na Baía de Sepetiba. Rio de Janeiro, 2001. 13 f. Trabalho Acadêmico (Ecologia Marinha) – Curso de Oceanografia, Universidade Estadual do Rio de Janeiro.

ZIPF, M. S. Caracterização e estudo de reuso da água de lavagem dos filtros de uma estação de tratamento de água (ETA) de uma indústria têxtil de Blumenau-SC. Florianópolis, 2010. 100 f. Monografia (Curso de Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina.

ZOBY JÚNIOR, L. C. Aplicação do Modelo ASM1 na simulação das condições operacionais de uma Estação de Tratamento de Efluentes por lodo ativado. Recife, 2011. 104 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Pernambuco.