

# BJNS

Brazilian Journal of Natural Sciences

## DESTAQUE DESTA EDIÇÃO

Já com os principais indexadores científicos e normatizadores de publicações, o BNJS cresce a passos largos para sua consolidação entre os melhores periódicos em sua área de publicação. Nesta edição BJNS ultrapassa a barreira de mais de 200 páginas de artigos publicados em 2019, marco de profissionalismo e determinação de todos os envolvidos. Nosso maior destaque são os autores, nossos profundos agradecimentos por ter escolhido nosso periódico como veículo para divulgação do seu mérito trabalho científico.

[WWW.BJNS.COM.BR](http://WWW.BJNS.COM.BR)

ISSN 2595-0584 - V.2 N.3  
Setembro 2019  
Revista eletrônica

O Brazilian Journal of Natural Science é uma publicação oficial do Instituto de Osmologia e Óleos Essenciais - iooe, e tem como missão publicar artigos científicos relevantes no sentido mais amplo dos diferentes aspectos das ciências naturais. Com periodicidade trimestral, nosso objetivo é interagir com pesquisadores, professores e alunos em instituições de ensino e pesquisa como: Projetos de atividade extracurricular, seminários, palestras, resumos, resenhas, projetos de ensino, experiências e criação literária na área da química, física e biologia.

---

**Editor Chefe:**

Carlos Jorge Rocha Oliveira

Instituto de Osmologia e Óleos Essencias, iooe, São Paulo, Brasil.

**Editores Associados:**

Valeria Maria de Souza Antunes, Universidade Anhembi Morumbi , UAM, São Paulo, Brasil.

Maira de Oliveira Jardim, Faculdades Oswaldo Cruz, São Paulo, Brasil.

Prof. Dr. Daniel Antunes Junior, Faculdades Oswaldo Cruz - São Paulo - Brasil.

Luis Fernando do Amaral, Instituto de Osmologia e Óleos Essencias - iooe - São Paulo Brasil.

**Corpo Editorial:**

Ana Maria de Lauro Castrucci, Departamento Fisiologia-IB-USP (Dep. Physiology, IB, USP). São Paulo Brasil.

Carlos Rocha Oliveira. Universidade Anhembi Morumbi - UAM-SP - São Paulo - Brasil.

Claudia Bincoletto Trindade, Departamento de Farmacologia - Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP - Brasil.

Ivarne Luis dos Santos Tersariol, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, Brasil.

Maria Cristina Marcucci Ribeiro, Universidade Anhanguera de São Paulo - UNIAN- São Paulo, Brasil.

**Revisores Ad hoc:**

Rogério da Silva Veiga, Departamento de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, Brasil

**Periodicidade:** Trimestral

**Autor Corporativo:**

Instituto de Osmologia e Óleos Essenciais

Rua Dr. Mario Pinto Serva, 64, Bairro Casa Verde, São Paulo, Brasil

CEP: 02555-090 - CNPJ: 25.299.891/0001-50

## CONTEÚDO

<i>Página</i> <b>106</b>	<b>Editorial</b>  Carlos Jorge Rocha Oliveira
<b>Artigos Originais</b>	
<i>Página</i> <b>107</b>	<b>AVALIAÇÃO DO EXTRATO BRUTO DE ARTEMÍSIA VULGARIS NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA</b> Lucas S. Zamarioli, Ed Wilson Santos, Maria Cristina Marcucci, Carlos R. Oliveira
<i>Página</i> <b>115</b>	<b>ANÁLISE DOS PARÂMETROS FÍSICO - QUÍMICOS E ORGANOLÉPTICOS DE SABONETES LÍQUIDOS ÍNTIMOS</b> Thamiris Silva Bezerra de Sousa, Alessandra Dayane da Silva Lima, Emanoella Karla da Silva, Ellison Neves de Lima
<i>Página</i> <b>122</b>	<b>ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DE AR RESPIRÁVEL DE USO HOSPITALAR COM PROPOSTA DE MELHORIA</b> Roberto da Silva Gusmão, Francisco Sandro Menezes Rodrigues, Denise Freitas, Auro Rodrigues Wolff, Giovani Ribeiro, Raul Diniz Ragazzi, Ogier Santana.
<i>Página</i> <b>127</b>	<b>DESENVOLVIMENTO DE UMA EMULSÃO O/A ASSOCIADA AO ÓLEO ESSENCIAL DE GERÂNIO (PELARGONIUM GRAVEOLENS) E AO ÓLEO ESSENCIAL DE PALMAROSA (CYMBOPOGON MARTINII)</b> Silvana de Oliveira, Dra. Carla Aparecida Pedriali Moraes
<i>Página</i> <b>139</b>	<b>PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA CAQUEXIA NO CÂNCER DE MAMA POR PROBIÓTICO E CURCUMINA</b> Rafaela Agner D'Aquino Zilli, Luisa Amábile Wolpe Simas
<i>Página</i> <b>153</b>	<b>O USO DO LASER INFRAVERMELHO E AROMATERAPIA NA CICATRIZ HIPERTRÓFICA PÓS ABDOMINOPLASTIA ASSOCIADO A MASSAGEM CYRIAX</b> Alexandra Batista, Danielle do Nascimento, Joanny Kamara, Marjorie Telles, Raquel Xavier, Rosane Moraes, Luciana Almeida Ferreira
<i>Página</i> <b>161</b>	<b>PRIMEIRA GERAÇÃO DE FITO PEPTÍDEOS DE CÚRCUMA LONGA MAIS BLEND DE NUTRIENTES ASSOCIADOS A CARBOXITERAPIA PARA O TRATAMENTO DE ALOPECIA ANDROGENÉTICA MASCULINA</b> Daylaine Rocha, Edna Costa, Letícia Nascimento, Pamela Caroline, Stephanie Oliveira, Nattan Fernandes, Luciana de Almeida Ferreira

<i>Página</i> <b>171</b>	<b>MICROPLASTIC ABUNDANCE IN THREE COMMERCIAL FISH FROM THE COAST OF LIMA, PERU</b> Gabriel Enrique De-La-Torre, G.E., Diana Carolina Dioses-Salinas, Barnaby Licinio Pérez-Baca, Luis Santillán
<i>Página</i> <b>178</b>	<b>CARACTERÍSTICAS ANDROLÓGICAS E SEMINAIS DE CÃES DA RAÇA PASTOR BELGA MALINOIS</b> Christian Garcia Amantino, Nívea de Mattos Góes Vieira, Silvia Ferrari
<b>Artigo de Revisão</b>	
<i>Página</i> <b>185</b>	<b>INFLUÊNCIA DOS POLUENTES AMBIENTAIS NA INCIDÊNCIA DE DERMATITE ATÓPICA E OS POSSÍVEIS ATIVOS DERMATOLÓGICOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE DERMOCOSMÉTICOS ANTIPOLUIÇÃO</b> Amanda Pereira Ribeiro, Bianca Farias Leite, Bianca Sayuri Nakasone, Giovanna de Sousa Pimentel, Mariana Antoniassi Soares, Valéria Maria de Souza Antunes
<i>Página</i> <b>199</b>	<b>Brief review of opinion - special article</b> <b>ETHICS - BIOETHICS - RESEARCH</b> Carlos Jorge Rocha Oliveira
<i>Página</i> <b>202</b>	<b>Artigo de Ciências Animais - Conduta e orientação clínica</b> <b>EXAME DO SISTEMA GENITAL DOS ANIMAIS</b> Andressa Salmazzo, Silvia Frrari

## EDITORIAL

Quando publicamos nossa primeira edição, em março de 2018 tínhamos o sentimento do nascimento de um periódico que vinha para ocupar um espaço ainda não bem definido dentro das Ciências Naturais.

Percorremos o caminho mais natural possível, dentro dos nossos conhecimentos advindos da osmologia através do instituto de osmologia e óleos essenciais (iooe), o qual bravamente nos mantém com seu apoio financeiro.

Com o passar dos dias, das semanas e dos meses, chega o nosso primeiro ano com a edição de fevereiro de 2019. Aqui passávamos a ter o sentimento e a convicção de que o BJNS veio sim para quebrar paradigmas e abrir fronteiras a novos conhecimentos dentro do seu editorial jovem (1 ano), porém responsável e ético.

Em fevereiro de 2019 iniciamos a nossa trajetória para o segundo ano de publicações com uma digital moderna e definitiva em sua aparência gráfica buscando atender às normas nacionais e internacionais para publicações científicas. Já indexada aos principais indexadores científicos e normatizadores de publicações, o BNJS cresce a passos largos para sua consolidação entre os melhores periódicos em sua área de publicação.

Hoje, o BJNS ultrapassa a barreira de mais de 200 páginas de artigos publicados em 2019, marco de profissionalismo e determinação de todos os envolvidos.

Agora o BJNS está pronto para sua terceira largada em 2020, com a certeza de que a renovação virá. Virá por que se faz necessária para evoluir com novas ações e pensamentos editoriais.

Esse é um pouco do sentimento deste editor sobre sua forma de ver nascer e crescer um periódico que traz a informação científica através de suas publicações, na forma exata como a ciências supõe, mas também, como a ciência que apaixonou aquele que com ela convive.

Boa leitura!

**Carlos Jorge Rocha Oliveira**  
*Editor Chefe*

## EDITORIAL

When we published our first issue, in March 2018 we had the feeling of the birth of a journal that came to occupy a space not yet well defined within the Natural Sciences.

We have traveled the most natural path possible, within our knowledge of osmology through the Institute of Osmology and Essential Oils (Iooe), which bravely maintains us with its financial support.

Over the days, weeks and months, our first year comes with the February 2019 edition. Here we had the feeling and conviction that the BJNS did come to break paradigms and open boundaries to new knowledge within. from his young editorial (1 year), but responsible and ethical.

In February 2019 we started our path for the second year of publications with a modern digital and definitive in its graphic appearance seeking to meet national and international standards for scientific publications. Already indexed to the main scientific indexers and standardization of publications, BNJS is growing at a fast pace for its consolidation among the best journals in its area of publication.

Today, the BJNS surpasses the barrier of more than 200 pages of articles jumped in 2019, a mark of professionalism and determination by all involved.

Now BJNS is ready for its third start in 2020, with the certainty that the renewal will come. It will come why it is necessary to evolve with new actions and editorial thoughts.

This is a bit of the feeling of this editor about his way of seeing born and growing a journal that brings scientific information through its publications, just as science supposes, but also as science that falls in love with those who live with it.

Good reading!

**Carlos Jorge Rocha Oliveira**  
*Editor-in chief*

Artigo Original

## AVALIAÇÃO DO EXTRATO BRUTO DE ARTEMÍZIA VULGARIS NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA

Autor: Lucas S. Zamarioli<sup>1</sup>, Ed Wilson Santos<sup>2</sup>, Maria Cristina Marcucci<sup>3</sup>, Carlos R. Oliveira<sup>1,A</sup>.

<sup>1</sup>Grupo de Fitocomplexos e Sinalização Celular, Escola de Ciências da Saúde, Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, SP 03164-000, Brazil. <sup>2</sup>Laboratório de Hematologia Clínica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP). <sup>3</sup>Laboratório de Produtos Naturais e Quimiometria, Programa de pós-graduação em Farmácia e Biotecnologia, Universidade Anhanguera de São Paulo, São Paulo, SP.

### Informações do artigo

Palavras Chave:

*Artemisia vulgaris*,  
Imunomodulação,  
Etnofarmacologia.

### Resumo

A *Artemisia vulgaris* é uma das espécies do gênero *Artemisia*, gênero o qual possui grande história terapêutica e estudos. Suas partes aéreas são tradicionalmente consumidas pela população sob forma de infusão (chá), por acreditar que possui propriedades anti-helmíntica, antisséptica, antiespasmódica, anti-inflamatória e, até mesmo, como tônico para órgãos vitais. Este trabalho, teve como objetivo avaliar o extrato bruto (EB) da *Artemisia vulgaris* na resposta imunológica, com base na história terapêutica da planta e na etnofarmacologia.

Para o desenvolvimento, foram utilizadas técnicas para obtenção e análise dos compostos do extrato por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), sendo identificados como os principais compostos a artemisinina, e os ácidos clorogênico e cafeoilquínico. Posteriormente foi realizado o tratamento da linhagem celular RAW (macrófagos murinos) com o EB. As células foram tratadas com diferentes concentrações de extrato (de 0,25% a 2%), por um período de 24 horas, e estimuladas com lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano, com o intuito de se observar a produção de citocinas. Após a segunda incubação por 24 horas, o sobrenadante dessa linhagem foi recolhido, e a análise da produção de citocinas pró-inflamatórias, interleucina (IL)-6 e anti-inflamatórias, IL-4, foi feita por imunoenensaio (teste de ELISA), avaliando, assim, a influência do extrato de *A. vulgaris* na resposta imunológica.

<sup>A</sup>Autor correspondente:

Carlos Rocha Oliveira - e-mail: carlos.oliveira@laureate.com.br - ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8634-2850>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.60> - Artigo recebido em: 24 de junho de 2019; aceito em 05 de agosto de 2019; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br) Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

## Article ID

### Keywords:

*Artemisia vulgaris*,  
Immunomodulation,  
Ethnopharmacology.

## Abstract

*Artemisia vulgaris* is one of species from the *Artemisia* gender, this gender has a long therapeutic history and studies. Their aerial parts are consumed for the population as tea. People believe that *A. vulgaris* tea has properties anti-helminthic, antiseptic, anti-spasmodic, anti-inflammatory and even tonic for the vital organs. This study, had the main objective the evaluation of the crude extract of *Artemisia vulgaris* in the immunologic response, with the therapeutic history and ethnopharmacology basis. For the development, technics for the obtention and analysis of the composition of the extract was made by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), being detected as main substances, the artemisinin, and chlorogenic and caffeoylquinic acids. Subsequently we made the treatment of the cell line RAW (murine macrophages) with the extract. The cells were treated with different extract concentrations (from 0,25% to 2%), for 24 hours, and stimulated by bacterial lipopolysaccharide (LPS), with intention of observe the cytokines production. After the second incubation, for 24 hours, the supernatant were collected, and the production of pre-inflammatory, interleukin (IL)-6 and anti-inflammatory, IL-4, cytokines were analyzed by immunoassay (ELISA test), thus evaluating the influence of *A. vulgaris* extract on the immunologic system.

## Introdução

A Imunomodulação envolve tanto estímulo, como redução de certas respostas imunes celulares e/ou humorais. Neste sentido, produtos de origem natural, demonstram exercer efeitos imunomoduladores [1]. Por exemplo, pimenta preta (*Piper nigrum*) e cardamomo (*Elettaria cardamomum*) apresentaram potentes efeitos imunomoduladores [1]. Produtos naturais com atividade imunomoduladora são amplamente utilizados no tratamento de muitas doenças, incluindo doenças autoimunes, distúrbios inflamatórios, além do câncer [2].

O gênero *Artemisia* (*Artemisia* spp.) apresenta uma história terapêutica há mais de dois mil anos, sendo amplamente utilizada na medicina popular, além de ser um dos gêneros mais estudados devido a sua diversidade morfológica, química e biológica [3]. As espécies que fazem parte do gênero *Artemisia* spp., compreendem, na verdade, importantes plantas medicinais que atualmente são objeto de atenção fitoquímica devido à sua produção grande produção de metabólitos secundários, diversidade química e

biológica [4]. As espécies do gênero *Artemisia* spp., apresentam uma gama de atividades biológicas, como no caso da espécie *Artemisia annua*, que possui polissacarídeos com atividade antitumoral e dotada de propriedades imunomoduladoras [5].

Em trabalho publicado por Hunt [6], o extrato de *Artemisia annua* mostrou-se seguro e eficaz no manejo da dor e da limitação funcional associada à osteoartrite presente no quadril e no joelho de pacientes.

Bao *et.al.* [7], utilizou os polissacarídeos de *Artemisia argyi* sobre células tumorais verificando a inibição do crescimento do sarcoma 180 (S180) de camundongos.

Estudos *in vitro* demonstraram a capacidade do extrato de *Artemisia absinthium* em reduzir os níveis de TNF- $\alpha$  e outras interleucinas [8,9,10]. Também em relação ao extrato de *Artemisia absinthium*, verificou-se atividade hepatoprotetora conferida à camundongos, através de atividade imunomoduladora e antioxidante desta espécie vegetal [11].

A *Artemisia vulgaris*, uma das espécies do gênero *Artemisia* spp., é tradicionalmente utilizada pelas suas propriedades anti-helmíntica, antisséptica, antiespas-



módica, como tônico para órgãos vitais e outras desordens como a hepatose [12].

Polissacarídeos obtidos das folhas de *Artemisia vulgaris*, reduziram a proliferação e indução à diferenciação de células leucêmicas humanas THP-1, mostrando que o extrato poderia ser utilizado como tratamento complementar a leucemia mielóide aguda [13]. Além disso, a *Artemisia vulgaris* apresentou propriedades antioxidantes [12].

Deste modo, este projeto visa avaliar a atividade imunomoduladora do extrato hidroalcoólico de *Artemisia vulgaris* através do tratamento in vitro de macrófagos murinos, seguido do estímulo por lipopolissacarídeo (LPS), a fim de se avaliar, por imunensaio, as interleucinas 4, 6, 10, 12 e interferon-gama (IL-4, IL-6, IL-10, IL-12 e INF- $\gamma$ ).

Devido ao uso popular de plantas do gênero *Artemisia* spp, e da potencialidade das plantas medicinais como novas opções terapêuticas, a realização deste trabalho teve como objetivo estudar a possível atividade imunomoduladora da espécie *Artemisia vulgaris*, a fim de se compreender o mecanismo de interação desta espécie vegetal com o sistema imunológico, e fornecendo, desse modo, informações sobre um possível candidato capaz de conferir aumento da resposta orgânica contra vírus, bactéria, fungos e protozoários, além de poderem exercer um papel importante no auxílio à terapêutica antitumoral, no transplante de órgãos e medula óssea e nas doenças autoimunes.

Sendo assim, este estudo, além do aproveitamento acadêmico com o aprendizado de diferentes metodologias, forneceu mais informações sobre a *Artemisia vulgaris*, espécie vegetal muito utilizada popularmente.

## Objetivos

Avaliação da capacidade imunomoduladora do extrato hidroalcoólico de *Artemisia vulgaris*, através do tratamento de macrófagos de camundongos (células RAW).

Avaliação da produção de citocinas pré e pró-inflamatórias das células submetidas ao tratamento com extrato de *A. vulgaris*.

## Material e método

## Reagentes

Os reagentes que foram utilizados no estudo são: Artemisinina (Sigma-Aldrich), lipopolissacarídeo (*Escherichia coli* 055:B5), meio de cultura DMEM-high e soro fetal bovino (SFB). Imunoensaio com enzima conjugada (ELISA) kits de interleucinas (IL)-4, IL-6, IL-10, IL-12 e interferon (INF)- $\gamma$ .

## Obtenção do extrato de *Artemisia vulgaris*

O extrato hidroalcoólico de *Artemisia vulgaris* na forma de tintura mãe homeopática foi preparado seguindo as padronizadas técnicas laboratoriais industrializadas - Laboratório Homeopático Almeida Prado, São Paulo, Brasil. O extrato foi preparado de acordo com a Farmacopeia Homeopática Brasileira e fornecido como um extrato etanólico a 65%. Este extrato inicial foi concentrado sob pressão reduzida a temperaturas inferiores a 45°C utilizando um evaporador rotativo (Buchi Rotavapor R-200), e o solvente foi completamente removido.

## Análise cromatográfica por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) – identificação de artemisinina em *Artemisia vulgaris*

Uma quantidade do extrato de *Artemisia vulgaris* (com concentração conhecida) foi solubilizada com 5mL de metanol a quente, filtrada em papel de filtro e passada por um filtro Millipore (0,45 $\mu$ m, Sartorius) para a análise por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (HPLC). A identificação de artemisinina nos extratos foi avaliada por HPLC, empregando-se uma coluna C18 em fase reversa, por método isocrático, consistindo de metanol e água acidificada com 0,2% de ácido fórmico (50:50). O fluxo foi de 1,0 mL/min e a detecção monitorada em 254 nm. Foi utilizado um detector de rede de diodos na detecção dos picos [14], para verificação de artemisinina em *Artemisia vulgaris*.

## Células

As células RAW foram gentilmente cedidas pelo Prof. Ed Wilson, do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade São Paulo. Foram culti-



vadas em suspensões contendo 2 mL de meio DMEM-high, suplementado com 10% FCS (Hyclone), 4 mM L-glutamina, 80 µg/mL penicilina e 80 µg/ml de estreptomicina (Hyclone), 1 mM de piruvato de sódio (Hyclone), 10 mM HEPES, 1x aminoácidos não-essenciais (Sigma, St. Louis, MO) e  $6 \times 10^5$  m  $\beta$ -ME].

### Tratamento, produção e análise de citocinas

Para o tratamento, as células foram divididas em 2 grupos, são eles: A) Grupo estimulado com LPS, e B) Grupo controle (não estimulado com LPS). Ambos os grupos foram tratados com o extrato de *Artemisia vulgaris* em forma de gradiente, começando com 0µL e aumentando gradualmente de 5 em 5 µL até 40µL, totalizando 9 wells para cada grupo.

O experimento ocorreu em três etapas, na primeira, foram adicionadas em cada well  $1,5 \times 10^5$  células, com 2 mL de meio DMEM- high suplementado, e os grupos “A” e “B” foram tratados com o extrato e incubados por 24h à 36°C com atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub>.

Na segunda etapa o grupo “A” foi estimulado com 10µg/mL de LPS, e ambos voltaram a ser incubados nas mesmas condições citadas acima.

A terceira etapa consistiu na coleta do sobrenadante, após a segunda incubação de 24h, e seu armazenamento à menos 80°C antes do ensaio ser realizado. Os níveis de citocinas em sobrenadantes foram medidos por imunoenensaio (ELISA) conforme o protocolo do kit e Bioscience e a leitura da placa foi feita pelo aparelho Thermo Scientific 5250030 VARIOSKAN FLASH.

### Análises estatísticas

Os resultados foram apresentados como média + EPM (erro padrão da média). Os resultados obtidos

foram submetidos à análise estatística por análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido de teste a posteriori de Tukey. As semi-quantificações foram analisadas por test “t” de Student. Valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativamente diferentes. As análises foram realizadas no programa GraphPad Prism versão 5.0.

## Resultados

### Cromatografia

Tanto a corrida do padrão de artemisinina quanto à do extrato hidroalcoólico de *Artemisia vulgaris* ocorreram nas seguintes condições cromatográficas:

Solvente A: água acidificada a 0.1% com ácido fórmico, e solvente B: metanol. Corrida de 10 minutos, iniciando com 95% de A à 100% de B em 8 min, mantendo-se até 8,5 minutos, retornando as condições iniciais e estabilizando até 10 minutos.

temperatura da coluna foi de 40°C com volume de injeção de 10 µl da solução padrão e das amostras em uma coluna C18, (partícula 1.7 µ, tamanho 2.1mm x 50 mm). Varredura ESI modo positivo e negativo entre 100 e 700  $m/z$ .

Sendo assim, a **figura 1** mostra o cromatograma em UHPLC da tintura de *Artemisia* obtido em modo positivo, o íon de massa ( $m/z$ ) 283, com o tempo de retenção de 5,27 minutos, indicando a presença da Artemisinina.

A **figura 2A** apresenta o cromatograma com melhor resolução indicando o tempo de retenção de 5,27 minutos.

E a **figura 2B** é o pico com esse tempo de retenção ampliado, para melhor visualização.

Figura 1.

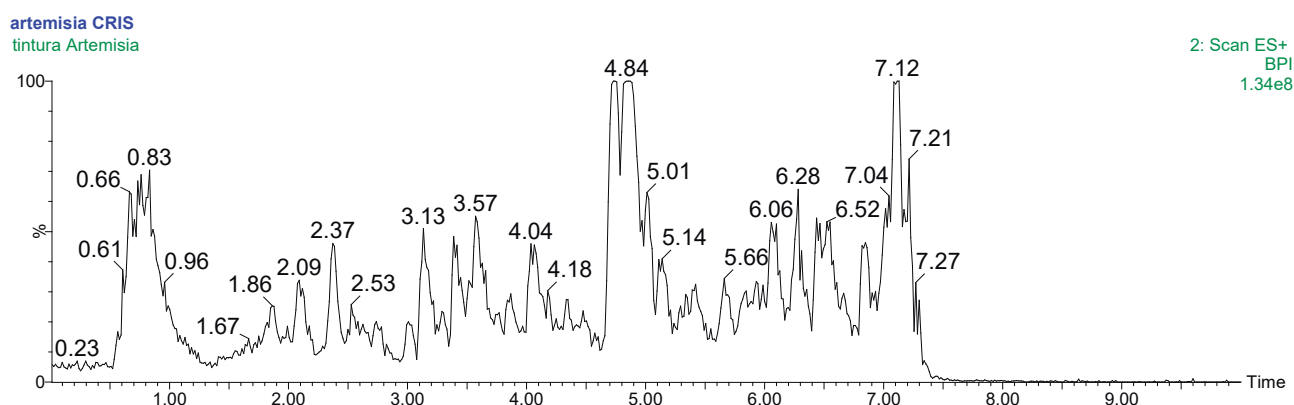


Figura 2A.

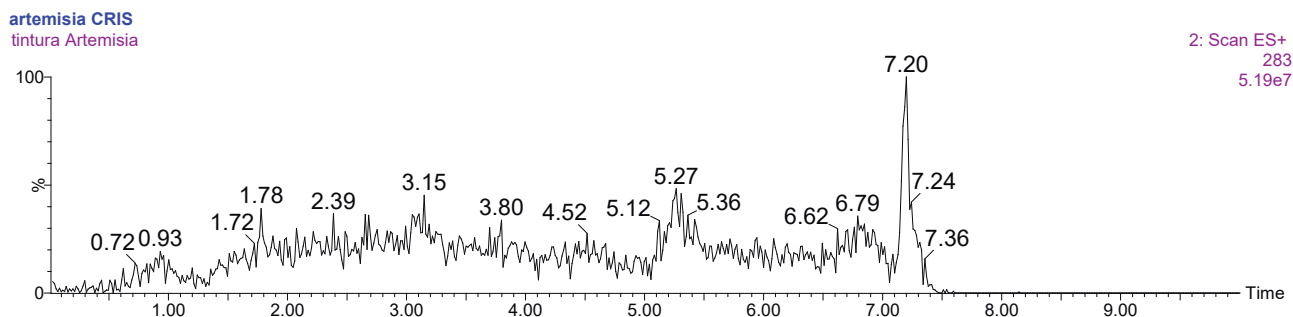
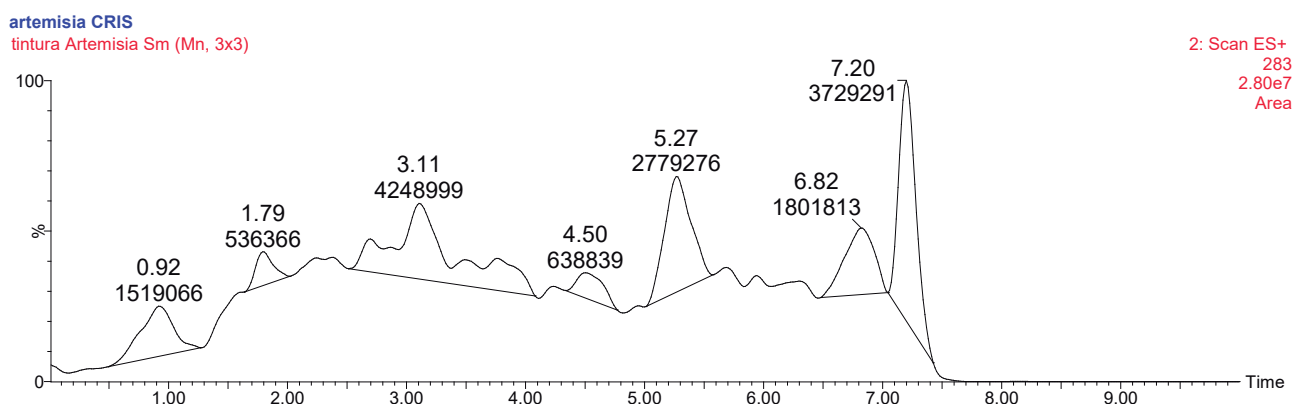
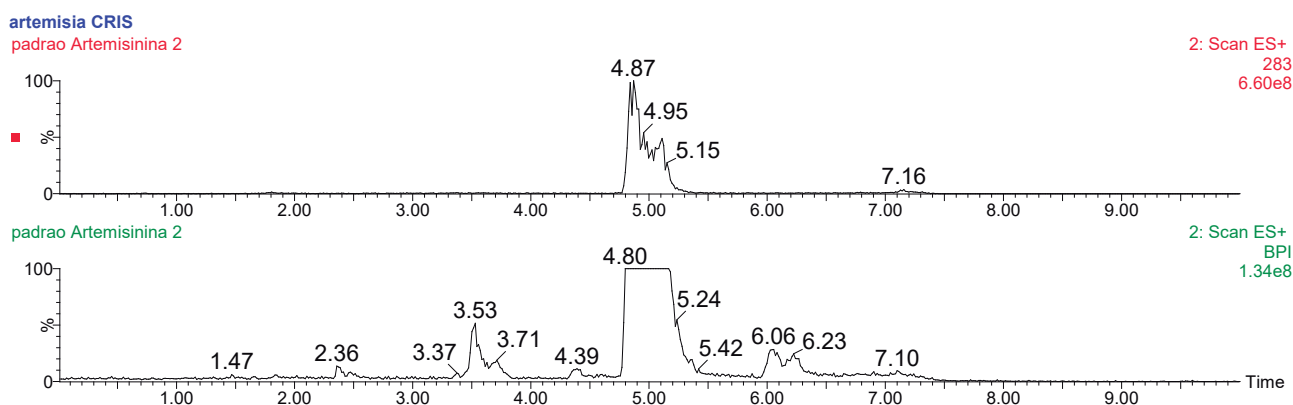


Figura 2B.



A figura 3 mostra a análise por UHPLC do padrão de artemisinina.

Figura 3.



O cromatograma acima está de acordo com os resultados obtidos por Khairul *et al* [15], indicando o mesmo tempo de retenção do padrão da artemisinina.

A **figura 4A** mostra o cromatograma por UHPLC da tintura de *Artemisia vulgaris* em modo negativo. Enquanto **4B** mostra o tempo de retenção do ácido clorogênico e isômeros em 1,62 e 1,84 minutos. A **figura 4C** indica a presença de ácidos cafeoilquínicos e isômeros com o tempo de

retenção 2,62 e 2,75 minutos.

Outra corrida foi realizada, desta vez apenas com o extrato de *A.vulgaris*, com as seguintes condições cromatográficas:

HPLC LaChrom série L7100 com detector de rede diodos série L7455 da Merck e Hitachi (Alemanha). Coluna C18 Lichrocart 125-4mm, 5 micrometros, solvente A água acidificada com ac. Fórmico a 5% e solvente B metanol.

Figura 4A.

artemisia CRIS  
tintura Artemisia

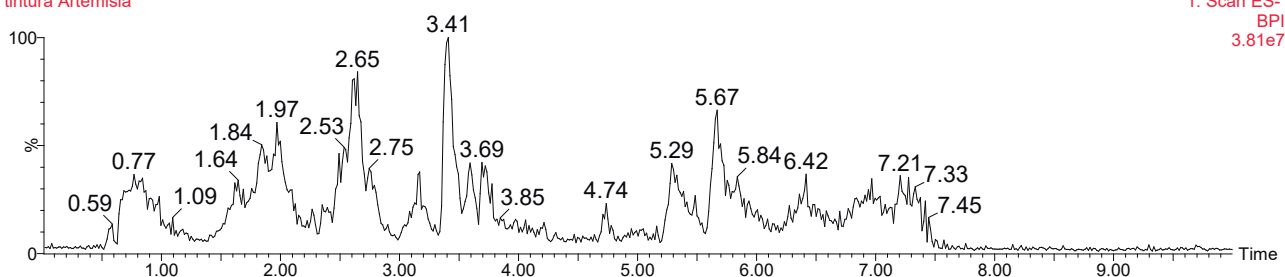


Figura 1B.

artemisia CRIS  
tintura Artemisia

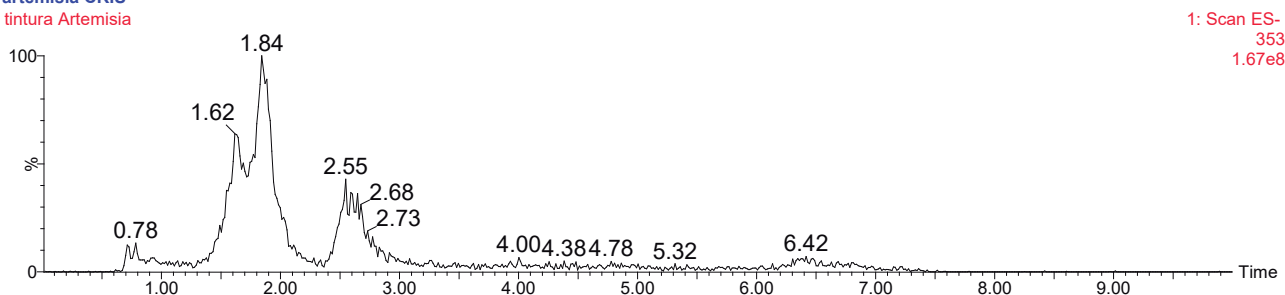
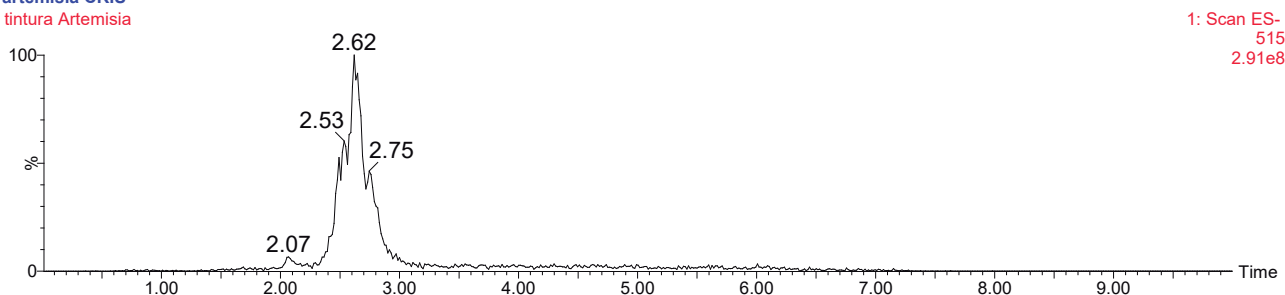


Figura 4C.

artemisia CRIS  
tintura Artemisia



O volume de injeção foi de 120  $\mu$ L, detecção em 320 nm, consistindo de um gradiente iniciando-se com 100% de A, 5 minutos 80% de A, 21 minutos 70% de A e 34 minutos 100% de A, o fluxo é 0,8 ml/minuto, tempo de corrida 45 minutos.

A cromatografia (HPLC) comprova a existência do ácido clorogênico em 16,87 minutos e de ácidos cafeoilquínicos entre 28 e 35 minutos, aproximadamente (Figura 5).

#### Cultura, tratamento e produção de citocinas

Após a leitura das placas do teste de ELISA, obtivemos os seguintes resultados:

A **figura 6** indica um aumento progressivo da produção da IL-4 a partir de 30  $\mu$ L de extrato de *A. vulgaris*, o que, segundo Oliveira CM *et al* [16], pode ter como consequência o aumento de uma resposta anti-inflamatória. Enquanto a **figura 7** mostra uma produção diminuída de IL-6 frente ao estímulo com LPS, a partir do tratamento com 15  $\mu$ L do extrato, o que pode ser precedente para uma menor resposta pró-inflamatória.

Figura 5.

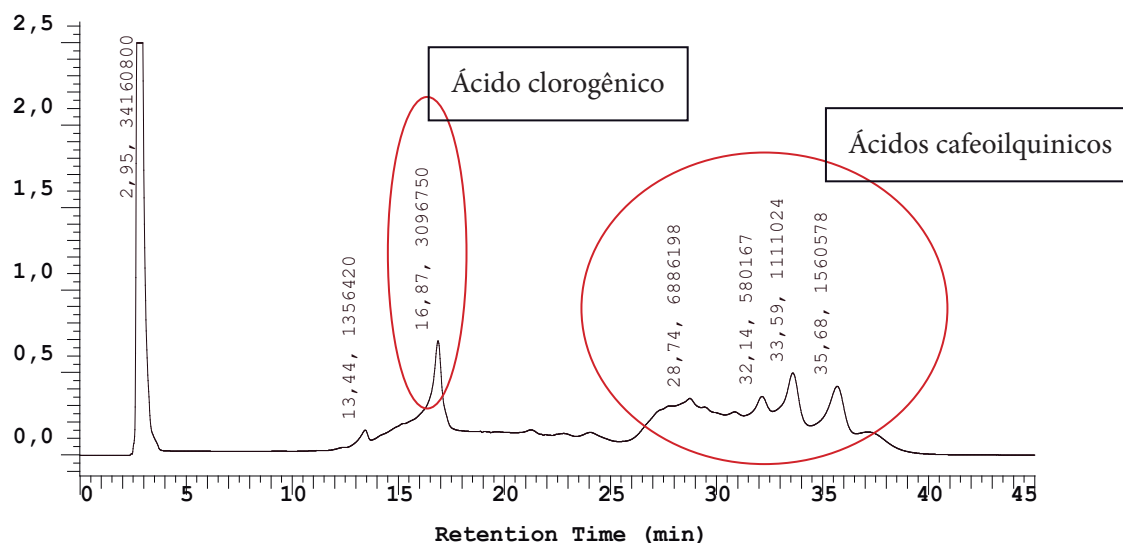


Figura 6, 7.

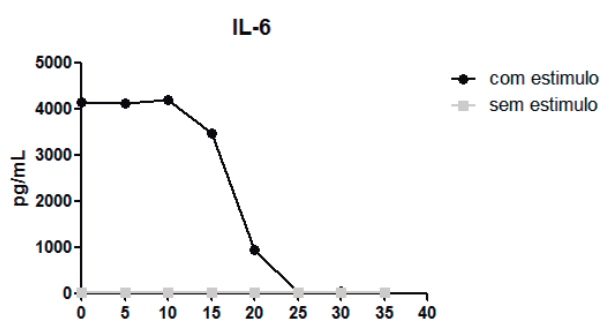


Figura 6

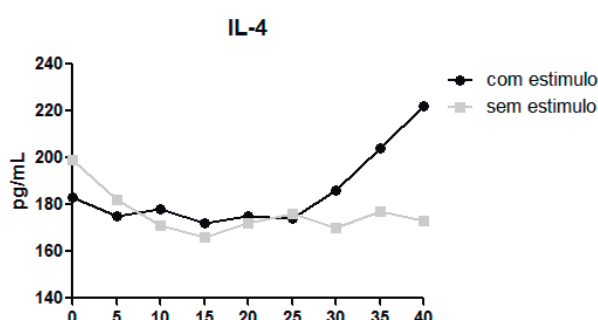


Figura 7

**Figuras 6 e 7.** Gráficos (pg/mL x volume em µL) gerados a partir de imunoenensaio (ELISA), demonstrando a atividade do EB de *A.vulgaris* na síntese de Interleucina (IL) sobre a linhagem celular RAW. A) IL-4. B) IL-6.

## Conclusão

A partir dos resultados apresentados tanto da cromatografia líquida, quanto da produção de interleucinas, podemos sugerir que o extrato de *Artemisia vulgaris* possui atividade moduladora referente a IL-4 e IL-6, porém foram necessários mais estudos para a identificação de qual, ou quais compostos são responsáveis por essa modulação, uma vez que há grande quantidade de ácidos cafeoilquínicos e clorogênicos, além da artemisinina encontrada no extrato.

## Referências

1. MAJDALAWIEH AF, FAYYAD MW. Immu-

nomodulatory and anti-inflammatory action of *Nigella sativa* and thymoquinone: A comprehensive review. *Int Immunopharmacol.* 2015;28(1):295-304.

2. MOHAMED SIA, JANTAN I, HAQUE MA. **Naturally occurring immunomodulators with antitumor activity:** An insight on their mechanisms of action. *Int Immunopharmacol.* 2017;50:291-304.

3. CHANOTIYA C, SINGH S. **Low Molecular Weight Volatiles in Western Himalayan Artemisia.** 2012. [https://www.researchgate.net/publication/291265126\\_Low\\_Molecular\\_Weight\\_Volatiles\\_in\\_Western\\_Himalayan\\_ArtemWoSa](https://www.researchgate.net/publication/291265126_Low_Molecular_Weight_Volatiles_in_Western_Himalayan_ArtemWoSa).

4. GUETAT A, AL-GHAMDI FA, OSMAN AK. **The genus Artemisia L. in the northern region of Saudi Arabia:** essential oil variability and antibacteri-

al activities. *Nat Prod. Res.* 2017;31(5):598-603.

5. CHEN J, WANG X, LIU C. **Anti-tumour effects of polysaccharides isolated from *Artemisia annua* L by inducing cell apoptosis and immunomodulatory anti-hepatoma effects of polysaccharides.** *Afr. J Tradit Complement Altern Med.* 2014;11(1):15-22.

6. HUNT S, STEBBINGS S, MCNAMARA D. **An open-label six-month extension study to investigate the safety and efficacy of an extract of *Artemisia annua* for managing pain, stiffness and functional limitation associated with osteoarthritis of the hip and knee.** *N Z Med J.* 2016;129(1444):97-102.

7. BAO X, YUAN H, WANG C, LIU J, LAN M. **Antitumor and immunomodulatory activities of a polysaccharide from *Artemisia argyi*.** *Carbohydr Polym.* 2013;98(1):1236-43.

8. HATZIEREMIA S, GRAY AI, FERRO VA, PAUL A, PLEVIN R. **The effects of cardamonin on lipopolysaccharide-induced inflammatory protein production and MAP kinase and NFkappaB signalling pathways in monocytes/macrophages.** *Br J Pharmacol.* 2006;149(2):188-98.

9. KREBS S, OMER TN, OMER B. **WORMWOOD (*Artemisia absinthium*) suppresses tumour necrosis factor alpha and accelerates healing in patients with Crohn's disease - A controlled clinical trial.** *Phyto-medicine.* 2010;17(5):305-9

10. LEE HG, KIM H, OH WK, YU KA, CHOE YK, AHN JS. **Tetramethoxy hydroxyflavone p7F down-regulates inflammatory mediators via the inhibition of nuclear factor kappaB.** *Ann N Y Acad Sci.*

11. AMAT N, UPUR H, BLAZEKOVIC B. **In vivo hepatoprotective activity of the aqueous extract of *Artemisia absinthium* L. against chemically and immunologically induced liver injuries in mice.** *J Ethnopharmacol.* 2010;131(2):478-84.

12. TEMRAZ A, EL-TANTAWY WH. **Characterization of antioxidant activity of extract from *Artemisia vulgaris*.** *Pak J Pharm Sci.* 2008;21(4):321-6.

13. FERREIRA MLC. **Polissacarídeos solúveis de folhas de *Artemisia absinthium* e *Artemisia vulgaris*: isolamento, caracterização e efeitos sobre células THP-1.** fevereiro 2014.

14. KUCUKBOYACI N, ERDOGAN ORHAN I, MURAT K, NEZAKET A, BANI B. **Determination of Artemisinin in Selected *Artemisia* L. Species of Turkey.** by Reversed Phase HPLC2007.

15. KHAIRUL IKRAM N, BEYRAGHDAR KASHKOOLY A, VITHAKSHANA PERAMUNA A,

KROL A, BOUWMEESTER H, SIMONSEN HT. **Stable Production of the Antimalarial Drug Artemisinin in the Moss *Physcomitrella patens***2017.

16. OLIVEIRA CMBD, SAKATA RK, ISSY AM, GEROLA LR, SALOMÃO R. **Citocinas e dor.** *Revista Brasileira de Anestesiologia.*

Artigo Original

## ANÁLISE DOS PARÂMETROS FÍSICO - QUÍMICOS E ORGANOLÉPTICOS DE SABONETES LÍQUIDOS ÍNTIMOS

**Autor: Thamiris Silva Bezerra de Sousa<sup>1</sup>, Alessandra Dayane da Silva Lima<sup>1</sup>, Emanoella Karla da Silva<sup>1</sup>, Ellison Neves de Lima<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Discente da Instituição Centro universitário Tabosa de Almeida ASCES-UNITA localizada na Av. Portugal, 584 - Universitário, Caruaru - PE, 55016-400.

<sup>2</sup>Professor Doutor em Ciências Farmacêuticas - Docente da Associação Caruaruense de Ensino Superior ASCES-UNITA localizada em Caruaru-PE.

### Informações do artigo

Palavras Chave:  
Estabilidade de  
Cosméticos; Genitália  
feminina; Rotulagem de  
Cosméticos.

### Resumo

A genitália feminina possui inúmeras características entre elas é ter o pH ácido e ser constituída por microrganismos que são responsáveis por manter essa região saudável e livre de odores. Contudo, a devida higienização dessa região é importante e deve ser feita com produtos adequados entre eles estão os sabonetes líquidos íntimos. Formulações essas bem preparadas, estáveis, aprovadas e classificadas como cosméticos de grau 2 pela ANVISA. Porém, muitos erros ainda são encontrados nos produtos cosméticos, no desvio de qualidade, aspecto, estabilidade e na rotulagem com a falta ou excesso de informações. Diante disso, o objetivo do estudo foi analisar os parâmetros físico-químicos e organolépticos de sabonetes líquidos íntimos comercializados em drogarias, perante as normas da ANVISA e as especificações descritas em sua rotulagem e para isso foram realizados durante 3 meses, nos intervalos de 15 em 15 dias testes de estabilidade. pH, viscosidade, densidade e as características organolépticas, afim de verificar se haveriam mudanças. Ao fim dos 90 dias observou-se que os 10 sabonetes líquidos íntimos se mostraram sem alterações relevantes tanto nas características físico-químicas quanto nas organolépticas. Com relação a avaliação dos rótulos, ou seja, na embalagem primária, todos continham as informações obrigatórias entre elas todos os ingredientes que estão na relação nomenclatura internacional de ingredientes cosméticos (INCI), possuindo número de registro, data de validade, valor de pH entre outros. Ao fim do estudo foi possível verificar que não houve nenhuma alteração na formulação e nenhuma irregularidade nos rótulos, apresentando um resultado aceitável e dentro das especificações da ANVISA.

<sup>2</sup>Autor correspondente:

Ellison Neves de Lima - e-mail: [ellisonlima@asces.edu.br](mailto:ellisonlima@asces.edu.br) - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1742-8364>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.62> - Artigo recebido em: 09 de agosto de 2019; aceito em 15 de agosto de 2019; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br) Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



## Article ID

Keywords:  
Cosmetics; Genitalia,  
Female; Cosmetic  
Stability; Cosmetic  
Labeling.

## Abstract

The female genitalia has many characteristics among them is to have acid pH and be constituted by microorganisms that are responsible for keeping this region healthy and free of odors. However, the proper sanitization of this region is important and should be done with suitable products among them are the intimate liquid soaps. Formulations that are well prepared, stable, approved and classified as grade 2 cosmetics by ANVISA. However, many errors are still found in cosmetic products, in the misuse of quality, appearance, stability and in labeling with lack or excess of information. Therefore, the objective of the study was to analyze the physical-chemical and organoleptic parameters of intimate liquid soaps marketed in drugstores, in accordance with ANVISA standards and the specifications described in its labeling, and for this purpose they were carried out for 3 months, at intervals of 15 15 days stability tests. pH, viscosity, density and organoleptic characteristics, in order to verify if there were changes. At the end of the 90 days, it was observed that the 10 intimate liquid soaps showed no relevant changes in both the physical-chemical and organoleptic characteristics. With regard to the evaluation of the labels, i.e. in the primary packaging, all contained the mandatory information among them all ingredients that are in the international nomenclature of cosmetic ingredients (INCI), having registration number, expiration date, pH value between others. At the end of the study it was possible to verify that there was no alteration in the formulation and no irregularity in the labels, presenting an acceptable result and within ANVISA specifications.

## Introdução

Anatomicamente a genitália feminina possui características próprias, como pH ácido e constituída por microrganismos que são responsáveis por manter esse órgão saudável, porém o desequilíbrio dessa região com consequentemente a mudança de pH pode vir a proliferar microrganismos patogênicos. Com isso substâncias e secreções acumulam-se entre os tecidos, possibilitando assim o desprendimento de odores que geram desconforto a mulher [1]). Muitos fatores podem estar associados a esses descontroles, como uso de ducha vaginal, estresse, atividade sexual, questão hormonal, falta ou excesso de higiene que podem vir a enfraquecer a microbiota vaginal [2].

A higiene da região íntima deve estar incluída na rotina da mulher, limpeza essa que necessita de produtos que não venham alterar a sua microbiota, trazendo assim uma sensação de frescor e conforto, entre eles estão os sabonetes líquidos íntimos [3]. Estes que são produtos cosméticos bem elaborados que po-

dem trazer em uma composição diversas substâncias químicas como a glicerina que promove a hidratação da região, uma parte que é extremamente delicada e que necessita de cuidados especiais [4].

Em muitos países ainda é comum a prática do uso de sabonetes em barra, porém esses podem vir a ser um esconderijo ideal para as bactérias, no entanto com as inovações dos produtos de higiene nota-se um grande aumento da variedade de sabonetes disponíveis no mercado, entre eles estão os sabonetes líquidos íntimos [5]. Esse produto é considerado um composto tensoativo, sendo classificado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como cosmético de grau 2, por possuir especificidade e características que requerem aprovação de segurança, eficácia e especificações de rótulo que devem permanecer estáveis mesmo em determinadas condições ambientais [6].

Para isso existe o estudo da estabilidade que tem como objetivo observar a manutenção das características dos produtos cosméticos íntegros, podendo ser dividida em vários tipos entre eles estão à estabilidade



física, química e microbiológica [7]. Na física deve-se atentar aos fatores de vibração e impacto, flutuações de temperatura e umidade, a química o produto deve manter sua identidade espacial e molecular intactas, temperatura, umidade, luz e pH e na microbiológica o produto deve manter a sua qualidade microbiológica desde quando foi produzida até o final do prazo de validade [8].

São muitos os erros encontrados nos produtos cosméticos, entre eles estão o desvio de qualidade, alterações no aspecto, cor e o no rótulo, este que deve conter todas as informações estabelecidas pela legislação nacional [9]. Dos erros encontrados no rótulo está o desvio de registro ou notificação de produtos que possuíam número de registro diferente nas embalagens, fórmula e composição que não se encontrava na Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, falta da data de validade, ausência do número de lote, embalagem do produto onde continha texto diferente do enviado a ANVISA [10].

Diante disso, evidencia-se a necessidade de analisar os parâmetros físico-químicos e organolépticos de sabonetes líquidos íntimos comercializados em drogarias, perante as normas da ANVISA e as especificações descritas em sua rotulagem; com o intuito de verificar se os referidos produtos detêm o padrão de qualidade necessário para uso eficaz e seguro.

## Material e método

Foram obtidas 10 amostras de sabonetes líquidos íntimos de diferentes marcas, assim identificadas com números de 1 a 10. Nessas amostras foram avaliadas as características organolépticas como cor, odor e aspecto, os parâmetros físico-químicos como o pH, densidade e viscosidade e a rotulagem.

### Testes de estabilidade

A estabilidade de uma apresentação é avaliada em dias ou até em anos, através das várias condições em que é colocada, portanto o teste serve para verificar os possíveis problemas que possam surgir desde quando é produzida até quando vai as prateleiras, para isso utilizou-se duas amostras de cada produto em suas embalagens primárias, evitando assim a agregação de ar na formulação, essas que foram dispostas a duas temperaturas diferentes, a da geladeira  $T = 5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  e da estufa  $T = 45 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  durante três meses com o in-

tervalo de 15 dias, avaliadas a princípio no tempo zero e ao longo do teste. Ao final observou-se nas amostras o características organolépticas, valor de pH, viscosidade e densidade [11].

### Características organolépticas

Foram avaliadas as amostras que possuem substâncias com características próprias que servem para o seu reconhecimento, e que determinam os perfis de aceitação do cosmético pelo consumidor. Foram avaliados: cor, aspecto, odor [12].

### pH

O potencial de hidrogênio (pH) caracteriza-se por suas condições de acidez, neutralidade e alcalinidade do meio, onde será medido a concentração de íons de hidrogênio. A escala de pH é medida de 0 a 14, onde pode-se encontrar o nível ácido de 0 a 6 e básico 8 a 14, sendo que 7 o meio se encontra neutro [13].

Utilizou-se o pHmêtro digital ( Quimis, modelo Q400AS, Brasil), para a análise do pH, este possui um eletrodo, um tipo de sensor ligado a um potenciômetro, devidamente calibrado com soluções de pH 4,01 e 6,86. Prontamente o **eletrodo foi submerso e assim** fez-se a leitura, valor mostrado no equipamento.

### Viscosidade

A viscosidade é caracterizada pela resistência a força de cisalhamento, assim também do líquido obter seu escoamento. Este tipo de tensão é gerado por forças intermoleculares existente no fluido que está diretamente relacionada com a temperatura [14].

Em um béquer de volume adequado, foram colocados 200 mL da amostra. O aparelho utilizado foi o Viscosímetro Rotativo Analógico - QUIMIS® no qual trabalhou-se com os *spindle* 3 e 4, em seguida o equipamento foi acionado com velocidade de 6 rpm. A leitura foi realizada após um minuto e o valor obtido foi usado para o cálculo da viscosidade.

### Densidade

A densidade é a razão entre a massa e o volume da substância, utilizada para quantificar sua pureza, identidade e estabilidade, usa-se os equipamentos densímetro ou o picnômetro para substâncias líqui-

das [15].

Foi-se tarado um picnômetro de 25 mL na balança analítica, em seguida colocou-se o produto até completar o volume necessário. A massa de cada um dos 10 produtos em triplicata foi determinada e dividida pelo volume do picnômetro para encontrar a densidade em g/mL.

### Avaliação de rotulagem

Conforme a avaliação de rotulagem, pode-se observar se está de acordo com os critérios implementados. Diante da RDC nº 29 de 1 de junho de 2012, no adendo II, observa-se a lista de substâncias permitidas como conservantes e suas associações para produtos cosméticos. Na RDC nº44 de 9 de agosto de 2012, regulariza as substâncias corantes utilizadas em produtos de higiene pessoal, assim como, cosméticos e perfumes. Já na RDC nº48 de 16 de março de 2006, lista substâncias proibidas em produtos cosméticos, de higiene pessoal e perfumes. A RDC nº7 de fevereiro de 2015 que normatiza os produtos de higiene

pessoal, cosméticos e perfumes. Sendo assim, garante um melhor controle de qualidade dos produtos.

A análise da rotulagem foi realizada através da observação de todos os ingredientes contidos nas 10 amostras, averiguando quais ingredientes que uma amostra tinha em comum com a outra e a sua finalidade através da INCI (Nomenclatura internacional de ingredientes cosméticos).

### Avaliação estatística

Todas os ensaios foram realizados em triplicata, realizando cálculo de média e desvio padrão ( $\pm DP$ ), apresentado em tabelas, para os cálculos foi utilizado o software GraphPad Prism® v. 5.

### Resultado e discussão

Na avaliação dos resultados do pH, densidade e viscosidade pode-se observar na **tabela 1** que houveram poucas modificações desde o início ao fim do experimento.

Produto	pH						Densidade (g/mL)						Viscosidade (cPs)						
	tempo (dias) $\pm$ DP						tempo (dias) $\pm$ DP						tempo (dias) $\pm$ DP						
	0		90 <sup>1</sup>		90 <sup>2</sup>		0		90 <sup>1</sup>		90 <sup>2</sup>		0		90 <sup>1</sup>		90 <sup>2</sup>		
1	3,99	0,036	3,97	0,034	3,37	0,015	5,24	0,087	5,23	0,021	5,32	0,010	8066	161	7466	185	8666	115	
2	4,34	0,05	4,34	0,080	3,93	0,043	5,32	0,056	5,4	0,015	5,32	0,047	6700	164	7266	151	7266	104	
3	4,28	0,017	3,98	0,057	4,05	0,056	5,11	0,038	5,09	0,083	5,26	0,024	1570	200	1265	183	1966	166	
4	4,46	0,057	3,69	0,090	4,37	0,041	5,20	0,037	5,27	0,049	5,32	0,012	3633	208	3233	178	3233	132	
5	5,02	0,015	4,59	0,013	5,18	0,020	5,33	0,002	5,43	0,017	5,44	0,015	4766	151	5966	177	5900	144	
6	4,95	0,023	4,56	0,205	5,56	0,040	5,57	0,031	5,39	0,016	5,50	0,006	21000	183	22933	166	20880	170	
7	4,44	0,057	4,07	0,060	4,10	0,015	5,81	0,071	5,62	0,030	5,96	0,064	4166	57	4183	145	3800	167	
8	3,50	0,010	3,93	0,124	3,08	0,075	4,94	0,069	4,97	0,060	4,99	0,014	2700	111	2666	197	2400	134	
9	4,30	0,035	3,51	0,032	4,24	0,072	5,23	0,037	5,34	0,022	5,77	0,024	9333	115	9666	105	9966	123	
10	5,27	0,011	5,30	0,110	4,92	0,079	5,12	0,007	5,29	0,026	5,14	0,020	6800	173	6333	151	6466	103	
<sup>1</sup> geladeira																			
<sup>2</sup> estufa																			

**Tabela 1** - Resultados do pH, Densidade e Viscosidade no intervalo de 0 a 90 dias.

### Características organolépticas

As características organolépticas foram verificadas através da análise visual comparativa com a amostra inicial, constatando se houve ou não separação de fases, precipitação, turvação, mudança no aspecto, cor e odor. Ao longo do teste nenhuma das amostras apresentaram mudanças, mostrando assim estarem dentro das exigências estabelecidas pela ANVISA.

### pH

Na **tabela 1** observa-se que a média do pH das amostras ao decorrer do teste ficaram entre 3 e 5,3, apresentando valores compatíveis com o pH vaginal

que é ácido variando de 3,8 a 4,2, ou seja, mais baixo que 7 [16]. Estando dentro dos parâmetros preconizados pela ANVISA e contribuindo assim para a manutenção do pH vaginal que deve estar equilibrado, nem tão ácido e nem tão alcalino pois pode levar a proliferação de microrganismos que tem afinidade por um dos dois meios.

### Viscosidade

Ao longo dos 90 dias as amostras foram colocadas sob diferentes temperaturas da estufa e da geladeira, apresentando resultados que foram mensurados através de média e desvio padrão, pode-se observar que na geladeira a viscosidade aumentou e na estufa di-

minuiu, isso pode ser explicado pois a viscosidade é diretamente proporcional a temperatura devido à força de atrito interno entre as moléculas [17]. Com essa avaliação pode-se perceber que os produtos apresentaram consistência, fluidez e estabilidade adequadas ao longo do tempo proposto.

### Densidade

Constatou-se que ao decorrer do teste os valores da densidade mantiveram-se próximos não apresentando nenhuma alteração, dados não demonstrados.

### Avaliação de rotulagem

Os 10 sabonetes analisados quanto a rotulagem primária apresentou-se dentro das normas de acordo

com a RDC de nº 07 de 2015, visto que em cada rótulo contém o nome, marca, número de registro, lote, prazo de validade, país de origem, fabricante, modo de uso, advertências, restrições do uso e sua composição, não fazendo referência a indicações terapêuticas, sendo objetivos e claros diante de cada informação evitando que o consumidor venha a duvidar quanto a sua origem e segurança.

Como observado na **tabela 2**, as 10 formulações possuem diferentes componentes químicos, alguns tendo nem que seja um ingrediente em comum com outro. Esses que fazem parte da nomenclatura internacional de ingredientes cosméticos - INCI, uma lista padronizada mundialmente, o que facilita a identificação de qualquer ingrediente, afim de proteger a saúde da população.

**Tabela 2.**

Componente	Função	Amostras									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Acrylate/beheneth-25 methacrylate copolymer	Controle de viscosidade										
Acrylates copolymer	Agente filmogénico		x								
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate crosspolymer	Agente filmogénico					x					
Allantoin	Calmante							x			
Alpha-glucan oligosaccharide	Amaciador de pele		x								
Alpha-isomethyl Ionone	Condicionador da pele									x	
Ammonium acryloyldimethyltaurate /VP copolymer	Controle de viscosidade						x				
Água	Solvente	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Benzoic acid	Conservante	x									
Benzyl benzoate	Solvente				x						
Benzyl salicylate	Absorvendo de Uv									x	
BHT	Antioxidante			x							
Bisabolol	Calmante			x							
Camellia sinensis leaf extract	Antioxidante									x	
Caprae lac	Amaciador de pele				x						
Chamomilla recutita flower extract	Emoliente			x						x	



Polyqualernium-39	Agente filmogénico						x						
Polyquaternium-7	Agente filmogénico												x
Propanediol	Solvente	x											
Propylene glycol	Umectante	x											
Propylparaben	Conservante								x				
Schinus terebinthifolius leaf extract	Adstringente												x
Sodium Benzoate	Conservante					x							x
Sodium c14-16 olefin sulfonate	Tensoativo								x				
Sodium Chloride	Controlador de viscosidade					x		x		x			
Sodium hydroxide	Agente tampão	x	x										
Sodium laureth sulfate	Tensoativo	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Sodium laureth-13 carboxy-late	Tensoativo					x							
Sodium lauroylsarcosinate	Tensoativo												x
Sodium lauroamphoacetate	Tensoativo					x							
Sodium PCA	Umectante								x				
Sodium salicylate	Conservante												x
Sodium Trideceth Sulfate	Tensoativo	x				x							
Sorbitan caprylate	Tensoativo	x											
Styrene/ Acrylates Copolymer	Opacificante					x							x
Styrene/VP copolymer	Opacificante								x				
Tetrasodium EDTA	Quelante					x							
Tocopherol	Antioxidante					x							
Ureia	Umectante								x				
Whey	Emoliente					x			x				

**Tabela 2.** Componentes dos 10 sabonetes líquidos íntimos e suas respectivas funções.

## Conclusão

Com os testes realizados ao longo de 90 dias pode-se comprovar que os 10 sabonetes líquidos íntimos escolhidos mostraram-se sem alterações significativas físico-químicas e sem mudanças nas características organolépticas, ou seja, a cor, odor e o aspecto mantiveram-se intactos mesmo com as condições em que foram apresentados. Apontando assim um resultado satisfatório quanto a estabilidade desses produtos, dando ao consumidor uma garantia da qualidade.

Quanto a avaliação dos rótulos observou-se que todas as amostras tinham descritos os ingredientes, modo de uso, precauções, informação do pH do sabonete, isto é, com todas as informações necessárias e exigidas, estando dentro dos padrões de qualidade estabelecidos pela ANVISA.

## Referências

- SCHALKA S, REIS VMS. **Avaliação comparativa de segurança e eficácia para produtos de higiene**

- íntima em mulheres na menopausa.** São Paulo: Copyright Moreira Jr. Editora, 2011 v.70, n.10, p. 372-376, 2013. DOI: 10.1590/S0365-05962011000300013.
2. FEBRASCO. Guia prático de condutas sobre higiene genital feminina. São Paulo, 2009.
3. CHENY, BRUNUNG E, RUBINO, J. **Role of female intimate hygiene in vulvovaginal health: Global hygiene practices and product usage.** Parkway, Montvale, USA, *Women's Health*, v.13: 1-10, 2017. DOI: 10.1177/1745505717731011.
4. LOPES AC, MORAES A, OLIVEIRA AFR, GUIMARAES BP, OLIVEIRA CF, BETIM FCM, MARTINEZ AL, BOBEK, VB. **Análise físico-química comparativa de sabonetes líquidos.** *Visão Acadêmica*, 19(2): 84-89, 2018. DOI: 10.5380/acd.v19i2.58026.
5. FELIX NS, CABRAL LP, FERNANDES WS, BIAZZI LSA. **Análise das características físico-químicas e organolépticas de sabonetes líquidos íntimos femininos.** *Revista Univap*, 22(40), 619, 2017. DOI: 10.18066/revistaunivap.v22i40.1283.
6. CAMPOS VMC. **Sabonete líquido íntimo: informa sobre o processo de produção do sabonete líquido íntimo.** Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais – CETEC, 2007.
7. SILVA KER, ALVES LDS, SOARES MFR, PASSOS RCS, FARIA AR, ROLIM NETO PJ. **Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica.** *Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada*, 30(2), 129-135, 2017.
8. MIRCO J, ROCHA MSD. **Estudo de estabilidade de medicamentos.** *Rev Acadêmica Oswaldo Cruz*, 2 (7), versão online.
9. CANESHI CA, POLONINI HC, BRANDÃO MAF, RAPOSO NRB. **Análise de rotulagem de produtos foto protetores.** *Rev. Bras. Farm.* 92(3): 208-212, 2011.
10. RITO PDN, PRESGRAVE RDF, ALVES EM, VILLAS BMHS. **Perfil dos desvios de rotulagem de produtos cosméticos analisados no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde entre 2005 e 2009.** *Vigilância Sanitária Debate*, 2014, DOI: 10.3395/vd.v2i3.199.
11. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Guia de estabilidade de produtos cosméticos.** Brasília: 2004. Série Qualidade em Cosméticos. v.1. Maio 2004.
12. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos.** 2ª ed. Brasília, p.120, 2008.
13. CRONEMBERGER PR, PAULA SC, MEIRELES LMA. **Análise de sabonetes líquidos íntimos - Analysis of intimate liquis soaps.** Teresina: *Rev. Saúde em foco*, v. 2, n. 1, art. 4, p. 49-59, jan./jul. 2015, 2(1), 49-59.2015.
14. CORRÊA NM., CAMARGO JÚNIOR FB, IGNÁCIO RF, LEONARDI,GR. **Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos.** São Paulo: *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 2005 41(1), 73-78. DOI: 10.1590/S1516-93322005000100008
15. OLIVEIRA BDM, MELO FILHO JM, AFONSO JC. **Density and the evolution of the densitometer.** *Revista Brasileira de Ensino de Física*, 2015, 35 (1), 1-10. DOI: 10.1590/S1806-11172013000100024.
16. MCGREGOR J A, FRENCH JI, PARKER R, DRAPER D, PATTERSON E, JONES W, MCFEE J. **Prevention of premature birth by screening and treatment for common genital tract infections: results of a prospective controlled evaluation.** *American journal of obstetrics and gynecology*, 1995 173(1), 157-167. DOI: 10.1016/0002-9378(95)90184-1.
17. ÇENGEL YA. **Mecânica dos fluidos: fundamentos e aplicações.** São Paulo: AMGH Editora Ltda. 2015. p.51-52.



**Artigo Original**

**ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DE AR RESPIRÁVEL DE USO HOSPITALAR COM PROPOSTA DE MELHORIA**

**Autor: Roberto da Silva Gusmão<sup>1</sup>, Francisco Sandro Menezes Rodrigues<sup>1</sup>, Denise Freitas<sup>1</sup>, Auro Rodrigues Wolff<sup>2</sup>, Giovani Ribeiro<sup>3</sup>, Raul Diniz Ragazzi<sup>4</sup>, Ogier Santana<sup>5</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Paulo. <sup>2</sup>Milliespress. <sup>3</sup>Donaldson. <sup>4</sup>Ophthalmos. <sup>5</sup>OGS ambiental.

**Informações do artigo**

Palavras Chave:  
Microorganismos transportados pelo ar; Hospital; Qualidade do ar interno, Ar comprimido; Saúde pública; Utilidade pública.

**Article ID**

Keywords:  
Airborne microorganisms; Hospital; Indoor air quality; Compressed air; Public health; Public utility.

**Resumo**

A qualidade do ar respirável (AR) utilizado no manejo de paciente tem sido objeto de interesse em medicina, uma vez que, se não adequada, pode oferecer o risco de doenças de várias etiologias, incluindo as de caráter infeccioso. Os sistemas de produção, armazenamento e distribuição do AR medicinal devem garantir condições seguras de funcionamento para uma efetiva manutenção da saúde. Há normas que regem e definem valores de segurança para o ar respirável medicinal utilizado em centros de atendimento à saúde. O objetivo deste trabalho foi analisar o ar respirável em centro cirúrgico oftalmológico com envolvimento do seu preparo, distribuição e entrega no ponto de uso.

**Abstract**

The quality of breathable air (RA) used in patient management has been a subject of interest in medicine, as if not adequate, it may present the risk of diseases of various etiologies, including infectious ones. Medical RA production, storage and distribution systems must ensure safe operating conditions for effective health maintenance. There are standards governing and setting safety values for medical breathing air used in healthcare facilities. The objective of this study was to analyze breathable air in an ophthalmic operating room with involvement of its preparation, distribution and delivery at the point of use.

<sup>1</sup>Autor correspondente:

Roberto da Silva Gusmão - e-mail: [farmaceutico.gusmao@gmail.com](mailto:farmaceutico.gusmao@gmail.com) - <https://orcid.org/0000.0001.5546.2366>

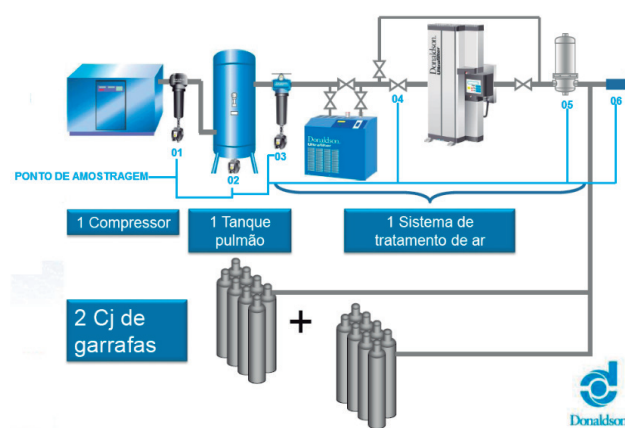
DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.68> - Artigo recebido em: 26 de junho de 2019; aceito em 05 de Julho de 2019; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br). Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



## Introdução

A qualidade do ar respirável (AR) tem sido objeto de interesse em medicina, uma vez que é uma importante ferramenta utilizada em hospitais, centros cirúrgicos e clínicas, não só na ventilação mecânica ou inalação, mas também na exposição geral. Se não adequada, pode aumentar o risco de doenças de várias etiologias, incluindo as de caráter infecciosos. Os sistemas de produção, armazenamento e distribuição do AR devem garantir condições seguras de funcionamento para uma efetiva manutenção da saúde. Estas condições são particularmente importantes quando o foco é o AR de uso hospitalar. O AR de uso hospitalar é produzido por meio da captação do ar ambiente e comprimido por um compressor de ar, após a primeira etapa que é a de captação e compressão o AR passa por processo de filtração e separação de substâncias, secagem, armazenamento e distribuição. Dependendo de como o projeto de instalação, operação e performance acontecer o sistema poderá ou não oferecer riscos. Para tanto, o local onde o compressor e ou sistema de produção estiverem instalados apresentarão altos ou baixos teores de gases ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_2$ ), partículas que transportam contaminantes microbiológicos, ponto de orvalho (capacidade do vapor de água passar para o estado líquido em condições de temperatura e pressão) exacerbado e vapor de água elevado. O mal funcionamento de um sistema de produção e distribuição de AR pode acontecer por vários motivos, dentre os motivos a falta de limpeza e manutenção preventiva programada na linha de distribuição, ausência troca de filtros dentro do prazo estabelecido pelo fabricante e qualificações periódicas de funcionamento no que se refere a teste físico-químicos e microbiológicos. Quanto às qualificações de performance, essas devem acontecer concomitantemente com as verificações tanto dos pontos de uso como de pontos de amostragem definidos pela empresa qualificadora do sistema. Isso deve ser feito para entender como o sistema de maneira global está se comportando e quais os possíveis desvios que o sistema apresenta na qualidade do ar respirável entregue no ponto de uso. Pensando em qualificação devemos levar em consideração também alguns pontos que são primordiais para o mapeamento físico-químico e microbiológico de um sistema de produção de AR. Sendo assim, podemos elencar 6 pontos de amostragem: 1. após a geração de ar comprimido; 2. no pulmão de

armazenamento; 3. após o pulmão de armazenamento de ar; 4. após a secagem do ar; 5. após o banco de filtros; 6. no ponto de uso. Esses são alguns dos pontos de configuração importante quando se pensa em qualificação de um sistema de geração de ar respirável. Vale lembrar que nem todos os sistemas de geração de ar respirável possuem os mesmos itens apresentados na **figura 01**. No entanto, o princípio geral se resume basicamente nos pontos definidos pela OGS Ambiental, empresa que realiza qualificação de sistema de geração e distribuição de ar respirável comprimido.



Fonte: Donaldson - <https://ir.donaldson.com>

Com base nos valores estabelecidos nas normas descritas acima, foi proposto neste estudo a coleta de amostras de AR em três diferentes pontos do departamento de oftalmologia e ciências visuais sediado na Universidade Federal de São Paulo. Os pontos escolhidos foram: 1. Abrigo de gases; 2. Centro cirúrgico oftalmol.; 3. Casa de máquinas.

## Material e Método

Analisou-se parâmetros físico-químicos, microbiológicos e de contagem de partículas no sistema de produção de ar respirável que envolve o Centro Cirúrgico Ambulatorial (CCOFTALMO) do Departamento de Oftalmologia e Ciências Visuais da Escola Paulista de Medicina, Hospital São Paulo, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

Para a análise físico-química e de contagem de partículas este estudo teve apoio das empresas: Millieuxpress Ind. Com. e Representações Ltda. (R. Bela Aliança, 75 - Vila Leopoldina, São Paulo - SP, 05088-030) e Donaldson do Brasil (Rod Dom Pedro I, S/N Km 93,6 - Emp. Zimba D. Pedro, CEP: 13.252-

800, – Sítio da Moenda Itatiba / SP – Brasil). Para a avaliação microbiológica contou-se com o apoio da empresa OGS Ambiental Ltda. (Rua Conde Prates, 805 - Parque da Mooca, São Paulo - SP, 03122-000), líderes comerciais no assunto.

Para os testes físico-químicos utilizou-se conectores com engate rápido marca FESTO 6mm e 8mm (Festo Brasil, R. Giuseppe Cresppi, 76 – Jd. Santa Emília, São Paulo, S.P.) e o aparelho Dew Point Meter, modelo DDM, (Donaldson do Brasil, Rodovia Dom Pedro I, S/N Km 93.6, Itatiba, S.P.) para avaliar o controle de ponto de orvalho (obtido no momento da amostragem logo após a coleta), umidade e temperatura da linha de distribuição de ar respirável. Como o sistema possui um banco de filtros para garantir a qualidade do ar respirável utilizado no local, foi proposta a coleta de ar no ponto de uso com e sem filtração terminal.

Para a contagem de partículas não viáveis utilizou-se o sistema contador de partículas Lasair III (Particle Measuring Systems Inc., 5475 Airport Blvd, Boulder, CO 80301, EUA).

Para os testes microbiológicos pesquisou-se a presença de bactérias e fungos utilizando o Amostrador de Ar Microbiológico Remoto MiniCapt® (Particle Measuring Systems Inc., 5475 Airport Blvd, Boulder, CO 80301, EUA), realizando-se a sedimentação de partículas amostradas em Agar Triptona de Soja (TSA), para cultivo de bactérias, e Agar Sabouraud para o cultivo de fungos. As amostras foram incubadas em estufas a 22,5°C +/- 2,5°C para estimulação de crescimento de fungos e 32,5°C +/- 2,5°C para estimulação de crescimento de bactérias. No caso das amostras para identificação de fungos as amostras ficaram incubadas durante 07 dias corridos a partir do dia da amostragem e as amostras para identificação de bactérias ficaram incubadas durante 03 dias.

Nos três pontos foram colhidos: 1. Abrigo de gases: realizadas contagens de partículas viáveis e não viáveis; 2. Centro cirúrgico oftalmol.: realizados testes físico-químicos, contagens de partículas viáveis e não viáveis e testes microbiológicos; 3. Casa de máquinas: realizados testes físico-químicos e contagens de partículas viáveis e não viáveis.

O filtro e a carcaça utilizada no estudo foram cedidos pela empresa Donaldson® do Brasil em parceria com a empresa MilliExpress. O aparato de teste foi utilizado no estudo esteve em caráter de empréstimo que serviu para mapear os desvios apresentados no sistema de geração de AR.

As coletas e contagens de partículas viáveis e não viáveis foram realizadas pela empresa OGS Ambiental que gerou um relatório técnico do estudo realizado no sistema de AR. As amostras microbiológicas foram incubadas no laboratório da mesma empresa durante o período de incubação tanto para fungos (7 dias de incubação) como para bactérias (3 dias de incubação).

## Resultados

Em todos os pontos avaliados os parâmetros físico-químicos e de contagem de partículas não viáveis estavam dentro dos padrões de normalidade. Notou-se crescimento de 03 UFC/cm<sup>3</sup> de bactérias e de 08 UFC/cm<sup>3</sup> de bolores e leveduras no ponto de abrigo de gases. Crescimento de bactérias (1 UFC/m<sup>3</sup>) no ponto centro cirúrgico oftalmológico, quando não se utilizou o filtro de proteção terminal, não havendo qualquer crescimento após a utilização do filtro. No que se refere à contagem de partículas não viáveis a quantidade de partículas contadas foi igual entre a amostra feita com o filtro terminal e sem o filtro terminal. Observou-se a presença de crescimento bacteriano de 01 UFC/cm<sup>3</sup> no teste realizado sem o filtro terminal no momento da amostragem, resultados demonstrados na **Tabela 1**.

## Considerações / intervenções

Considerando o crescimento de 3 UFC/cm<sup>3</sup> colônias de bactérias e 8 UFC/cm<sup>3</sup> colônias de fungos na sala de abrigo de gases, e de 1 UFC/cm<sup>3</sup> colônia de bactérias e nenhuma colônia para fungos no ponto denominado centro cirúrgico oftalmológico, após passar por todas as fases de tratamento do AR, sugere-se que as bactérias estão rompendo a barreira feita pelos estágios de filtração ou no momento das instalações das tubulações, algumas decisões de montagem podem ter sido feita de forma inadequadamente não seguindo padrões de qualidade na montagem de sistemas de tratamento de ar respirável.

Com base na presença de 1 UFC/cm<sup>3</sup> presente na linha de AR foi proposta de maneira preventiva a instalação de filtros terminais cuja malha deve ser de 0,22µm para servir de barreira microbiológica e entregar o AR isento de qualquer possibilidade de contaminação.

Tabela 1.

Parâmetros avaliados		Abrigo de gases	Centro cirúrgico oftalmológico	Casa de máquinas	Critérios
		Resultados	Resultados	Resultados	
Contagem de partículas não viáveis	0,5 mm	281.252 part/m <sup>3</sup>	241.447 part/m <sup>3</sup>	490.788 part/m <sup>3</sup>	3.520.000 part/m <sup>3</sup>
	5,0 mm	4.657 part/m <sup>3</sup>	2.503 part/m <sup>3</sup>	926 part/m <sup>3</sup>	29.000 part/m <sup>3</sup>
Testes microbiológicos (sem filtro)	Bactérias	3 UFC/ m <sup>3</sup>	1 UFC/ m <sup>3</sup>	NA	0 UFC/ m <sup>3</sup>
	Fungos	8 UFC/ m <sup>3</sup>	0 UFC/ m <sup>3</sup>	NA	0 UFC/ m <sup>3</sup>
Testes microbiológicos (com filtro)	Bactérias	0 UFC/ m <sup>3</sup>	0 UFC/ m <sup>3</sup>	NA	0 UFC/ m <sup>3</sup>
	Fungos	0 UFC/ m <sup>3</sup>	0 UFC/ m <sup>3</sup>	NA	0 UFC/ m <sup>3</sup>
Teor de óleo		NA	(-)	0,08 mg/m <sup>3</sup>	< 0,1 mg/m <sup>3</sup>
Teor de oxigênio		NA	21,3%	20,6%	19,5% ≤ O <sub>2</sub> ≤ 23,5%
Teor de monóxido de carbono		NA	< 5 ppm	< 5 ppm	≤ 5 ppm
Teor de dióxido de carbono		NA	89 ppm	87 ppm	≤ 500 ppm

Tabela 1. resultados dos pontos do AR avaliados quanto aos parâmetros físico-químicos, de contagem de partículas viáveis e não viáveis Centro cirúrgico oftalmologia; **part**, partículas; **UFC**, unidades formadoras de colônias; **NA**, não avaliado - local impróprio para essa análise; **ppm**, partes por milhão.

Tabela 2.

Testes realizados	Padrões estabelecidos em norma	Abrigo de gases	Casa de máquinas	Centro cirúrgico oftalmológico
Dew Point	- 45,5 DP	- 77,6 DP	- 76,6 DP	- 77,8 DP
Temperatura °C	-----	20.5°C	20.2°C	22.1°C
Umidade U%	-----	0,0%	0,0%	0,0%

Tabela 2. amostras e locais de amostragem realizados no dia da coleta.

Outra medida preventiva para a eliminação dos desvios de qualidade do AR é a realização da limpeza da linha e troca periódica do banco de filtros que compõem o sistema. Ainda não é mandatório para hospitais, clínicas e centros cirúrgicos mais se trata de uma medida preventiva realizar o teste de integridade de filtros periodicamente para se saber se a pressão da linha não rompeu a malha do filtro durante o período de uso. O rompimento da malha do filtro favorece a transferência de microrganismos e sujidades para o lado mais limpo da linha.

O ponto de orvalho coletado tanto no abrigo de gases como no centro cirúrgico oftalmológico apresentou resultados dentro do estabelecidos em normas. Foram verificados nesses pontos umidade, temperatura e ponto de orvalho, dados demonstrados na tabela 2.

## Conclusão

Pode se concluir que os pontos abrigo de gases e centro cirúrgico oftalmológico, por apresentarem crescimento microbiológicos, mesmo que em conformidades com a normas atuais de qualidade, merecem uma atenção especial. A distância entre o local de produção do ar respirável e o local de uso, por não existem pontos de drenagem e limpeza na linha de distribuição geram bolsões de água que podem favorecer a contaminação da linha. Sugere-se a instalação de filtros terminais de 0,22µm nos pontos de uso do AR terminalmente para a retenção em massa de possíveis microrganismos. Torna se importante realizar amostragens de ar no ponto de produção, distribuição e entrega do ar respirável periodicamente para se evitar a contaminação e monitorar as condições de

funcionamento do sistema utilizado. É importante que a comunidade oftalmológica em geral se inteire do assunto e passe a questionar o sistema que utiliza no cuidado de seus pacientes.

### Referências utilizadas como base

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12.188: Sistemas centralizados de oxigênio, ar, óxido nitroso e vácuo para uso medicinal em estabelecimentos assistenciais de saúde: elaboração. Rio de Janeiro, 2003. 25p.

2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 15.543: Equipamento de proteção respiratória: elaboração. Rio de Janeiro, 1999. 45p.

3. BIER, O. G. Microbiologia e Imunologia. 3. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1984.

4. GHANIZADEH, F. and H. GODINI, A review of the chemical and biological pollutants in indoor air hospitals and assessing their effects on the health of patients, staff and visitors. Ver Environ Helth, 2018. 33 (3): p. 231-245.

5. INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. ISO 8573-1: Contaminants and purity classes: elaboração. Geneva, 2010. 16p.

6. INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. ISO 8573-2: Test methods for oil aerosol content: elaboração. Geneva, 2007. 30p.

7. LACAZ, C. da S., PORTO, E., HENS-VACCARI, E. M. and MELO, N. T. Guia para identificação de fungos actinomicetos e algas de interesse medico, 8ª., ed. Sarvier, São Paulo, 1998.

8. N.F.P.A., Standard on gas and vacuum systems, in NFPA 99C, NFPA. Editor, 2005: USA.

9. ODONTO-MÉDICO-HOSPITALAR, C. Sistemas centralizados de suprimento de gases medicinais, de gases para dispositivos médicos e de vácuo para uso em serviços de saúde, A.A.B.D.N. Técnicas, Editor, 2016.

10. ODONTO-MÉDICO-HOSPITALAR, C.B., Sistemas centralizados de oxigênio, ar, óxido nitroso e vácuo para uso medicinal em estabelecimentos assistenciais de saúde, in NBR 12.188, A.A.B.D.N. Técnicas, Editor, 2003: Rio de Janeiro.

11. PELCZAR Jr., M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. Microbiologia: conceitos e aplicações. V. 2. São Paulo: Makron Books, 1997.

12. SMIELOWSK, M., M. MARC, and B. ZABIEGALA, Indoor air quality in public utility environ-

ments a review. Environ Sci Pollut Res Int, 2017. 24 (12): p. 11176.

13. TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. de. Microbiologia. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1996. 99.

## Artigo Original

# DESENVOLVIMENTO DE UMA EMULSÃO O/A ASSOCIADA AO ÓLEO ESSENCIAL DE GERÂNIO (*PELARGONIUM GRAVEOLENS*) E AO ÓLEO ESSENCIAL DE PALMAROSA (*CYMBOPOGON MARTINII*)

**Autor: Silvana de Oliveira<sup>1</sup>, Dra. Carla Aparecida Pedriali Moraes<sup>2</sup>,**

<sup>1</sup>Tecnóloga em Cosméticos pela Faculdade de Tecnologia de Diadema SP. E-mail: [silvanaoliveira.cientifique@gmail.com](mailto:silvanaoliveira.cientifique@gmail.com); <sup>2</sup>Farmacêutica Bioquímica, Doutora em Fármaco e Medicamentos na área de Produção e Controle Farmacêuticos (Cosméticos) da Universidade de São Paulo. E-mail: [capedriali@hotmail.com](mailto:capedriali@hotmail.com).

## Informações do artigo

Palavras Chave:

*Pelargonium graveolens*,  
*Cymbopogon martinii*,  
autoemulsionante teste de  
estabilidade.

## Resumo

Os óleos essenciais são metabólitos secundários das plantas, por meio do seu odor tem a capacidade de repelir animais predadores ou atrair insetos polinizadores. Em função de sua composição química, é muito utilizado na indústria farmacêutica e indústria alimentícia por sua capacidade antioxidante, antibacteriana e antifúngica, na indústria de cosméticos por sua fragrância no desenvolvimento de perfumes. O dinâmico mercado de cosméticos exige o desenvolvimento de novos produtos, mas deve ser rápido e seguro. E quanto ao aspecto da segurança é crescente o interesse por produtos naturais, pois oferecem uma proposta de sinergia entre o vegetal e o cuidado com a pele. Os óleos essenciais de gerânio (*Pelargonium graveolens*) e de palmarosa (*Cymbopogon martinii*), são reconhecidos por suas atividades antioxidantes, tal benefício é empregado em cosméticos dos mais variados tipos de finalidades, desde hidratantes a filtros solares. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma emulsão O/A associada ao óleo essencial de gerânio (*Pelargonium graveolens*) e ao óleo essencial de palmarosa (*Cymbopogon martinii*). Foram desenvolvidas quatro formulações e submetidas à avaliação preliminar da estabilidade e aos testes de estabilidade acelerada. Os resultados obtidos num período de 30 dias, foram que todas as formulações permaneceram dentro dos critérios dos valores de pH e das características organolépticas. As formulações desenvolvidas apresentaram características físico-químicas satisfatórias de acordo com as determinações exigidas para regulamentação de produtos cosméticos.

<sup>1</sup>Autor correspondente:

Carla Aparecida Pedriali Moraes - E-mail: [capedriali@hotmail.com](mailto:capedriali@hotmail.com) – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8755-393X>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.64> - Artigo recebido em: 18 de junho de 2019 ; aceito em 09 de Julho de 2019; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br). Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



## Article ID

### Keywords:

*Pelargonium graveolens*,  
*Cymbopogon martinii*,  
self-emulsifying, stability  
test.

## Abstract

Essential oils are secondary metabolites of plants, through their odor has the ability to repel predatory animals or attract pollinating insects. Due to its chemical composition, it is widely used in the pharmaceutical industry and food industry for its antioxidant, antibacterial and antifungal properties, in the cosmetics industry for its fragrance in the development of perfumes. The dynamic cosmetics market requires the development of new products, but must be fast and safe. And as for the safety aspect, there is a growing interest in natural products, since they offer a proposal of synergy between vegetable and skin care. Essential oils of geranium (*Pelargonium graveolens*) and palmarosa (*Cymbopogon martinii*), are recognized for their antioxidant activities, such benefit is used in cosmetics of a variety of purposes, from moisturizers to sunscreens. The objective of this work was to develop an O / O emulsion associated with geranium essential oil (*Pelargonium graveolens*) and essential oil of palmarosa (*Cymbopogon martinii*). Four formulations were developed and subjected to preliminary stability assessment and accelerated stability tests. The results obtained over a period of 30 days were that all formulations remained within the criteria of pH values and organoleptic characteristics. The developed formulations presented satisfactory physico-chemical characteristics in accordance with the determinations required for the regulation of cosmetic products.

## Introdução

No Brasil o uso de cosmético faz parte dos itens de primeira necessidade, os quais de forma ampla engloba os produtos de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos. Existem muitos cosméticos classificados como emulsões, são muito empregadas na indústria cosmética por conta da estabilidade que elas proporcionam, utilizadas por possuírem grande aplicabilidade, versatilidade e comumente seu aspecto e toque final, em uma preparação tópica, agradam ao consumidor (ISAAC et al., 2008). Os emulsionantes são moléculas de características anfífilas que se aderem na interface entre a fase dispersa e a dispersante ocorrendo o processo de emulsificação, promovendo maior afinidade permitindo formar uma emulsão estável, (ANDRADE, 2014).

A pele é um órgão que está diretamente exposto ao meio externo, conseqüentemente sofre danos oxidativos promovidos pela exposição radiação UV, responsáveis por induzir a formação de radicais livres, causando o foto envelhecimento e inclusive, o câncer de pele (GOMES; DAMAZIO, 2013). Os radicais livres promovem danos nas membranas celulares através da peroxidação lipídica, para combater os efeitos

nocivos dos radicais livres existe um sistema antioxidante que pode ser endógeno ou exógeno. Em se tratando de sistema antioxidante endógeno, ele pode ser enzimático ou não enzimático. Quanto ao sistema antioxidante exógeno, são normalmente adquiridos pela dieta, entre eles as vitaminas, os carotenoides e substâncias fenólicas derivadas de plantas (GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICOLO, 2017).

Os óleos essenciais são substâncias aromáticas voláteis, estão presentes em plantas aromáticas e medicinais, além de serem responsáveis pela fragrância dessas plantas, têm a função de repelir insetos e animais, atrair polinizadores e protege contra fungos e bactérias. No homem os óleos essenciais são utilizados por sua ação emocional, mental e fisiológica. Na indústria farmacêutica e alimentícia, são utilizados por sua atuação antifúngica e antibacteriana, já na indústria cosmética além desses atributos, os óleos essenciais são utilizados pela fragrância (LUPE, 2007).

Do ponto de vista estético, à medida que o consumidor vai se tornando mais informado os interesses por produtos naturais vão crescendo e de acordo com análise do *Euromonitor International*, os produtos que afirmam ser naturais ou orgânicos são um dos principais impulsionadores do dinamismo do mercado de cosmé-

ticos (EUROMONITOR, 2007). Do ponto de vista mercadológico, a utilização de ativos naturais, como extratos vegetais e óleos essenciais, em produtos cosméticos, têm se tornado alvo de grande interesse dos fabricantes e consumidores, pois remetem ao consumidor o conceito de natural e sem contraindicações. Portanto, estudos envolvendo a incorporação de ativos naturais e a avaliação da preparação cosmética fundamentado na eficácia e a qualidade do produto acabado, são importantes para comunidade, sobretudo por valorizar as riquezas naturais e atender uma tendência mundial (ISAAC et al., 2008). Logo o desenvolvimento de um produto cosmético elaborado com óleos essenciais, é excelente alternativa para atender esse nicho atual de mercado e vale também salientar além dos benefícios das substâncias químicas contidas nos óleos essenciais, seu aroma natural dispensa o uso de fragrâncias sintéticas que muitas vezes são causadores de reações alérgicas.

## Material e Método

### Formulações

Para o estudo em questão desenvolveu-se um projeto de formulação baseado na elaboração de uma emulsão óleo em água, apresentado na **Tabela 1**, utilizando um sistema autoemulsionante, o copolímero de acrilatos de sódio e lecitina. Além do sistema emulsionante, foi utilizado um umectante que tem o papel de reter a água evitando a quebra da emulsão, um agente quelante que tem a função de sequestrar metais e com isso aumenta a eficácia do conservante antimicrobiano, também presente nessa emulsão. Devido a presença de óleos nessa emulsão, foi utilizado um antioxidante que além de evitar a oxidação, também auxilia o sistema conservante frente bactérias gram-positivas e fungos (CORRÊA, 2012).

Segundo Amaral (2015) é necessário 500 kg de planta fresca para a extração 1kg de óleo essencial de gerânio, e trata-se de um óleo delicado e de alto valor agregado. Concentração usual varia de 0,5 a 1%. Portanto, para o desenvolvimento das formulações foi estabelecido pelo formulador a concentração de 1%.

FORMULAÇÕES					
Componentes	INCI Name	A	B	C	D
<b>Fase 1</b>			<b>% p/p</b>		
Água destilada qsp	Água	100,0	100,0	100,0	100,0
Glicerina	Glycerin	2,0	2,0	2,0	2,0
EDTA Dissódico	Disodium EDTA	0,1	0,1	0,1	0,1
Fenoxietanol	Phenoxyethanol	0,15	0,15	0,15	0,15
Lecigel™	Sodium Acrylates Copolymer (and) Lecithin	1,0	1,0	1,0	1,0
<b>Fase 2</b>					
Óleo Mineral	Mineral oil	2,0	2,0	2,0	2,0
Butil hidroxitolueno	BHT	0,15	0,15	0,15	0,15
Óleo Essencial Palmarosa	Cymbopogon martinii oil	-	1,0	-	1,0
Óleo Essencial de Gerânio	Pelargonium graveolens oil	-	-	1,0	1,0
<b>Fase 3</b>					
NaOH2 qsp. pH	Sodium hydroxide 18%	6,0 - 6,5	6,0 - 6,5	6,0 - 6,5	6,0 - 6,5

**Tabela 1.** Descrição qualitativa e quantitativa das formulações auto emulsionante cosméticas utilizadas no processo de desenvolvimento de 4 formulações: emulsão O/A base sem adição de ativos (A), emulsão O/A base + óleo essencial de palmarosa (B) emulsão O/A base + óleo essencial de gerânio (C) emulsão O/A base + óleo essencial de gerânio + óleo essencial de palmarosa (D). Fase 1 – corresponde a fase aquosa; Fase 2 – corresponde a fase oleosa; Fase 3 – corresponde a correção do pH.



## Preparo

1. Separou-se as matérias-primas da Fase 1 (Fase Aquosa) e Fase 2 (Fase Oleosa) para as 4 formulações. A **Formulação (A)** foi a base sem ativos; a **Formulação (B)** continha o óleo Essencial de Palmarosa da marca WNF; a **Formulação (C)** continha o Óleo Essencial de Gerânio da marca WNF e a **Formulação (D)** é **associação do** Óleo Essencial de Palmarosa e do Óleo Essencial de Gerânio. Em todas as formulações houve o acerto de pH com, quando necessário, conforme descrito na Fase 3 com hidróxido de sódio 18% - Fatec;

2. Pesou-se em balança analítica - Q500B210C QUIMIS todas as matérias-primas de Fase 1 aquosa (água, glicerina - Farmax, EDTA dissódico - Mapric, fenoxietanol - Fatec e Lecigel™ - AQIA) individualmente, utilizando vidros de relógio;

3. Pesou-se em balança analítica - Q500B210C QUIMIS todas as matérias-primas de Fase 2 oleosa (óleo de mineral - Nativita) para **Formulação (A)**, para a **Formulação (B)** pesou-se o óleo mineral juntamente com o Óleo Essencial de Palmarosa afim de evitar a volatilização, **Formulação (C)** pesou-se o óleo mineral juntamente com o Óleo Essencial de Gerânio para evitar a volatilização e **Formulação (D)** pesou-se o óleo mineral juntamente com o Óleo Essencial de Palmarosa e o Óleo Essencial de Gerânio a fim de evitar a volatilização, utilizando o vidro de relógio previamente higienizados;

4. Em um béquer de polipropileno de 600ml - Nalgon, adicionou-se as matérias-primas de Fase 1 aquosa (água, glicerina, EDTA dissódico, fenoxietanol) e levou-se ao Agitador elétrico - Q250M2 QUIMIS para agitação constante acima de 1200rpm, verteu-se aos poucos o Lecigel™.

5. Em agitação constante de cerca 1200rpm, verteu-se a Fase 2 oleosa sobre a Fase 1 aquosa mantendo a agitação até a formação da emulsão;

6. Após a emulsão pronta, utilizou-se o pHmetro - Q400AS QUIMIS para verificação do pH;

7. Utilizado quando necessário, o hidróxido de sódio para elevar o pH até 6,5;

8. Armazenou-se a emulsão em béquer de vidro 600ml - Uniglas, fechou-se com filme osmótico e reservou-se para futura análise de estabilidade.

## Sistema Auto emulsionado Cosmético

Lecigel™ é um agente gelificante com propriedades de base autoemulsionante e que possui propriedades capazes de promover o aumento da viscosidade e a estabilidade das formulações (STOUT; MURPHY, 2017). É compatível com a maioria dos emulsionantes e é estável em uma ampla faixa de pH. Especialmente adaptado para a formulação de gel-cremes, proporciona o típico “toque de fosfolipídeos” caracterizado por proporcionar uma sensação de pele sedosa, macia e não gordurosa (STOUT; MURPHY, 2017).

Segundo CORTE (2006), emulsões que contêm lecitina como agente emulsionante pode apresentar em sua estrutura cristais líquidos. O estudo do sistema emulsionante com vistas ao desenvolvimento de um produto cosmético oferece maior garantia da qualidade e de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2004), as características organolépticas determinam os parâmetros de aceitação do produto pelo consumidor, a medida que esta análise permite identificar que as possíveis alterações que possam ocorrer no produto não irão interferir na percepção e garantir que não ocorra perda da qualidade e benefícios do produto (MORAES, 2012).

## Avaliação Preliminar da Estabilidade

Após a preparação das formulações, elaboradas segundo as descrições quali e quantitativas registradas na Tabela 3 e seguindo as recomendações da ANVISA (2004), que deve aguardar um período de repouso de 24h do preparo, as formulações foram submetidas à avaliação preliminar da estabilidade, empregando os testes do estresse térmico, da centrifugação e o teste de ciclos congelamento e descongelamento.

### Teste de ciclos congelamento e descongelamento

Foram pesados, em balança analítica - Q500B210C da marca QUIMIS, cerca 20,000g de cada formulação que foram submetidos a seis ciclos de congelamento e descongelamento, durante 12 dias, nas temperaturas ( $-4 \pm 2$  °C) e ( $40 \pm 2$  °C).

### Teste do estresse térmico

Cerca de 5g das formulações foram pesadas e transferidas para tubos de ensaio. As amostras foram submetidas ao estresse térmico em Banho Maria de Bocas Microprocessado Q334M-28 QUIMIS, nos

intervalos de temperatura 40°C, 50°C e 60°C com progressão de elevação da temperatura a cada 30 minutos, sendo as formulações avaliadas macroscopicamente a cada intervalo de temperatura. Este teste foi aplicado em 24 horas, 7 dias e 15 dias.

### Teste de centrifugação

Foram pesadas cerca de 5g de cada formulação e transferidas para um tubo de centrífuga. As amostras foram submetidas ao teste de centrifugação em Centrífuga – Q222T1 QUIMIS na velocidade de rotação de 3000rpm durante 30 minutos. Este teste foi aplicado em 24 horas, 7 dias e 15 dias.

Após os Testes de Ciclos, Testes de Estresse Térmico e Testes da Centrifugação, as formulações foram analisadas macroscopicamente quanto ao aspecto, cor e odor.

### Testes de Estabilidade Acelerada

Através da avaliação preliminar da estabilidade foi possível determinar as formulações adequadas a serem conduzidas na aplicação do Teste de Estabilidade Acelerada, após 24 horas ( $t_0$ ) do repouso que determina o ciclo da emulsão, foram pesados 3g das formulações-testes, acondicionadas em um pote de plástico leitoso com 5,50 cm de diâmetro e 1,50 cm de altura e capacidade média de 15g (MORAES, 2012).

Foram produzidas um total de 96 amostras, as quais 24 foram submetidas ao ambiente, 24 ao aquecimento em estufas, no resfriamento 24 foram submetidas em freezer e 24 na geladeira nos períodos de 7 dias ( $t_7$ ), 15 dias ( $t_{15}$ ) e 30 dias ( $t_{30}$ ). Abaixo os valores de temperaturas adotados:

- Ambiente ao abrigo da luz e umidade  $22,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$  ==> durante 30 dias (análise no 7º, 15º e 30º dias);

- Freezer em Refrigerador Consul 2 Portas CRM51 Frost Free - 405 Litros -  $18,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  ==> durante 30 dias (análise no 7º, 15º e 30º dias);

- Geladeira em Refrigerador Consul 2 Portas CRM51 Frost Free - 405 Litros -  $4,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  ==> durante 30 dias (análise no 7º, 15º e 30º dias);

- Estufa – Q316M5 QUIMIS -  $40,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  ==> durante 30 dias (análise no 7º, 15º e 30º dias).

Nos intervalos que compreendem os períodos ( $t_7$ ,  $t_{15}$ ,  $t_{30}$ ) de aplicação dos testes, foram avaliados o aspecto, cor, odor de cada amostra e o pH. Para ava-

liação do pH, após a calibração do pHmetro Q400AS da marca QUIMIS com solução padrão (pH 7 e pH 4), foi preparada a dispersão a 10% p/v da formulação em água recém destilada, homogeneizada e analisado o valor de pH, à temperatura ambiente ( $22,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ ), sendo esse processo realizado com cada uma das amostras em duplicata de A, B, C e D.

### Crítérios para aprovação da avaliação da estabilidade

Os parâmetros avaliados e definidos pelo formulador estabelecido pela dependência das características do produto, compatibilidade dos ingredientes utilizados nas formulações, englobam condições físico-químicas e físicas, determinados através das análises realizadas à temperatura ambiente ( $22,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ ) e conferido as características organolépticas, sendo eles o aspecto, cor, odor e valor de pH, tendo como critérios adotados para a aprovação ou rejeição das amostras avaliadas, conforme determinação da AN-VISA (2004):

- **Aspecto:** Normal (N) quando não houver alteração do aspecto inicial e levemente modificado (LM). É aceito o aspecto levemente alterado em temperaturas extremas como o frio e calor.

- **Cor e odor:** normais (N) durante o armazenamento à temperatura ambiente e leves modificações (LM) foram aceitas em temperaturas elevadas;

- **Valor de pH:** a aceitação da variação foi de  $\pm 5\%$ , comparadas com o valor inicial em todas as condições de armazenamento.

A determinação do pH oferece parâmetros importantes no desenvolvimento de um produto ao ponto que avalia alterações estruturais da formulação, como possíveis alterações químicas, onde o decréscimo dos valores pode sinalizar oxidação da fase oleosa ou, até mesmo precipitação de princípios ativos (MASMOUDI et al, 2005). A variação aceitável dos valores de pH que se enquadra no limite de aceitação para o parâmetro de pH é na faixa de  $\pm 5\%$ .

### Resultado

Para o desenvolvimento das formulações realizado neste estudo utilizou-se o Óleo Essencial de Palmarosa e o Óleo essencial de Gerânio, ambos fornecidos pela empresa WNF *Essential Oils*. Conforme dados fornecidos pela empresa no início do desenvol-

vimento: o nome INCI (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients) referente ao Óleo Essencial de Palmarosa foi o *Cymbopogon martinii oil* e ao Óleo Essencial de Gerânio foi o *Geranium macrorrhizum herb oil*.

No decorrer do estudo a empresa comunicou que devido aos estudos realizados por avaliação botânica o Óleo Essencial de Gerânio fornecido era do Óleo Essencial de *Pelargonium graveolens*.

Os resultados da análise química realizados por cromatografia gasosa do Óleo Essencial de *Pelargo-*

*nium graveolens* foram apresentados na **Tabela 2**. Pode-se observar que o óleo essencial de *Pelargonium graveolens* contém como substâncias majoritárias o Geraniol (33,98%), Linalool (11,95%), Citronellol (11,61%) e iso Menthone (7,54%). Além disso, encontra-se presente, em quantidades visíveis o 2,6 - Guaia diene, Ácido Decanóico, o g-Eudesmol, o a-Terpineol e o Geranyl tiglate. Outros componentes do óleo testado estavam presentes em pequenas quantidades inferiores a 1%. No total foram identificados 110 compostos que representam 92,92% do peso total do óleo.

**Tabela 2 - Análise do óleo essencial de gerânio - *Pelargonium graveolens* do Brasil.**

Pico	T-R	área	Substância
#	[min]	%	
8	1.289	0,05307	a-Pinene
13	1.505	0,22767	Geranium oxide
16	1.697	0,23581	Myrcene
17	1.728	0,43354	a-Phellandrene
18	1.794	0,01988	a-Terpinene
21	1.903	0,23455	Limonene
22	1.956	0,24092	cis-Ocomene
23	2.083	0,27694	trans-Ocimene
25	2.204	0,37112	p-Cymene
26	2.347	0,1141	Terpinolene
29	2.721	0,03685	cis-3-Hexenyl acetate
34	3.437	0,06451	Rose oxide
35	3.517	0,02803	cis-3-Hexenol
38	4.326	0,03748	Linalool oxide
39	4.785	0,27813	Menthone
41	5.1	0,03358	Citronellal
42	5.306	7,53823	iso Menthone
43	5.379	0,3834	a-Copaene
46	5.865	0,37825	b-Bourbonene
48	6.689	11,94693	Linalool
51	7.367	0,74979	b-Caryophyllene + a-Guaiene
52	7.898	4,63034	2,6-Guaiadiene
54	8.315	0,33148	g-Cadinene
55	8.586	0,12793	Menthol
59	9.53	0,30056	a-Citral
63	10.389	1,14737	a-Terpineol
64	10.429	0,93695	Germacrene D
66	11.067	0,49315	Bicyclgermacrene
69	11.904	0,673	b-Citral

70	12.268	0,4572	Geranyl acetate
71	12.83	11,61494	Citronellol
72	13.493	0,44474	Nerol
73	13.959	0,15548	Citronellyl butyrate
74	14.335	0,4873	Geranyl propionate
75	14.449	0,94927	Geranyl iso butyrate
76	15.485	33,97688	Geraniol
79	16.598	0,81319	Geranyl butyrate
88	20.919	0,12926	Nerolidol
89	21.323	0,73225	Geranyl caproate
90	21.617	0,05999	Cubanol
92	22.136	2,70483	g-Eudesmol
96	23.28	2,45239	Geranyl tiglate
101	25.08	0,78872	Phenyl ethyl tiglate
105	26.21	0,06241	Valerianol
106	26.317	0,07872	b-Eudesmol
108	27.718	0,59818	Citronellic acid
110	28.082	3,96263	Decanoic acid

**Fonte:** material fornecido pela WNF *Essential Oil*. **Legenda:** (T-R) Tempo de retenção em minutos [min]. Área % expressa as concentrações das substâncias do analito.

### Análise da Estabilidade Preliminar

As formulações desenvolvidas apresentaram características adequadas quanto ao estudo de estabilidade preliminar. Na **Figura 1**, a **imagem A** registra a aparência das amostras no início da aplicação do banho-maria, sendo estabelecida como o padrão, o qual possibilita comparar o resultado obtido na **imagem B** da **Figura 1** referente ao final do teste de banho-maria. Quanto ao aspecto, cor e odor, consideraram-se aprovadas as amostras submetidas ao estresse térmico. No ensaio da centrifugação, verificou-se que

a partir do padrão estabelecido representado na **imagem A** em comparação com a **imagem B** (**Figura 2**) foi possível observar que não houve a ocorrência de modificações macroscópicas. A síntese dos resultados está na **Tabela 3**.

A **figura 1** demonstra o registro de fotos da Formulação A (1), da Formulação B (2), da Formulação C (3) e Formulação D (4) divididas em **Imagem A** (tempo 0 do ensaio de estresse térmico por banho-maria) e **Imagem B** (tempo final do ensaio de estresse térmico por banho-maria)

**Figura 1.**



**Figura 1.** - formulação base sem óleo essencial; 2 - formulação com adição de óleo essencial de Palmarosa; 3 - formulação com adição de óleo essencial de Gerânio; 4 - formulação com adição de óleo de essencial de Gerânio + óleo essencial de Palmarosa.

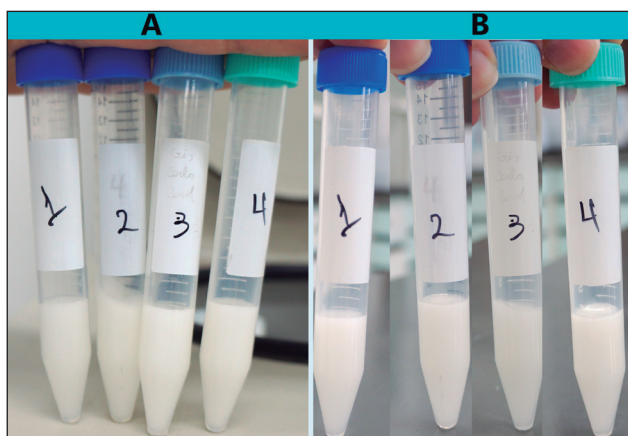


**Tabela 3** - Resultados do Estudo de Estabilidade Preliminar da Formulação A (FA), da Formulação B (FB), da Formulação C (FC) e Formulação D (FD).

Método	FA	FB	FC	FD
B/M	N	N	N	N
C	N	N	N	N
Ciclos	N	N	N	N

**Legenda:** FA – formulação base sem óleo essencial; FB - formulação com adição de óleo essencial de Palmarosa; FC - formulação com adição de óleo essencial de Gerânio; FD - formulação com adição de óleo de essencial de Gerânio + óleo essencial de Palmarosa; B/M: Banho-Maria; C: Centrifuga; N: Normal.

A **Figura 2** mostra o registro de fotos da Formulação A (1), da Formulação B (2), da Formulação C (3) e Formulação D (4) divididas em **Imagem A** (tempo 0 do ensaio de estresse por centrifugação) e **Imagem B** (tempo final do ensaio de estresse por centrifugação)



**Figura 2:** 1 - formulação base sem óleo essencial; 2 - formulação com adição de óleo essencial de Palmarosa; 3 - formulação com adição de óleo essencial de Gerânio; 4 - formulação com adição de óleo de essencial de Gerânio + óleo essencial de Palmarosa.

#### Análise da Estabilidade Acelerada

As formulações A, B, C e D submetidas em temperatura ambiente ( $22,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ ) como controle padrão. Analisando os dados obtidos quanto ao aspecto, todas as formulações submetidas ao freezer ( $-18,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ), geladeira ( $4,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) e ambiente ( $22,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ ), nos períodos  $t_7$ ,  $t_{15}$ ,  $t_{30}$  não sofreram alterações visíveis.

Referente ao pH, as variações ficaram na faixa de  $\pm 5\%$ , um parâmetro aceitável que não representa uma significância que comprometa a qualidade do produto (ANVISA, 2004), permaneceram inalteradas durante o período de 30 dias não apresentando separação de fases ou a presença de precipitados. Os

resultados dos aspectos organolépticos (aparência, cor e odor) das amostras analisadas seguem descritos na **Tabela 4**.

As formulações A, B, C e D que foram submetidas à estufa ( $40,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) apresentaram problemas quanto às características organolépticas onde ocorreu diminuição expressiva do volume, alteração nos parâmetros de cor e do odor em todos os períodos de análise,  $t_7$ ,  $t_{15}$ ,  $t_{30}$ . Dessa forma, com estes resultados, observou-se que a base autoemulsionante apresentou sensibilidade a temperatura de  $40^\circ\text{C}$ .

Em decorrência da degradação ocorrida nas amostras das formulações submetidas na estufa ( $40,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ), a título de confirmação da sensibilidade da base à temperatura, foi realizado um novo teste com as emulsões A, B, C e D, as quais foram envasadas em bisnagas e submetidas na estufa ( $40,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) no tempo  $t_{15}$ , e foram feitos os testes organolépticos e físico-químicos. Os resultados referentes aos aspectos das formulações podem ser observados na **figura 3**.

A escolha adequada no desenvolvimento de um produto é de suma relevância a fim de manter a integridade do produto. No Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA, 2004), ressalta que ocorrer interação e migração entre o produto e os componentes da embalagem, outra característica a ser avaliada é a capacidade de vedação da embalagem que se não for eficiente pode comprometer a integridade do produto.

Nesse estudo foi identificado que a compatibilidade com o material de acondicionamento foi comprometida à medida que a embalagem comprometeu a integridade da formulação, quando avaliado o peso, a vedação e a funcionalidade.

**Tabela 4** - Resultados dos aspectos organolépticos (aparência, cor e odor) das amostras analisadas no período de 30 dias.

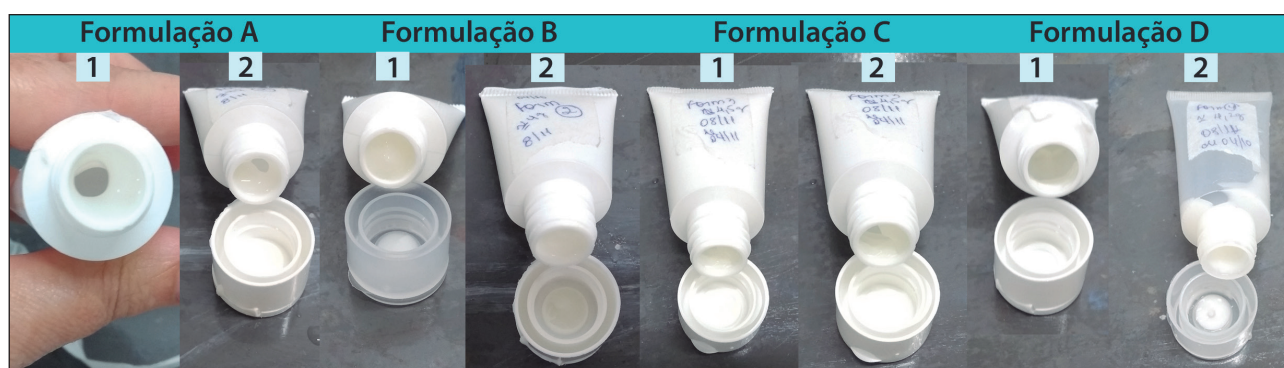
Fórmula A		CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO								
		ambiente (22,0 ± 2,0°C)			geladeira (4,0 ± 0,5°C)			freezer (- 18,0 ± 0,5°C)		
Variável	t0	t7	t15	t30	t7	t15	t30	t7	t15	t30
pH	6,3	6,3	6,4	6,3	6,4	6,3	6,4	6,4	6,3	6,4
% pH		-	1,6	-	1,6	-	1,6	1,6	-	1,6
Aspecto		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Cor		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Odor		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Fórmula B										
pH	6,3	6,3	6,3	6,3	6,3	6,4	6,4	6,5	6,5	6,6
% pH		-	-	-	-	1,6	1,6	3,2	3,2	4,8
Aspecto		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Cor		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Odor		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Fórmula C										
pH	6,3	6,2	6,3	6,3	6,4	6,4	6,2	6,3	6,2	6,0
% pH		-1,6	-	-	1,6	1,6	-1,6	-	-1,6	-4,8
Aspecto		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Cor		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Odor		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Fórmula D										
pH	6,4	6,3	6,4	6,3	6,2	6,4	6,3	6,5	6,3	6,2
% pH		-1,5	-	-1,5	-3,1	-	-1,5	1,6	-1,5	-3,1
Aspecto		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Cor		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Odor		N	N	N	N	N	N	N	N	N

**Legenda:** **Formulação A** - formulação base sem óleo essencial; **Formulação B** - formulação com adição de óleo essencial de Palmarosa; **Formulação C** - formulação com adição de óleo essencial de Gerânio; **Formulação D** - formulação com adição de óleo de essencial de Gerânio + óleo essencial de Palmarosa. **N** - normal.

Diante do resultado reprovado no teste da estufa, entendeu-se que era necessário aplicar uma nova análise. Após novos testes realizados no período de 15 dias, os quais as formulações foram submetidas na estufa (40,0 ± 0,5°C), foi verificado que as formulações **A, B, C e D (Figura 3)** se mantiveram dentro dos parâmetros aceitáveis confirmando que a qualidade

e estabilidade desse tipo de emulsão depende de um acondicionamento adequado, em embalagens capazes de promover uma maior vedação. Os resultados obtidos seguem na **Tabela 5**.

**Figura 3** – Resultados do Teste de Estabilidade Acelerada: das formulações **A, B, C e D** em duplicata submetidas na estufa (40,0 ± 0,5°C) em t<sub>15</sub>



**Figura3:** **Formulação A1** – formulação base sem óleo essencial; **Formulação A2** – formulação base sem óleo essencial; **Formulação B1** - formulação com adição de óleo essencial de Palmarosa; **Formulação B2** - formulação com adição de óleo essencial de Palmarosa; **Formulação C1** - formulação com adição de óleo essencial de Gerânio; **Formulação C2** - formulação com adição de óleo essencial de Gerânio; **Formulação D1** - formulação com adição de óleo de essencial de Gerânio + óleo essencial de Palmarosa; **Formulação D2** - formulação com adição de óleo de essencial de Gerânio + óleo essencial de Palmarosa.

**Tabela 5** - Resultados dos aspectos organolépticos (aparência, cor e odor) das Formulações A, B, C e D submetidas à estufa ( $40,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) em  $t_{15}$

Formulação A	estufa ( $40,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ )		Formulação C	estufa ( $40,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ )	
Variável	t0	t15	Variável	t0	t15
pH	6,3	6,2	pH	6,3	6,6
Aspecto		N	Aspecto		N
Cor		N	Cor		N
Odor		N	Odor		N
Formulação B			Formulação D		
pH	6,3	6,4	pH	6,4	6,8
Aspecto		N	Aspecto		N
Cor		N	Cor		N
Odor		N	Odor		N

**Tabela5 :** **Formulação A** – formulação base sem óleo essencial; **Formulação B** - formulação com adição de óleo essencial de Palmarosa; **Formulação C** - formulação com adição de óleo essencial de Gerânio; **Formulação D** - formulação com adição de óleo de essencial de Gerânio + óleo essencial de Palmarosa. N - normal, LM - leve modificação da aparência.

Os dados propostos no seguinte estudo permitem concluir que os ensaios propostos garantem a estabilidade físico-química e a qualidade de emulsão O/A com Óleos Essenciais, servindo de embasamento para estudos futuros.

## Discussão

Diante das condições experimentais, concluiu-se que o uso de Óleo Essencial de Gerânio (*Pelargonium*

*graveolens*) e o Óleo Essencial de Palmarosa (*Cymbopogon martinii*) em emulsões apresentaram características físico-químicas satisfatórias sendo estáveis no tempo de estudo.

As pesquisas levantadas sugeriram que os constituintes majoritários dos Óleos Essenciais de Gerânio e de Palmarosa possuem atividade antioxidante. Farukh e colaboradores (2014) também mencionaram que o Óleo Essencial de Gerânio (*Pelargonium graveolens*) é considerado um importante óleo de cuidados



na limpeza de peles oleosas e com poros dilatados.

Para Babar e colaboradores (2015), o Óleo Essencial de Gerânio (*Pelargonium graveolens*) é indicado para dermatite, eczema, envelhecimento cutâneo, algumas infecções fúngicas, problemas relacionados à ansiedade e ao estresse. A atividade antioxidante do óleo essencial pode ser atribuída em parte pela presença de compostos tais como  $\beta$ -citronellol e o geraniol, sua capacidade de atuação de ataque aos radicais livres ocorre pela neutralização de EROs antes que possam afetar a nível celular.

Quanto ao Óleo Essencial de Palmarosa (*Cymbopogon martinii*), o estudo sugere um significativo potencial da inibição da peroxidação lipídica. Para CHEN; VILJOEN, 2010; LAWRENCE et al, 2012, o Óleo Essencial de Palmarosa (*Cymbopogon martinii*) ação hidratante e regeneradora sendo indicado para uso em produtos antienvhecimento.

O estudo também comprovou através do teste de estabilidade acelerada que produtos desenvolvidos com uma base autoemulsionante composta de fosfolípidos necessitam de embalagens que promovam acondicionamento e vedação adequada capazes de evitar a perda de volume e degradação do sistema.

Apesar de existirem relatos do uso de óleos essenciais desde a antiguidade por cientistas renomados, atualmente são utilizados, nas áreas farmacêutica, alimentícias e na área cosmética, empregados na perfumaria. Há uma controvérsia no uso de óleos essenciais em cosméticos devido ao seu custo elevado de produção, geralmente são necessárias grandes quantidades de plantas para extrair pouco volume de óleo essencial.

Por outro lado, existe uma tendência mundial do uso de produtos naturais, por serem mais saudáveis para a pele e a saúde. Diante desse cenário, esse estudo comprovou que os óleos essenciais apresentaram estabilidade adequada, mantendo as características organolépticas exigidas para regulamentação de produtos cosméticos, possibilitando uma alternativa no desenvolvimento de cosméticos naturais. Desta forma, associar óleos essenciais em cosméticos por sua atividade antioxidante pode ser relevante, neste caso, será necessário, para implementação de resultados, novas pesquisas.

## Referências

AGÊNCIA Nacional de Vigilância Sanitária (BR).

Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília: ANVISA, 2004. (1): 47. <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cosmeticos.pdf>

AMARAL, F. Técnicas de aplicação de óleos essenciais, terapias de saúde e beleza. São Paulo: Cengage Learning; 2015. 235 p.

ANDRADE, B.F.M.T, et al. Effect of Inhaling *Cymbopogon martinii* Essential Oil and Geraniol on Serum Biochemistry Parameters and Oxidative Stress in Rats. *Biochemistry Research International*. 09 dez. 2014; Article ID 493183: 1-8.

<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/130994>

BABAR A, et al. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015, 5(8): 601–611.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169115001033>

CHEN W, VILJOEN A.M. GERANIOL — A review of a commercially important fragrance material. *South African Journal of Botany*. 2010. 76 (4): 643-651.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629910001559>

CORRÊA MA. *Cosmetologia Ciência e Técnica*. 1. ed. São Paulo: Editora Medfarma, p. 338-354, 2012.

CORTE TWF. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de emulsões cosméticas para xerose senil [internet]. Porto Alegre; 2006. <http://tede2.pucrs.br/tede2/handle/tede/2762>

EUROMONITOR. Benefits predicted under a more regulated natural cosmetics category [internet]. 2007. <https://blog.euromonitor.com/benefits-predicted-under-a-more-regulated-natural-cosmetics-category/>.

GOMES, R.K., DAMAZIO M.G. *Cosmetologia: descomplicando os princípios ativos*. 4. ed. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora; 2013. 475 p.

GUARANTINI T., MEDEIROS M.H.G., COLEPICOLO P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia [internet]. *Química Nova* 2007. <http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v30n1/32.pdf>.

ISAAC V.L.B., et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fito cosméticos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2008, 29(1): 81-96.

<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/70617/2-s2.0-54349121836.pdf?sequence=1>

LUPE F.A., Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia [internet]. Repositório da Produção Científica e Intelectual da Unicamp. [s.n.] Campinas, 2007. <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/248371>

MASMOUDI H, DRÉAU YLE, PICCERELLE P, KISTER J. The evaluation of cosmetics and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method: FTIR. *International Journal of Pharmaceutics* 2005; 289(1-2): 117-131. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15652205>.

MORAES CAP. Síntese e avaliação da segurança in vitro da rutina e do succinato de rutina visando sua incorporação em formulações fotoprotetoras eficazes associados a filtros químicos e físico. São Paulo. Tese [Doutorado em Produção e Controle Farmacêuticos] – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2012. <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-07032013-092315/pt-br.php>

STOUT, H S; MURPHY, K.A., inventor; Maple Mountain Group Inc., cessionary. Skin rejuvenation and defense system. United States US20170049692 A1. 23/02/17.

**Artigo Original**

## **PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA CAQUEXIA NO CÂNCER DE MAMA POR PROBIÓTICO E CURCUMINA**

**Autor: Rafaela Agner D'Aquino Zilli<sup>1</sup>, Luisa Amábilé Wolpe Simas<sup>2,1</sup>.**

<sup>1</sup>Graduanda da Universidade Positivo (UP) do curso de nutrição - Centro e Instituto Internacional de Aprimoramento e pesquisas científicas (CIA-BV), Curitiba, Brasil; [rafa.daquino@gmail.com](mailto:rafa.daquino@gmail.com). <sup>2</sup>Orientador - Nutricionista. Pós-graduada em Nutrição Clínica pela Universidade Federal do Paraná. Mestre em Medicina Interna pela Universidade Federal do Paraná, Paraná, Brasil. [luisa.fies@hotmail.com](mailto:luisa.fies@hotmail.com).

### **Informações do artigo**

Palavras Chave:  
câncer de mama,  
caquexia, probióticos,  
curcumina.

### **Resumo**

O objetivo desse artigo é realizar uma revisão sistêmica sobre o tratamento e a prevenção da caquexia no câncer de mama (CM) com o uso de probióticos e curcumina, o processo no qual ocorre degradação proteica, lipólise excessiva e inflamação crônica através de estímulos de HIF-1/IL-6/TGF- $\beta$ /TNF/NF-kB, desencadeando angiogênese, invasão e metástase tumoral, levando a um pior prognóstico do câncer de mama. Para atingir o objetivo foi realizada uma revisão sobre os mecanismos bioquímicos pelos quais a caquexia atinge os pacientes com CM e a inibição desses através da utilização de probióticos e curcumina. Os probióticos inibem as vias STAT/NF-kB/COX-2 e estimulam PPAR $\gamma$ , inibindo a inflamação crônica e a lipólise excessiva. A curcumina é eficiente na captação de espécies reativas ao oxigênio (ERO) e na inibição do fator induzível por hipóxia 1 (HIF-1), consequentemente inibindo o estresse oxidativo total do organismo, melhorando a sensibilidade a radioterapia de células neoplásicas e causando diminuição do metabolismo tumoral. De acordo com os artigos estudados, os probióticos e a curcumina são duas estratégias eficientes na prevenção e tratamento da caquexia no CM, melhorando o prognóstico da doença. Os estudos analisados descrevem que, tanto os probióticos como a curcumina são seguros, para administração em pacientes com câncer durante tratamento radioterápico e quimioterápico.

<sup>1</sup>Autor correspondente:

Luisa Amábilé Wolpe Simas - e-mail: [luisa.fies@hotmail.com](mailto:luisa.fies@hotmail.com) - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2323-5665>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.72> - Artigo recebido em: 09 de agosto de 2019 ; aceito em 15 de agosto de 2019; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br). Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

## Article ID

Keywords:  
breast câncer, cachexia,  
probiotics, curcumin.

## Abstract

The objective of this article is to perform a systemic review on the treatment and prevention of cachexia in breast cancer (CM), with the use of probiotics and curcumin, the process in which protein degradation occurs, excessive lipolysis and chronic inflammation through stimuli of HIF-1/IL-6/TGF- $\beta$ /TNF/NF- $\kappa$ B, triggering angiogenesis, invasion and tumor metastasis, leading to a worse prognosis of breast cancer. To achieve the objective, a review was performed on the use of probiotics and curcumin. Probiotics inhibit STAT/NF- $\kappa$ B/COX-2 pathways and stimulate PPAR $\gamma$ , inhibiting chronic inflammation and excessive lipolysis. Curcumin is efficient in the capture of oxygen-reactive species (ERO) and inhibition of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1), consequently inhibiting the total oxidative stress of the organism, improving the radiotherapy sensitivity of neoplastic cells and causing a decrease in tumor metabolism. According to the articles studied, probiotics and curcumin are two efficient strategies in the prevention and treatment of cachexia in CM, improving the prognosis of the disease. The studies analyzed describe that, both probiotics and curcumin are safe for administration to cancer patients during radiotherapy and chemotherapy.

## Introdução

A caquexia é uma patologia associada ao câncer, causa perda de peso através de lipólise excessiva, proteólise e inflamação, se diferencia da inanição pela perda de tecido muscular (TM) e de tecido adiposo (TA) ocorrer concomitantemente, ou pela degradação proteica ocorrer junto com lipogênese (1).

A caquexia é negligenciada no câncer de mama (CM), ela é mascarada pela sarcopenia (2,3) e edemas associados ao tratamento. E os eventos que sucedem a caquexia têm uma forte relação com a metástase no CM, estudos apontam que distúrbios metabólicos e presença de citocinas comuns a caquexia são associados a CM metastático (1,3,4,5), estimulando a angiogênese (6) e a proliferação celular (1,7,8), causando nas células tumorais resistência aos quimioterápicos.

Nesse artigo serão abordados os efeitos da curcumina e dos probióticos, como estratégias de prevenção e tratamento da caquexia no CM.

## Metodologia

Esse artigo trata-se de uma revisão sistêmica através das plataformas PubMed, SciELO, Springer, Crossref e Scopus, utilizando-se os seguintes descritores: caquexia, câncer de mama, probiótico e curcumina.

Os artigos datam de 1991 a 2019. Foram selecionados 121 artigos, sendo 40 sobre câncer de mama, 20 sobre caquexia, 32 sobre curcumina e 31 sobre probióticos. Ao final foram utilizados 70 artigos científicos como referência que mais se aprofundavam nos descritores câncer de mama, caquexia, curcumina e probióticos.

Para descrever alguns dos processos bioquímicos relacionados a caquexia e ao câncer foi utilizado o livro de bioquímica, Princípios de Bioquímica de Lehner (Nelson e Cox 2014).

## Discussão

### Caquexia no câncer de mama (CM)

A caquexia é caracterizada por atrofia muscular, fadiga, anorexia, diminuição de tecido adiposo, hipermetabolismo, liberação de citocinas pró-inflamatórias, inibição de vias de citocinas anti-inflamatórias e desregulação do eixo neuroendócrino, levando ao aumento do potencial paraneoplásico, toxicidade e diminuição da eficiência de quimioterápicos no câncer a medida que o corpo enfraquece (1,9).

Normalmente se diagnostica a caquexia através da perda de massa total do paciente, clinicamente considerando-se em quadro caquético pacientes que perdem mais que 5% de seu peso em 6 meses. O peso não é eficiente para avaliação de pacientes com caquexia no câncer, a caquexia pode ser mascarada por edemas

e obesidade sarcopênica. A melhor forma de avaliar a caquexia no paciente com câncer é por exames laboratoriais que indiquem as seguintes alterações: inflamação, metabolismo celular alterado, lipólise e proteólise (10).

O câncer é caracterizado por mutações no DNA (2,11). No CM essas mutações podem ser desencadeadas e agravadas por hormônios sexuais (11) e fatores do crescimento (FC) (12), como exemplo, a exposição de estrogênio e seus metabólitos, podem levar a mutações em genes que codificam proteínas da via fosfoinosítido-3-cinase (PI3K) (2,6) que regula a sobrevivência e proliferação celular, sendo os receptores para esses hormônios e FC importantes no direcionamento do tratamento (11,12,13).

Adicionalmente, o TA que compõe 80% da glândula mamária (1), é associado a produção de aromatase, enzima componente da família citocromo P450, que catalisa a degradação do estrogênio produzindo quinonas de estrogênio, como o estradiol que interage de maneira negativa com células do CM (2,3), devido ao fenótipo inflamatório de seus adipócitos, referidos como "adipócitos associados ao câncer" (CAAs) (1). Desse modo, hormônios, citocinas e FC (adipocinas produzidas pelos CAAs) podem estimular a caquexia e a metástase no CM, de forma parácrina/endócrina (1,7). Como também pode haver interação entre os produtos das células cancerígenas com o tecido muscular (TM) e o TA, através de exossomos. Nesses tecidos, há aumento de miR-155, produto das células do CM, age como regulador negativo do receptor ativado por peroxissomos (PPAR $\gamma$ ), prepara os adipócitos para armazenar e sintetizar triacilglicerol (TAG'S), levando a superexpressão da proteína desacopladora, termogenina (UCP1) (9,14). As UCPs são proteínas da membrana interna mitocondrial que fornecem uma via alternativa para os prótons retornarem a matriz na fosforilação oxidativa, sem passar pela ATP sintase, produzindo calor em vez de ATP, levando a diminuição de lipogênese e aumento do gasto calórico (1,10,15).

### **Mecanismos metabólico da caquexia no câncer de mama**

O metabolismo das células tumorais no CM pode ser explicado pelo efeito Warburg (15,16,17), através do aumento de fator induzível por hipóxia 1 (HIF-1), (1,10,16) pela inibição de oxidoredutase contendo do-

mínio WW (WWOX), é um supressor tumoral (15). HIF-1 se liga ao complexo 1 da proteína alvo mecânico da rapamicina (mTORC1) estimulando a produção de ATP através da via glicolítica (15,16,17,18), levando a disfunções de proteínas de membrana mitocondrial, que inibe a fosforilação oxidativa (16,17). HIF-1 super expressa a enzima hexoquinase 2 (16), que catalisa oxidação irreversível de glicose com consumo de ATP (14), aumenta transcrição de GLUT1 (10,16) e diminui a expressão de piruvato desidrogenase (PDH), favorecendo o ciclo do Cori (10,15,16), aonde a glicose é resintetizada, e também a aumento da fosfoglicose isomerase (PGI) (19,20) favorecendo em conjunto a produção de altas taxas de ATP (17). Esses mecanismos mencionados levam um consumo adicional em pacientes com câncer de 300kcal/dia (10).

A enzima PGI, que participa da glicólise e da gliconeogênese, também estimula a secreção da citocina fator de motilidade autócrina (FMA), desencadeando a metástase (4,19).

Níveis aumentados de mRNA para leptina e receptores de leptina (Ob-R) são característicos no CM (7). A leptina é uma adipocina secretada por CAAs, estimula vias proliferativas, provocando angiogênese e metástase através de aumento de transcrição de mRNA de aromatases (1,7). A ativação de Ob-R estimula a via PI3K, através da fosforilação da proteína-cinase-B (Akt), ativando a glicólise. Regula positivamente os genes survivina e Bcl-2, causando resistência aos quimioterápicos (7).

Células do câncer aumentam o gliconeogênese através de hidrólise de triacilgliceróis (TAGs) (1,3,10). Pacientes com câncer apresentam um aumento de 50% a 100% de mRNA para lipase hormônio sensível (LHS), enzima que catalisa a degradação de TAGs a ácidos graxos (AG) e glicerol, que pode ser utilizado pela célula cancerígena na gliconeogênese, sendo uma reação altamente dispendiosa (10).

### **Mecanismos moleculares da caquexia no câncer de mama**

#### **Interleucina-6 (IL-6)**

A IL-6 é bem documentada na caquexia do câncer, sendo o maior produto de CAAs no CM (1,7,9). Foi identificado a expressão do receptor sIL-6R no CM, que permite uma trans sinalização de IL-6, aumen-



tando a sua responsividade. IL-6 ativa uma cascata de sinalização ativando a via JAK/STAT3 (21,22), que sinaliza transcrição de fatores de crescimento envolvidos na angiogênese, favorecendo metástase (1), sobrevivência e proliferação celular. Aumenta expressão de LHS e proteína sinalizadora de citocinas (SOCS) (22). A sinalização de STAT3 está associada a expressão de genes da família CCAAT que conferem resistência a quimioterápicos no CM (1). A IL-6 tem influência na via neuroendócrina, através do receptor gp130, que são expressos nas células endoteliais do cérebro, levando aumento de neuropeptídeos que inibem a fome, como a pró-opiomelanocortina (POMC). As melanocortinas (MSH) são produtos de clivagem de POMC. Antagonistas de receptores de MSH levam a aumento de consumo de alimentos em camundongos (10,23).

IL-6 aumenta expressão de enzima E3 (MAFbx) da via da ubiquitinação que leva a degradação de proteínas por proteossomo 26S através de marcação com ubiquitina pelas enzimas E1, E2 e E3 (14). A degradação proteica através de via lisossomal também é estimulada por IL-6, estimulando aumento de enzima lisossômica catepsina (10).

#### **Fator de transformação de crescimento (TGF- $\beta$ )**

O TGF- $\beta$  possui uma família de 30 peptídeos, liberados através da cascata do ácido araquidônico (AA) por lipoxigenases (LOX). É expresso em células cancerígenas, favorecendo a angiogênese, metástase (1,6) e a degradação proteica. A miostatina (Mstn) e o fator de diferenciação de crescimento 15 (GDF15), fazem parte dessa família do TGF- $\beta$ . A Mstn, chamada também de fator de diferenciação de crescimento 8 (GDF8) é produzido predominantemente pelo músculo esquelético, atuando como fator autócrino/parácrino. Mstn inibe o crescimento muscular, ligando-se ao receptor ACTIIB, regulando processos inflamatórios e causando atrofia muscular. O GDF15 é aumentado no cérebro de ratos apresentando câncer caquético, levando aumento de marcadores de proteólise da via da ubiquitinação Atrogin-1 e MuRF (enzimas E3) em miotubos do tecido muscular esquelético (24). O TGF- $\beta$  é um potente regulador da cicatrização de feridas no músculo e a exposição persistente leva à alteração da arquitetura da matriz extracelular e a formação de tecido fibrótico no tecido. A sinalização aumentada de TGF- $\beta$  no músculo inibe a ativação de células satélites e prejudica a diferenciação de

miócitos (25).

#### **Fator de necrose tumoral (TNF)**

TNF é o principal produto produzido por macrófagos e neutrófilos no CM (5,8,26), paciente com câncer de mama apresentam uma diminuição de miR-486 circulante induzido por TNF- $\alpha$ , afetando a síntese proteica, sendo miR-486 um regulador positivo da via (24). TNF inibe a lipoproteína lipase (LPL), responsável por envolver TAGs em uma membrana, desencadeando aumento de triglicerídeos plasmáticos (1,10,26), no CM ocorre um infiltrado de TAGs no músculo esquelético (3,10), que também é regulado pela diminuição do PPAR $\gamma$  no TA (10,27), os macrófagos liberam TNF prejudicando a deposição de gordura em forma de TAGs, AG e glicerol se acumulam no TM como triacilglicerol (1,3), causando resistência à insulina nos miócitos que não conseguem usar a glicose para produção de energia. TNF estimula a síntese de IL-6, de POMC, fosforilação de perilipina, enzima que degrada monoacilglicerol, expressão da subunidade MSS1 do proteossomo 26S (24,28), MAFbx e ERO (10). TNF aumenta expressão de proteína  $\alpha$ 2-glicoproteína de zinco (ZAG), uma proteína que se liga a receptores  $\beta$ -adrenérgicos nas células do tecido adiposo marrom (TAM) e tecido muscular esquelético (TME) e, ativam a tradução de UPCs (10).

TNF estimula a metástase através da ativação de metaloproteinases MMP2 e MMP9, que degradam a matriz extracelular (MEC), para transição epitelial mesenquimal da célula cancerígena, MMP2 e MMP9 liberam ectodomínios ativo de TGF- $\beta$  (5,8,13).

#### **Fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B)**

A inibição de NF- $\kappa$ B é a via mais promissora no tratamento e prevenção da caquexia no câncer, pois ela está envolvida na transcrição de todas citocinas mencionadas a cima (1,10,29), ERO, glicocorticoides e induz a COX-2. Quando inativado o NF- $\kappa$ B encontra-se no citoplasma ligado a uma proteína inibitória (I $\kappa$ B), impedindo a translocação de NF- $\kappa$ B ao núcleo e sua ativação (10). A fosforilação de I $\kappa$ B leva a sua degradação e ativação de NF- $\kappa$ B. **Ocorre em pacientes submetidos a radiação no tratamento do câncer.** O fator indutor de proteólises (PIF) é uma glicoproteína, transcrito por NF- $\kappa$ B (29), PIF estimula fosfolipase A2 (PLA2), catalisando a degradação de



fosfolipídios de membrana (PL), liberando AA e seus produtos inflamatórios, (IL-6, TNF), *TGF-β* e NADPH oxidase, contribuindo para geração de ERO mitocondrial, importante na via de ubiquitinação. NF-κB é estimulado pela sinalização da via JAK/STAT, ERO, neurotransmissores, neurotrofinas, inflamação, isquemia, peptídeos neurotóxicos e etc (10). FMA estimulado através de PGI pode levar ao aumento da ligação de NF-κB ao DNA (4).

No CM o gene IKBKE é amplificado. IKBKE codifica proteína inibidor do fator nuclear kappa B subunidade de quinase epsilon (IKKε), IKKε fosforila IκB, ativando NF-κB (31).

### Prevenção e tratamento da caquexia no câncer de mama

**Tabela 1:** Referências de estudos científicos.

Tipo de estudo	Autor	Metodologia	Resultados
<b>Curcumina</b>			
<b>Curcumina: inibição da inflamação no câncer de mama</b>			
In vivo	BACHMEIER, Beatrice et al. München, 21 nov. 2007. (44)	Utilizaram células de CM MDA-MB-231, foram injetadas em gânglios mamários de ratos subjacentes a aplicação de 10ng/ml de TNF-α. Foi administrado oralmente curcumina (95%) a 25nM.	O tratamento de 2-4-6h reduziu a ligação de NF-κB ao DNA; A fosforilação de I-κBα foi inibida, inibindo atividade de TNF-α; Diminuição de MMP-1-2-3 (dependente do tempo); Redução de invasão tumoral.
In vivo	WYKE, S M; RUSSELL, S T; TISDALE, M J. [s.l.], 12 out. 2004. (68)	Utilizaram células em ratos transplantados com células MAC16, c/ perda peso ≥ 5% (10/15 dias após transplante). Foram medidos a perda de tirosina, nível da subunidade 20S de proteassoma e utilizado anticorpo para I-κBα. Administraram 50 μM de curcumina oralmente.	A curcumina conteve totalmente a proteólise em miotubos; Inibiu enzimas quimotripsina, proteassomas e enzimas da ubiquitinação; In vivo a curcumina foi ineficaz (dose 150-300mg/Kg).
<b>Curcumina: biodisponibilidade</b>			
In vivo/clinico	SHOBA, Guido et al. Bangalore, maio 1998. (52)	Foi administrado oralmente em jejum curcumina c/ piperina em um grupo de ratos e em outro grupo apenas curcumina. Curcumina = 2g/Kg – piperina = 20mg/Kg; 10 voluntários masculinos saudáveis foram observados na administração oral em jejum de 2g de curcumina isolado e 2g /curcumina + 20mg/piperina.	Em ambos casos a biodisponibilidade de curcumina aumentou significativamente com piperina e foi bem tolerada.

In vitro	TAN, Suryani et al. Australia, 3 out. 2015. (46)	Utilizaram bactérias fecais humanas e curcumina a 80,1% de pureza, que foi fermentada por 24h.	A curcumina foi reduzida a THC pelas bactérias fecais.
<b>Curcumina: radioterapia</b>			
In vitro	JAVVADI, P. et al. Philadelphia, 1 fev. 2008. (38)	Foram utilizadas células de tumor cervical (HeLa e SiHa) e fibroblastos normais, utilizou 10 mM de curcumina antes da irradiação dessas células para análise do estresse oxidativo.	A sobrevivência de células tratadas com curcumina foi 20% menor em comparação ao controle; Aumentou sensibilidade a radiação; Os fibroblastos não foram sensibilizados a irradiação, sendo inclusive protegidos.
Clínico	HEJAZI, Jalal et al. Nova Iorque, 2 jan. 2016. (49)	Analysaram pacientes com câncer de próstata em radioterapia. Foi administrado oralmente 3g de curcumina em um grupo divididas em 2 capsulas de 500mg em 3 refeições, uma semana antes do tratamento até a conclusão e outro grupo placebo, com 20 pacientes em cada grupo.	Não houve nenhum efeito colateral; Enzima antioxidantes SOD diminuiu no grupo com curcumina (GC); Capacidade antioxidantes total aumentou no GC;
Clínico	RYAN, Julie L. et al. Nova Iorque, jul. 2013. (42)	Analysaram 30 pacientes com CM em radioterapia, divididos em grupo placebo e grupo que ingeriu oralmente 2g curcumina/3x dia. Avaliaram a presença/ausência de dermatite.	A dermatite no GC foi menos acentuada do que no grupo placebo (GP) representando 87,5% menos descamação úmida; A curcumina foi bem tolerada, sendo relatado apenas grau leve de diarreia.
<b>Probióticos</b>			
<b>Probióticos: modulação imunológica no câncer de mama</b>			
In vivo	MAROOOF, Hamidreza et al. Iran, 19 jun. 2012. (23)	Foi utilizado a 3 x 10 <sup>8</sup> ufc de Lactobacillus acidophilus (L.a.) adm oralmente, bacteria isolada do iogurte caseiro e de fezes de bêbe, por 7 dias. Foram divididos 4 grupos de ratos transfectados com células de câncer de mama (4T1), 1) L.a. de iogurte caseiro, 2) L.a. de fezes de bêbe 3) injetado por via intraperitoneal com 20 mg / kg de ciclofosfamida 4) controle.	Os ratinhos dos grupos 1 tiveram tumores menos volumosos, maior proliferação de linfócitos tumorais (foi mais pronunciado no grupo 2) e redução significativa de TGF- $\beta$ (que foi melhor em ratos do grupo 1).

In vivo	YAZDI, Mohammad Hossein et al. Iran, 2010 (67)	Foram utilizados 18 ratos divididos em dois grupos, sendo um controle e outro foi administrado oralmente cepas de L.a. Os ratos de teste (adm de L.a.) tomaram 0.6ml de suspensão contendo a cepa, durante 14 dias antes do transplante e após foi adm essa solução por 30 dias com intervalo de 3 dias. Foi transplantado tumor de mama adenocarcinoma.	A adm de L.a. inibiu o crescimento do tumor, estímulo de diferenciação de linfócitos Th1, houve diminuição de TGF- $\beta$ .
In vivo	ZAMBERI, Nur Rizzi et al. Malaysia, 2016 (69)	Foram utilizados ratos, divididos em 3 grupos (n=7): 1) grupo controle; 2) grupo com tumor de mama 4T1, tratado com água destilado; 3) grupo com tumor (4T1) tratado com kefir de água (150mg de água de kefir/kg/28dias).	Redução significativa de metástase, invasão, angiogênese celular, volume de tumor no grupo 3; Aumento de apoptose, > 5x de células TCD4 e 7x TCD8 no grupo 3 e redução dos genes NF- $\kappa$ B e TNF- $\alpha$ .
In vivo	ARAGÓN, Félix et al. Argentina, 2014 (71)	Camundongos inoculados com células de CM 4T1 divididos em 3 grupo (n=15), conforme alimentação oral: 1) água; 2) leite desnatado; 3) leite fermentado por L. casei ( $2 \pm 1 \times 10^9$ cfu / ml).	Entre o grupo 1 e 2 não houve $\neq$ de volume tumoral; No grupo 3 50% dos camundongos possuíam tumores menores, redução de IL-6, aumento de IgA, aumento da relação TCD8/TCD4; TNF- $\alpha$ não se alterou em nenhum dos grupos; Aumento de TCD4 no grupo 2.
<b>Probióticos: inflamação</b>			
In vitro	KADIRAREDDY, Rashmi Holur; GHANTAVEMURI, Sujana; PALEMPALLI, Uma Maheswari Devi. Índia, 2016. (65)	Utilizaram Lactobacillus plantarun, dose de 20-100 $\mu$ g / ml ALC (com 98% de pureza) e células 231 de CM.	ALC aumentou o estado redox da célula por aumento de enzimas antioxidantes GSH / GSSG; ALC inibiu a proliferação celular após 24h de tratamento com dose de 60 $\mu$ g / ml e 80 $\mu$ g / ml; Aumento de apoptose com ALC; Supressão de fosforilação de I $\kappa$ B $\alpha$ .

In vivo	RANJBAR, Sheyda et al. Iran, jan. 2019. (53)	Foram utilizados ratos transplantados com célula do CM 4T1, foram divididos em 2 grupos, 1) tomaram Lactobacillus acidophilus, isolado do iogurte caseiro e fezes de neonatal e 2) grupo controle. O grupo 1 ingeriu 0,1ml de L.a. contendo $10^8$ , $2 \times 10^8$ e $3 \times 10^8$ ufc via orogástrica e o grupo 2 ingeriu uma solução salina.	O grupo que ingeriu L.a. (GLa) aumentou a resposta imune; No (GLa) o volume do tumor diminuiu; Número de linfócitos aumentou em (GLa), Houve uma diminuição significativa de TGF- $\beta$ no (GLa) em comparação ao controle.
In vivo	ARAGÓN, Félix et al. Argentina, 2015 (60)	Foram utilizados ratos transplantados com tumor de mama (4T1), divididos em grupo controle e grupo que recebeu leite contendo cepas de L. Casei após 80 dias do transplante.	Houve diminuição de angiogênese, IL-6, invasão (sendo que no grupo controle houve invasão de pulmão de 50% e os que tomaram L.c. foi $\leq 10\%$ ), maior taxa de sobrevivência, aumento de células CD4 no grupo que recebeu L.C.
<b>Probióticos: proliferação/PPAR<math>\gamma</math></b>			
In vitro	MIGLIETTA, Antonella et al. Itália, mar. 2006. (61)	Foi utilizado ALC, sendo aplicado em linha celular de CM 231 de cultura, utilizando técnica de imunocitoquímica com antígenos para ERK1/Raf-1/BclxS/Caspases.	Ocorreu ligeiro decréscimo da taxa de proliferação celular; Aumento de 10% de apoptose em comparação ao GP; Diminuição dependente de tempo da fosforilação de Raf-1/ERK/MAPK.
In vitro	MAGGIORA, Marina et al. Itália, 2004. (66)	Foram utilizadas células de câncer hepático (HepG2/SK-HEP-1), prostático (PC3/ LNCaP), glioblastos humanos (ADF), células de tumor da bexiga (639V / SG6532) e células de CM (231/MD-7). As células foram centrifugadas em meio contendo ALC a 600g.	Constatou inibição de proliferação de (HepG2/ SK-HEP-1/LNCaP/ ADF/639V /SG6532/ MCF-7); Aumento de apoptose em (SK-HEP-1/ADF/231), células MCF-7 dobraram taxa de morte; Aumento de expressão de PPAR $\gamma$ (HepG2/ PC3/ LNCaP/639V / SG6532/231/MD-7).

In vitro	CHEN, Chujian; CHAN, Hing Man; KUBOW, Stan. China, 2017 (70)	Utilizaram células MC-F7-E3 divididas em 3 grupos 1) tratadas com 32ml de kefir de leite fermentado; 2) tratadas com extrato de leite não fermentado; 3) grupo controle.	Redução de proliferação celular > 80%-dose dependente (grupo 1) em comparação aos outros grupos; No grupo 2 houve aumento de proliferação celular em comparação ao 1 e 3.
----------	--	--	---

**Fonte:** Elaborada pelo autor

### Curcumina

Curcumina é um flavonoide que compõe a maior parte (77%) da cúrcuma longa, presente comercialmente no curry.

A curcumina tem um alto potencial antioxidantes (32). Característica interessante, já que o estresse oxidativo é estimulado pelos quimioterápicos e radioterapia, causando disfunção mitocondrial (33,34,35). Estresse oxidativo favorece o efeito de Warburg, inibe a expressão de miosina (3,10) e estimula o enfraquecimento muscular, através do extravasamento de cálcio (25).

É controverso o papel de fitoterápicos que inibem as espécies reativas ao oxigênio (ERO). Pacientes com câncer, em tratamento radioterápico, ocorre aumento de formação de ERO, através da inibição de Nrf2 (33), ativando a apoptose celular intrínseca. Consequentemente, esses inibidores de ERO poderiam comprometer a eficácia do tratamento (35,36), argumento utilizado por quem desaconselha o uso de curcumina na radioterapia. São muitos os artigos, citados na **tabela 1**, que defendem a utilização de antioxidantes em pacientes em tratamento radioterápico. Os antioxidantes agem de maneira diferente em ambiente de hipóxia do câncer, sendo reduzidos a oxidantes através de mieloperoxidases, aumentando a sensibilidade a radioterapia e aporte de oxigênio nas **células** tumorais, estimulando a produção de superóxido (37,38), enquanto protegem células saudáveis, inibindo o estresse oxidativo total (39). Pacientes com CM, que utilizaram curcumina antes da radioterapia e durante, tiveram diminuição de estresses oxidativo (40,41,42). Estudo clínico demonstrou a inibição da dermatite, com o uso da curcumina antes e durante a radioterapia, protegendo as células epiteliais, que são extremamente responsivas a radioterapia (43).

Em estudos in vivo, mostrados na **tabela 1**, a Curcumina regulou negativamente as citocinas inflamatórias que causam caquexia no CM (30,44).

A curcumina é agonista do receptor PPAR $\gamma$  (45,46), que além de inibir a síntese de citocinas inflamatórias na caquexia do CM, também estimula a proteína p21, que inibe ciclina D1, ocasionando a interrupção do ciclo celular (18,47).

A curcumina inibe a fosforilação de STAT3/mTORC1, inibindo a sinalização de HIF-1 (32,46).

A biodisponibilidade da curcumina é prejudicada pela glucuronidação e sulfatação nos enterócitos e sua baixa solubilidade (46,48), a bactéria *Escherichia coli* aumentou a biodisponibilidade da curcumina em microbiota humanas através de desglucuronidação e redução de curcumina a tetra-hidrocurcumina (THC) que é mais eficaz que a curcumina (49), preparação de nanopartículas de curcumina dispersas em matriz hidrofílica aumentaram os níveis plasmáticos de curcumina livre (46), a combinação de piperina (20mg) e curcumina aumenta a biodisponibilidade em 20 vezes do flavonoide (46,50), mais estudos são necessários para melhorar a biodisponibilidade da curcumina.

A curcumina inibe ABCB1 e ABCG2 no intestino. Os receptores ABC são receptores que inibem a absorção de fármacos pelas células. A curcumina aumenta a absorção de taxanos, quimioterápicos que inibem a proliferação celular no CM, sendo bem tolerada em tratamentos quimioterápicos (51), melhorando a eficácia do fármaco na inibição da patologia (14,52).

### Probióticos

Os probióticos são bactérias que compõe a microbiota intestinal de forma benéfica, formando uma barreira competitiva com patógenos e aumentando as junções entre as células do intestino (53,54), inibindo o *leaky gut* (informação verbal). É bem documentado que o sistema imunológico no CM pode ser modula-



do através dessa relação entre probióticos e sistema imunológico mesentérico, aumentando infiltrados de células imunológicas nos centros tumorais, células diferenciadas nos gânglios linfáticos mesentéricos com estímulos das bactérias (53,55) *Akkermansia muciniphila* e *E. hirae*, melhorando a resposta a imunoterapia no CM (56).

Os probióticos produzem metabólitos pela fermentação. O ácido linoleico conjugado (ALC) é produto da fermentação do ácido láctico (AL) (57), pela cepa de *Lactobacillus plantarum* (58,59,60). O ALC modula os produtos inflamatórios que causam a caquexia no CM, através da inibição da via STAT/NF-kB/COX-2 (58,60,61), inibindo IL-6, TNF- $\alpha$  e TGF- $\beta$ . ALC é um agonista de PPAR $\gamma$  e inibe a fosforilação de I $\kappa$ B. O CM expressa PPAR $\gamma$  (10,62), sendo alvo de quimioterápicos na inibição de proliferação e estímulo a apoptose (57,62). PPAR $\gamma$  é um ativador de transcrição, para genes que codificam enzimas que participam de lipogênese e desencadeando a diferenciação de adipócitos (62,63). A indução de PPAR $\gamma$  em fibroblastos leva a um fenótipo de células adiposas (27,64). Hipoteticamente a ativação de PPAR $\gamma$  nos adipócitos associados ao CM poderiam regredir o fenótipo de CAAs. Outro mecanismo pelo qual a ativação de PPAR $\gamma$  inibe a caquexia no CM é através da inibição da fosforilação IR-1 (65), inibindo a via PI3K/Akt e a via MAPK (66), que estimula a glicólise e a síntese de insulina (10). O receptor PPAR $\gamma$  é expresso na medula óssea, nas placas de Peyer e linfócitos B (27). Agonista de PPAR $\gamma$  inibem a transcrição de fator do crescimento do endotélio vascular (VEGF) (48), Fc que estimula a angiogênese e metástase tumoral, PPAR $\gamma$  inibe a via NF-kB (10,65).

Cepas de bactérias *L. casei shirota*, *L. Helveticus* e *L. acidophilus* produzido através de fermentação do iogurte natural causam diminuição respectivamente de IL-6, TNF- $\alpha$  e TGF- $\beta$  em mulheres que possuem CM, descritos na tabela 1 (53,55,56,67).

A utilização de probióticos é bem tolerada em pacientes com câncer e em tratamento quimioterápico, nenhum estudo foi encontrado relacionando probióticos a radioterapia (54).

## Conclusão

O ambiente inflamatório da caquexia no CM contribui para metástase do tumor, degradação proteica, fadiga, desregulação do eixo neuroendócrino, levando

ao aumento do potencial paraneoplásico, aumento de toxicidade farmacológica e diminuição da eficiência de quimioterápicos no câncer a medida que o corpo enfraquece, portanto estratégias terapêuticas que previnem a tratam a caquexia no CM com mínimo de toxicidade são importantes, essas estimulam a qualidade de vida da paciente em tratamento, melhorando a responsividade ao tratamento e a auto estima, ao passo que a diminuição da degradação do TM e diminuição da inflamação melhoram os aspectos estéticos do paciente. Tanto o probióticos, quando a curcumina demonstraram inibir a inflamação da caquexia através da inibição da via NF-kB. Probiótico demonstrou ter um grande potencial em modular o sistema imune contra a célula cancerígena e diminuir a degradação proteica através de PPAR $\gamma$ . A curcumina possui atividade comprovada clinicamente como um potente antioxidante, bem tolerada na administração a pacientes em tratamentos quimioterápico e radioterápico. Levando em consideração seus múltiplos alvos bioquímicos, o probiótico e a curcumina são importantes estratégias a serem empregados na prevenção e tratamento da caquexia no CM.

## Referências

1. GYAMFI, JONES et al. Multifaceted Roles of Interleukin-6 in Adipocyte–Breast Cancer Cell Interaction. *Translational Oncology*, [s.l.], v. 11, n. 2, p.275-285, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tranon.2017.12.009>.
2. AKRAM, MUHAMMAD et al. Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biological Research*, [s.l.], v. 50, kosn. 1, p.2-23, 2 out. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s40659-017-0140-9>.
3. CONSUL, NIKITA et al. Monitoring Metastasis and Cachexia in a Patient with Breast Cancer: A Case Study. *Clinical Medicine Insights: Oncology*, Nova Iorque, v. 10, n. 1, p.83-94, 10 jun. 2016. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.4137/cmo.s40479>.
4. FUNASAKA, TATSUYOSHI; HOGAN, VICTOR; RAZ, AVRAHAM. Phosphoglucose Isomerase/Autocrine Motility Factor Mediates Epithelial and Mesenchymal Phenotype Conversions in Breast Cancer. *Cancer Research*, Estados Unidos, v. 69, n. 13, p.5349-5356, 16 jun. 2009. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-09-0488>.



5. WOLCZYK, DOMINIKA et al. TNF- $\alpha$  promotes breast cancer cell migration and enhances the concentration of membrane-associated proteases in lipid rafts. *Cellular Oncology*, Wroclaw, v. 39, n. 4, p.353-363, 4 abr. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s13402-016-0280-x>.
6. RIVERA, ANGELES LORENS. Expresion de receptores hormonales, factores de crecimiento y oncogenes en cancer de mama en humanos. 1994. 128 f. Tese (Doutorado) - Curso de Bioquímica, Universidad Complutense de Madrid Facultad de Ciencias Odimicas Departamento de Bioquimica, São Carlos, 1994.
7. JARDÉ, THIERRY et al. Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer. *European Journal Of Cancer*, França, v. 47, n. 1, p.33-43, jan. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2010.09.005>.
8. LIAO, SHENG-JUN et al. TGF- $\beta$ 1 and TNF- $\alpha$  synergistically induce epithelial to mesenchymal transition of breast cancer cells by enhancing TAK1 activation. *Journal Of Cell Communication And Signaling*, People's Republic Of China, p.1-12, 9 fev. 2019. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s12079-019-00508-8>.
9. WU, QI ET AL. Breast cancer-released exosomes trigger cancer-associated cachexia to promote tumor progression. *Adypocite*, [s.l.], v. 1, n. 1, p.1-151, 11 dez. 2018. DOI: [10.1080/21623945.2018.1551688](https://doi.org/10.1080/21623945.2018.1551688).
10. WANING, DAVID L; A GUISE, THERESA. Cancer-associated muscle weakness: What's bone got to do with it?. *Bonekey Reports*, Indianapolis, v. 4, p.0-1, 20 maio 2015. Portico. <http://dx.doi.org/10.1038/bonekey.2015.59>.
11. CAVALIERI, ERCOLE et al. Catechol estrogen quinones as initiators of breast and other human cancers: Implications for biomarkers of susceptibility and cancer prevention. *Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Reviews On Cancer*, Estados Unidos, v. 1766, n. 1, p.63-78, ago. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbcan.2006.03.001>.
12. FOULKES, WILLIAM D. et al (Ed.). Triple-Negative Breast Cancer. *New England Journal Of Medicine*, Londres, v. 20, n. 363, p.1938-1948, 11 nov. 2010. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmra1001389>.
13. MALLA, RAMA RAO et al. A perspective on the diagnostics, prognostics, and therapeutics of microRNAs of triple-negative breast cancer. *Iupab*, India, v. 1, n. 1, p.1-8, 7 fev. 2019. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s12551-019-00503-8>.
14. NELSON, DAVID L.; COX, MICHEL M. *Princípios de Bioquímica de Lehnger*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1220 p.
15. ABU-REMAILEH, M; AQEILAN, R I. Tumor suppressor WWOX regulates glucose metabolism via HIF1 $\alpha$  modulation. *Cell Death & Differentiation*, Ohio, v. 21, n. 11, p.1805-1814, 11 jul. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/cdd.2014.95>.
16. GARBER, KEN. Energy Deregulation: Licensing Tumors to Grow. *Science*, Michigan, v. 312, n. 1, p.1158-1159, 26 maio 2006. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.312.5777.1158>.
17. COURTNEY, RUPERT et al. Cancer metabolism and the Warburg effect: the role of HIF-1 and PI3K. *Molecular Biology Reports*, Melbourne, v. 42, n. 4, p.841-851, 18 fev. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-015-3858-x>.
18. XU, XIAO-YU et al. Bioactivity, Health Benefits, and Related Molecular Mechanisms of Curcumin: Current Progress, Challenges, and Perspectives. *Nutrients*, China, v. 10, n. 10, p.2-33, 19 out. 2018. DOI: [10.3390/nu10101553](https://doi.org/10.3390/nu10101553).
19. AHMAD, A. et al. Phosphoglucose Isomerase/Autocrine Motility Factor Mediates Epithelial-Mesenchymal Transition Regulated by miR-200 in Breast Cancer Cells. *Cancer Research*, Estados Unidos, v. 71, n. 9, p.3400-3409, 9 mar. 2011. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-10-0965>.
20. KIM, JUNG-WHAN; DANG, CHI V. Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *Trends In Biochemical Sciences*, Estados Unidos, v. 30, n. 3, p.142-150, mar. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2005.01.005>.
21. CARSON, JAMES A.; BALTGALVIS, KRISTEN A. Interleukin 6 as a Key Regulator of Muscle Mass during Cachexia. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, v. 38, n. 4, p.168-176, out. 2010. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/jes.0b013e3181f44f11>.
22. GREENBERG, ANDREW S. et al. Interleukin 6 Reduces Lipoprotein Lipase Activity in Adipose Tissue of Mice in Vivo and in 3T3-L1 Adipocytes: A Possible Role for Interleukin 6 in Cancer Cachexia. *Cancer Research*, Washington, v. 52, n. 1, p.4113-4116, 01

ago. 1992.

23. MAROOF, HAMIDREZA et al. the Immune Response Against *Lactobacillus Acidophilus* Could Modulate Breast Cancer in Murine Model. *Journal of Clinical Immunology*, Janzan, v. 32, n. 6, p.1353-1359, 19 jun. 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10875-012-9708-x>.

24. LOUMAYE, AUDREY; THISSEN, Jean-paul. Biomarkers of cancer cachexia. *Clinical Biochemistry*, v. 50, n. 1, p.1281-1288, 26 abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.07.011>.

25. BOHLEN, JOSEPH et al. Dysregulation of metabolic-associated pathways in muscle of breast cancer patients: preclinical evaluation of interleukin-15 targeting fatigue. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, Morgantown, v. 9, n. 4, p.701-714, 26 mars. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcsm.12294>.

26. TISDALE, MICHAEL J. Mechanisms of Cancer Cachexia. *Physiological Reviews*, v. 89, n. 2, p.381-410, abr. 2009. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00016.2008>.

27. ESCHER, PASCAL; WAHLI, WALTER. Peroxisome proliferator-activated receptors: insight into multiple cellular functions. *Fundamental and Molecular Mechanisms Of Mutagenesis*, Lausanne, v. 440, n. 2000, p.121-138, 17 dez. 1999. DOI: 10.1016/S0027-5107(99)00231-6.

28. PATEL, HETAL J.; PATEL, BHOMIKA M. TNF- $\alpha$  and cancer cachexia: Molecular insights and clinical implications. *Life Sciences*, Gujarat, v. 170, p.56-63, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2016.11.033>.

29. CAMARGO, RODOLFO GONZALEZ. Papel de via de sinalização NF-kB na inflamação do tecido adiposo subcutâneo de pacientes com caquexia associado ao câncer. 2012. 75 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biomedicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

30. RODRIGUES, ADRIANA; ALMEIDA, HENRIQUE; GOUVEIA, ALEXANDRA. Obesidade: O Papel das Melanocortinas na regulação da Homeostasia Energética Obesity: the role of melanocortins in the regulation of energy homeostasis. *Revista Portuguesa de Endocrinologia*, Porto, v. 1, n. 1, p.76-86, 01 jan. 2011.

31. ORLOVA, ZHANNA et al. IKK $\epsilon$  regulates the breast cancer stem cell phenotype. *Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Molecular Cell Research*, Mé-

xico, v. 1866, n. 4, p.598-611, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2019.01.002>.

32. AL, CHENG et al. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer*, Taiwan, v. 2, n. 1, p.895-900, 21 ago. 2001.

33. MCDONALD, J. T. et al. Ionizing Radiation Activates the Nrf2 Antioxidant Response. *Cancer Research*, Los Angeles, v. 70, n. 21, p.8886-8895, 12 out. 2010. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-10-0171>.

34. CORIAT, R. et al. Sorafenib-Induced Hepatocellular Carcinoma Cell Death Depends on Reactive Oxygen Species Production In Vitro and In Vivo. *Molecular Cancer Therapeutics*, França, v. 11, n. 10, p.2284-2293, 17 ago. 2012. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1535-7163.mct-12-0093>.

35. BEATRICE; LABORATORY, SAMUEL A. SEAVER. Production of Large Amounts of Hydrogen Peroxide by Human Tumor Cells. *Cancer Research*, Nova Iorque, v. 51, n. 1, p.794-798, 1 fev. 1991. <http://cancerres.aacrjournals.org/content/canres/51/3/794.full.pdf>.

36. C.B, SIMONE et al. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, Part 2. *Send To Altern Ther Health Med*, Lawrenceville, v. 13, n. 2, p.7-40, 01 abr. 2007. [Original Reserch, drsimone.com/Antioxidants Part I.pdf](http://OriginalReserch.drsimone.com/Antioxidants_Part_I.pdf).

37. FUJISAWA, SEIICHIRO; KADOMA, YOSHINORI. Anti- and Pro-oxidant Effects of Oxidized Quercetin, Curcumin or Curcumin-related Compounds with Thiols or Ascorbate as Measured by the Induction Period Method. *In Vivo*, Tokyo, v. 20, n. 1, p.39-44, 17 out. 2005. <http://iv.iarjournals.org/content/20/1/39.long>.

38. JAVVADI, P. et al. The Chemopreventive Agent Curcumin Is a Potent Radiosensitizer of Human Cervical Tumor Cells via Increased Reactive Oxygen Species Production and Overactivation of the Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway. *Molecular Pharmacology*, Philadelphia, v. 73, n. 5, p.1491-1501, 1 fev. 2008. DOI: 10.1124/mol.107.043554.

39. ADIWIDJAJA, JEFFRY; MCLACHLAN, ANDREW J.; BODDY, ALAN V. Curcumin as a clinically-promising anti-cancer agent: pharmacokinetics and drug interactions. *Expert Opinion On Drug Me-*

tabolism & Toxicology, Australia, v. 13, n. 9, p.953-972, 10 ago. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/17425255.2017.1360279>.

40. MOSS, RALPH W. Do Antioxidants Interfere With Radiation Therapy for Cancer? Integrative Cancer Therapies, [s.l.], v. 6, n. 3, p.281-292, set. 2007. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1534735407305655>.

41. LÄÄKÄRIKESKUS, KRUNUHAAN et al. Treatment with antioxidant and other nutrients in combination with chemotherapy and irradiation in patients with small-cell lung cancer. Anticancer Res, Helsinki, v. 12, n. 3, p.599-606, 01 maio 1992. PubMed, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1320355>.

42. RYAN, JULIE L. et al. Curcumin for Radiation Dermatitis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial of Thirty Breast Cancer Patients. Radiation Research, New Iorque, v. 180, n. 1, p.34-43, jul. 2013. Radiation Research Society. <http://dx.doi.org/10.1667/rr3255.1>.

43. GALATI, GIUSEPPE et al. Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics. Toxicology, Londres, v. 177, n. 2002, p.91-104, jan. 2002. DOI: 10.1016/S0300-483X(02)00198-1.

44. BACHMEIER, BEATRICE E. et al. The Chemopreventive Polyphenol Curcumin Prevents Hematogenous Breast Cancer Metastases in Immunodeficient Mice. Cell Physiol Biochem, Milão, v. 19, n. 1, p.137-152, 21 nov. 2006. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000099202>.

45. KELLOFF, GARY J. et al. Progress in Cancer Chemoprevention. Annals Of The New York Academy Of Sciences, California, v. 889, n. 1, p.1-13, out. 1999. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb08718.x Cited by: 79.

46. TAN, SURYANI et al. The degradation of curcuminoids in a human faecal fermentation model. International Journal Of Food Sciences And Nutrition, Parma, v. 66, n. 7, p.790-796, 3 out. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2015.1095865>.

47. HATCHER, H. et al. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. Cellular And Molecular Life Sciences, Winston-salem, v. 65, n. 11, p.1631-1652, 7 mar. 2008. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-008-7452-4>.

48. SINGH, SANJAYA; AGGARWAL, BHARAT B. Activation of Transcription Factor NF-κB Is Sup-

pressed by Curcumin (Diferuloylmethane). Journal Of Biological Chemistry, Texas, v. 270, n. 42, p.24995-25000, 13 jul. 1995. American Society for Biochemistry & Molecular Biology (ASBMB). <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.270.42.24995>.

49. HEJAZI, JALAL et al. Effect of Curcumin Supplementation During Radiotherapy on Oxidative Status of Patients with Prostate Cancer: A Double Blinded, Randomized, Placebo-Controlled Study. Nutrition And Cancer, Taylor, v. 68, n. 1, p.77-85, 2 jan. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/01635581.2016.1115527>.

50. PONTUAL, YASMIN DE OLIVEIRA. Avaliação dos polimorfismos do gene ABCB1 associados a fatores clínicos como preditores da tuberculose-resistente. 2017. 82 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 2017.

51. GARCEA, G et al. Detection of curcumin and its metabolites in hepatic tissue and portal blood of patients following oral administration. British Journal Of Cancer, [s.l.], v. 90, n. 5, p.1011-1015, mar. 2004. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6601623>.

52. SHOBA, GUIDO et al. Influence of Piperine on the Pharmacokinetics of Curcumin in Animals and Human Volunteers. Planta Medica, Bangalore, v. 64, n. 04, p.353-356, maio 1998. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-957450>.

53. RANJBAR, SHEYDA et al. Emerging Roles of Probiotics in Prevention and Treatment of Breast Cancer: A Comprehensive Review of Their Therapeutic Potential. Nutrition And Cancer, Tehran, v. 71, n. 1, p.1-12, 2 jan. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/01635581.2018.1557221>.

54. XIN, XIAOHUA et al. Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  Ligands Are Potent Inhibitors of Angiogenesis in Vitro and in Vivo. The Journal Of Biological Chemistry, California, v. 274, n. 3, p.9116-9121, 25 nov. 1998. American Society for Biochemistry & Molecular Biology (ASBMB). <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.274.13.9116>.

55. RH, ADIRAREDDY; SG, VEMURI; UM, PALEMPALLI. Probiotic Conjugated Linoleic Acid Mediated Apoptosis in Breast Cancer Cells by Down-regulation of NFκB. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, Andhra Pradesh, v. 17, n. 59, p.3395-3403, 07 jul. 2016. DOI: 10.14456/apjcp.2016.107/APJCP.2016.17.7.3395.

56. LANDETE, JOSÉ MARÍA et al. Probiotic Bacteria for Healthier Aging: Immunomodulation and Metabolism of Phytoestrogens. *Biomed Research International*, Madrid, v. 2017, p.1-10, 2017. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2017/5939818>.
57. PETRIDOU, ANATOLI; MOUGIOS, VASILIS; SAGREDOS, ANGELOS. Supplementation with CLA: Isomer incorporation into serum lipids and effect on body fat of women. *Lipids*, [s.l.], v. 38, n. 8, p.805-811, ago. 2003. DOI: 10.1007/s11745-003-1129-2.
58. MCCARTY, M. F. Activation of PPARgamma may mediate a portion of the anticancer activity of conjugated linoleic acid. *Ideal*, San Diego, v. 1, n. 1, p.187-188, 17 mar. 2000. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1054/mehy.1999.1010>.
59. KIM, EUN JI et al. Conjugated Linoleic Acid Downregulates Insulin-Like Growth Factor-I Receptor Levels in HT-29 Human Colon Cancer Cells. *The Journal Of Nutrition*, [s.l.], v. 133, n. 8, p.2675-2681, 1 ago. 2003. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jn/133.8.2675>.
60. ARAGÓN, FÉLIX et al. Inhibition of Growth and Metastasis of Breast Cancer in Mice by Milk Fermented With *Lactobacillus casei* CRL 431. *Immunotherapy Journal*, San Miguel, v. 38, n. 5, p.185-196, 05 jun. 2015. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/cji.0000000000000079>.
61. MIGLIETTA, ANTONELLA et al. Conjugated linoleic acid induces apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells through ERK/MAPK signalling and mitochondrial pathway. *Cancer Letters*, Turin, v. 234, n. 1, p.149-157, 20 mar. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2005.03.029>.
62. BRAISSANT, OLIVIER; WAHLI, Walter. Differential Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$ , - $\beta$ , and - $\gamma$  during Rat Embryonic Development. *Endocrinology*, Lausanne, v. 139, n. 6, p.2748-2754, 1 jun. 1998. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/endo.139.6.6049>.
63. TISDALE, MICHAEL J. Mechanisms of Cancer Cachexia. *Physiological Reviews*, Birmingham, v. 89, n. 2, p.381-410, abr. 2009. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00016.2008>.
64. LEMBERGER, THOMAS; DESVERGNE, BEATRICE; WAHLI, WALTER. PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTORS: A Nuclear Receptor Signaling Pathway in Lipid Physiology. *Cell Dev*, [s.i.], v. 12, n. 1, p.336-363, 09. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.cellbio.12.1.335>.
65. KADIRAREDDY, RASHMI HOLUR; GHANTAVEMURI, SUJANA; PALEMPALLI, MAHESWARI DEVI. Probiotic Conjugated Linoleic Acid Mediated Apoptosis in Breast Cancer Cells by Downregulation of NF-kB. *Asian Pac J Cancer Prev*, Andhra Pradesh, v. 17, n. 7, p.3395-3403, 01 jan. 2016. DOI: 10.14456/apjcp.2016.107/APJCP.2016.17.7.3395.
66. MAGGIORA, MARINA et al. An overview of the effect of linoleic and conjugated-linoleic acids on the growth of several human tumor cell lines. *International Journal Of Cancer*, [s.l.], v. 112, n. 6, p.909-919, 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.20519>.
67. YAZDI, MOHAMMAD HOSSEIN et al. Oral administration of *Lactobacillus acidophilus* induces IL-12 production in spleen cell culture of BALB/c mice bearing transplanted breast tumour. *British Journal Of Nutrition*, Tehran, v. 104, n. 02, p.227-232, 2 mar. 2010. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0007114510000516>.
68. WYKE, S M; RUSSELL, S T; TISDALE, M J. Induction of proteasome expression in skeletal muscle is attenuated by inhibitors of NF- $\kappa$ B activation. *British Journal Of Cancer*, Birmingham, v. 91, n. 9, p.1742-1750, 12 out. 2004. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6602165>.
69. ZAMBERI, NUR RIZI et al. The Antimetastatic and Antiangiogenesis Effects of Kefir Water on Murine Breast Cancer Cells. *Integrative Cancer Therapies*, Malaysia, v. 15, n. 4, p.53-66, 26 jul. 2016. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1534735416642862>.
70. CHEN, CHUJIAN; CHAN, HING MAN; KUBOW, STAN. KEFIR. Extracts Suppress In Vitro Proliferation of Estrogen-Dependent Human Breast Cancer Cells but Not Normal Mammary Epithelial Cells. *Journal of Medicinal Food*, China, v. 10, n. 3, p.416-422, set. 2007. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2006.236>.
71. ARAGÓN, FÉLIX et al. The administration of milk fermented by the probiotic *Lactobacillus Casei* CRL 431 exerts an immunomodulatory effect against a breast tumour in a mouse modelo *Immunobiology*, Argentina, v. 219, n. 6, p.457-464, jun. 2014.



**Artigo Original**

# O USO DO LASER INFRAVERMELHO E AROMATERAPIA NA CICATRIZ HIPERTRÓFICA PÓS ABDOMINOPLASTIA ASSOCIADO A MASSAGEM CYRIAX

**Autores: Alexandra Batista<sup>1</sup>, Danielle do Nascimento<sup>1</sup>, Joanny Kamara<sup>1</sup>, Marjorie Telles<sup>1</sup>, Raquel Xavier<sup>1</sup>, Rosane Moraes<sup>2</sup>, Luciana Almeida Ferreira<sup>3,A</sup>**

<sup>1</sup>Acadêmicas do Curso Superior de Tecnologia de Estética e Cosmética da UNIGRANRIO. <sup>2</sup>Tecnóloga em Estética e Cosmética. <sup>3</sup>Professora Especialista e Orientadora do Curso Superior de Tecnologia de Estética e Cosmética da UNIGRANRIO.

## Informações do artigo

Palavras Chave:  
Cirurgia plástica;  
Infravermelho;  
Aromaterapia; Massagem  
Cyriax.

## Resumo

As cicatrizes hipertróficas são desordens fibroproliferativas em que há deposição excessiva de proteínas da matriz extracelular. A cirurgia plástica visa a reconstituição ou correção de uma parte do corpo humano por razões médicas ou estéticas. A abdominoplastia é a cirurgia realizada para remoção de excesso de pele, gordura do abdômen e reposicionar os músculos e paredes abdominais. Podendo ocasionar intercorrências como edemas, seromas, hematomas, equimoses, e alteração de sensibilidade, assim como sequelas, podendo surgir cicatrizes hipertróficas e queloidianas. O presente estudo de caso tem como objetivo analisar o comportamento da pele, utilizando o laser infravermelho que consegue remodelamento variável do colágeno na derme, neste espectro da luz, o cromóforo principal é a água, associados aos O.E sempre viva e O.E rosa mosqueta, que tem por finalidade promover um turnover celular, sendo assim para potencializar o efeito, foi utilizado a técnica de Massagem Cyriax, com o intuito de distensibilizar a cicatriz.

## Article ID

Keywords:  
Plastic surgery; Infra-red;  
Aromatherapy; Cyriax  
massage.

## Abstract

Hypertrophic scars are fibroproliferative disorders in which there is excessive deposition of extracellular matrix proteins. Plastic surgery aims at the reconstitution or correction of a human body part for medical or aesthetic reasons. Tummy tuck is the surgery performed to remove excess skin, fat

<sup>A</sup>Autor correspondente:

Luciana de Almeida Ferreira – e-mail: [luciana.ferreira@unigranrio.edu.br](mailto:luciana.ferreira@unigranrio.edu.br) – ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1925-4628>  
- Endereço: Rua Dr. Barros Junior, 1911 bl. 01 Ap. 311- Jardim Esplanada- Nova Iguaçu- cep: 26015-081/ Rio de Janeiro.

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.65> - Artigo recebido em: 09 de agosto de 2019 ; aceito em 05 de agosto de 2019 ; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br). Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

from the abdomen and reposition the muscles and abdominal walls. May cause complications such as edema, seroma, bruising, bruising, and alteration of sensitivity, as well as sequelae, and may appear hypertrophic and keloid scars. This case study aims to analyze the skin behavior, using the infrared laser that achieves variable collagen remodeling in the dermis, in this spectrum of light, the main chromophore is water, associated with the always alive EO and rose hip EO, which Its purpose is to promote a cellular turnover, so to potentiate the effect, the Cyriax Massage technique was used to distensibilize the scar.

## Introdução

Nos últimos anos a cirurgia plástica tem crescido no Brasil, estudos realizados pela Sociedade Internacional de Cirurgia Plástica e estética (ISAPS), constatou um aumento de 5% no total de procedimento cirúrgico no país. Com isso avanços tecnológicos foram trazendo inovações para as técnicas e alguns cirurgões foram se tornando referência no mercado como Ivo Pitanguy, (MARTIRE, L, Jr., 2008). Na busca pelo corpo perfeito, a cirurgia plástica se tornou um dos procedimentos mais procurados para reparos e tratar alterações de pele e paredes musculares, (BOZOLA,R. 2003).

### Abdominoplastia

A abdominoplastia é uma intervenção cirúrgica que realiza reparos na região do abdômen, por meio da remoção de gordura localizada, estrias e flacidez, (MAUAD, 2008).

Através de uma incisão supra púbica com transposição do umbigo e com costura dos músculos reto-abdominais. (GOLCMAN, R., 2003).

Existem vários tipos de abdominoplastia, que são escolhidos para cada paciente principalmente pelo tamanho do abdômen e quantidade de excesso de pele. (Bonzola;2003). Dentre eles podemos citar: clássica, mini Tummytuck, abdominoplastia circular, midi abdominoplastia, abdominoplastia vertical, lipo abdominoplastia, (ANTUNES, M., 2008).

Como todo procedimento cirúrgico, a abdominoplastia tem alguns riscos de complicações dentre eles; hematomas e seromas, cicatrizes hipertróficas e queiloideanas, retrações infecções, necroses, (SILVA, 2012).

### Cicatrização

Após uma lesão tecidual, um processo de reparo dinâmico, interativo e complexo se instala para a formação de uma cicatriz, (WEISMANN, 2005). A cicatrização de uma ferida não é um fenômeno isolado, mas uma serie complexa de eventos biológicos, (WEISMANN, 2005).

Stanley e Richard In O'Sullivan e Schmitz, 2004, afirmam que a cicatriz ocorre quando uma lesão envolve tecidos mais profundos do que a epiderme. Desta forma, a cicatrização ocorrerá toda vez que a perda de tecido for além da derme, dividindo-se em três fases:

A fase inflamatória, que é a preparação da ferida para a cicatrização, ocorre até 72 horas, está fase é fundamental ao processo de cura e engloba todos os sinais flogísticos da inflamação como eritema, edema, calor, dor e diminuição da amplitude de movimento, (STANLEY,2004).

A fase proliferativa é marcada pela repitelização da superfície da ferida e migração e proliferação dos fibroblastos a níveis mais profundos,o colágeno é depositado aleatoriamente e junto com este, forma-se o tecido de granulação que por sua vez é composto por novos vasos sanguíneos que trazem suprimento para a área da ferida. Esta fase tem duração de 6 dias a 3 semanas, (STANLEY;2004).

A fase reparadora tem início por volta da 3ªsemana após o ferimento e se estende por até dois anos, dependendo do grau, extensão e local da lesão, esta, a força tênsil da cicatriz é aumentada, (ABREU; MARQUES in JORGE; DANTAS, 2003).

O reparo de lesões é um esforço nos tecidos para restaurar a função e estruturas normais, porém vários fatores interferem na cicatrização como infecção, idade, desnutrição, sendo também que a deficiência de proteínas e vitamina C afeta a síntese de colágeno, (Moriya, 2008).

Além destes fatores acima citados, a existência de



doenças de base, como diabetes, alterações cardiocirculatórias e de coagulação, aterosclerose, disfunção renal, quadros infecciosos sistêmicos e uso de drogas sistêmicas dificultam ainda mais a cicatrização, (MANDELBAUM, 2003).

### **Cicatriz Hipertrófica**

As cicatrizes hipertróficas são desordens fibroproliferativas em que há deposição excessiva de proteínas da matriz extracelular, (PICCOLO, 2008).

Entretanto, para Piccolo et al. In Lima Jr., 2008, cicatrizes anormais podem se desenvolver, determinando alterações psicossociais estressantes, uma vez que podem ser esteticamente desfigurantes, com limitações funcionais, e apresentar sintomatologia exuberante.

Além disso, sistemas biológicos complexos, incluindo o bioquímico, metabólico e imunológico, parecem estar implicados na formação de cicatrizes anormais, (PICCOLO, 2008).

Segundo Piccolo et al. In Lima Jr. et al. (2008) relata que:

“Cicatrizes Hipertróficas são desordens fibroproliferativas características da raça humana, em que há deposição excessiva de proteínas da matriz extracelular após processos inflamatórios, traumas. Estas apresentam as mesmas fases do processo normal de cicatrização, entretanto têm a evolução temporal mais prolongada e a retração cicatricial mais importante do que a observada em cicatrizes não hipertróficas.”

As cicatrizes são tipicamente elevadas, de coloração vermelha, pruriginosas, endurecidas, dolorosas, confinadas aos limites originais da lesão, começam a se desenvolver em 6 a 8 semanas após a epitelização, e sofrem regressão, pelo menos parcialmente e ainda que tardia, em 12 a 24 meses após o final do processo de cicatrização, (PICCOLO et al. IN LIMA JR. et al., 2008).

Vale salientar que fatores neurogênicos também estão presentes na cicatriz hipertrófica, a mesma é frequentemente caracterizada por sintoma de dor, esse fenômeno deve-se ao fato de as cicatrizes hipertróficas possuírem maior densidade de filetes nervosos que as cicatrizes normais, (ZHANG; LAATO, 2001).

### **Laser infravermelho**

De acordo com Agne, 2009, considera-se laser de

baixa potência os inferiores a 50 mW, com luz no espectro vermelho visível ou no espectro infravermelho (não visível).

No entanto, sabe-se que o laser não somente bioestimula, mas também bioinibe e biomodula os processos de regeneração, (AGNE, 2009).

O laser terapêutico é uma forma de fototerapia que envolve a aplicação de luz monocromática e coerente de baixa energia em vários tipos de lesões, ANDRADE, LIMA E ALBUQUERQUE, 2010).

A aplicação do laser diretamente sobre a cicatriz favorece a formação do tecido de granulação e interfere no metabolismo dos fibroblastos na região da lesão, (PINTO, 2007).

A fototermólise provoca degradação do colágeno e apoptose dos fibroblastos com subsequente redução da espessura da cicatriz, eritema, prurido e dor, (PES-TANA, GABRIEL E SAMPAIO, 2011).

A laser terapia no espectro infravermelho contribui para o tratamento da cicatriz hipertrófica pois aumenta a absorção de metabólicos pela alteração na permeabilidade na membrana plasmática das células, (ELLES, 2004).

A Luz infravermelha consegue remodelamento variável do colágeno na derme, neste espectro da luz, o cromóforo principal é a água, quanto maior o comprimento de onda, maior a afinidade com a água. Quanto maior a fluência, maior a liberação de calor e desnaturação das proteínas, (ELLES, 2004).

O mecanismo de sinalização intracelular causados pela interação da luz infravermelha, com o Citocromo C oxidase da molécula do fotorreceptor no metabolismo, com isso, proporciona relação entre as ações da luz vermelha e infravermelha no metabolismo mitocondrial in vitro e in vivo (ELLES, 2004). O autor propõe que a fotobioestimulação por radiação vermelha e infravermelha representa um método terapêutico inovador e não invasivo para tratamentos de lesões teciduais.

### **Massagem Cyriax**

A Massagem Cyriax é o método de massagem transversa profunda, trata-se de uma técnica aplicada transversalmente com o objetivo de manter ou restabelecer a mobilidade normal em uma estrutura atingida, ou retomar a função (GOMES, DR., 2001).

A pressão contínua e profunda nos tecidos causa lesão local, liberando uma substância similar a hista-

mina, e outros metabólicos atuando diretamente nos capilares e arteríolas, causando uma vasodilatação, a resposta irá depender da manipulação, profundidade e duração da aplicação, a vasodilatação promove um aumento do líquido tecidual da área, (GOMES, Dr, 2001).

O movimento produz uma inflamação da área alvo e ao mesmo tempo mobiliza as estruturas que não estava tendo uma boa mobilidade, (GOMES, Dr, 2001).

Este método é realizado de forma transversa ao tecido, promovendo relaxamento e prevenindo aderência cicatricial, (GUIRRO E, GUIRRO R., 2007).

A massagem de fricção transversa profunda (MFTP), é utilizada com excelência no estado agudo, uma das funções da técnica é organizar o colágeno em uma forma longitudinal evitando aderência e causando analgesia imediata, (WERLANG, M., 2006).

A sessão pode ter durabilidade de 3 a 20 min dependendo do limiar de dor do paciente (LOPES et al., 2013). Massagem transversa profunda, rompe aderências, possibilitando o aumento na maleabilidade tecidual e ganho de funcionalidade de acordo com Werlang, M, 2009.

### **Aromaterapia**

O termo aromaterapia foi introduzido por René Maurice de Gatefossé, químico francês, em 1964, (PRICE, 1999).

Aromaterapia é a arte e a ciência de usar óleos de plantas em tratamento dos desequilíbrios, através dos aromas, é considerada medicina natural, alternativa, preventiva e curativa, (PRICE, 1999).

Os principais métodos usados são: a inalação, o banho aromático e a aplicação. Segundo Corazza, 2002: “Os aromas constituem o nosso contato mais íntimo com a natureza e têm o poder de nos predispor ao sono, ao repouso, ao estado de alerta, à criatividade, à irritabilidade e à criação, dentre outros, pois o olfato é o mais antigo e talvez o mais desconhecido dentre os sentidos desenvolvidos pelo homem.”

As substâncias odoríferas desprendem partículas que são carregadas pelo ar, e estimulam as células nervosas olfativas; este estímulo é suficiente para desencadear outras reações, entre elas a ativação do sistema límbico, ou seja, da área cerebral responsável pela olfação, memória e emoção. Desta forma, os processos de cura da aromaterapia, (ANJOS, TRETRA-

ZINI, M.R., 1996).

Há uma variedade de fatores que ajudam a determinar a eficácia do tratamento aromaterápico. Dentre elas estão: a qualidade dos óleos essenciais, os métodos de aplicação, o conhecimento do aromaterapeuta, e as diversas precauções a serem tomadas (GRACE, K., 1999).

### **Óleos vegetais**

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária os óleos vegetais e gorduras vegetais são definidos como “produtos constituídos principalmente de glicerídeos de ácidos graxos de espécie(s) vegetal (is), (ANVISA, 2005, p.2).

Podem conter pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídios, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo ou na gordura”, (ANVISA, 2005, p.2).

O óleo pode ser o principal produto comercial das oleaginosas como: Palma, Rosa Mosqueta, Prímula, Andiroba, Oliva, Mamona, Linhaça, cártamo e Ginkgo Biloba, Girassol ou então poder ser considerado um subproduto da produção de farelo, fibras e sementes, como é o caso do milho, arroz, algodão e soja, (FREITAS, 2007).

Óleo Vegetal de Rosa Mosqueta (*Rosa aff. rubiginosa*), pertence ao gênero *Rosa*, da família *Rosaceae*, e possui aproximadamente 70 espécies diferentes de todo o mundo, (DOGAN A., 2006). Originária da área do mediterrâneo e da Europa central, foi trazida para a América do Sul pelos colonizadores espanhóis, e cresce na região Sul e Central do Chile, (EGGERS, 2000). Os ácidos graxos têm uma função estrutural, formando parte dos fosfolipídios das membranas celulares nos tecidos do organismo, sendo os precursores de prostaglandinas e leucotrienos da síntese do ácido araquidônico, (FUNCK LG, 2006. PAREJA B., 1996).

Já os fosfolipídios intervêm em diversos processos metabólicos tais como no processo de ativo de fosforilação, na mitose e organização celular e nos intercâmbios iônicos, o que confere ao óleo de rosa mosqueta um alto potencial no tratamento de feridas e cicatrização tecidual, (PAREJA B., 1996; GODOY, 2005.) Atua na síntese de prostaglandina, atuando nos processos fisiológicos e bioquímicos relacionados a formação do tecido epitelial. Por tanto, possui ação regeneradora dos tecidos, cicatrizantes, hidratante e emolientes,

(GODOY, 2005).

### Óleos essenciais

As plantas aromáticas, bem como os respectivos OE, são utilizadas desde o início da história da humanidade para saborizar comidas e bebidas, disfarçar odores desagradáveis; atrair outros indivíduos e controlar problemas sanitários, contribuindo também para a comunicação entre os indivíduos e influenciando o bem-estar dos seres humanos e animais, demonstrando assim uma antiga tradição sociocultural e socioeconômica da utilização destes produtos, (FRANZ, 2010).

Os óleos essenciais apresentam diferentes propriedades biológicas, como a ação larvicida, antioxidante, ação analgésica e anti-inflamatória, fungicida, antitumoral, (SILVA, 2008). Os *Helichryums* são plantas arbustivas perenes da família *Asteraceae* conhecidas pelos nomes de Sempre Viva (*Everlasting Flower*) e flor imortal (*Immortelle*), (LUCAS G.C., 2012).

O Óleo Essencial de Sempre Viva, e suas Itali-

dionais são potentes estimulantes da regeneração da matriz extracelular, reduzindo rugas e cicatrizes, e diminui visivelmente a intensidade da cor de machas escuras da pele, (PEREIRA PB, 2012). Contém altos níveis de acetato de Nerila, outro composto responsável pelo suporte inigualável deste OE na reconstrução de tecidos. Esse componente também possui efeitos relaxantes que reduzem a tensão dos tecidos contribuindo para a redução da formação de rugas, (BATTAGLIA, 2004).

O objetivo deste estudo de caso em análise, é relatar a ação do infravermelho, juntamente com o uso do óleo vegetal de Rosa Mosqueta, óleo essencial Sempre Viva, e Massagem Cyriax, explorando as principais alterações em relação a cicatriz hipertrófica. Iremos acompanhar o desenvolvimento do tratamento estimulando-se respostas positivas na regressão da aparência da cicatriz. Espera-se que este estudo sirva de base para novas descobertas que abordem para a Estética no tratamento de cicatrizes, respostas favoráveis em relação a regeneração da pele, relacionados a cicatrizes hipertróficas com aparência inestética.

ATIVO	MECANISMO DE AÇÃO
O.E TEA TREE	Atua na pele como Antisséptico, antifúngico, analgésico e cicatrizante.
O.E SEMPRE VIVA	Possui níveis altos de acetato de merilla, este composto é responsável pelo suporte deste OE na reconstrução de tecido. Possui efeitos relaxantes reduzindo a tensão dos tecidos, contribuindo na reparação tecidual.
O.V ROSA MOSQUETA	Tem capacidade de regenerar os tecidos, conservando-o. Possui ação regeneradora dos tecidos, clareadora, cicatrizante e emoliente.

**Fonte:** Elaborado pelo autor.

### Metodologia

A modelo voluntária do sexo feminino M. T, 34 anos, submeteu-se a uma cirurgia plástica de abdominoplastia, após completar 1 mês e 15 dias de pós-operatório, começou expelir pontos na cicatriz umbilical, ocasionado por um processo inflamatório e deiscência na região, tendo como resultado uma cicatriz hipertrófica. A paciente iniciou o tratamento com 3 meses de pós-operatório, com uma cicatriz recente. Os protocolos foram realizados 2x por semana, totalizando 8 sessões, na clínica Escola da Universidade Unigranrio, localizada em Rua Professor José de Souza Herdy, 1160 – Jardim 25 de Agosto, Duque de Caxias – Rj, 25071-202. Foi utilizado como método de avaliação,

paquímetro para medição, instrumento de precisão das medidas, divididas em duas formas, comprimento em 2,9cm, largura superior da cicatriz umbilical em 0,5cm e largura inferior da cicatriz umbilical em 0,5cm. No aparelho celular “Iphone 6s” para registro fotográfico. Como recurso eletroterápico o Laser no espectro infravermelho, da Empresa Elite, com o nome técnico de Sistema a Laser de Múltiplo Uso em Estética, com o número de série 2224. Associado a aromaterapia com O.E e O.V da Empresa Laszlo, na diluição de 10% de O.E Sempre Viva (60 gotas), para 15 ml de O.V Rosa Mosqueta. E técnica de massagem Cyriax. Foi elaborado o seguinte protocolo:

Passo 1: Higienização com Loção Antisséptico Hidrossol de Tea Tree por 5’.

Passo 2: Laser Infravermelho Parâmetros: 2 J/cm<sup>2</sup> de acordo com o fototipo 4 Dose: 2.0 Tempo: 5’.

Passo 3: Sinergia com Óleo Vegetal de Rosa Mosqueta, E Óleo Essencial Sempre Viva por 10'.

Passo 4: Massagem Cyriax por 10'.

Passo 5: Finalizar com o Laser Infravermelho por mais 5'.

Home Care foi indicado a paciente o uso da Sinergia de O.V de rosa mosqueta com O.E de Sempre viva, todos os dias, 2x após o banho.

## Discussão/resultado

A abdominoplastia é uma intervenção cirúrgica que realiza reparos na região do abdômen, por meio da remoção de gordura localizada, estrias e flacidez, (MAUAD, 2008). No entanto, sabe-se que o laser não somente bioestimula, mas também bioinibe e biomodula os processos de regeneração, (AGNE, 2009). A proposta do protocolo executado foi realizar a melhora do quadro da cicatriz hipertrófica. Nas primeiras 2 sessões, foi relatado pela modelo voluntária, um desconforto e dor em relação a massagem Cyriax, por

tanto, modificamos a sequência, utilizando a sinergia dos O.V E O.E antes da massagem Cyriax, com o objetivo de diminuir o desconforto. Houve modificações estruturais como aumento do relevo, similar a glóbulo cheio de ar elevando a superfície da cicatriz, hiperemia acentuada, cicatriz endurecida e com pontos nodulares rígidos e escuros.

Da 3ª a 4ª sessão, houve modificações em relação a textura da pele na cicatriz, diminuição de hiperemia e em outros pontos mais acentuados, tecido mais fino, e redução de volume. Na 5ª sessão houve descaiação durante a massagem Cyriax, e o clareamento em alguns pontos.

Da 6ª a 8ª sessão, foi observado hiperemia local, a melhora da qualidade da pele, maleabilidade e diminuição dos pontos de tensões. A modelo relatou que após a mudança da sequência, não sentiu mais desconfortos durante a realização da massagem Cyriax, e que sentiu mais maleabilidade ao realizar seu Home Care. Relatou que houve uma melhora, porém que deveria dar continuidade ao tratamento.



Figura 1: 2ª sessão



Figura 2: 4ª sessão

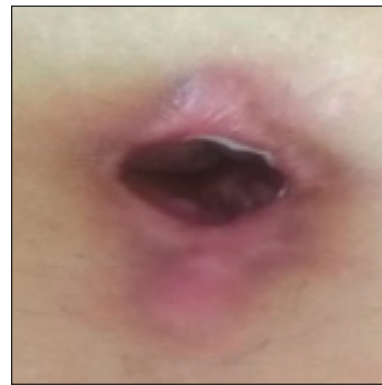


Figura 3: Resultado final

## Conclusão

Conclui-se que o estudo de caso teve um resultado satisfatório, chegando a um percentual de 50% no progresso do quadro. Em relação a hipertrofia, houve uma redução no relevo, textura, nódulos e melhora da qualidade da pele. Porém, esteticamente não obtivemos evolução do quadro da aparência inestética da cicatriz. Constatamos que, para obter o resultado mais efetivo, sugerimos a realização de mais sessões, e associações a outros recursos estéticos.

## Bibliografia

- ANTUNES, M. M.; DOMINGUES, C. A. **As principais alterações posturais em decorrência das cicatrizes de cirurgias plásticas**. Com. Ciência Saúde. v. 4, p. 509-517, 2008.
- ANJOS, TRETRAZINI, M.R, **Curando com Aromaterapia**, 1996. P 8-10
- AVELAR JM. **Uma nova técnica de abdominoplastia: sistema vascular fechado de retalho subdérmico dobrado sobre si mesmo combinado com**



**lipoaspiração.** Rev Bras Cir. 1999;88/89(1/6):3-20.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA, 2005, p.2).

AFONSO, ELLEN CRISTINA MACHADO RODRIGUES. **Laser de baixa potência, um forte aliado ao tratamento cicatricial da úlcera de pressão em pacientes hospitalizados.** 1998, (5-8).

ATHENEU, PRUDENTE. **referência à importância da conservação do umbigo.** 2005. (4-13).

BAROUDI R, FERREIRA CA. **Seroma: how to avoid it and how to treat it.** Aesthet Surg J. 1998;18(6):439-41.

BRAGANÇA PAULISTA 2015. <http://lyceumonline.usf.edu.br/salavirtual/documentos/2650.pdf>.

BAROUDI & FERREIRA. **evolução da abdominoplastia.** 1998, (1-11).

BORGES, 2006. **Dermato funcional, laserterapia.** 2006 (110-119).

BORGES. **Fisioterapia dermato-funcional, eletrotermofototerapia-pós graduação,** junho/2006 - Universidade Gama Filho - Laser pp 90-103.

BOZOLA. **A busca pelo corpo perfeito,** Maio, 2005. (1-8).

CANDIDO, Luiz C. **Nova Abordagem no tratamento de feridas.** Biblioteca Virtual em Saúde. São Paulo: Editora SENAC, 2001. <http://bases.bireme.br/cgi/wxislind.exe/iah/online/>

CALLIA, processo de cicatrização. 1992 (5-12).

COSTA LF, MANTA AM, FRANÇA AS, CAVALCANTE HA, NAHON M. **Abdominoplastia vertical modificada em pacientes ex-obesos.** Rev Soc Bras Cir Plást. 2003;18(3):67-74.

FAZIO MJ, ZITELLI JA, GOSLEN JB. **Cicatrização de feridas.** In: Coleman III WP, Hanke CW, Alt TH, Asken S. Cirurgia Cosmética - Princípios e Técnicas. 2.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2000:18-23.

GOLCMAN, R; GOLCMAN, B. **Abdominoplastias com cicatrizes reduzidas.** In: Mélega, JM. Cirurgia plástica fundamentos e artes: cirurgia estética. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. p. 625- 628. 4.

GOMES, DR - **Massagem Cyriax transversa.** 2001. (1-4).

GUIRRO, E. C. & GUIRRO, R. R. J. **fisioterapia Dermato - Funcional - Fundamentos, Recursos e patologias.** 2001. Ed. Manole 3ª Ed. revisada e ampliada. pp380.

GUIRRO E, GUIRRO R - **Manobras de massagem cyriax transversa.** 2001. (2-9).

ILLOUZ IG. **Une nouvelle technique pour les**

**lipodystrophies localisées.** Rev Chir Esth Franc. 1980;6:10-2.

JAIMOVICH CA, MAZZARONE F, PARRA JFN, PITANGUY I. **Semiologia da parede abdominal: seu valor no planejamento das abdominoplastias.** Rev Soc Bras Cir Plást. 1999;14(3):21-50.

LAGE RR. IN: **Uma nova opção de abdominoplastia pós-cirurgia bariátrica. In: XII Jornada Mineira de Cirurgia Plástica, III Simpósio de Abdominoplastia;** 2003 Out 16-18; Araxá, MG, Brasil.

L COSTA, A MANTA, A FRANÇA, H CAVALCANTE - **Revista Brasileira,** 2001 - [rbcp.org.br](http://rbcp.org.br) acesso realizado 01/05/219

LUCAS GC, et al (2012) **Indian clove essential oil in the control of tomato bacterial spot.** Journal of Plant Pathology, v. 94, p. 45-51.

MAUAD, RAUL. **Estética e Cirurgia Plástica: Tratamento no pré e pós-operatório.** Prefácio DE Ivo Pitanguy. 3ª Ed. São Paulo: Senac, 2008.

MARQUES, A. L. **Avaliação histológica do reparo tecidual de feridas após o uso da laserterapia de baixa potência (GaAs) em camundongos.** 2012. 94 p.

MAGNO C, ÁVILA D, MATTAR C, RUIZ R, WARD M. **Uso do tamoxifeno no tratamento de quelóides.** Rev Fac Ciênc Méd Sorocaba. 2006;8(4):18-24.

MOREIRA, FLÁVIA FONSECA ET AL. **Lasertapia de baixa intensidade na expressão de colágeno após lesão muscular cirúrgica.** Fisioterapia e Pesquisa, v. 18, n. 1, p. 37-42, 2011. <http://www.revistas.usp.br/fpusp/article/view/12233/0>.

NOVELINO AL. **Principais características das cicatrizes queloidianas.** Rev Bras Dermatol. 2004 nov./dez.;9(2):38-56. Referências em Saúde Faculdade Estácio de Sá de Goiás (RRS - FESGO), Vol. 1, No 1 (2018)

PEREIRA RB, ET AL. **Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants.** Ciência e Agrotecnologia, v.35, p.115-123, 2011.

PEREIRA RB, ET AL. **Citronella essential oil in the control and activation of coffee plants defense response against rust and brown eye spot.** Ciência e Agrotecnologia, v.36, p. 383-390, 2012.

PERINA FJ, ET AL. **Essential oils and whole milk in the control of soybean powdery mildew.** Ciência Ruralv. 43, p. 1938-1944, 2013.

PITANGUY I. **Contour surgery in the patient with great weight loss.** Aesthetic Plast Surg.

2000;24(6):406-11 artigo publicado,2001 Acesso realizado dia 03/04/2019,21:18.

PITANGUY, 1967. **O reforço musculo aponeurótico por plicatura horizontal das bainhas dos músculos reto-abdominais na linha média.** (5-9)

PRICE. **A arte da aromaterapia.** 1999, pp 1-5

PONTES, E . S. **Técnica de abdominoplastia com incisão prévia do excesso cutâneo-adiposo.** 1969. (3-9)

REVISTA MINEIRA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE. Patos de Minas: UNIPAM, v. 3, p. 35-42, 2011.

ROZWALKA, L.C. **Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de 63 Glomerella cingulata e Colletotrichum gloeosporioides de frutos de goiaba.** Ciência Rural v.38, p. 301-307, 2008.

SINDER R. **Cirurgia plástica: abdominoplastia.** São Paulo: Atheneu; 2005. p. 621-45

SCHWANESTRADA, K.R.F. **Potencial de extrato e óleos essenciais de vegetais como indutores de resistência: plantas medicinais.** In: II Reunião brasileira sobre indução de resistência em plantas contra fitopatógenos, São Pedro. Anais. São Pedro: USP 2003. p. 147. 2003.

SORIANO, M.C.D., PÉREZ, S.C., BAQUÉS, M.I.C. **Electroestética Profesional Aplicada – Teoria y Prática para la Utilización de Corrientes en Estética** – Sorisa -Espanha -2000.pp262-274

TEIXEIRA, G.A. **Essential oils on the control of stem and ear rot in maize.** Ciência Rural v.43, p.1945-1951, 2013.

VIEIRA, A., SOUZA, J. L. **Boa postura: uma preocupação com a estética, a moral ou a saúde?** Movimento, v. 15, n. 1, p. 145-165, 2009.

WERLANG, M. **Tratamento com massagem transversa profunda** – Cyriax. 2007 (4-9).



**Artigo Original**

# **PRIMEIRA GERAÇÃO DE FITO PEPTÍDEOS DE CÚRCUMA LONGA MAIS BLEND DE NUTRIENTES ASSOCIADOS A CARBOXITERAPIA PARA O TRATAMENTO DE ALOPECIA ANDROGENÉTICA MASCULINA**

**Autores: Daylaine Rocha<sup>1</sup>, Edna Costa<sup>1</sup>, Letícia Nascimento<sup>1</sup>, Pamela Caroline<sup>1</sup>, Stephanie Oliveira<sup>1</sup>, Nattan Fernandes<sup>2</sup>, Luciana de Almeida Ferreira<sup>3,A</sup>**

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso Superior de Tecnologia de Estética e Cosmética da Universidade UNIGRANRIO. <sup>2</sup>Tecnólogo em Estética e Cosmética. <sup>3</sup>Professora assistente e orientadora do Curso Superior de Tecnologia de Estética e Cosmética da Universidade UNIGRANRIO.

## **Informações do artigo**

Palavras Chave:  
Alopecia Androgenética;  
Capilia longa<sup>®</sup>;  
Carboxiterapia.

## **Resumo**

Nos dias atuais, o mercado de estética vem expandindo suas áreas e aprimorando suas técnicas. Uma dessas áreas que vem ganhando força nesse ramo é a terapia capilar que previne e trata as disfunções do couro cabeludo, na busca de minimizar agressões externas e reparar eventuais desequilíbrios fisiológicos. Dentre as disfunções do couro cabeludo podemos citar a Alopecia Androgenética que segundo Banka N, et al (2013) e Olsen EA et al (2003) é quando ocorre miniaturização folicular e encurtamento da duração da fase anágena dos fios acometidos, obtendo como consequência o aumento do número de fios telógenos, resultando em fios mais finos. Trata-se de uma condição hereditária e andrógeno-dependente. O presente estudo de caso associou o uso do ativo inovador Capilia Longa<sup>®</sup> cuja a ação é reativar o crescimento e reduzir a queda reiniciando e nutrindo o folículo capilar, integrado ao uso da carboxiterapia que é uma técnica, onde se utiliza o gás carbônico medicinal (dióxido de carbono ou CO<sub>2</sub>) injetado no tecido intra-dérmico, estimulando os efeitos fisiológicos, como a melhora da circulação e oxigenação tecidual. O presente estudo de caso tem por objetivo avaliar os efeitos da carboxiterapia associado ao ativo capilia longa como resposta para o crescimento e fortalecimento dos fios da fase anágena na alopecia androgenética masculina.

<sup>A</sup>Autor correspondente:

Luciana de Almeida Ferreira - e-mail: [luciana.ferreira@unigranrio.edu.br](mailto:luciana.ferreira@unigranrio.edu.br) - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1925-4628>  
- Endereço: Rua Dr. Barros Junior, 1911 bl. 01 Ap. 311- Jardim Esplanada- Nova Iguaçu- cep: 26015-081/ Rio de janeiro.

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.73> - Artigo recebido em: 09 de agosto de 2019 ; aceito em 15 de agosto de 2019; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br). Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

## Article ID

### Keywords:

Androgenetic  
Alopecia; Long capilia®;  
Carboxitherapy.

## Abstract

Now a days, the aesthetics market has been expanding its areas and improving its techniques. One of these areas that is gaining strength in this area is the hair therapy that prevents and treats dysfunctions of the scalp, in the pursuit of minimizing external aggressions and repairing possible physiological imbalances. According to Banka N, et al (2013) Olsen EA et al. (2003), there is follicular miniaturization and shortening of the duration of the anagen phase of the affected wires, resulting in increased number of telogen strands, resulting in finer wires. It is a hereditary and androgen-dependent condition. The present case study associated the use of the innovative Capilia Longa® active whose action is to reactivate the growth and to reduce the fall restarting and nourishing the hair follicle, integrated to the use of the carboxitherapy that is a technique, where the medical carbonic gas is used (carbon dioxide or CO<sub>2</sub>) injected into the intradermal tissue, stimulating the physiological effects, such as improved circulation and tissue oxygenation. The present case study aims to evaluate the effects of carboxytherapy associated with long capillary as a response for the growth and strengthening of the anagen phase strands in male androgenetic alopecia.

## Introdução

A alopecia androgenética (AAG) é provavelmente a forma mais comum de perda de cabelo em pacientes do sexo masculino e idade mais avançada. Apesar de também atingir mulheres de uma forma menos característica, a prevalência no sexo feminino é menor, e o diagnóstico, mais difícil (NORWOOD, 2000).

De acordo com Geneser, 2003 o folículo do pelo está localizado na derme e é constituído por: bainhas radiculares interna e externa, derivadas da epiderme; membrana vítrea, que corresponde à membrana basal, e bainha dérmica, onde há condensação de fibras colágenas. A bainha radicular externa corresponde aos estratos basal e espinhoso da epiderme, e a bainha radicular interna, aos estratos granuloso e córneo. A bainha radicular interna é dividida em: camada de Henle, que é a mais externa e contém células cúbicas ou pavimentosas; camada de Huxley, formada por células pavimentosas com grânulos de trico-hialina, e cutícula, de escamas queratinizadas (queratina mole), sobrepostas, que faceiam o pelo. Fixado à bainha dérmica e à derme papilar, há o músculo eretor do pelo, de músculo liso.

No folículo piloso em fase de crescimento, a porção terminal expandida corresponde ao bulbo piloso. Ele é constituído pela papila dérmica, de tecido con-

juntivo frouxo e recobrido-a, pela matriz, de células epidérmicas. A proliferação dessas células origina as bainhas radiculares e o pelo. (ROSS et al., 2012).

Em um corte transversal do pelo mostra três camadas concêntricas de células queratinizadas: a medula, o córtex e a cutícula. A medula consiste em queratina mole, e o córtex e a cutícula contêm queratina dura. Esta apresenta mais ligações de cistina e dissulfeto do que a queratina mole, é compacta e não descamada. Pelos mais finos não possuem a medula. A cor do pelo é resultante da melanina nas células do córtex, fornecida pelos melanócitos localizados na matriz. As escamas da cutícula do pelo estão sobrepostas, e suas bordas livres, direcionadas para cima, apõem-se as bordas livres das escamas da cutícula da bainha radicular interna, que estão apontadas para baixo. (HAM et al., 1983).

As glândulas sebáceas são abundantes no couro cabeludo e ausentes na palma das mãos e na planta dos pés. Situam-se na derme. São glândulas exócrinas alveolares ramificadas holócrinas. Possuem um ducto curto, de epitélio estratificado pavimentoso, que desemboca no folículo piloso. Em algumas áreas do corpo, sem pelos, as glândulas sebáceas abrem-se diretamente na superfície epidérmica. (GARTNER et al., 2007).

Segundo Pereira, 2001 o folículo piloso possui três

fases, a fase Anágena, Catágena e Telógena.

### **Fase anágena**

É a fase de crescimento da matriz, os ceratinócitos da matriz se proliferam rapidamente, com maior taxa de crescimento comparada com outras regiões do folículo. São células pluripotentes porque se diferenciam em membrana interna do pêlo, cutícula, córtex e medula. O folículo anágeno penetra mais profundamente na pele, no nível do subcutâneo. A duração da fase anágena no couro cabeludo é de 2 a 6 anos. (DAWBER; et al 1996).

### **Fase catágena**

No fim da anágena o folículo sofre uma série de alterações morfológicas e moleculares associadas à morte celular programada (apoptose da célula). Os melanócitos da matriz interrompem a produção da melanina, reabsorvem seus dendritos e evoluem para apoptose. Os ceratinócitos param abruptamente de crescer e o folículo mais inferior regride e involui. A membrana de tecido conectivo se torna espessada. A papila folicular vai descansar no fundo da porção permanente do folículo piloso e lá permanece durante a fase telógena. O tempo de duração desta fase é de duas a três semanas (PEREIRA, 2001).

### **Fase telógena**

Nesta fase a matriz para de proliferar gradualmente, fica muito mais lenta e, em seguida, cessa completamente. A matriz descola-se em sentido da superfície da pele. A membrana vítrea enrugada e engrossa, ocorre à perda da bainha externa do folículo por apoptose (morte programada da célula) e a bainha externa se afina e passa a envolver o pelo totalmente. O folículo torna-se uma estrutura de âncora para o desenvolvimento de um novo folículo, o bulbo continua a sua ascensão até a superfície, pressionado por outro, logo abaixo, em fase anágena (PEREIRA, 2001).

### **Alopecia**

É um termo genético que significa a perda total ou parcial de pelos ou cabelos de uma região. É uma alteração dermatológica que afeta os folículos pilosos e sua etiologia ainda não está totalmente

esclarecida (REBELO, 2015). Existem várias causas e denominações para as alopecias, onde parte pode ser associada a alterações sistêmicas, dermatológicas e emocionais. A queda capilar pode ser gradativa ou rápida (WIELEWSKI et al., 2011). De acordo com Sucar et al., (2002) entre os tipos mais comuns de alopecia estão a areata e androgenética. Segundo Trüeb RM (2002) A alopecia androgenética é a mais comum, afeta ambos os sexos, não sendo considerada uma doença e sim uma manifestação fisiológica que ocorre em indivíduos geneticamente predispostos levando a “queda dos cabelos” e à miniaturização folicular progressiva com conversão de fios terminais em velos (finos, curtos e raramente pigmentados). A herança genética pode vir do lado paterno ou materno, mas os genes determinantes ainda não são conhecidos. (KRAUSE K; et al 2006; WEIDE A, 2009).

### **Alopecia Androgenética**

Clinicamente, a alopecia androgenética pode ser descrita como o resultado da redução gradual do folículo piloso e alteração da dinâmica do ciclo do cabelo. Ao longo do tempo, a duração da fase anagênica diminui enquanto a duração da fase telogênica aumenta. (Ellis JA et al., 2002). Sendo a duração da fase anagênica o principal determinante do comprimento do cabelo, o comprimento máximo do novo cabelo será mais curto do que o do seu antecessor (Ellis JA et al., 2002). Eventualmente, esta fase irá ter uma duração tão curta que o cabelo emergente não consegue alcançar a superfície da pele. O período de latência entre o cabelo telogênico e a nova fase anagênica torna-se mais longo, o que conduz a uma redução no número de cabelos presentes no couro cabeludo (ELLIS et al., 2002).

A redução folicular que acompanha estas mudanças de ciclo do cabelo afeta o cabelo de modo geral, compreendendo a papila, a matriz e a haste do cabelo, conduzindo à passagem de um cabelo Terminal para um cabelo Velo. (ELLIS et al., 2002; BLUMEYER et al., 2011).

### **Alopecia Androgenética Masculina**

A alopecia androgenética masculina inicia-se frequentemente após a puberdade com recessão bitemporal simétrica, evoluindo com acometimento do vértex, com progressão variável. Os sinais precoces

de calvície podem ser vistos em meninos com a faixa etária entre 15 a 17 anos em 14% dos casos. (TRANCIK et al., 2001).

A alopecia androgênica é resultado da estimulação dos folículos pilosos por hormônios masculinos que começam a ser produzidos na adolescência (testosterona). Ao atingir o couro cabeludo de pacientes com tendência genética para a calvície, a testosterona sofre a ação de uma enzima, a 5-alfa-redutase, e é transformada em diidrotestosterona (DHT). É a DHT que vai agir sobre os folículos pilosos promovendo a sua diminuição progressiva a cada ciclo de crescimento dos cabelos, que vão se tornando menores e mais finos. Isso se deve à degeneração basofílica no terço inferior da bainha dos folículos anágenos. A destruição do tecido conectivo é responsável pela irreversibilidade do processo. O resultado final deste processo de diminuição e afinamento dos fios de cabelo é a calvície. Em resumo, ocorre o encurtamento da fase anágena, afinamento dos cabelos, duração aumentada da fase de repouso e diminuição da taxa de crescimento linear dos cabelos mais finos (AVRAM et al., 2008; SITTART et al., 2007).

A incidência da alopecia androgênica é de cerca de 30% dos homens com mais de 30 anos e mais de 50% dos homens com mais de 50 anos (AVRAM et al., 2008).

### Influência Androgênica

Um modo de herança poligênica tem sido estabelecido na AAG. Esses genes podem determinar a idade de início, a progressão, a padronização e a gravidade da AAG. A hipermetilação do DNA, em determinadas regiões do gene promotor, bloqueia a maquinaria de transcrição do gene e, portanto, impede a expressão do mesmo, enquanto os genes promotores hipometilados se envolvem com a maquinaria de transcrição para promover são genéticas (MARÇON et al., 2015).

A demetilação parcial de promotores, que surge estocasticamente com a idade e com os efeitos do meio ambiente, leva mudanças súbitas na expressão dos genes, sendo estas hereditárias. Na calvície, as diferenças na sensibilidade e expressão do gene receptor de andrógenos entre vértice e região occipital podem ser contabilizadas pelos diferentes padrões de metilação do gene, levando a sua susceptibilidade específica de cada região para miniaturização (MARÇON et al.,

2015).

A primeira publicação que “linkou” a genética com a AAG foi a descoberta de uma associação significativa a um particular polimorfismo de um único nucleotídeo no 1º éxon do receptor de andrógenos. Esse polimorfismo específico está presente em quase 100% dos homens calvos (jovens e mais velhos), mas também é encontrado em uma porção significativa de homens mais velhos não afetados pela calvície, sugerindo que é essencial, mas não suficiente, para o desenvolvimento da AAG em homens (MARÇON et al., 2015).

Hoje, testes genéticos para AAG são baseados na genotipagem do polimorfismo não funcional do nucleotídeo do 1º éxon do receptor de andrógenos, que tem sido repetidamente associado a AAG. O gene do receptor de andrógenos está localizado no cromossomo X e os homens herdaram da mãe. Esse achado confirma que há uma influência materna na calvície masculina, não explicando a contribuição genética do pai. A identificação de novos genes de susceptibilidade nos cromossomos 3q26 e 20p11 sugere um caminho andrógeno-independente que ainda precisa ser elucidado (MARÇON et al., 2015).

### Capilia Longa®

Capilia Longa® é a primeira geração de peptídeos de plantas, desenvolvido através de um processo capaz de identificar, produzir e concentrar os fitopeptídeos otimizados do secretome, que constitui a totalidade de moléculas secretadas pelas células totipotentes, do rizoma da *Curcuma longa* (GALENA, 2016). A *Curcuma longa* é uma planta tropical e subtropical rica em curcuminoides, seu rizoma é altamente ramificado, cilíndrico e de cor laranja (GALENA, 2016). Existem inúmeros estudos científicos demonstrando seu potencial na medicina, com propriedades antioxidante, anti-inflamatória, cicatrizante, antimicrobiana, protetora do DNA, entre outras (GALENA, 2016). Devido à presença dos peptídeos sinalizadores obtidos da *Curcuma longa* e um blend de nutrientes, a Capilia Longa® reativa o crescimento e reduz a queda reiniciando e nutrindo o folículo capilar (GALENA, 2016).

### Oligoelementos (Mg, Fe, Zn, Cu, Ca)

**Mg:** O magnésio é um importante ativador de

muitos sistemas enzimáticos, na transferência do fósforo, na contração muscular e na transmissão nervosa, sendo essencial para a estabilização estrutural dos ácidos nucleicos (FRANCO, 2009).

**Fe:** É componente de inúmeras proteínas, incluindo enzimas e hemoglobina, sendo esta última de grande importância para o transporte de oxigênio para os tecidos (ANDREWS et al., 1998; YIP et al., 1998).

**Zn:** Se revelou um potente inibidor da atividade da enzima 5-alfa-redutase quando usado em concentrações de 3 ou 9 mmol/l. já, em altas concentrações, este mineral, se mostrou capaz, até mesmo, de inibir completamente a atividade desta enzima (STAMATIADIS D et al., 1988).

**Cu:** É integrante de uma série de importantes enzimas, as cuproenzimas, tanto como cofator quanto como componente alostérico, algumas das quais são fundamentais à vida e à sobrevivência das células (LINDER, 1996).

**Ca:** Está envolvido em inúmeras funções, como divisão celular, contração dos músculos, secreção de hormônios e coagulação sanguínea. A homeostase do cálcio é regulada pela ação de células cálcio-sensíveis, as quais modulam a produção de hormônios que atuam no esqueleto, no intestino e nos rins (FAVUS et al., 2008).

**Aminoácidos essenciais:** (Metionina, Cisteína, Prolina)

**Metionina:** É um aminoácido essencial necessário para o crescimento e desenvolvimento normal. Desempenha papel essencial na síntese proteica, reação de metilação, síntese de poliaminas e é um aminoácido precursor da cisteína. A quantidade de metionina na alimentação é influenciada pela oferta de cistina. Esses aminoácidos sulfurados interagem, e uma menor oferta de metionina pode ser observada quando se oferece cistina (HIRAMATSU T et al, 1994). O catabolismo da metionina está intimamente relacionado com o metabolismo de homocisteína. Nesse sentido, a alimentação com baixo teor proteico e baixa oferta de metionina reduz os níveis plasmáticos de homocisteína. (DEMINICE R et al., 2009).

**Cisteína:** Atua como precursora da síntese de glutatona. A cisteína é um antioxidante não enzimático, que previne a peroxidação lipídica, com a habilidade de penetrar as membranas celulares (BILODEAU et al., 2001).

**Prolina:** Baseado em PHANG (2001) a prolina têm como funções metabólicas, formar prolina para a síntese protéica, para a gliconeogênese hepática e para a síntese de ornitina e de arginina. Ela também é um constituinte do plasma humano.

#### **Vitaminas (C, B1, B2, B3, B6, B8, B9)**

**C:** É uma importante substância antioxidante para o organismo, e uma das suas principais funções é de cofator para a formação e manutenção do colágeno (SPINOSA, 2006).

**B1:** É importante na transformação de carboidratos em lipídeos e participa diretamente na excitação dos nervos periféricos (SPINOSA, 2006).

**B2:** Atua no metabolismo energético e tem função essencial nas reações de oxidação em todas as células do organismo, para liberação de energia. É importante também no metabolismo de aminoácidos, ácidos graxos e carboidratos (SPINOSA, 2006).

**B3:** Esta vitamina é um importante constituinte de duas coenzimas do organismo, a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP), importantes sistemas enzimáticos necessários para a respiração celular, processo que ocorre nas mitocôndrias (SPINOSA, 2006).

**B6:** Atua na forma de coenzimas como o fosfato piridoxal e o fosfato piridoxamina, as quais têm papel fundamental em muitas funções fisiológicas do organismo, como no metabolismo de proteínas, gorduras e carboidratos. Esta vitamina é importante, também, para o metabolismo de aminoácidos (SPINOSA, 2006). Potencializa o efeito inibitório do zinco (STAMATIADIS D et al., 1988).

**B8:** A biotina é essencial no processo de queratinização, ou seja, para a formação e integridade dos tecidos queratinizados (pele, pelos e unhas) (SPINOSA, 2006).

**B9:** Esta vitamina é importante na formação de purinas e pirimidinas necessárias para a biossíntese de ácidos nucleicos (DNA e RNA), os quais são essenciais para a reprodução e divisão celular (SPINOSA, 2006).

O ácido fólico tem função essencial como vitamina antianemia, pois participa da formação do grupo heme (proteína que contém ferro e está presente na hemoglobina), além de ser importante como fator de crescimento animal e na formação dos aminoácidos



tirosina, ácido glutâmico e metionina, dentre outras funções (SPINOSA, 2006).

A metionina e cisteína são alguns dos exemplos de aminoácidos usados na formação da queratina (Collin C et al; 2006). As vitaminas do complexo B e C tem um papel importante na formação da queratina e auxiliam o suporte nutricional do crescimento do cabelo (SAWAYA ME et al; 2000).

A Capilia Longa® age nos fatores chaves para o crescimento adequado do bulbo capilar e equilíbrio do ciclo de crescimento do cabelo, conforme esquema abaixo.

Os fatores epigenéticos miRNA são pequenos RNAs não-codificantes que controlam a expressão de alguns genes, como o miRNA-31 e miRNA-22 podendo ser alvos para o controle da queda capilar (GALENA, 2016).

O miRNA-31 está relacionado com a fase anágena, previne a entrada do fio capilar para a fase catágena, promove diferenciação celular durante o crescimento capilar, síntese de queratina estrutural e modula a vascularização folicular. Já o miRNA-22 é relacionado com a fase catágena e telógena, apresentando efeitos contrários ao miRNA-31 (GALENA, 2016).

Outro fator chave na manutenção do fio capilar é o fator de crescimento IGF-1, responsável por manter o fio capilar na fase anágena e o desenvolvimento do folículo capilar (GALENA, 2016).

Contribui para promover energia para o crescimento e fortalecimento do fio capilar na fase anágena (GALENA, 2016).

### **Carboxiterapia**

Segundo Carvalho ACO et al., 2005, uma das causas da alopecia androgenética, a redução da irrigação sanguínea ao nível do bulbo capilar, a carboxiterapia é, atualmente, um recurso bastante indicado para o seu tratamento. A carboxiterapia, é uma técnica onde se utiliza o gás carbônico medicinal injetado no tecido intradérmico, estimulando efeitos fisiológicos como a melhora da circulação e oxigenação tecidual. (CARVALHO ACO et al., 2005).

O CO<sub>2</sub> é um gás inodoro, incolor, atóxico e presente em nosso organismo, como intermediário do metabolismo celular (BORGES FS et al., 2008).

O CO<sub>2</sub> administrado no tecido celular subcutâneo, através de agulhas, provoca um enfisema subcutâneo, proporcionando um descolamento da pele deste lo-

cal, sem traumas vasculares ou neurológicos, porém isso é suficiente para aumentar o fluxo sanguíneo em tecidos isquêmicos e a concentração de oxigênio no local devido à ação do CO<sub>2</sub>. O enfisema subcutâneo é absorvido em poucos minutos e uma intensa hipermia pode ser visualizada e sensação de calor no local (CARVALHO et al 2006; COSTA et al., 2011).

Segundo (CARVALHO et al., 2005; WORTHINGTON, et al., 2006). A afinidade do O<sub>2</sub> com a hemoglobina é alterada pelo pH, pois a acidez estimula a liberação de oxigênio, portanto na presença de dióxido de carbono esta afinidade é diminuída. Na presença de níveis altos de CO<sub>2</sub> nos tecidos ou nos capilares próximos a eles, favorece a liberação de oxigênio da hemoglobina, disponibilizando mais oxigênio às células, assim originando o efeito Bohr. Quando utilizado como método terapêutico, o CO<sub>2</sub> excedente é eliminado do organismo por mecanismos fisiológicos via respiração ou pelos rins na forma de íons hidrogênio (H<sup>+</sup>) ou íons bicarbonato (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). O que favorece o metabolismo dos tecidos da região a ser tratada.

Segundo (BORGES, 2010) nesta técnica há o trauma mecânico causado pela agulha e o provocado pelo gás. Devido à lesão provocada, a resposta inflamatória é imediata e atua com o objetivo de destruir o agente agressor e esta, por sua vez, desencadeia uma série de eventos bioquímicos e fisiológicos. A vasodilatação acarreta na neoangiogênese, estimulando a formação de novos fibroblastos, elastoblastos e angioblastos, com o objetivo de cicatrizar e reconstruir o tecido lesado. Devido a reparação tecidual aumenta o aporte sanguíneo, gerando assim o aumento da nutrição e oxigenação local. Esses efeitos estimulam o folículo piloso, resultando no crescimento de um fio mais firme e grosso (FILHO, 2011).

O objetivo desse estudo foi analisar a performance do ativo capilia longa® associado a carboxiterapia para potencializar a nutrição folicular e aumentar a oxigenação local a fim de minimizar a queda de cabelo e estimular o crescimento de novos fios.

### **Metodologia**

O modelo do sexo masculino C. H., 31 anos, relatou que sofre com a queda capilar há cerca de 7 anos e que fez uso de minoxidil, mas suspendeu pois não obteve sucesso. Na anamnese foi identificadas falhas mais evidentes na região frontal e moderadas na região de parietais, deixando o couro cabeludo expos-

to. Foram utilizados a inspeção visual, avaliação com microscopia eletrônica que possui uma capacidade de aumento de 250x no capilar (Estek-Tecnologia de produto), e fotos para anamnese. Por meio da avaliação realizada e informações colhidas, concluiu-se que o modelo sofre de AAG. Foi elaborado um protocolo personalizado 1 vez na semana, totalizando 8 sessões na Escola Técnica Objetivo, localizada na Rua Professor José de Souza Herdy, 564 – Jardim Vinte e Cinco de Agosto, Duque de Caxias – RJ, 25075-142. O recurso eletroterápico utilizado foi a carboxiterapia (marca WALMAC Equipamentos com o número de série 0012927), no seguinte parâmetro 240 ml/min, agulha 13X4,5 mm no ângulo de 5° (Carboxide Digital Portátil Control – Dermoplástica Anvisa nº

80389610005), associado ao cosmético inovador Capilia Longa® formulado em uma empresa de manipulação no Estado do Rio de Janeiro.

### Protocolo

Passo 1: Higienização do couro cabeludo com shampoo neutro associado a argila verde.

Passo 2: Uso da Carboxiterapia, 240 ml/min, agulha 13X4,5mm no ângulo de 5°.

Passo 3: Aplicação do sêrum com o ativo Capilia Longa® em toda área afetada pela disfunção (10 gotas).

Foi recomendado ao modelo o uso diário de um tônico com os mesmos ativos usados em cabine, porém com uma concentração menor (20 gotas).

COSMETOLOGIA APLICADA		
Shampoo Neutro	Lauril sulfato de sódio	Ação de detergência
Argila Verde	Oligoelementos	Esfoliante físico
Tônico Capilar	Oligoelementos (Mg, Fe, Zn, Cu, Ca)	Componente de inúmeras proteínas, integrante de importantes enzimas, antioxidante
	Aminoácidos (Metionina, Cisteína, Prolina)	Síntese proteica e ação antioxidantes
	Vitaminas (C, B1, B2, B3, B6, B8, B9)	Antioxidante, síntese de proteínas

### Discussão e Resultado

Clinicamente, a alopecia androgenética pode ser descrita como o resultado da redução gradual do folículo piloso e alteração da dinâmica do ciclo do cabelo. Ao longo do tempo, a duração da fase anagênica diminui enquanto a duração da fase telogênica aumenta. (ELLIS, et al., 2002).

Segundo Carvalho, et al., 2005, uma das causas da alopecia androgenética é a redução da irrigação sanguínea ao nível do bulbo capilar, a carboxiterapia é, atualmente, um recurso bastante indicado para o seu tratamento, pois é uma técnica onde se utiliza o gás carbônico medicinal injetado no tecido intradérmico, estimulando efeitos fisiológicos e melhorando a circulação e oxigenação tecidual.

No cliente foi observado o surgimento de novos fios, tendo um aumento na quantidade do cabelo. Na terceira sessão foi relatado e observado a diminuição da queda

do cabelo no momento da lavagem.

O participante mostrou-se satisfeito com o resultado, tendo observado a melhora no quadro com a diminuição da oleosidade, com o surgimento de novos fios, densidade dos fios e diminuição da queda capilar. Também relatou que fez uso do tônico home care em áreas com falha na barba e notou uma significativa melhora.

**Figura 1A e 1B.**

### Conclusão

Conclui-se que a associação do ativo inovador Capilia Longa® com a técnica de carboxiterapia apresentou ótimos resultados em relação a miniaturização folicular. O ativo atuou na modulação de genes que estimularam a proliferação de células na papila dérmica, reiniciando o crescimento do bulbo capilar e a carboxiterapia devido ao seu efeito bohr que resulta na máxima oxigenação para as células, assim aumentando a nutrição local.



**Figura 1.**

1ª sessão de carboxiterapia e Capilia Longa.  
Dia:05/04/2019.



**Figura 2.**

2ª sessão de carboxiterapia e Capilia Longa.  
Dia:05/06/2019.

## Referências

A. W.; CORMACK, D. H. **Histologia**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. p. 577

ANDREWS NC, BRIDGES RK. **Disorders of Iron Metabolism and Anemia Sideroblastic**. In: Nathan DG, Orkin SH (eds.) *Hematology of Infancy and Childhood*. 5.ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1998. p. 424-61.

AVRAM, MARC R.; TSAO, SANDY; TANNOUS, ZEINA; AVRAM, MATHEW M. **Atlas colorido de dermatologia estética**. Rio de Janeiro: Editora McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2008.

BANKA N, BUNAGAN JK, SHAPIRO J. **Pattern Hair Loss in Men: Diagnosis and Medical Treatment**. *Dermatologic Clinics*. 2013; 31: 129-140.

BILODEAU JF, BLANCHETTE S, GAGNON C, SIRAD MA. **Thiols prevent H2O2 mediated loss of sperm motility in cryopreserved bull semen**. *Theriogenology*, v.56, p.275-286, 2001.

BLUMEYER, A., TOSTI, A., et al. (2011) “**Evidence Based (s3) guideline for the treatment of Androgenetic alopecia in women and in men**”, *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 2011:1-36.

BORGES FS, SCORZA FA. **Carboxiterapia: Uma Revisão**. Bragança Paulista-SP. *Revista Fisioterapia Ser- Ano 3 (4) 2008*.

BORGES, FABIO DOS SANTOS. **Dermato funcional: modalidades terapêuticas nas Disfunções estéticas**. 2. Ed. São Paulo: phorte, 2010.

CAMILA; SERRÃO, CAMILLY FERNANDA; MOSER, DENISE KRUGER. **Análise comparativa de técnicas de massagem utilizadas em um protocolo de tratamento para queda capilar**. Disponível em: Acesso em: 28 abril 2019.53. Williams, I.R., Kupper, T.S. *Immunity at the surface: homeostatic mechanisms of the skin immune system*. *Life Sci.*, 58: 1485-1507, 1996.

CARVALHO ACO, ERAZO P, VIANA P C. **Carboxiterapia: revisão bibliográfica e novas indicações. Atualização em cirurgia Plástica Estética e Reconstructiva**, Editora Santa Isabel; São Paulo 2006: Cap.114; pag.893-900.

CARVALHO ACO, VIANA PC, ERAZO P. **Carboxiterapia – Nova Proposta para Rejuvenescimento Cutâneo**. In Yamaguchi C. *I Annual Meetin gof Aesthetic Procedures*. São Paulo: Santos, 2005: 575-79.

CHUONG, C.M., NICKOLOFF, B.J., ELIAS, P.M., GOLDSMITH, L.A., MACHER, E., MADERSON, P.A., SUNDBERG, J.P., TAGAMI, H., PLONKA, P.M. COSTA, C.S. **Avaliação Citométrica dos Adipócitos Localizados no Tecido Subcutâneo da Parede Anterior do Abdome Após Infiltração Percutânea de CO2**. *Ver. Col. Bras. Cir.* 2011; São Paulo 38(1): 015-023.

COLLIN, C., GAUTIER, B GAILLARD, O., et al. (2006) “**Protective effects of taurine on human hair follicle grown in vitro**”, *interntional Journal of Cosmetic Sciencie*, 28:289-298

DAWBBER, RODNEY; NESTE DOMINIQUE

- VAN. **Doenças dos cabelos e do couro cabeludo: sinais comuns de apresentação, diagnóstico diferencial e tratamento.** São Paulo: Manole, 1996, 261p.
- DEMINICE, R., PORTARI, G.V., MARCHINI, J.S., VANNUCCHI, H., JORDAO, A.A. **Effects of a Lowprotein diet on plasma amino acid and homocysteine levels and oxidative status in rats.** *Ann Nutr Metab* 2009; 54:2002-2.
- ECKES, B., KRIEG, T. **Regulation of connective tissue homeostasis in the skin by mechanical forces.** *Clin. Exp. Rheumatol.* 22: S73-6, 2004.
- ELLIS, JA. SINCLAIR, R. AND HARRAP, SB. (2002) **“Androgenetic alopecia: pathogenesis and potential for therapy”**, *Expert in Molecular Medicine*, 2002: 1462-3994.
- FAVUS MJ, GOLTZMAN D. **Regulation of calcium and magnesium.** In: Rosen CJ, Compston JE, Lian JB. **Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.** 7th ed. Washington, DC: American Society for Bone and Mineral Research; pp104-108, 2008.
- FILHO CBM. **Alopecia Androgenética Masculina: Revisão e a Atualização em Tratamentos.** Universidade Tuiuti do Paraná – Curitiba; 2011. [www.dermatologia.net](http://www.dermatologia.net)
- GARLE, M.J., FRY, J.R. **Sensory nerves, neurogenic inflammation and pain: missing components of alternative irritation strategies? A review and a potential strategy.** *Altern. Lab. Anim.*, 31: 295-316, 2003.
- GARLEER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de Histologia em cores.** 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. pp. 333-335.
- GENESER, F. **Histologia: com bases moleculares.** 3.ed. Buenos Aires: Médica Panamericana/ Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. pp. 356- 357
- GOODWIN, A.W., WHEAT, H.E. **Sensory signals in neural populations underlying tactile perception and manipulation.** *Annu. Rev. Neurosci.* 27: 53-77, 2004.
- HIRAMATSU, T., FUKAGAWA, N.K., MARCHINI, J.S., CORTIELLA, J., YU, Y.M., CHAPMAN, T.E., YOUNG, V.R., **Methionine and cysteine kinetics ant different intakes of cystine in healthy adult men.** *Am J Clin Nutr* 1994; 60:525-533.
- KOSTER, M.I., ROOP, D.R. **Genetic pathways required for epidermal morphogenesis.** *Eur. J. Cell Biol.*, 83: 625-629, 2004.
- KRAUSE K, FOITZIK K. **Biology of the hair follicle: the basics.** *Semin Cutan Med Surg.* 2006;25(1):2-10.
- KRUEGER, J.G., BOWCOCK, A. **Psoriasis pathophysiology: current concepts of pathogenesis.** *Ann. Rheum. Dis.*, 64: 30-36, 2005.
- LINDER, M.C., COPPER, I.E.E. **Present knowledge in nutrition.** 7. ed. Washington, DC: ILSI Press, 1996; pp.307-19.
- MARÇON, C., STEINER, D. **Dermatologia Estética.** São Paulo: ed Atheneu, 2015. 293p.
- MARSILI, C. **Carboxiterapia** – Sociedade Brasileira de Cirurgia e Medicina Plástica Estética – São Paulo, 2007.
- ME., SHAPIRO, J. **Alopecia: unapproved treatments of indication.** *Clinics in Dermatology*, 18:177-186. 2000.
- NORWOOD, O.T., LEHR, B. **Female androgenetic alopecia: a separate entity.** *Dermatol Surg.* 2000; 26(7): 679-82.
- OLSEN, E.A., FREEDBERG, I.M., EISEN, A.Z., WOLFF, K., AUSTEN, K.F., GOLDSMITH, L.A., KATZ, S.I., editors, **Fitzpatrick's: Dermatology in General Medicine.** 6ª edition. United States of America: McGraw-Hill; 2003. p. 633-6
- OSSS, M. H.; PAWLINA, W. **Histologia: texto e atlas, em correlação com Biologia Celular e molecular.** 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. p. 498.
- PEREIRA, J.M. **Propedêutica das doenças dos cabelos e do couro cabeludo.** São Paulo: Atheneu, 2001.
- PHANG, J.M., YET, G.C. and SCRIVER, C.R. **Disorders of proline and hydroxyproline Metabolismo.** In: SCRIVER, C.R., BEAUDET, A.L., SLY, W.S and VALLE, D. eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, McGraw-Hill, Inc., New York, 8ht Ed., pp1821-1838, 2001.
- REBELO, ANA SANTOS. **Novas estratégias para o tratamento da alopecia.** 2015. Disponível em: <http://recil.grupolusofona.pt/bitstream/handle/10437/6180/TESE%20FINAL.pdf?sequence=1>.
- ROBERTS, M.W., MATHIESEN, K.A., HO, H.S., WOLFE, B.M., **Cardiopulmonary responses to intravenous infusion of soluble and relatively insoluble gases.** *Surg Endosc.* 1997;11: 341-6.
- RYAN, T. **The ageing of the blood supply and the lymphatic drainage of the skin.** *Micron*, 35: 161-171, 2004.
- SITTART, JOSÉ ALEXANDRE DE SOUZA; PIRES, MÁRIO CEZAR. **Dermatologia na prática Mé-**



**dica.** São Paulo: Editora ROCA, 2007.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina veterinária.** 4. ed. Rio de Janeiro (Brasil): Guanabara Koogan S.A., 2006.736 p.

STAMATIADIS, D., BULTEAU-PORTOIS, M.C., MOWSZOWICZ, I. **British Journal of Dermatology**, 1998 Nov, 119 (5): 627-32.

SUCAR, D.D., SOUGEY, E.B., NETO, J.B., **Surto Psicótico Pela Possível Interação Medicamentosa De Sibutramina Com Finasterida.** Rev. Brasileira De Psiquiatria. São Paulo. Março 2002; vol.24(1): 30-33.

FUHLBRIGGE, R.C. **Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences.** Nat. Rev. Immunol. 4: 211-222, 2004.

TADELMANN, W.K., DIGENIS, A.G., TOBIN, G.R. **Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds.** Am. J. Surg., 176: 26S-38S, 1998.

TRANCIK, R.J., SPINDLE, R J.R., ROSE S. **Incidence of androgenetic alopecia in males 15-17 years of age.** Poster presented at 3rd Intercontinental Meeting of the Hair Research Societies, Tokyo, Japão. 2001; junho 13-15.

TRÜEB, R.M., **Molecular mechanisms of androgenetic alopecia.** Exp. Gerontol. 2002; 37(8-9): 981-90.

WEIDE A. A. **utilização da finasterida no tratamento da alopecia androgenética.** Rev. Da Graduação. Porto Alegre: Edipucrs, 2009; vol.2 (1)

WORTHINGTON, A., LOPEZ, J.C. **Carboxiterapia – Utilização do CO2 para Fins Estéticos.** In: Yamaguchi C. II Annual Meeting of Aesthetic Procedures. São Paulo: Santos, 2006:567-71.

YIP, R., DALLMAN, P.R., FILER, J.R. (eds.) **O Instituto Internacional de Ciencias de la Vida (ILSI).** Conocimientos actuales sobre nutrición.7.ed. Washington D.C.: OPS, 1998.



Original article

## MICROPLASTIC ABUNDANCE IN THREE COMMERCIAL FISH FROM THE COAST OF LIMA, PERU

Authors: Gabriel Enrique De-La-Torre, G.E.<sup>1,A</sup>, Diana Carolina Dioses-Salinas<sup>1</sup>, Barnaby Licinio Pérez-Baca<sup>1</sup>, Luis Santillán<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad San Ignacio de Loyola, Lima, Perú. <sup>2</sup>Peruvian Centre for Cetacean Research (CEPEC), Museo de los Delfines, Lima 20, Perú.

### Informações do artigo

Palavras Chave:  
Microplastic, Peru, fish

### Abstract

Microplastics (< 5 mm) are widespread within the marine environment, posing a major threat to marine biota. The aim of the present study was to investigate microplastic contamination in three widespread and highly commercial fish from the coast of Lima, Peru. Peruvian silverside (*Odonesthes regia*), Peruvian morwong (*Cheilodactylus variegatus*), and Peruvian grunt (*Anisotremus scapularis*) specimens were caught off the coast of Lima. Fish stomach and intestines were extracted and submerged in 10% (w/v) KOH, followed by 24 h incubation at 60 °C. The resulting supernatant solution was vacuum filtrated and filters were then observed under an optical microscope and stereomicroscope. Strict quality control and external contamination prevention measures were taken. Microplastic abundance, type and color were recorded. Quality control measures resulted in reduced external contamination. *C. variegatus* was the most contaminated fish (5.13 ± 0.81 MP/individual), similar to *A. scapularis* (5.00 ± 0.46 MP/individual), but significantly different to *O. regia* (0.43 ± 0.11 MP/individual). Fibers were the overall most abundant microplastic type, while blue the dominant color. Results indicated highly contaminated fish, compared to those from other parts of the SE Pacific. Microplastic ingestion by *C. variegatus* and *A. scapularis* may be subject to trophic transfer from their natural prey. Highly populated cities and poor solid waste management may contribute to worsen microplastic ingestion by native marine species. The need for further research and a marine microplastic monitoring program was discussed.

<sup>A</sup>Corresponding author:

Gabriel Enrique De-La-Torre, G.E.: e-mail: [Gabriel.e.dltp@gmail.com](mailto:Gabriel.e.dltp@gmail.com) - <https://orcid.org/0000-0002-0268-2784>.

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i2.67> - Article received on: September 01, 2019; accepted September 05, 2019; published September 30, 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, September 2019. Available online September, 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br) - All authors contributed equally with the article. Author declares no conflict of interest. This is an open access article under the CC-BY license: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

## Introduction

Microplastics are plastic particles smaller than 5 mm in diameter. They have reached global concern due to the enormous amount and ubiquity in the marine environment (1), as their presence have been evidenced in various water bodies around the world (2,3). Primary microplastics are manufactured to be of micro-size (4), like most preproduction resin pellets, microbeads in cosmetics, toothpaste and blasting, micro-sized powders for textile coatings, and drug delivery media (5). Secondary microplastics are a result of fragmentation of larger plastic materials due to photo-oxidation, mechanical degradation and biodegradation (6). Once in the environment, microplastics can easily adsorb persistent organic pollutants, heavy metals and other xenobiotics (7–10), consequently working as a vector for environmental contaminants.

Microplastic ingestion have been reported in a wide range of organisms (11–14). Ingested microplastics could be excreted or bioaccumulate in the gastrointestinal tract (15). Thus, posing a threat to the survival of several marine species. Moreover, trophic transfer of microplastics could pose a major pathway for microplastics to reach top predators (16) and, ultimately, humans through contaminated seafood consumption (17).

Research regarding microplastic ingestion by marine fish from the South Pacific and, more specifically, in Peru is still scarce. The aim of the present study was to investigate microplastic contamination in three commercial fish from the coast of Lima, Peru. The selected fish species for this study were the Peruvian silverside (*Odontesthes regia*), Peruvian morwong (*Cheilodactylus variegatus*), and Peruvian grunt (*Anisotremus scapularis*), as these species are widespread and highly commercial.

## Materials and Methods

### Study area and fish collection

The research was conducted off the coast of Lima region. This city is the most populated in Peru, strongly influenced by beachgoers and solid waste marine pollution (18). It is also ground to small scale artisanal fishing activity and a wastewater treatment plant (WWTP) discharge point. Previous research have evidenced the presence of microplastic pollution in san-

dy beaches along the Peruvian coast (19).

During August 2019, specimens of *O. regia* (n = 40), *C. variegatus* (n = 8), and *A. scapularis* (n = 8) were captured off the coast of Lima. Fish were captured by either throw net or gillnet and acquired from local fishermen. Sampled fish were immediately stored in clean cooler boxes with ice, transported and chilled at -20 °C until further laboratory analysis.

### Microplastic extraction

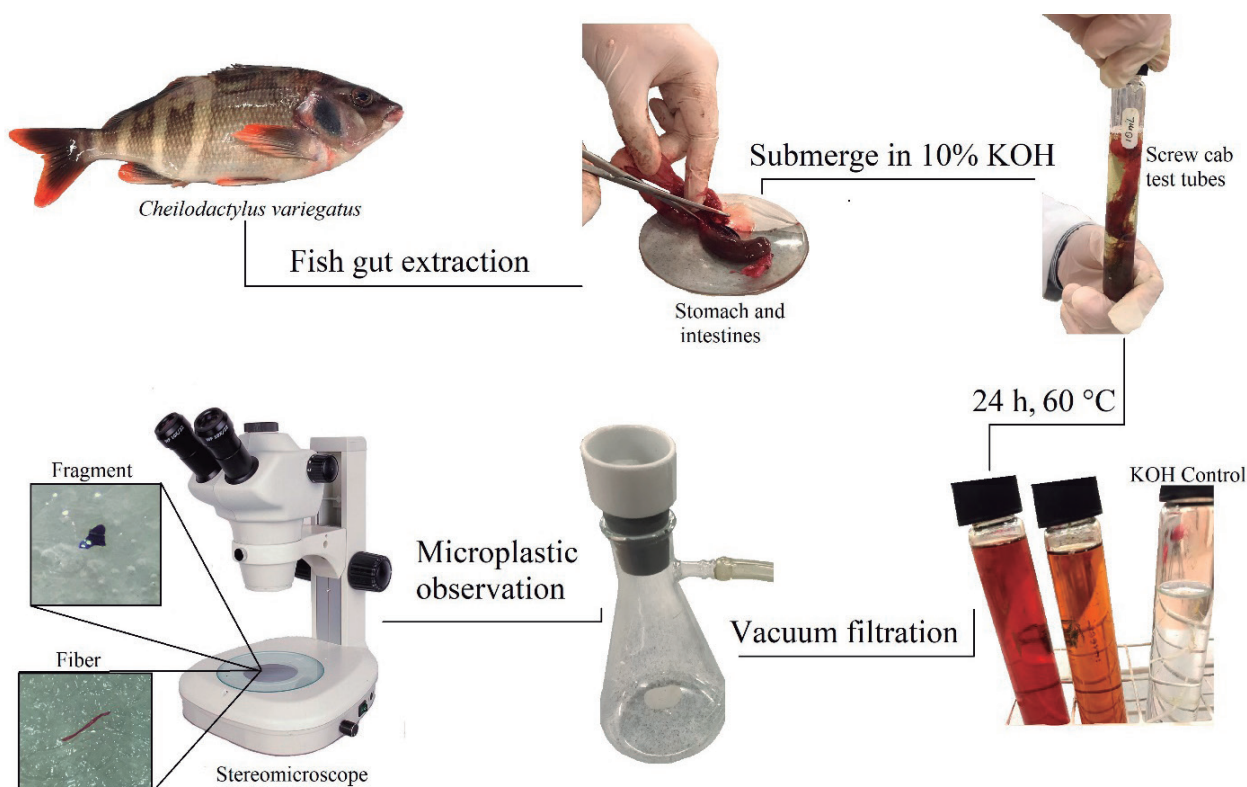
Prior to microplastic extraction, fish samples were measured and gut content (stomach and intestine) was removed using a scalpel and placed in clean glass petri dishes. Microplastic extraction from fish guts was conducted following a benchmark protocol for biological samples (20) and previous research (21) with some changes. In brief, stomach and intestines were placed in 25 ml glass screw cap test tubes and filled with 10% (w/v) potassium hydroxide (KOH), shaken for a few seconds and heated at 60 °C over 24 h. Four *O. regia* individuals were pooled per test tube. Following digestion, the supernatant solution was vacuum filtrated through a 20 – 25 µm pore glass fiber filter paper (Whatman) in an 8 cm in diameter porcelain Büchner funnel. In case of an incomplete digestion or solid material in the tube, the digested solution was diluted in a 100 ml saline solution (120 g/L NaCl), stirred with a glass rod and left to precipitate for 10 minutes, followed by vacuum filtration. Procedural steps are summarized in Figure 1.

### Microplastic identification

Every filter was observed by two people in detail under both stereomicroscope (HUND WETZLAR®) and optical microscope (Krüss MBL2000) under 10 – 40 × magnification immediately after filtration. To avoid false positives, microplastics were identified for their physical characteristics, color, structure, geometry and missing biological features (22) and glass fibers were identified and discarded according to its description (23). All confirmed particles, along with their physical characteristics (type and color) were recorded and photographed.

### Quality control

To reduce the potential external contamination of



**Figure 1:** Procedural steps for extracting microplastics from fish guts.

the samples, cotton lab coats and cleaned latex gloves were worn at all times; all materials were rinsed with distilled water prior to usage; all surfaces were wiped clean and glass and metal equipment and containers were preferred over plastic materials (24). For every sample batch a distilled water and 10% KOH solution blanks were prepared by filling and incubating two glass test tubes. A wet filter paper was placed close to the working table for the time the laboratory analysis lasted and later observed under the stereomicroscope to determine airborne external contamination (24).

### Data analysis

Microplastic abundance was expressed in MP/individual  $\pm$  standard error of the mean (SEM). Statistical analyses were conducted and graphs were created using GraphPad Prism (version 7.00 for Windows). Kolmogorov-Smirnov normality test and D'Agostino & Pearson omnibus normality test validated the normal distribution of the data ( $P > 0.05$ ), thus parametric analyses were carried out. To determine significant differences in microplastic abundance between the three fish species, a one-way ANOVA followed

by Tukey's multiple comparison test were conducted. Significance level was set to 0.05 for all the analyses.

### Results and discussion

The three species, *O. regia*, *C. variegatus*, and *A. scapularis*, were contaminated with microplastics. Quality control measures reduced external airborne contamination. Airborne and 10% KOH procedural blanks presented a reduced mean microplastic contamination of  $0.33 \pm 0.21$  MP/blank, ranging from 0 to 1 MP/blank individually. Fish biometrics are shown in Table 1.

Species	n	Body length (cm)
<i>O. regia</i>	40	$16.38 \pm 0.18$
<i>C. variegatus</i>	8	$24.63 \pm 1.06$
<i>A. scapularis</i>	8	$24.80 \pm 0.25$

**Table 1:** Body length of the three fish species.

*C. variegatus* was the most contaminated fish ( $5.13 \pm 0.81$  MP/individual), although very similar results were found in *A. scapularis* ( $5.00 \pm 0.46$  MP/individ-

ual). Importantly, *O. regia* specimens presented low microplastic occurrence ( $0.43 \pm 0.11$  MP/individual). One-way ANOVA [ $F(2, 23) = 30.53, P < 0.0001$ ] test determined significant differences of microplastic content in the three species. Post hoc Tukey's multiple comparison test indicated that the mean score for *O. regia* ( $M = 0.43, SD = 0.33$ ) was significantly different than *C. variegatus* ( $M = 5.13, SD = 2.30$ ) and *A. scapularis* ( $M = 5.00, SD = 1.31$ ). However, *C. variegatus* did not differ significantly from *A. scapularis* (Figure 2).

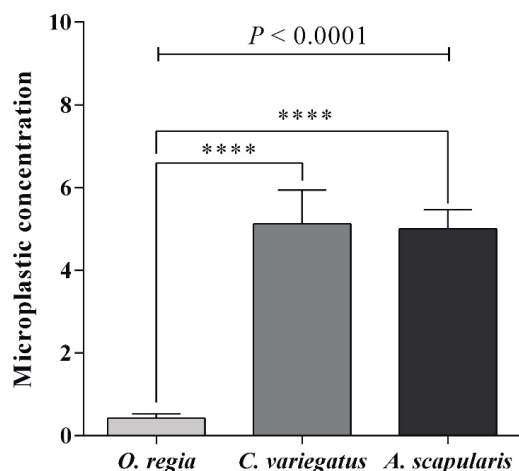


Figure 2: Column bar graph of the comparison

between mean microplastic concentration among three fish species. Error bars indicated SEM; asterisks indicated significant differences.

Fibers were the most abundant microplastic type in all three species, followed by fragments (Table 2; Figure 3). Only one film was found in a *O. regia* sample. Similar proportions of microplastic types were found in the three species.

Species	Fiber	Fragment	Film
<i>O. regia</i>	88.24%	5.88%	5.88%
<i>C. variegatus</i>	95.12%	4.88%	0.00%
<i>A. scapularis</i>	75.00%	25.00%	0.00%

Table 2: Percentage of microplastic types in the three fish species.

Regarding color, blue microplastics were the overall most abundant (52.53%), followed by red (26.26%), black (17.17%), green (1.01%), brown (1.01%), purple (1.01%) and transparent (1.01%). Specific color distribution per species were showed in Table 3. Microplastic color proportions were similar in *C. variegatus* and *A. scapularis*, but distinct to that of *O. regia*.

Species	Red	Blue	Black	Purple	Brown	Green	Transparent
<i>O. regia</i>	5.88%	41.18%	47.06%	0.00%	0.00%	0.00%	5.88%
<i>C. variegatus</i>	33.33%	47.62%	14.29%	0.00%	2.38%	2.38%	0.00%
<i>A. scapularis</i>	27.50%	62.50%	7.50%	2.50%	0.00%	0.00%	0.00%

Table 3: Percentage of microplastic colors in the three fish species.

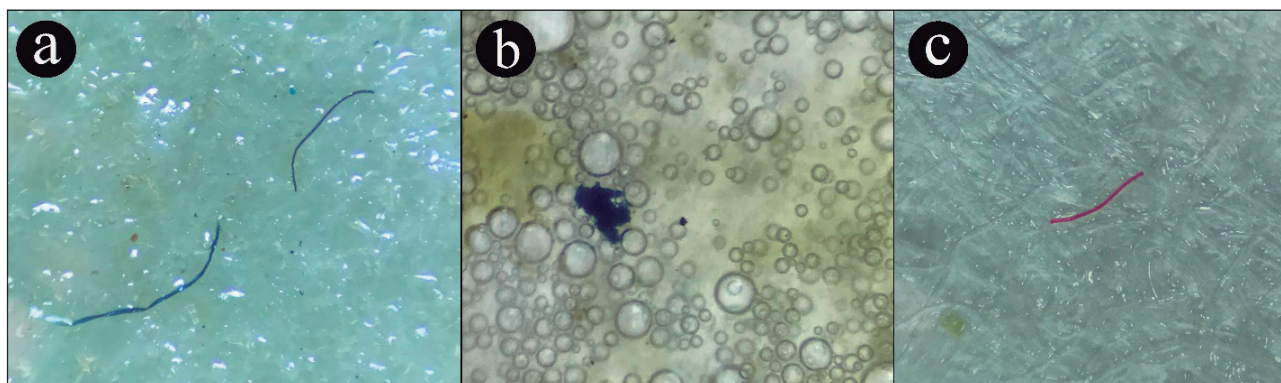


Figure 3: A-Photograph of blue fibers found in fish guts. B-Photograph of a blue fragment found in fish guts. C-Photograph of a red fiber found in fish guts.



In a previous study (25), out of 292 planktivorous fish captured along the SE Pacific coast, only 6 individuals had ingested microplastics. However, results may be subject to the omission of fibers as plastic particles due to airborne contamination (25). Importantly, in the present study fish were caught off the coast of Lima, the most populated city in Peru. The proximity to highly populated urban areas promotes microplastic ingestion by marine fish (26). In tropical fish from Moorea Island, French Polynesia, low microplastic occurrence was found in *Siganus spp.* ( $0.15 \pm 0.10$  MP/individual), *Epinephelus merra* ( $0.39 \pm 0.14$  MP/individual) and *Cheilopogon simus* ( $0.24 \pm 0.13$  MP/individual) (27), similar to *O. regia* results in the present study. Microplastic abundance in six planktivorous fish from the North Pacific Central Gyre accounted an overall mean of 2.1 MP/individual (28). In general terms, *C. variegatus* and *A. scapularis* showed high microplastic pollution compared to literature.

Similar to the results of the present study, fibers have been found dominants in fish in many parts of the world (29–31). In spite of this, some researches have determined other type of microplastics as majority (1). The proximity to a WWTP discharge point may be subject to important micro-fiber emissions, as microplastics shed from laundering clothes (32).

High microplastic abundance in *C. variegatus* and *A. scapularis* may be subject to trophic transfer from their natural prey. Both fish species are considered carnivores, as they feed from benthonic mollusks and crustaceans. Previous unpublished data have demonstrated microplastic pollution in Peruvian coastal molluscs, thus indicating a potential pathway for microplastic transferring to higher trophic levels. On the contrary, *O. regia* is a pelagic planktivorous fish, thereby prone to a lesser exposure.

The present study represents a first report of microplastic contamination in commercial fish from the coast of Lima, Peru. The occurrence of microplastics in the stomach and intestines of the Peruvian silver-side (*O. regia*), Peruvian morwong (*C. variegatus*), and Peruvian grunt (*A. scapularis*) was reported. *C. variegatus* and *A. scapularis* were highly contaminated, probably due to trophic transfer from natural prey. Fibers were the most abundant microplastic type, and blue the dominant color. The proximity to a highly populated urban area may promote microplastic emissions and ingestion by marine fish. Further research must focus on implementing microplastic

contamination monitoring and prevention along the Peruvian coast.

## Acknowledgements

The authors are thankful to Prof. Sandra Casimiro for allowing the present research to be conducted in the research laboratory facilities of Universidad San Ignacio de Loyola and supplying us with high grade reagents and equipment.

## References

1. Zhu L, Wang H, Chen B, Sun X, Qu K, Xia B. Microplastic ingestion in deep-sea fish from the South China Sea. *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;677:493–501. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.380>
2. Pan Z, Guo H, Chen H, Wang S, Sun X, Zou Q, et al. Microplastics in the Northwestern Pacific: Abundance, distribution, and characteristics. *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;650:1913–22. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.244>
3. Zhu L, Bai H, Chen B, Sun X, Qu K, Xia B. Microplastic pollution in North Yellow Sea, China: Observations on occurrence, distribution and identification. *Sci Total Environ* [Internet]. 2018;636:20–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.182>
4. Cole M, Lindeque P, Halsband C, Galloway TS. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2011;62(12):2588–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>
5. Shim WJ, Hong SH, Eo S. Marine Microplastics: Abundance, Distribution, and Composition [Internet]. *Microplastic Contamination in Aquatic Environments*. Elsevier Inc.; 2018. 1–26 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-813747-5.00001-1>
6. Auta HS, Emenike CU, Fauziah SH. Distribution and importance of microplastics in the marine environment A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environ Int* [Internet]. 2017;102:165–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.013>
7. Brennecke D, Duarte B, Paiva F, Caçador I, Canning-Clode J. Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuar Coast Shelf Sci*. 2016;178:189–95.



8. Camacho M, Herrera A, Gómez M, Acosta-Dacal A, Martínez I, Henríquez-Hernández LA, et al. Organic pollutants in marine plastic debris from Canary Islands beaches. *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;662:22–31. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.422>
9. Li J, Zhang K, Zhang H. Adsorption of antibiotics on microplastics. *Environ Pollut* [Internet]. 2018;237:460–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.050>
10. Rochman CM, Hoh E, Kurobe T, Teh SJ. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. *Sci Rep*. 2013;3:1–7.
11. Windsor FM, Tilley RM, Tyler CR, Ormerod SJ. Microplastic ingestion by riverine macroinvertebrates. *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;646:68–74. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.271>
12. Valente T, Sbrana A, Scacco U, Jacomini C, Bianchi J, Palazzo L, et al. Exploring microplastic ingestion by three deep-water elasmobranch species: A case study from the Tyrrhenian Sea. *Environ Pollut* [Internet]. 2019;253:342–50. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.001>
13. Mohsen M, Wang Q, Zhang L, Sun L, Lin C, Yang H. Microplastic ingestion by the farmed sea cucumber *Apostichopus japonicus* in China. *Environ Pollut* [Internet]. 2019;1071–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.083>
14. Carreras-Colom E, Constenla M, Soler-Membrives A, Cartes JE, Baeza M, Padrós F, et al. Spatial occurrence and effects of microplastic ingestion on the deep-water shrimp *Aristeus antennatus*. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2018;133(April):44–52. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.012>
15. Fossi MC, Pedà C, Compa M, Tsangaris C, Alomar C, Claro F, et al. Bioindicators for monitoring marine litter ingestion and its impacts on Mediterranean biodiversity. *Environ Pollut*. 2018;237:1023–40.
16. Nelms SE, Galloway TS, Godley BJ, Jarvis DS, Lindeque PK. Investigating microplastic trophic transfer in marine top predators. *Environ Pollut* [Internet]. 2018;238:999–1007. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.016>
17. Teng J, Wang Q, Ran W, Wu D, Liu Y, Sun S, et al. Microplastic in cultured oysters from different coastal areas of China. *Sci Total Environ*. 2019;653:1282–92.
18. DE-LA-TORRE, G.E., Laura RP. Composition, physical characteristics and per capita generation of solid waste at Las Sombrillas beach, Lima. *Manglar* [Internet]. 2019 Jun 28;16(1):39–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.17268/manglar.2019.006>
19. Purca S, Henostroza A. Presencia de microplásticos en cuatro playas arenosas de Perú. *Rev Peru Biol*. 2017;24(1):101–6.
20. Dehaut A, Cassone AL, Frère L, Hermabessiere L, Himber C, Rinnert E, et al. Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environ Pollut*. 2016;215:223–33.
21. Karbalaei S, Golieskardi A, Hamzah HB, Abdulwahid S, Hanachi P, Walker TR, et al. Abundance and characteristics of microplastics in commercial marine fish from Malaysia. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2019;148(May):5–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.07.072>
22. Desforges JPW, Galbraith M, Dangerfield N, Ross PS. Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2014;79(1–2):94–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.12.035>
23. Davidson K, Dudas SE. Microplastic Ingestion by Wild and Cultured Manila Clams (*Venerupis philippinarum*) from Baynes Sound, British Columbia. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2016;71(2):147–56.
24. Dehaut A, Hermabessiere L, Duflos G. Current frontiers and recommendations for the study of microplastics in seafood. *TrAC - Trends Anal Chem* [Internet]. 2019;116:346–59. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.11.011>
25. Ory N, Chagnon C, Felix F, Fernández C, Ferreira JL, Gallardo C, et al. Low prevalence of microplastic contamination in planktivorous fish species from the southeast Pacific Ocean. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2018;127(December 2017):211–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.016>
26. Bråte ILN, Eidsvoll DP, Steindal CC, Thomas K V. Plastic ingestion by Atlantic cod (*Gadus morhua*) from the Norwegian coast. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2016;112(1–2):105–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.034>
27. Garnier Y, Jacob H, Guerra AS, Bertucci F, Lecchini D. Evaluation of microplastic ingestion by tropical fish from Moorea Island, French Polynesia. *Mar Pollut Bull*. 2019;140(January):165–70.
28. Boerger CM, Lattin GL, Moore SL, Moore CJ. Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2010;60(12):2275–8. Available from: <http://dx.doi.org/>

g/10.1016/j.marpolbul.2010.08.007

29. McGoran AR, Clark PF, Morrith D. Presence of microplastic in the digestive tracts of European flounder, *Platichthys flesus*, and European smelt, *Osmerus eperlanus*, from the River Thames. *Environ Pollut* [Internet]. 2017;220:744–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.078>

30. Jabeen K, Su L, Li J, Yang D, Tong C, Mu J, et al. Microplastics and mesoplastics in fish from coastal and fresh waters of China. *Environ Pollut* [Internet]. 2017;221:141–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.055>

31. Bellas J, Martínez-Armental J, Martínez-Cámara A, Besada V, Martínez-Gómez C. Ingestion of microplastics by demersal fish from the Spanish Atlantic and Mediterranean coasts. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2016;109(1):55–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.026>

32. Browne MA, Crump P, Niven SJ, Teuten E, Tonkin A, Galloway T, et al. Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: Sources and sinks. *Environ Sci Technol*. 2011;45(21):9175–9.

**Artigo Original**

## **CARACTERÍSTICAS ANDROLÓGICAS E SEMINAIS DE CÃES DA RAÇA PASTOR BELGA MALINOIS**

**Autor: Christian Garcia Amantino<sup>1</sup>, Nívea de Mattos Góes Vieira<sup>2</sup>, Silvia Ferrari<sup>2,A</sup>.**

<sup>1</sup>Aluno de Iniciação Científica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Anhembi Morumbi. <sup>2</sup>Médica Veterinária, doutoras em reprodução animal pela Faculdade de Medicina Veterinária da USP.

### **Informações do artigo**

Palavras Chave:  
Exame andrológico;  
Pastor Belga Malinois;  
Parâmetros seminais.

### **Resumo**

A realização do exame andrológico em cães, prévio à sua seleção e/ou utilização em um esquema de reprodução natural ou artificial é de grande importância, e é composto pela anamnese, exame clínico geral, exame do sistema reprodutivo, exame da libido, exame do sêmen e exames complementares, se necessário. No presente estudo, foram avaliados 11 cães adultos da raça Pastor Belga Malinois, com a finalidade de padronizar as características seminais e andrológicas da raça em questão, já que há grande variação das características entre as múltiplas raças de cães de diferentes portes, e escassa literatura sobre raças específicas. Como resultado, a avaliação dos testículos revelou o tamanho médio do testículo direito de  $2,7 \pm 0,44$  cm de largura,  $2,73 \pm 0,40$  cm de espessura e  $4,44 \pm 0,44$  cm de comprimento, e do esquerdo de  $2,60 \pm 0,26$  cm de largura,  $2,84 \pm 0,34$  cm de espessura e  $4,48 \pm 0,51$  cm de comprimento. O sêmen dos animais apresentou uma média de 88% de movimento retilíneo e progressivo, 4,6 de vigor e 9,55% de espermatozoides anormais. Todavia, em relação ao volume do ejaculado e à concentração espermática houve uma grande variação entre os animais, 5 cães apresentaram valores de concentração abaixo de  $100 \times 10^6$  spz/ml, enquanto os demais se situaram acima deste valor. Conclui-se que a concentração espermática e o volume total do sêmen apresentaram variação, devido à variação do volume da secreção prostática, que foi maior principalmente em animais com mais de 5 anos com Hiperplasia Prostática Benigna, os demais parâmetros espermáticos estão de acordo com os padrões da espécie canina.

<sup>A</sup>Autor correspondente:

Silvia Ferrari - e-mail: [silviaferrari2000@hotmail.com](mailto:silviaferrari2000@hotmail.com) - <https://orcid.org/0000-0002-9917-2843>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.70> - Artigo recebido em: 18 de junho de 2019; aceito em 09 de Julho de 2019; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br). Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

## Article ID

Keywords:  
Andrological  
examination; Belgian  
Shepherd Malinois;  
Seminal parameters.

## Abstract

Performing the andrological examination in dogs prior to selection and / or use in a natural or artificial reproduction scheme is of great importance, and consists of anamnesis, general clinical examination, reproductive system examination, libido examination, semen and further examinations if necessary. In the present study, 11 adult dogs of the Belgian Shepherd Malinois breed were evaluated in order to standardize the seminal and andrological characteristics of the breed in question, since there is great variation of characteristics between the multiple breeds of dogs of different sizes, and scarce literature about specific races. As a result, the evaluation of the test is revealed the average right testis size of  $2.7 \pm 0.44$  cm in width,  $2.73 \pm 0.40$  cm in thickness and  $4.44 \pm 0.44$  cm in length, and the left of  $2.60 \pm 0.26$  cm wide,  $2.84 \pm 0.34$  cm thick and  $4.48 \pm 0.51$  cm long. The semen of the animals presented an average of 88% of rectilinear and progressive movement, 4.6 of vigor and 9.55% of abnormal sperm. However, regarding the ejaculate volume and sperm concentration there was a great variation between the animals, 5 dogs presented concentration values below  $100 \times 10^6$  spz / ml, while the others were above this value. It was concluded that the sperm concentration and the total semen volume presented variation, due to the variation of the volume of the prostatic secretion, which was higher mainly in animals over 5 years with Benign Prostatic Hyperplasia, the other sperm parameters are in agreement with the Canine species patterns.

## Introdução

A avaliação da aptidão reprodutiva de um macho destinado à reprodução fundamenta-se na observação da saúde geral, saúde genética e saúde do sistema genital [1]. Segundo Cunha [2], a realização do exame andrológico em cães, prévio à sua seleção e/ou utilização em um esquema de reprodução artificial é de grande importância, sendo ainda indicada em outras circunstâncias como: compra ou venda de reprodutores, seleção de doadores para uso em programas de inseminação artificial ou diagnóstico de patologias do sistema genital masculino. Neste sentido Ferrari; Romano [3] diagnosticaram um tumor de células de Leydig em testículo de cão de 2,5 anos de idade durante o exame andrológico, retirando o animal da reprodução.

A análise reprodutiva do macho canino é composta de uma anamnese detalhada que inclua avaliação do comportamento reprodutivo, exame físico, avaliação do sêmen, dosagens hormonais, ultrassonografia testicular e prostática, e

citologia aspirativa por agulha fina [4]. A análise do sêmen deve ser incluída na avaliação andrológica para detectar possíveis problemas de infertilidade ou subfertilidade, além de fazer parte da rotina pré-cobertura ou inseminação em cães [2]. A determinação das características seminais é extremamente importante na avaliação clínica reprodutiva de cães, visando aumentar o sucesso dos programas de acasalamento pela utilização de animais com qualidades espermáticas satisfatórias [5].

Existe um padrão das características do sêmen de cães, relatado por Mies Filho [6], que observa a grande variação do volume do sêmen de cão (2 a 40 ml), fato também relatado no manual para exame andrológico do CBRA (1), no qual o volume total do sêmen de cães varia de 1,5 a 80 ml. Ainda este manual descreve a cor do sêmen como branca, acinzentada, odor 'suis generis', motilidade espermática igual ou superior a 70%, vigor igual ou superior a 3, concentração com grande variação, de 20 a  $300 \times 10^6$  espermatozoides/ml, e espermatozoides morfológicamente normais

iguais ou superiores a 70%. Porém, a espécie canina apresenta grande variação entre raças e portes dos animais, que impacta na variação das características do sêmen, principalmente do volume do ejaculado.

Netto [7], avaliou o ejaculado de 24 cães da raça Boxer, e desprezando a 1º e 3º frações do sêmen, encontrou a média de volume da 2º fração rica em espermatozoides igual a  $2,06 \pm 0,66$  ml. A média da motilidade espermática foi de  $76,28 \pm 5,97$  %. Em relação à concentração espermática, encontrou  $484,18 \times 10^6 \pm 96,76$  e  $19,15 \pm 5,28$ % de patologia espermática.

Também Silva [8], avaliando a 2º fração do ejaculado de 6 cães da raça Fila Brasileiro, encontrou  $2,2 \pm 1,3$  ml de volume,  $589,7 \pm 248,7$  milhões de espermatozoides por ml de concentração,  $85,8 \pm 3,7$  % de motilidade espermática, 5 de vigor e  $85,6 \pm 4,5$  % de espermatozoides morfolologicamente normais.

Silva et al. [9] relatam em seu estudo a escassez de trabalhos de andrologia específicos da raça Golden Retriever, para comparar com o resultado da avaliação andrológica de 13 animais da raça.

Em face da grande diversidade das raças caninas, e da escassez de estudos andrológicos específicos das diversas raças, faz-se necessária a padronização das características seminais de cada raça, a fim de otimizar a escolha dos reprodutores.

Por conseguinte, o objetivo desse estudo é realizar o exame andrológico dos cães da raça Pastor Belga Malinois, a fim de relatar as particularidades seminais da raça, além de descrever características específicas do aparelho reprodutivo.

## Material e Método

Foram avaliados 11 cães da raça Pastor Belga Malinois, com a faixa etária dentro de 2 a 8 anos que pertencem ao Canil da Polícia do Exército, localizado no Município de Osasco e Barueri, Estado de São Paulo. Todos os cães são alimentados única e exclusivamente com a ração Royal Canin® Maxi Adult, e são treinados para diversas funções, dentre elas faro, proteção e guarda.

Além disso, realizou-se o exame clínico (anamnese e exame físico geral e específico) onde se avaliou estado geral, mucosas (oral e ocular),

nível de hidratação através do turgor cutâneo de gradil costal, auscultação pulmonar e cardíaca, palpação de linfonodos (submandibulares, pré escapulares e poplíteos) e temperatura corpórea. Na realização do exame físico específico do aparelho reprodutor foi ressaltada palpação e inspeção de pênis, prepúcio, testículo, epidídimo, bolsa escrotal e próstata; medição de comprimento, largura e espessura de testículos; além da análise do sêmen propriamente dita que foi dividida em Análise Macroscópica e Análise Microscópica.

As coletas foram realizadas no período da tarde, em dias quentes e secos. Cada cão forneceu 1 ejaculado, tendo-se a certeza que não foi realizada nenhuma coleta ou cobertura ao menos 72 horas antes. O sêmen foi colhido por meio da manipulação do pênis com a mão enluvada. Não foi realizada a separação das 3 frações, a amostra foi depositada em um funil plástico acoplado à mamadeira contendo tubo coletor falcon imerso em água a 37°C. Imediatamente após a coleta, o tubo foi levado ao banho maria, e o exame macroscópico do sêmen (volume, cor, aspecto, odor, pH) foi realizado, onde foi avaliado o volume através da verificação da graduação do tubo coletor como descrito por Cunha (2), a avaliação de cor e aspecto foi feita de forma subjetiva através da simples observação da amostra, foi utilizado a olfação para avaliar-se o odor. O pH foi mensurado através da fita de pH. Logo após a análise macroscópica foi realizado o exame microscópico do sêmen (motilidade retilínea e progressiva, vigor, concentração e avaliação da morfologia espermática).

Em relação ao exame microscópico do sêmen, a motilidade retilínea e progressiva e vigor foram avaliados de forma subjetiva, colocando-se uma gota de sêmen sobre lâmina aquecida, sendo esta recoberta por lamínula. O exame foi realizado sob microscopia. O resultado obtido deve ser expresso em porcentagem (0-100) para a motilidade e um escore de zero a cinco (0-5) para vigor [2].

Além da motilidade retilínea e progressiva e vigor, foi realizada a avaliação da concentração e morfologia espermática. A avaliação da concentração espermática foi realizada através da contagem do número de espermatozoides da fração mais concentrada, depositada no fundo do tubo



falcon, utilizando-se a câmara de “Neubauer”, antes o sêmen foi diluído em solução de formol salino na proporção padrão para a espécie canina (1:20). Já a avaliação morfológica foi realizada através da técnica de câmara úmida, foi feita a diluição de 3 gotas de sêmen em 1 ml de solução de PBS acrescido de formol a 10%, colocando uma gota entre lâmina e lamínula, vedando as bordas com esmalte de unha, e avaliando 200 células 24 horas depois.

Para verificar uma possível padronização das características reprodutivas da raça, foi feita a média e desvio-padrão de todas as características avaliadas dos animais examinados.

## Resultados

Através da anamnese foi possível identificar 2 animais cruzaram e tiveram filhos, o número de filhotes por ninhada do cão 6 foi de 3 ninhadas, com uma média de 5 filhotes saudáveis por ninhada, e o cão 4 com apenas 1 ninhada, com 11 filhotes hípidos.

Na realização do exame físico geral e específico do aparelho reprodutor de modo geral não houve alterações em auscultação cardíaca e respiratória, a temperatura corpórea variou entre 37,8°C a 39,7°C levando-se em consideração que a temperatura ambiente nos dias da coleta estava alta (média de 30°C) e clima seco, todos os linfonodos avaliados não estavam reativos, turgor cutâneo normal indicando nível de desidratação adequado e estado geral ótimo em todos os cães.

Durante o exame físico específico do aparelho reprodutor não foi identificado nada digno de nota em relação a palpação e inspeção de pênis, prepúcio, testículo, e bolsa escrotal em nenhum animal, porém foi notado o aumento da cabeça do epidídimo esquerdo do cão 10 e aumento de próstata de alguns cães, verificado pela palpação digital retal (**tabela 1**).

**Tabela 1:** Valores de largura (L), espessura (E) e comprimento (C) dos testículos em centímetros e descrição do tamanho da próstata em cada animal, de acordo com a idade dos cães do canil da Polícia do Exército.

Animal	Idade	Próstata	Testículo Direito			Testículo Esquerdo		
			L	E	C	L	E	C
1	2 a	n.d.n.1	2,3	3,0	4,2	2,4	2,7	4,0
2	2 a 6 m	n.d.n.	2,4	2,3	3,9	2,5	2,5	4,0
3	2 a 10 m	aument.2	2,5	1,8	4,4	2,2	2,4	4,2
4	3 a	n.d.n.	3,0	2,9	4,8	2,9	2,7	4,1
5	4 a 1 m	n.d.n	2,6	2,7	5,0	2,5	3,1	5,0
6	5 a	aumentada	2,8	3,0	5,3	2,9	3,1	5,3
7	7 a	aumentada	2,5	2,7	4,5	2,3	2,4	4,3
8	7 a 2 m	n.d.n	2,2	2,8	4,3	2,6	3,5	4,2
9	8 a	aumentada	2,9	2,6	4,5	3,0	3,0	4,5
10	8 a	aumentada	2,7	3,0	4,0	2,6	3,0	4,3
11	8 a 9 m	aumentada	3,8	3,3	4,0	2,8	2,9	5,4
Média			2,7000	2,7364	4,4455	2,6091	2,8455	4,4818
Desvio-padrão			0,4405	0,4056	0,4413	0,2625	0,3417	0,5115

**Tabela 1.** <sup>1</sup> n.d.n. nada digno de nota. <sup>2</sup> Aumentada. <sup>3</sup> Cabeça de epidídimo esquerdo aumentada

Nas **tabelas 2 e 3** estão detalhados os resultados das avaliações microscópica e macroscópica do sêmen dos cães da Polícia do Exército.

**Tabela 2.**

Animal	M.R.P.	Vigor	Concentração (Em milhões)	Morfologia
				(D.T)
1	70%	4	3,25 sptz/ml	15,5%
2	90%	5	462,00 sptz/ml	3,0%
3	90%	5	111,25 sptz/ml	7,0%
4	90%	5	28,50 sptz/ml	13,0%
5	90%	5	73,75 sptz/ml	6,0%
6	90%	5	187,50 sptz/ml	15,5%
7	90%	5	242,50 sptz/ml	6,5 %
8	90%	5	27,50 sptz/ml	15,0%
9	90%	5	232,50 sptz/ml	7,5%
10	90%	3	68,75 sptz/ml	6,5%
11	90%	4	102,50 sptz/ml	6,5%
<b>Média</b>	88%	4,6364	139,9773	9,55%
<b>Desvio-padrão</b>	0,0603	0,6742	134,3590	0,0468

**Tabela 2.** Avaliação microscópica do sêmen dos cães do canil da Polícia do Exército**Tabela 3.**

Animal	Volume		Cor	Odor	Aspecto	pH
	Fr. Rica	Fr. Total				
1	1 ml	1 ml	Esbranquiçado	*S.G	Soroso	6,5
2	2 ml	2 ml	Esbranquiçado	*S.G	Soroso	6,5
3	6 ml	7 ml	Esbranquiçado	*S.G	Soroso	6,5
4	3 ml	7 ml	Esbranquiçado	*S.G	Soroso	6,5
5	6 ml	6 ml	Esbranquiçado	*S.G	Soroso	6,0
6	3 ml	20 ml	Esbranquiçado	*S.G	Soroso	6,5
7	3 ml	20 ml	Esbranquiçado	*S.G	Soroso	7,0
8	3 ml	20 ml	Esbranquiçado	*S.G	Soroso	6,5
9	6 ml	16 ml	Esbranquiçado	*S.G	Soroso	6,5
10	2 ml	20 ml	Esbranquiçado	*S.G	Soroso	7,0
11	4,5 ml	25 ml	Avermelhado	*S.G	Soroso	6,5
<b>Média</b>	3,5909	13,0909				6,5455
<b>Desvio Padrão</b>	1,77226101	8,5726839				0,2697

**Tabela 3:** Avaliação macroscópica do sêmen dos cães do canil da Polícia do Exército.

\*S.G (Suis Generis)

## Discussão

A avaliação dos testículos revelou o tamanho médio do testículo direito de  $2,7 \pm 0,44$  cm de lar-

gura,  $2,73 \pm 0,40$  cm de espessura e  $4,44 \pm 0,44$  cm de comprimento, e do esquerdo de  $2,60 \pm 0,26$  cm de largura,  $2,84 \pm 0,34$  cm de espessura e  $4,48 \pm 0,51$  cm de comprimento. Como o tamanho

dos testículos é variável devido às diferenças raciais dos cães, espera-se com este estudo fornecer parâmetros do testículo para a raça Pastor Belga Malinois, e concorda-se com Silva et al. [9] que relatam em seu estudo a escassez de trabalhos de andrologia específicos da raça para comparação dos resultados obtidos.

De acordo com a palpação retal da próstata, notou-se o seu aumento nos cães acima de 5 anos de idade, apesar do cão 3 também demonstrar essa característica, tendo apenas 2 anos e 10 meses de idade. Este fato está de acordo com estudo elaborado por Johnston et. al [10], que afirma que 16% dos cães aos 2 anos de idade apresentaram hiperplasia prostática benigna – HPB (**tabela 1**).

Trabalhos demonstram que 80% dos cães com mais de cinco anos de idade são portadores de hiperplasia prostática benigna [11]. No presente estudo os cães demonstram indícios de aumento de próstata a partir de 5 anos de idade, vale ressaltar que a avaliação da próstata foi feita através de palpação digital retal, e para o diagnóstico definitivo o ideal seria a realização do exame ultrassonográfico e histológico. Segundo Krakowski e colaboradores [12], a HPB não altera a qualidade do sêmen em cães.

Em relação ao Movimento Retilíneo e Progressivo (tabela 2) os animais apresentaram uma média de 88%, quanto ao Vigor o valor médio foi de 4,6 e no que se refere a morfologia espermática, os cães demonstraram uma média de 9,55% de espermatozoides anormais. Estes valores estão de acordo com SOUZA [13], porém estes dados se referem a cães da raça Pastor Alemão, e também dentro dos padrões estabelecidos pelo CBRA [1], para a espécie canina. Ainda segundo Johnston et al.[10], a motilidade retilínea progressiva normal do cão é acima de 70%, e a taxa de espermatozoides anormais deve ser igual ou menor que 20%.

Todavia, em relação à concentração espermática houve uma grande disparidade entre os animais, os cães 1, 4, 5, 8 e 10 mostraram valores abaixo de  $100 \times 10^6$  spz/ml, enquanto os demais se situaram acima deste valor, com destaque para os cães 2 e 7, com  $462 \times 10^6$  spz/ml e  $242,50 \times 10^6$  spz/ml, respectivamente. Souza e colaboradores (13) também obtiveram a concentração dos espermatozoides de sêmen de cães da raça Pastor Alemão variando de  $18,2 \times 10^6$  spz/ml a  $326,8 \times$

$10^6$  spz/ml. Segundo Johnston et al. (10), a concentração do sêmen do cão depende da quantidade de fluido prostático coletado, e varia de 4 a 400 milhões de espermatozoides por mililitros. No presente estudo a fração rica do ejaculado não foi colhida separadamente das demais frações, apenas observou-se e utilizou-se o volume de sêmen mais concentrado do final do tubo falcon para a avaliação da concentração, por isso houve a grande variação de concentração espermática dentre os animais utilizados.

Verificou-se no presente estudo um aumento do volume total do ejaculado em relação à idade do animal. Sabe-se que o pico da função secretória da próstata acontece aos 4 anos de idade [10] e no presente estudo os animais com 5 anos ou mais apresentaram grande volume total do ejaculado, que pode estar relacionado com aumento de próstata que apresentaram à palpação retal. Iquer-Ouada e Verstegen [14] administraram finasteride para tratamento da HPB em cães e observaram após o tratamento uma diminuição do volume da secreção prostática e aumento da concentração de espermatozoides nos animais tratados, associados à diminuição do volume prostático.

## Conclusão

Conclui-se com este trabalho que as características macro e microscópicas do sêmen dos cães da raça Pastor Belga Malinois estão dentro dos padrões da espécie canina. A concentração espermática e o volume total do sêmen apresentaram variação, devido à variação do volume da secreção prostática, que foi maior principalmente em animais com mais de 5 anos. O tamanho dos testículos dos cães foi descrito no presente trabalho, fornecendo um padrão para o exame andrológico da raça.

## Agradecimentos

Agradecemos à Universidade Anhembi Morumbi pelo fomento deste estudo através do Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica Anhembi Morumbi (PIBIC/AM). Agradecemos também ao 2º Sargento Adriano da Silva Souza do 22º Depósito de Suprimento, ao Capitão Felipe Soares Borges e Capi-

tão Otávio Augusto Brioschi Soares do 2º Batalhão da Polícia do Exército pela disponibilidade de tempo e espaço para a realização das coletas, além de disponibilizar e auxiliar no manejo e contenção dos animais para a realização do estudo.

## Referências

1. COLÉGIO Brasileiro de reprodução Animal- **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3 ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013.
2. CUNHA, I.C.N **Exame Andrológico do cão**. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal – JBCA*, 2008; 1:49-65 .
3. FERRARI, S.; ROMANO, M.A. **Tumor de células de leydig em cão: relato de caso**. *A hora veterinária*,2008; 27(161):17-9.
4. DOMINGOS, T.C.S; SALOMÃO, M.C. **Meios de diagnóstico das principais afecções testiculares em cães: revisão de literatura**. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte,2011; 35(4): 393-9.
5. GABRIEL, A.M.A.; JESUS, V.L.T.; ROSA A.C.; FOLHADELA, D.S.; FOLHADELA, I. M. **Características físicas e morfológicas do sêmen canino**. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*,1999; 23(3): 239-40.
6. MIES FILHO, A. *Inseminação Artificial*, ed. Sulina, Porto Alegre, vol.2, 1987.
7. NETTO, M.C.L. **Avaliação das características seminais de cães da raça boxer submetidos a dietas suplementadas com vitamina E e levedo de cerveja**. Dissertação de mestrado. São Paulo, 2001.
8. SILVA, A.S.F. **Caracterização genética, andrológica e congelabilidade do sêmen em cães da raça fila brasileiro**. Tese de doutorado, Belo Horizonte, 2012.
9. SILVA, B.L.M.; COSTA, B.K.; SILVA, M.E.A.; COSTA, M.E.; PADILHA, F.N.; LOPES, F.G. **Características seminais de cães da raça Golden Retriever, criados no município de Londrina, PR**. 42º Congresso Bras. de Medicina Veterinária e 1º Congresso Sul-Brasileiro da ANCLIVEPA - 31/10 a 02/11 de 2015 - Curitiba - PR
10. JOHNSTON, S.D.; KUSTRITS, M.V.R.; OLSON, P.N.S. **Chapter 16. Semen collection, evaluation and preservation**. **IN: Canine and feline theriogenology**. Filadelfia: W.B. Saunders, 2001.
11. JOHNSTON, S.D.; KAMOLPATANA, K.; ROOT-KUSTRITS, M.V., JOHNSTON, G. R. **Prostatic disorders in the dog**. *Animal Reproduction Science*,2000; 60-61: 405-15.
12. KRAKOWSKI, L.; WACHOCKA, A., BRODZKI, P.; WRONA, Z.; PIECH, T.; WAWRON, W.; CHALABIS-MAZUREKA A. **Sperm quality and selected biochemical parameters of seminal fluid in dogs with benign prostatic hyperplasia**. *Animal Reproduction Science*,2015; 160:120-5. doi: 10.1016/j.anireprosci.2015.07.014.
13. SOUZA, J.A.D.; Spicciati,W.; Visintin,J.A.; Barnabe,V.H.; Barnabe, R.C.; **Características seminais de cães da raça Pastor Alemão**. *Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 1995: 32(3): 181-6.
14. IQUER-OUADA, M.; VERSTEGEN, J. P. **Effect of finasteride (Proscar MD) on seminal composition, prostate function and fertility in male dogs**. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl* , 1997; 51: 139-49.

Artigo de revisão

## INFLUÊNCIA DOS POLUENTES AMBIENTAIS NA INCIDÊNCIA DE DERMATITE ATÓPICA E OS POSSÍVEIS ATIVOS DERMATOLÓGICOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE DERMOCOSMÉTICOS ANTIPOLUIÇÃO

**Autor: Amanda Pereira Ribeiro<sup>1</sup>, Bianca Farias Leite<sup>1</sup>, Bianca Sayuri Nakasone<sup>1</sup>, Giovanna de Sousa Pimentel<sup>1</sup>, Mariana Antoniassi Soares<sup>1</sup>, Valéria Maria de Souza Antunes<sup>2,A</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Anhembi Morumbi. Acadêmica em Farmácia. <sup>2</sup>Docente da Universidade Anhembi Morumbi.

### Informações do artigo

Palavras Chave:  
Dermatite atópica;  
Imunologia da pele;  
Poluição ambiental;  
Poluentes; Ativos  
Antipoluição.

### Resumo

A Dermatite Atópica é uma doença inflamatória crônica localizada no tecido cutâneo e possui maior incidência observada na primeira fase da infância. Um dos fatores para o surgimento da doença é a predisposição genética e o outro são os estímulos externos. A Dermatite Atópica não possui mecanismo de ação específico, mas observa-se que os fatores intrínsecos e extrínsecos podem estimular o seu desencadeamento. Os fatores intrínsecos estão relacionados com a predisposição genética e como o organismo reage a diferentes estímulos endógenos. Fatores externos, como os agentes poluentes, atuam com alto poder para desenvolver ou provocar o agravamento da Dermatite Atópica, pois a exposição da pele à estímulos e poluentes ambientais acabam causando o desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes e, este desequilíbrio, provoca o estresse oxidativo que por fim gera o agravamento dos sintomas. A poluição da atmosfera proporciona danos de lipídios, proteínas e danos no DNA. Deste modo, é possível relacionar a Dermatite Atópica com a poluição e suas partículas. É possível sugerir ativos dermatológicos para uso em formulações para a doença em questão, associando ativos antipoluição. Tais ativos possuem origens diversas e suas propriedades podem ser direcionadas para formulações de uso tópico na pele.

<sup>A</sup>Autor correspondente:

Valéria Maria de Souza Antunes – e-mail: [valeriabelaclara@gmail.com](mailto:valeriabelaclara@gmail.com) – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4156-4879>.

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.63> - Artigo recebido em: 18 de junho de 2019 ; aceito em 09 de Julho de 2019 ; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br). Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



## Article ID

### Keywords:

Atopic dermatitis; Skin immunology; Environment pollution; Pollutants; Antipollution Ingredients.

## Abstract

Atopic Dermatitis is a chronic inflammatory disease located in the cutaneous tissue and possesses its higher incidence observed in the first phase of childhood. One of the factors for the onset of the disease is genetic predisposition and external stimuli. Atopic Dermatitis has no specific action mechanism, but it is observed that intrinsic and extrinsic factors can stimulate its onset. The intrinsic factors are related to the genetic predisposition and how the organism reacts to different endogenous stimuli. External factors such as pollutant agents perform with high power to develop or cause escalation of Atopic Dermatitis because the skin's exposure to stimuli and environmental pollutants end up causing the imbalance between oxidants and antioxidants and this imbalance causes oxidative stress that, eventually, generates the worsening of symptoms. Air pollution causes damage to lipids, proteins, and DNA detrimental. Thus, it is possible to relate Atopic Dermatitis to pollution and its particles. Therefore, it is possible to suggest the use of dermatological ingredients, in association to antipollution ingredients, in formulations to the disease at stake. Those ingredients have different origins and their properties can be directed for topical use in skin.

## Introdução

A pele humana é o maior órgão do corpo humano e sua maior função é a proteção contra agressões externas. A radiação solar sempre foi vista como o principal motivo para problemas relacionados à pele, como manchas, inflamações e câncer. No entanto, cresce o número de estudos que apontam que os poluentes do ar, principalmente em grandes centros urbanos, têm relação com a incidência de patologias cutâneas, com relevância para a Dermatite Atópica. A liberação de poluentes químicos produzidos pela combustão dos combustíveis fósseis provenientes dos veículos tende a se concentrar na atmosfera passando por reações químicas, quebrando as moléculas de oxigênio pela ação dos raios ultravioleta e formando o ozônio (O<sub>3</sub>).

O material particulado são partículas muito finas de líquidos ou sólidos que estão suspensos no ar e podem ser de materiais inorgânicos ou orgânicos. As fontes são desde a queima de biomassa vegetal até a pavimentação de vias. Segundo diversos estudos, as partículas tóxicas penetram a pele através dos folículos pilosos.

A permeação de substâncias indesejadas está relacionada com a deficiência do manto hidrolipídico cuja propriedade maior é a formação de uma película

protetora na pele, não só protegendo-a de substâncias indesejáveis, mas, evitando doenças como a Dermatite Atópica.

## Material e método

A revisão foi baseada em fontes de artigos científicos relacionados à incidência da Dermatite Atópica, mecanismo de ação da poluição e ativos com ação antipoluição. Os artigos utilizados para a elaboração da revisão foram retirados de banco de dados como: Pubmed e SciELO. As palavras chaves utilizadas foram: Dermatite atópica; Manto hidrolipídico; Pele Sensível; Imunologia da pele; Poluição ambiental; Poluentes; Ativos Antipoluição.

A elaboração da revisão bibliográfica utilizou 33 artigos publicados no período de 2011 a 2019 e 1 livro utilizado para obter informações relacionadas aos ativos dermatológicos para o desenvolvimento das formulações sugeridas.

## Discussão

### Manto hidrolipídico

O manto hidrolipídico corresponde a uma película com a função de proteger e hidratar a pele, cuja

composição possui lipídios (ácidos graxos, ceramidas e colesterol) associado com o material originado das glândulas sebáceas e glândulas sudoríparas e que se aloja na camada córnea. Desta forma, esta emulsão natural é depositada na superfície cutânea. O manto possui a função de manter a hidratação da pele criando uma barreira contra invasões e contra a perda de água transepidermal, podendo auxiliar a hidratação cutânea através da oclusão ou através de efeito hidrofílico [1].

O manto hidro lipídico apresenta fragilidade a fatores extrínsecos e intrínsecos podendo ocorrer a penetração de substâncias indesejadas causando irritações na pele. Atualmente encontram-se no mercado uma série de dermocosméticos voltados para a manutenção do manto hidro lipídico, cujo intuito é melhorar a condição cutânea e aumentar a quantidade de

água no extrato córneo [2].

Os poluentes atmosféricos induzem alterações severas das funções normais dos lipídios, ácido desoxirribonucleico e/ou proteínas na pele humana via dano oxidativo, levando ao envelhecimento extrínseco da pele, condições inflamatórias ou alérgicas como Dermatite de Contato D.C, Dermatite Atópica D.A, psoríase, acne e câncer de pele [3].

Os poluentes encontrados no ar ambiente podem ser classificados como: poluentes orgânicos persistentes, material particulado, metais pesados, poluentes gasosos e poluentes tóxicos [4].

Apesar de existirem diversos tipos de poluição física, químico e até biológico, a poluição atmosférica é a mais comum, e é responsável por diversos tipos de distúrbios da pele [5].

**Tabela 1.** Levantamento dos tipos de poluentes.

Poluentes	Descrição
Orgânicos persistentes	É caracterizado como um poluente resistente à degradação ambiental e, quando presentes nos alimentos consumidos encontram-se em concentrações 100 vezes superiores as das encontradas em águas. Não é degradado no trato gastrointestinal, causando a bioacumulação e biomagnificação em humanos e animais. Exemplos comuns de poluentes orgânicos persistentes são as dioxinas, pesticidas e bifenilas policloradas que geralmente são encontradas em centros urbanos em desenvolvimento.
Gasosos	Os poluentes gasosos mais comuns são NO, CO, SO <sub>2</sub> , Ozônio e compostos orgânicos voláteis, são provenientes da combustão de combustíveis fósseis.
Material particulado	É a mistura de gotículas sólidas e/ou líquidas suspensa em gás. Estão presentes no solo e poeira e são classificadas como partículas grosseiras. Já as partículas finas são provenientes de usinas de energia, exaustão de automóveis e fogueiras. Existem também as partículas ultrafinas que estão relacionadas com os atuais motores movidos a diesel. As partículas ultrafinas emergem de forma mais abundante em ambientes industriais e urbanos podendo causar risco a saúde devido a sua penetração através de junções estreitas endoteliais, deste modo obtendo um acesso direto vascular e sistêmico. O material particulado é conhecido por carregar componentes tóxicos em sua superfície incluindo carcinógenos, ácidos, bactérias e metais. São classificadas de acordo com o diâmetro aerodinâmico das partículas: Partículas Totais em Suspensão (PTS) são menores ou iguais a 50 µm; Partículas Inaláveis (MP10) são menores ou iguais a 10 µm e as Partículas Inaláveis Finas (MP2,5) são menores ou iguais a 2,5 µm.
Hidrocarbonetos	Encontrados em automóveis, indústrias, pesticidas, corantes, fumaças de combustão orgânica. Relacionados à diversos tipos de câncer, além de causar envelhecimento extrínseco da pele, pigmentação e acne.
Radiação	Poluente físico, os efeitos a pele dependem do tamanho do comprimento de onda da radiação.

Metais pesados	Os metais pesados chumbo, cádmio e mercúrio são poluentes atmosféricos que representam risco a saúde devido a seus aspectos relacionados com a bioacumulação, derivados da queima dos combustíveis fósseis.
Tóxicos relacionados ao tráfego	É a mistura de componentes poluentes derivados da emissão primária de veículos movidos a diesel e gasolina. Contém dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ), CO, NO, COV, PM, chumbo e outros produtos químicos tóxicos, como formaldeído e 1,3butadieno. As comunidades urbanas localizadas próximas de estradas possuem um alto nível de poluente relacionado ao tráfego.

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

### Ação da toxicidade da poluição na pele

O mecanismo de ação dos poluentes que causam danos a pele ainda não está totalmente esclarecido, mas as evidências apontam quatro potenciais mecanismos deletérios sobre a pele: indução de cascata inflamatória, ativação de AhR (receptor de hidrocarboneto arílico), alterações da microflora da pele e geração de radicais livres [4].

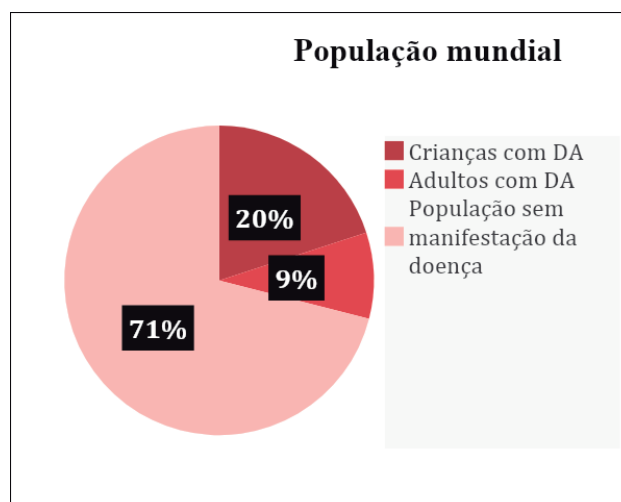
Os radicais livres *in vivo* se formam a partir da ação catalítica de enzimas, como por exemplo, exposição a fatores exógenos (ozônio, radiações gama e ultravioleta, cigarros, poluentes, etc.) sendo altamente reativas, podendo causar alterações no organismo [6]. O ozônio resulta em danos oxidativos cumulativos no estrato córneo em caso de exposição crônica, gerando espécies de radicais livres. Diminui as defesas da pele e é capaz de esgotar as reservas antioxidantes enzimáticas (exemplo: Glutathione peroxidase, Glutathione reductase, superóxido dismutase e catalase) e não enzimáticas (exemplo: vitamina E, C e Glutathione). Estes mesmos radicais livres, por sua vez, ao interagirem facilmente com a membrana plasmática da derme, causam um desequilíbrio pró-oxidante/antioxidante iniciando uma cascata de peroxidação lipídica, e também, estimulam a liberação de mediadores pró-inflamatórios que adentram a pele através de neutrófilos e outras células fagocíticas, resultando em níveis aumentados de IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 que ativam a quimiotaxia e a fagocitose de granulócitos. Desta forma, com a combinação destes processos se obtém como resultado a toxicidade direta e indireta da pele, gerando mais espécies reativas de oxigênio, formando, então, um ciclo vicioso do ozônio que esgota os níveis de ATP Sirtuinas 3 nas mitocôndrias, uma proteína envolvida na eliminação de radicais livres mitocondriais [7].

### A Dermatite Atópica

A palavra “Dermatite” vem do grego “derma” (pele) e “iite” (inflamação). A Dermatite Atópica é uma doença inflamatória crônica e recorrente que acomete a pele, principalmente na primeira fase da infância. De acordo com o Estudo Internacional de Asma e Alergias na Infância, a maior ocorrência de Dermatite Atópica é apontada em crianças de 6 a 7 anos e de 13 a 14 anos de idade. Este estudo mostra que a doença está aumentando em países desenvolvidos e industrializados. [6].

A doença afeta 15-20% das crianças do mundo, e dessas de 10-20% persistem até a vida adulta, sendo um percentual global de adultos de 9% [8]

**Gráfico 1.** Relação da incidência da Dermatite Atópica de acordo com a idade.



**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Em 99% dos casos os pacientes sofrem de coceira diária, sendo em média 60% mais de 12 horas ao dia [9]. A Dermatite Atópica está relacionada com a predisposição genética e com estímulos ambientais.

O risco de desenvolver é de 2 a 3 vezes maior quando um dos pais é atópico e de 3 a 5 vezes maior se ambos os pais forem atópicos [10].

A diversidade de poluentes com os quais convivemos diariamente tais como compostos orgânicos voláteis, formaldeído, tolueno, fumaça de tabaco, dióxido de nitrogênio e material particulado, atuam como fatores de risco para o desenvolvimento ou agravamento da Dermatite Atópica. Existe grande possibilidade de que esses poluentes possuam a capacidade de induzir o estresse oxidativo na pele, deste modo, ocorrendo a disfunção da barreira cutânea ou desregulação imunológica. [11].

A barreira epidérmica é localizada na porção mais externa da epiderme, no estrato córneo. As camadas de corneócitos são conectados por córneo desmossomas e encaixadas em uma matriz intercelular enriquecida por lipídios [12].

Nos casos de Dermatite Atópica, ocorre a disfunção da barreira cutânea e descamação excessiva da pele por perda da conexão entre corneócitos e os desmossomas. Esta situação favorece a penetração de alérgenos, A perda de proteína Filagrina está relacionada com as mutações por perda de função de genes. O uso excessivo de detergentes e sabões podem promover danos a barreira cutânea e prejudicar a pele do paciente atópico de maneira considerável [6].

O desenvolvimento da Dermatite Atópica é induzido devido a predisposição genética, segundo alguns autores. Normalmente, os pacientes com D.A possuem defeitos na barreira cutânea, pois ocorre maior expressão de citocinas como IL-4 e IL-13, que desregulam a expressão de proteínas epidérmicas como Loricrina, Involucrina e Filagrina, indispensáveis para manutenção de água nas estruturas da epiderme e que determinam uma boa funcionalidade da barreira cutânea [13,14,15,33].

Duas grandes alterações ocorrem durante a Dermatite, a primeira é a disfunção da barreira epidérmica e a imunológica, sendo uma disfunção inata especialmente em queratinócitos e células de Langerhans e tendo a ativação linfocitária para desvio Th2 (linfócitos auxiliares tipo 2) [16].

As células de Langherans são estimuladas pelos antígenos na fase aguda, com resultante estimulação de linfócitos Th2, formando IL-4, IL-5 (causa a migração de eosinófilos) e IL-13 (indutora de crescimento celular). As interleucinas, por sua vez induzem os linfócitos B a sintetizarem IgE e inclusive

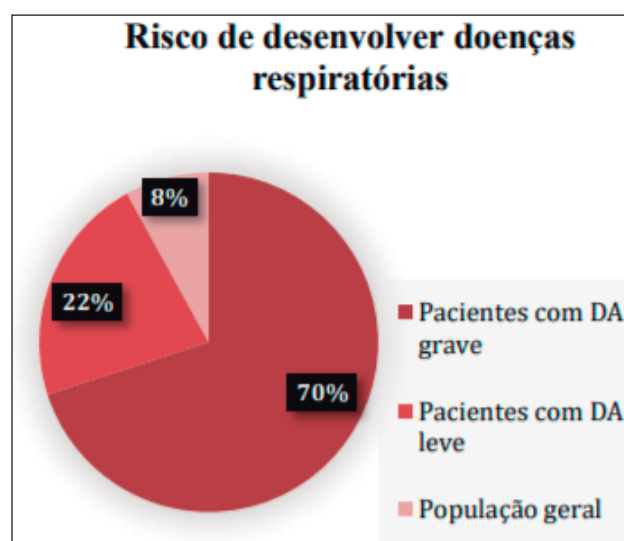
expressão de moléculas de adesão vascular, VCAM-1, que são encarregados pela infiltração de eosinófilos e atenuação da produção de citocinas pelas células Th1. Já na fase crônica, temos a interação entre as células de Langherans e macrófagos. Como consequência, há liberação de IL-1, que estimula linfócitos Th2 a produzirem mais IL-4, IL13, IL-5 e agente liberador de histamina [ 17, 18].

### A Dermatite Atópica e a relação com a poluição e seus possíveis mecanismos de ação

Sendo uma doença inflamatória cutânea comum na infância e adolescência, crônica e relacionada à atopia, existe predisposição a produzir anticorpos de imunoglobulina E (IgE), que pode ser provocada em resposta a quantidades mínimas de agentes irritantes como pólen, ácaros, alérgenos alimentares, perfumes, fumo, tabaco e poluentes encontrados no ar atmosférico, sendo a DA uma doença multifatorial [18].

Aproximadamente 70% dos pacientes com D.A grave desenvolve asma em comparação com 20-30% dos pacientes com D.A leve e aproximadamente 8% da população geral. A gravidade da D.A correlaciona-se com o risco de desenvolver rinite e com níveis elevados de anticorpos IgE totais e específicos [19].

**Gráfico 2.** Relação entre a Dermatite Atópica e o desenvolvimento de doenças respiratórias.



**Fonte:** Elaborado pelos autores.

O Brasil possui altos índices de doenças alérgicas em comparação com os outros países da América

do Sul e do mundo. Essa incidência tem aumentado principalmente em cidades consideradas industrializadas, entre os anos 1950 e 2000, mostrando uma relação entre a poluição atmosférica e o aumento de doenças alérgicas como asma, rinite e Dermatite Atópica, por exemplo [20].

A Dermatite Atópica possui potenciais fatores de risco para o seu desenvolvimento. Apesar de que o exato mecanismo de ação não esteja estabelecido atualmente, os poluentes atmosféricos são considerados iminentes para o seu surgimento. Através da poluição do ar ocorrem danos de proteínas, lipídios e DNA provindos da formação de espécies reativas de oxigênio que são geradas através de processos inflamatórios causados por disfunção biológica ou provenientes de alimentos. As espécies reativas de oxigênio são distribuídas em dois grupos designados como radiculares: hidroxila, superóxido, peroxila e alcoxila; e não-radicalares: oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloros [21,22,23].

A exposição da pele a poluentes ambientais causa desequilíbrios entre oxidantes e antioxidantes, este estresse oxidativo gera o agravamento dos sintomas e incidência da Dermatite Atópica, pois a barreira cutânea é afetada de forma direta. Em um estudo realizado com 75 adultos que apresentam o quadro de Dermatite Atópica foram submetidas amostras de biopsia em análises usando o ensaio espectrofotométrico de dinitrofenilhidrazina para mensurar as frações carbonílicas. Foi constatado que a distribuição e formação de dinitrofenilhidrazina estava aumentada nas lesões causadas por Dermatite Atópica; em conjunto foi observada a coloração mais acentuada nas camadas superficiais do estrato córneo. Este estudo concluiu que o dano oxidativo pode ser atribuído a exposição a oxidantes ambientais e que o aumento das espécies reativas de oxigênio provindos da poluição ambiental e luz ultravioleta podem induzir a irregularidade oxidativa às proteínas no estrato córneo, conseqüentemente ocasionando a disfunção da barreira cutânea e o agravamento da Dermatite Atópica [24].

A exposição a poluentes do ar afeta o desenvolvimento e a incidência da D.A e geram mecanismos de ação propostos como, por exemplo, as alterações epigenéticas e hipometilação do gene CpG da lipopoiética tímica, acometidas durante o período gestacional quando ocorrem exposição da mãe a fumaça de tabaco. As alterações restringem a quantidade de

células T reguladoras ou aumentam a expressão da proteína lipopoiética tímica ocasionando à polarização de TH2. Após o nascimento, a criança entra em contato direto com diversos tipos de poluentes ambientais, que gera estresse oxidativo resultando em danos ao lipídio e proteínas. Os danos causados pela poluição ocorrem em fetos, bebês ou crianças em estágio de desenvolvimento ou perante predisposição genética; outra forma de exposição ocorre através da inalação ou ingestão destes poluentes presentes na atmosfera. Alguns estudos *in vitro* e experimentos em animais sugerem que a liberação de citocinas pró-inflamatórias não-alérgicas e indução de secreções e prurido resultam em sintomas relacionados com a coceira, ou o aumento na expressão de IL-4, deste modo contribuindo para o desenvolvimento da Dermatite Atópica [4].

A poluição atmosférica consiste na mistura de diversos agentes contaminantes particulados. O material particulado induz na pele o processo de estresse oxidativo, ocasionando disfunções no manto hidrolipídico e o desequilíbrio imunológico do paciente. O mecanismo de ação do material particulado consiste na formação de espécies reativas de oxigênio e a produção de citocinas que ativam o processo de inflamação, deste modo é possível relacionar os poluentes atmosféricos com as doenças cutâneas [24,25].

Na D.A, a pele é caracterizada pelo aspecto seco (xerose), devido à perda transepidermica de água. Além disso, apresenta deficiência da proteína Filagrina, que tem função estrutural da pele e cerca de 50% dos casos de Dermatite Atópica foram relacionadas com alterações do gene da Filagrina [26,33].

Prurido é sintoma muito comum em pacientes com D.A, pois a ele se deve as lesões na pele dos pacientes [27].

Muitos estudos relacionam a poluição com o agravamento da D.A, pois observa-se o crescimento da doença no mundo juntamente com o avanço da industrialização, além disso mudanças climáticas também estão associadas com essa patologia. Estudar a relação da poluição com a D.A ainda é um desafio, pois há poucos métodos para avaliar o efeito agudo da poluição atmosférica com os sintomas da D.A [28,29].

**Ativos antipoluição que podem ser usados na pesquisa e desenvolvimento industrial (P&D).**

Atualmente é possível encontrar uma gama de ativos com a finalidade antipoluição. Foi realizada uma pesquisa objetivando verificar a origem, mecanismo de ação e a de diferentes ativos.



Os dados citados na tabela abordam informações gerais sobre os ativos disponíveis no mercado.

**Tabela 2.** Dados de ativos antipoluição de origem

botânica e sintética, mecanismo de ação e as possíveis aplicações para a pesquisa e desenvolvimento de dermocosméticos.

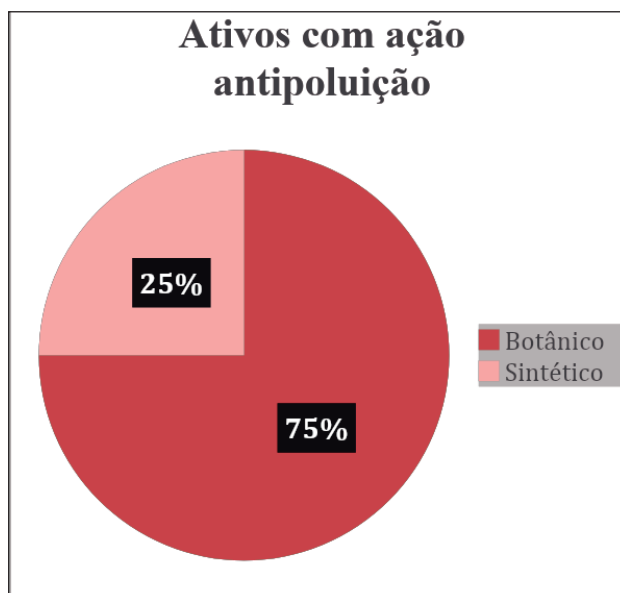
Ativo Empresa	Origem	Uso	Incorporado em	Benefícios
Apolluskin® (Silab)	Botânico <i>Withania Somnifera</i> <i>Root Extract</i>	Tópico	Emulsões e géis.	Limita inflamação e a oxidação de proteínas. Reduz atividade de AhR. Inibe inflamação pela redução de IL-1, mediadora de inflamação. Possui forte ação antioxidante.
City Guard+® (Codif)	Marinha Microalga	Tópico	Gel.	Oligoalginato de massa molecular elevada que atua como uma segunda pele, prevenindo que os poluentes permeiem a pele; proteção à barreira cutânea.
City Stem® (Sederma)	Botânico <i>Marrubium Vulgare</i> <i>Extract</i>	Tópico	Emulsões, sérums, géis.	Protege e fortalece a função barreira, removendo espécies oxidantes tóxicas. Protege da penetração de poluentes. Forte ação antioxidante.
Cobioage® (Cobiosa)	Botânico Extrato da vagem de <i>Caesalpiniaspinosa</i>	Tópico	Emulsões e géis.	O extrato da planta apresenta forte ação antioxidante; possui ação antiglicosilação. Protege contra poluentes e fumaça de cigarro.
Cobiobright® (Cobiosa)	Botânico <i>Pouterialucuma</i>	Tópico	Emulsões e géis.	Existe uma correlação entre o óxido nítrico, encontrado nos poluentes e as manchas, causando estresse oxidativo. Ativo rico em antioxidantes, carotenoides, vitaminas e niacina. Atua prevenindo as manchas decorrentes dos processos inflamatórios deflagrados pelos poluentes.

Eps White P® (Codif)	Sintético Fenoxietanol + Álcool Fenetílico	Tópico	Emulsões, géis e sérums.	Polímero de açúcar capaz de interagir com a formação de sinapses pigmentares. Pode ser usado em formulações para o tratamento de manchas escuras causadas por poluição. <sup>30</sup>
Ferment'ActiveGoji (Greentech)®	Botânico <i>Lycium Chinense Fruit Extract</i>	Tópico	Emulsões e géis.	Protege contra radicais livres; previne o estresse oxidativo; fortalece as defesas contra fatores ambientais.
Filmexel® (Silab)	Botânico <i>Kappaphycus Alvarezii Extract</i> (and) <i>Caesalpinia Spinosa Fruit Extract</i>	Tópico	Emulsões e géis.	Biopolímero formador de filme mimético a barreira cutânea, resistente, flexível e não oclusivo. Protege contra agentes exógenos como poluentes, alergênicos e irritantes (inclui os tensoativos)
HerbaShield URB® (LipoidKosmetik)	Botânico <i>Nasturtium Officinale+ Equisetum Arvense Extract + Urtica Dioica</i>	Tópico	Emulsões.	Cuidados com a pele na proteção antipoluição; tratamentos de desintoxicação; proteção urbana ou ambiental.
I-Defender® (Cobiosa)	Marinha Glicogênio Marinho	Tópica	Emulsões e géis.	Agente Antiestresse; reduz a liberação de radicais livres; protege a integridade e estabilidade do DNA; age como uma barreira contra radiação eletromagnética, outro tipo de poluição; evita o desenvolvimento de processos inflamatórios da pele.
Mitokinyl® (Silab)	Levedura ( <i>Pichiaheedi</i> )	Tópico	Emulsões e géis.	Promove a desativação do receptor de hidrocarboneto arílico e a normalização da síntese de mitoquina, principais caminhos contra a ação de poluentes na pele.

PGT1® (Exsymol)	Sintético <i>PyroglutamylamidoethylIndole</i>	Tópico	Emulsões, géis e sérums.	Possui forte ação antioxidante. Aumenta a imunidade da pele e a resistência contra agressões externas, incluindo a poluição e a fumaça.
POLLUSTOP® (Solabia)	Sintético Biosaccharide Gum-4 and 1,2,Hexanediol	Tópico	Emulsões e géis.	Polissacarídeo de alta massa molecular que age como barreira contra agentes poluentes, metais pesados, partículas de carbono e partículas suspensas. Limita danos como estresse oxidativo, inflamação e toxicidade celular. Protege o manto hidrolipídico.
Pollushield® (Lipotec)	Sintético Propanediol diisopropyladipato, Lecithin, entre outros	Tópico	Emulsões e géis.	Contém polímero com capacidade quelante de metais tóxicos. Elimina radicais livres. Evita estresse oxidativo.
SkinBlitz® (Chemyunion)	Botânico Redes poliméricas de polissacarídeos naturais derivadas da sálvia, trealose e galactoarabinas.	Tópico	Emulsões, géis e soros para proteção da pele contra a poluição.	Reduz a permeação de agentes poluidores em 65%; protege o DNA das células expostas à poluição. Inibe o envelhecimento prematuro; inibe a hiperpigmentação causada pela poluição; reduz os níveis de biomarcadores de estresse ambiental em 55% (HSP70).
Urbalys® (Greentech)	Botânico <i>Schisandrachinensis</i>	Tópico	Emulsões e géis.	A planta <i>Schisandrachinensis</i> possui alto teor de ligninas. Estas ligninas são capazes de ativar as defesas celulares e prevenir danos induzidos por radicais livres. Efeito antioxidante e anti-inflamatório. Previne disfunção da barreira cutânea, reduz perda de água transepidermal. Limita o impacto oclusivo dos agentes poluentes.

**Fonte:** Adaptado de Souza, V.M. Antunes, D.J., 2016 [31]

**Gráfico 3:** Comparação entre a origem dos ativos antipoluição do mercado atual



**Fonte:** Elaborado pelos autores

A partir da pesquisa realizada sobre D.A, os poluentes e ativos que atuam neste mecanismo, sugerimos algumas combinações de ativos para formular um dermocosmético com o conceito antipoluição e que agregue um benefício aos pacientes em relação ao tratamento da Dermatite Atópica, trazendo melhoria na qualidade de vida desses pacientes.

**Tabela 3.** Sugestão de fórmula para aplicação na braços e pernas após banho.

**Objetivo:** formular com agentes filmógenos, antioxidantes, quelante de metais tóxicos e que possam proporcionar melhora da imunidade da pele. Veículo derivado de óleo de oliva.

Creme Hidratante Antipoluição Corporal			
Ingrediente	INCI Name	Função	Concentração
Filmexel®	Kappaphycus Alvarezii Extract (and) Caesalpinia Spinosa Fruit Extract	Formador de filme mimético à barreira cutânea. Proteção contra poluentes, alérgenos e agentes irritantes.	1,0 %
Pollushield®	Water; Propanediol; Diisopropyl Adipate; Lecithin; Acrylic cid / Acrylamidomethyl Propane Sulfonic; Acid Copolymer ; Dimethylmethoxy Chromanol; Glyceril Caprylate; Xanthan Gum.	Aumenta as defesas antioxidantes contra poluição urbana. Quela metais tóxicos. Elimina radicais livres	5,0%
PGT1®	Pyroglutamylamidoethyl Indole (and) Butylene Glycol (and) Water	Possui forte ação antioxidantes. Aumenta a imunidade da pele e a resistência contra agressões externas, incluindo a poluição e a fumaça.	2,0%

Óleo vegetal de germem de trigo	Triticum Vulgare Germ Oil	Óleo vegetal rico em vitaminas A e E. Proporciona benefícios superiores a pele com DA.	5,0%
Emulsão Olivem 1000 qsp		Veículo	100%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

**Tabela 4.** Sugestão de fórmula para aplicação em face, pescoço e colo antes do FPS. Objetivo: formular com agentes protetores de barreira cutânea, que pro-

tejam contra os danos ao DNA das células expostas aos poluentes e que protejam contra o envelhecimento, inibindo manchas e estresse oxidativo.

<b>Sérum Facial Antipoluentes</b>			
<b>Ingrediente</b>	<b>INCI Name</b>	<b>Função</b>	<b>Concentração</b>
Urbalys®	Water (and) Propanediol (and) Schisandra Chinensis Fruit Extract.	Prevenir radicais livres e danos da função da barreira reduz a perda de água transepidermal.	2,0 %
SkinBlitz®	Water; Salvia Hispanica Seed Extract; Trehalose; Galactoarabinan; Glycerin; Xylitol; Sodium Phosphate; Sorbitol.	Reduz a permeação de agentes poluidores. Protege o DNA das células expostas à poluição, inibindo o envelhecimento prematuro e inibe a hiperpigmentação causada pelos poluentes.	3,0%
Sérum qsp		Veículo	100%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

**Tabela 5.** Veículo Olivem 1000.

<b>Fase/Ingrediente</b>	<b>INCI Name</b>	<b>Função</b>	<b>Concentração</b>
A.Olivem 1000	Cetearyl Oliviate; Sorbitan Oliviate	Cera auto emulsionante	10%
A.Microcare PHG	Caprylyl Glycol; Phenoxiethanol	Conservante	0,1%
A.Crodamol GTCC	Craprylic/Capric Triglyceride	Emoliente	2,0%
B. Pentilenoglicol	Pentilyne Glycol	Umectante	0,5%
B. EDTA	Dissodium Edta	Quelante	0,1%
B.Água purificada qsp	Water	Veículo	

**Fonte:** Elaborado pelos autores.



**Técnica de preparo:** Aquecer a fase A à 75°C; Agitar a fase B à 75°C; Incorporar as duas fases com agitação constante até 40°C; Incorporar os ativos selecionados.

**Tabela 6.** Veículo Sérum.

Fase/Ingrediente	INCI Name	Função	Concentração
A. Lecigel	Sodium Acrylates Copolymer Lecithin	Agente gelificante com propriedades emulsionante.	1,8%
A. Microcare PHG	CaprylylGlycol; Phenoxyethanol	Conservante	0,1%
A. Água	Water	Veículo	Qsp 100%

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

**Técnica de preparo:** Incorporar o conservante na água e homogeneizar; Incorporar o agente gelificante à frio e homogeneizar; Incorporar os ativos selecionados.

## Conclusão

Com o aumento da poluição nos países industrializados, observa-se o aumento no número de casos de Dermatite Atópica. Apesar de ser uma doença de manifestação genética, o abalo no manto hidrolipídico causado pelas partículas dos poluentes, o aumento do estresse oxidativo e dos radicais livres pode interferir negativamente e piorar os casos de D.A. Os agentes poluentes proporcionam danos nas proteínas, lipídios e DNA, causando disfunção biológica.

O levantamento dos dados demonstra a necessidade de tratamentos diferenciados para esta patologia e a importância do desenvolvimento de dermocosméticos com ativos que possam proteger ou tratar a pele contra esses agentes agressores.

Baseado nessas pesquisas, podemos observar que os ativos botânicos são considerados tendência no mercado mundial de tratamento e cuidados dermatológicos, principalmente com o direcionamento ao tratamento de doenças de pele relacionadas com a poluição.

No início do ano de 2016, pesquisadores deflagraram o alerta para a necessidade de observar as questões referentes as partículas e sua atuação e manifestação na pele atópica. Desde então, vários ativos foram pesquisados e melhorados em termos de atuação.

Os ativos de primeira geração eram basicamente formadores de filme e conseguiam absorver toxinas provenientes dos agentes poluentes. O ativo Filme-

rel<sup>®</sup> foi o primeiro ativo antipoluição a ser usado na Europa e no Brasil. Com o avanço das pesquisas, chegaram ao mercado os ativos antipoluição que quelam metais pesados e estimulam aos endoantioxidantes, conhecidos como ativos da segunda geração de antipoluentes. Em 2018 chegaram os ativos da terceira geração contra os malefícios dos poluentes, e que atuam fortalecendo e aumentando a imunidade da barreira cutânea, prevenindo estresse oxidativo e diminuindo a inflamação (<IL-1,IL-6,PGE-2). A proposta sequencial destes ativos pode ser uma alternativa para melhorar as condições da pele, do paciente com D.A. As propostas de formulações contidas nesta revisão possuem como objetivo estimular a área de pesquisa e desenvolvido em dermocosméticos para um olhar curioso aos ativos antipoluição e que atuem no fortalecimento das questões da pele, além de melhorar a qualidade de vida dos pacientes com Dermatite Atópica. No entanto, sugerimos a continuação do estudo farmacotécnicos e de estabilidade para creditar estas fórmulas na atuação sugerida pela pesquisa realizada.

## Referências

- GARBACCIO, JULIANA LADEIRA; FERREIRA, AMANDA DOMINGOS; PEREIRA, AMANDA LAÍS GONÇALVES GAMA. **Self-skincare knowledge and practice described by elderly persons in the mid-west of Minas Gerais**. Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia, Rio de Janeiro, v. 19, n. 1, jan./fev. 2016. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1809-98232016000100045](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-98232016000100045).
- DOMANSKY RC, BORGES EL. **Manual para prevenção de lesões de pele: recomendações baseadas em evidência**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Rubio; 2014.

3. THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE. **Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light.** [https://www.nejm.org/doi/10.1056/nejm199711133372003?url\\_ver=z39.88-](https://www.nejm.org/doi/10.1056/nejm199711133372003?url_ver=z39.88-)
4. DRENO, E. ARAVIISKAIA E. BERARDES-CA T. BIEBER G. GONTIJO M. SANCHEZ VIERA L. MARROT B. CHUBERRE B. **The impact of airborne pollution on skin.** *Journal of the european academy of dermatology and venereology.* Cidade, v.00, n.11, p.111-222, jan. 2012. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jdv.15583>.
5. WILLIAMS, H., STEWART, A., VON MUTIUS, E., COOKSON, W., AND ANDERSON, H.R. **International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase One and Three Study Groups.** Is eczema really on the increase worldwide? *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121: 947-954.e15.
6. LEUNG, D. Y. M. ET AL. **The role of air pollutants in atopic dermatitis.** *Clinical reviews in allergy and immunology, Seoul, Korea,* v. 134, n. 5, p. 993-999, nov. 2014.
7. BIEBER, T. **Atopic dermatitis.** *N Engl J Med.* 2008; 358: 1483-1494
8. NUTTEN S. **Atopic Dermatitis: Global Epidemiology and Risk Factors.** *Ann NutrMetab* 2015.
9. SIMPSON EL ET AL. **Patient Burden of Moderate to Severe Atopic Dermatitis (Ad):** Insights from a Phase 2b Clinical Trial of Dupilumab in Adults. *Jam Acad Dermatol.* 2016.
10. EICHENFIELDLF et al. **Guidelines of Care for the Management of Atopic Dermatitis.** Section 1. Diagnosis and Assessment of Atopic Dermatitis. *Jam Acad Dermatol.* 2014.
11. CORK, M.J., DANBY, S.G., VASILOPOULOS, Y., HADGRAFT, J., LANE, M.E., MOUSTAFA, M. **Epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis.** *J Invest Dermatol.* 2009; 129: 1892-1908.
12. HOWELL, M.D., FAIRCHILD, H.R., KIM, B.E., BIN, L., BOGUNIEWICZ, M., REDZIC, J.S. **Th2 cytokines act on S100/A11 to downregulate keratinocyte differentiation.** *J Invest Dermatol.* 2008; 128: 2248-2258
13. HOWELL, M.D., KIM, B.E., GAO, P., GRANT, A.V., BOGUNIEWICZ, M., DEBENED-ETTO, A. **Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression.** *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 120: 150-155.
14. KIM, B.E., LEUNG, D.Y., BOGUNIEWICZ, M., AND HOWELL, M.D. **Loricrin and involucrin expression is down-regulated by Th2 cytokines through STAT-6.** *Clin. Immunol.* 2008; 126: 332-337
15. SIMÃO, HELIO M. **Dermatite Atópica.** 2014. [http://www.sbp.com.br/fileadmin/user\\_upload/pdfs/dermatite\\_at%c3%93pica\\_atualiza%c3%87%-c3%83o\\_em.pdf](http://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/pdfs/dermatite_at%c3%93pica_atualiza%c3%87%-c3%83o_em.pdf).
16. THOMSEN, S. FRANCIS. **Atopic Dermatitis: Natural History, Diagnosis, and Treatment.** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc4004110/>
17. ARTIGOS DE ASMA, ALERGIA E IMUNOLOGIA. **Guia prático de atualização em dermatite atópica.** [https://www.sbp.com.br/fileadmin/user\\_upload/consenso\\_-\\_dermatite\\_atopica\\_-\\_vol\\_1\\_n\\_2\\_a04\\_1\\_.pdf](https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/consenso_-_dermatite_atopica_-_vol_1_n_2_a04_1_.pdf).
18. BOWLER, R.P. AND CRAPO, J.D. **Oxidative stress in allergic respiratory diseases.** *J Allergy Clin. Immunol.* 2002; 110: 349-356.
19. BANTZSK ET AL. **THE ATOPIC MARCH: Progression from atopic dermatitis to allergic rhinitis and asthma.** *J Clin. Cell Immunol.* 2014.
20. JOSÉ OTÁVIO BATISTA LEITE; PEREIRA, BOSCOLLI BARBOSA. **Doenças da pele relacionadas à poluição do ar: uma revisão sistemática.** *Jornal of Health and Biological Sciences, [S.L],* v. 5, n. 2, p. 171-177, fev./24. 03.
21. SCHWAB L., GORONCY L., PALANIYANDI S., GAUTAM S., TRIANTAFYLLOPOULOU A., MOCSAI A., REICHARDT W., KARLSSON F.J., RADHAKRISHNAN S.V., HANKE K. **Neutrophil granulocytes recruited upon translocation of intestinal bacteria enhance graft-versus-host disease via tissue damage.** *Nat. Med.* 2014; 20:648-654. doi: 10.1038/nm.3517.
22. HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC. **Free radicals in biology and medicine.** 2e ed. Oxford, UK: Clarendon, 1989.
23. NIWA, Y., SUMI, H., KAWAHIRA, K., TERASHIMA, T., NAKAMURA, T., AND AKAMATSU, H. **Protein oxidative damage in the stratum corneum: Evidence for a link between environmental oxidants and the changing prevalence and nature of atopic dermatitis in Japan.** *Br J Dermatol.* 2003; 149: 248-254.
24. CASTRO, M. ANA PAULA. **Dermatite atópica na Infância.** *RBM set V 69 Especial Pediatria.* [http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id\\_materia=5129&fase=imprime](http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id_materia=5129&fase=imprime).
25. SIMÃO, HELIO M. **Dermatite Atópica.** 2014.

[http://www.sbp.com.br/fileadmin/user\\_upload/pdfs/dermatite\\_at%c3%93pica\\_atualiza%c3%87%-c3%83o\\_em.pdf](http://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/pdfs/dermatite_at%c3%93pica_atualiza%c3%87%-c3%83o_em.pdf).

26. PAULA, C, C, **Quando a pele fala: Investigação sobre as fantasias e construção da parentalidade em pais de crianças com dermatite atópica.** [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/47/47131/tde-24092015-111916/publico/paula\\_corrigida.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/47/47131/tde-24092015-111916/publico/paula_corrigida.pdf)

27. YOUNG-MIN KIM, JIHYUN KIM, YOUNG-SHIN HAN, BYOUNG-HAK JEON, HAE-KWAN CHEONG, AND KANGMO AHN. **Short-term effects of weather and air pollution on atopic dermatitis symptoms in children: a panel study in korea.** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5383262/>.

28. PENARD-MORAND C, RAHERISON C, CHARPIN D, KOPFERSCHMITT C, LAVAUD F, CAILLAUD D. **Long-term exposure to close-proximity air pollution and asthma and allergies in urban children.** 2010. <https://erj.ersjournals.com/content/36/1/33>.

29. INDIAN JOURNAL OF DERMATOLOGY VENEREOLOGY AND LEPROLOGY. **Effects of air pollution on the skin: a review.** <http://www.ijdv.com/article.asp?issn=0378-6323;year=2017;volume=83;issue=4;spage=415;epage=423;aulast=puri>

30. PENG FET AL. **Exposure to fine particulate matter associated with senile lentigo in Chinese women: a cross-sectional study.** 2016. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27593207>.

31. SOUZA, V. M. D; JUNIOR, DANIEL ANTUNES. **Ativos Dermatológicos: Dermocosméticos e Nutracêuticos.** 9. ed. 2016: Daniel Antunes, 2016.

32. YOUNG-MIN KIM, JIHYUN KIM, YOUNG-SHIN HAN, BYOUNG-HAK JEON, HAC-HAWN CHEONG, KANGMOAHN. **Short-term effects of weather and air pollution on atopic dermatitis symptoms in children: A panel study in Korea;** 2016. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0175229>.

33. VISSER MJ, LANDECK L, CAMPBELL LE, MCLEAN WHI, WEIDINGER S, CALKOEN F. **Impact of atopic dermatitis and loss-of-function mutations in the filaggrin gene on the development of occupational irritant contact dermatites;** 2016. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23039796>.

(Brief review of opinion - special article)

## ETHICS - BIOETHICS - RESEARCH

**Autor: Professor Carlos Jorge Rocha Oliveira<sup>1</sup> - Biologist CRBio 19428 / 01D - PhD in Molecular Biology - São Paulo - Brazil.**

### Abstract

Every study that involves any living species of our system must be based on knowing how to differentiate ethics from moral and law. These three areas of knowledge are distinguished, but have great links and even overlaps. The following will be described some thoughts and foundations of different authors who stand on what is Ethics, Morals and Law, and their most usual definitions, as well as the usual concepts of Bioethics.

**Ethics** - The Greek word *éthos* gives rise to the word Ethics, which can be translated by custom or ownership of character. The word *éthos* also served for the Latin translation of Moral, while Ethics somehow guides “*General inquiry into what is good.*” (Moore GE, *Ethical Principles*, São Paulo: Cultural April, 1975). The relationship between people and their achievements is intrinsically related to Ethics (...) Ethics deals with and seeks the perfection of the human being. (Clotet J. An introduction to the subject of ethics *Psico* 1986; 12 (1) 84-92).

Singer suggests: “*Ethics can be a set of rules, principles or ways of thinking that guide, or call to itself, the authority to guide, the actions of a particular group (morality), or is the systematic study of the argument about how we should act (moral philosophy).*” (Singer P. *Ethics*, Oxford: OUP, 1994).

**Moral** - The word Moral comes from the Latin *Morus* that brings meaning and customs to people. Moral is contained in codes, which tend to regulate people’s actions. According to Augusto Comte (1798-

1857), “*Morality consists in making sympathetic instincts prevail over selfish impulses.*”

It is understood by sympathetic instincts those that approach the individual of the others. (Roux A. *La pensée d’Auguste Comte*, Paris: Chiron, 1920: 254). In definition, Piaget says that “every Moral is a system of rules and the essence of all morality consists in the respect that the individual feels for such rules.” (Piaget J. *The moral judgment in the child*, Madrid: Beltrán, 1935: 9-11).

**Law** - Issues involving Law and Law can be confused with the Principle of Justice. The Law realizes the social life through the Laws. Justice is a moral principle and broader than the law, usually interpreted through the view of distributive justice. Distributive justice refers to a construct related to how people evaluate the distributions of positive assets (income, freedom, political positions) or negatives (punishments, sanctions, penalties) in society. (Leonardo Rodrigues Sampaio, Cleonice P. Santos Camino, Antônio Roazzi) *Distributive justice: a review of the psychoso-*

<sup>1</sup>Corresponding Author:

Carlos Jorge Rocha Oliveira: e-mail: [porfcj52@gmail.com](mailto:porfcj52@gmail.com) - <https://orcid.org/0000-0003-2577-8751>



cial and developmental literature. 2009). “*Do not forget that what is fair from the legal point of view may not be from the moral point of view.*” (Abraham Lincoln (1809-1865)

**Bioethics** - Potter 1970: The article “*Bioethics, the science of survival*” presents a text adapted from chapter I of the book *Bioethics: bridge to the future*, which was still in print, having been published in January 1971 and says:

“*We have a great need for a Land Ethics, an Ethics for Wildlife, a Population Ethics, an Ethics of Consumption, an Urban Ethics, an International Ethics, a Geriatric Ethics and so on ... All of them involve the bioethics, (...)*” (Potter (1970).

This was the first text suggesting the term Bioethics. PhD in Biochemistry, researcher and professor in the field of Oncology at McArdle Laboratory, University of Wisconsin / USA Prof. Van Rensselaer Potter was very concerned about the environmental problem and the repercussion of the model of progress advocated in the 1960s. This definition has evolved into the Global Ethics (Global Ethics or Global Bioethics), made in 1988. (Potter VR *Bioethics, The Science of Survival, Perspectives in Biology and Medicine* 1970, 14: 127-153).

#### **Bioethics - Potter in 1971:**

“*I propose the term Bioethics as a way of emphasizing the two most important components to attain a new wisdom that is so desperately needed: biological knowledge and human values.*”

Bioethics is a bridge between science and the humanities. (Potter VR, *Bioethics, Bridge to the Future*, Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1971: 2).

#### **Bioethics - Potter in 1988:**

“*Bioethics is the combination of biology with a variety of humanistic knowledge as a science that establishes a system of medical and environmental priorities for acceptable survival.*” (Potter VR *Global Bioethics Building on the Leopold Legacy East Lansing Michigan State University Press*, 1988).

#### **Principle of Respect for the Person or Autonomy**

- This principle is central to Bioethics and establishes itself in privacy and truthfulness.

The thought of John Stuart Mill (1806-1883) proposes that: “about himself, about his body and his

mind, the individual is sovereign.”

The Belmont report (1978) proposed that autonomy incorporates at least two ethical convictions: first that individuals should be treated as autonomous agents, and second, that people with diminished autonomy should be protected.

The Belmont Report sets out the ethical principles, considered basic, that should guide biomedical research with human beings: **a)** the principle of respect for people; **b)** the principle of beneficence; **c)** the principle of justice. also proposed that autonomy incorporates at least two ethical convictions: first that individuals should be treated as autonomous agents, and second, that people with diminished autonomy should be protected. (The Belmont Report: Ethical Guidelines for the Protection of Human Subjects. Washington: DHEW Publications (OS) 78-0012, 1978).

Beauchamp and Childress, reduced the Principle of Respect to the Person for Autonomy. These authors admit that “*autonomy has different meanings, as diverse as self-determination, right of freedom, privacy, individual choice, free will, behavior generated by the individual himself and being a person.*”

The concept of Autonomy acquires specificity in the context of each theory. Virtually all theories agree that two conditions are essential to autonomy: freedom (independence of control of influences) and action (ability to act intentionally). (Beauchamp TL, Childress JF, *Principles of Bioethical Ethics*, 4d. New York: Oxford, 1994: 100-103).

#### **Beneficence**

“*The principle of beneficence requires that all people be treated ethically, that their decisions are respected and that they be protected from harm.*” Two rules are suggested: **1)** do no harm, and **2)** maximize possible benefits and reduce possible (Barchifontaine and Pesini, 2009, p.573).

In Brazil all these themes are grouped in committees of ethics that are notable for establishing the norms and conduct for the different lines of research. Research involving directly or indirectly human beings is established by resolution CNS 466/12. The studies and research involving animals are established by the National Council for the Control of Animal Experimentation in compliance with Arouca Law No. 11,794, of October 8, 2008.

Research is to plan, reflect, act and observe. As a



starting point we can stick to two initial proposals: **1)** An adequate methodology to achieve the objective response. **2)** Let the research add to the knowledge more about the subject studied. (Kemmis and McTaggart (1988).

In general research must be based on concepts where the search for results reach social, moral and ethical values for all. Human dignity, human rights and fundamental freedoms must be respected in their entirety in any research. There is no research without respect!

## **Bibliography**

MOORE GE. Ethical Principles. São Paulo: Cultural April, 1975.

SINGER P. Ethics. Oxford: OUP, 1994

ROUX A. La pensée d'Auguste Comte. Paris: Chiron, 1920: 254.

PIAGET J. The moral judgment in the child. Madrid: Beltran, 1935: 9-11.

LEONARDO Rodrigues Sampaio; Cleonice P. Santos Camino; Antônio Roazzi. Distributive justice: a review of the psychosocial and developmental literature. Psychology in study, Maringá, v. 14, n. 4, p. 631-640, Oct./Dec. 2009.

POTTER VR. Bioethics, the science of survival. Perspectives in biology and medicine 1970; 14: 127-153.

POTTER VR. Bioethics. Bridge to the future. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1971: 2.

BELMONT Report: Ethical Guidelines for the Protection of Human Subjects. Washington: DHEW Publications (OS) 78-0012, 1978).

BEAUCHAMP TL, Childress JF. Principles of Bioethical Ethics. 4ed. New York: Oxford, 1994: 100-103.

Barchifontaine C. de P, Pessini, L. Current issues of bioethics. 9. Ed. São Paulo. Ed. Loyola, 2009.

---

**Artigo de Ciências Animais - Conduta e orientação clínica**

**EXAME DO SISTEMA GENITAL DOS ANIMAIS**

**Autor: Andressa Salmazzo<sup>1</sup>, Silvia Frrari<sup>2,A</sup>.**

<sup>1</sup>Médica Veterinária, proprietária da clínica ReproPet, doutora em reprodução Animal pela FMVZ-USP. [andressadalmazzo@yahoo.com.br](mailto:andressadalmazzo@yahoo.com.br). <sup>2</sup>Médica Veterinária, doutora em reprodução Animal pela FMVZ-USP.

---

**Informações do artigo**

Palavras Chave:

Exame ginecológico,  
exame andrológico,  
fertilidade.

**Resumo**

O exame completo e exato do sistema genital é de fundamental importância para o diagnóstico e tratamento das afecções reprodutivas. Além disso, o exame ginecológico tem por finalidade detectar a fase do ciclo estral, a gestação e causas da infertilidade da fêmea. O exame andrológico é realizado para atestar o potencial reprodutivo do macho, além de diagnosticar as causas da impotência coeundi e generandi. O exame ginecológico se inicia com a anamnese, seguida pelo exame clínico geral, exame específico externo (avaliação da vulva e vestibulo) e exame interno (palpação retal de cérvix, útero e ovários em grandes animais e vaginoscopia). Os exames complementares são de grande auxílio para o diagnóstico, e consistem em ultrasonografia de útero e ovários, citologia vaginal em pequenos animais, exame histológico, microbiológico, testes sorológicos e dosagens hormonais. A anamnese e o exame clínico geral também são as primeiras etapas do exame andrológico, seguido de exame específico do sistema reprodutor externo (inspeção e palpação do pênis, prepúcio, escroto, testículos, epidídimo, funículo espermático e medição da circunferência escrotal) e interno (palpação retal das glândulas anexas), teste de libido, espermograma e por fim exames complementares como ultrasonografia de glândulas anexas e testículos, sorologia, PCR, testes hormonais, exame microbiológico do sêmen além de testes funcionais dos espermatozoides.

---

<sup>A</sup>Autor correspondente:

Silvia Ferrari - e-mail: [silviaferrari2000@hotmail.com](mailto:silviaferrari2000@hotmail.com) - <https://orcid.org/0000-0002-9917-2843>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.71> - Artigo recebido em: 18 de junho de 2019 ; aceito em 09 de Julho de 2019; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br). Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

## Article ID

Keywords:  
Gynecological  
examination, andrological  
examination, fertility.

## Abstract

Complete and accurate examination of the genital system is of fundamental importance for the diagnosis and treatment of reproductive disorders. In addition, the gynecological examination aims to detect the phase of the estrous cycle, pregnancy and causes of female infertility. The andrological examination is performed to attest to the male's reproductive potential, as well as to diagnose the causes of coeundi and generandi impotence. Gynecological examination begins with anamnesis, followed by general clinical examination, external specific examination (vulva and vestibule evaluation) and internal examination (rectal palpation of cervix, uterus and ovaries in large animals and vaginoscopy). Complementary exams are very helpful for diagnosis, and consist of uterine and ovarian ultrasonography, vaginal cytology in small animals, histological, microbiological examination, serological tests and hormonal dosages. Anamnesis and general clinical examination are also the first stages of the andrological examination, followed by specific examination of the external reproductive system (inspection and palpation of the penis, foreskin, scrotum, testicles, lymph node, spermatic funicular and scrotal circumference measurement) and internal (rectal gland palpation) attached), libido test, spermogram and finally complementary exams such as ultrasonography of the attached glands and testes, serology, PCR, hormonal tests, semen microbiological examination and functional sperm tests.

## Revisão de Literatura

### Exame ginecológico

A anamnese visa coletar dados que possam auxiliar na condução do exame clínico ginecológico com formulação diagnóstica e prognóstica. Previamente ao exame clínico, é necessário pesquisar todo o histórico reprodutivo do animal. Atentar-se para a idade, estado de saúde geral, condição nutricional, doenças prévias, performance reprodutiva anterior, alimentação, manejo, uso de medicamentos, medidas preventivas. Verificar se há presença de outros animais, e em caso positivo, detectar qual é a situação dos outros animais do grupo ou rebanho [1,2].

O exame clínico geral fornece ao diagnóstico ginecológico subsídios bastante valiosos. Tem como objetivo avaliar o estado de saúde como um todo, pois o principal sistema que sofre alterações caso o indivíduo possua alguma doença é o sistema reprodutivo. Deve-se aferir parâmetros como frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal, além de palpar linfonos,

inspecionar pele, anexos e mucosas, realizar exames convencionais dos grandes sistemas e da glândula mamária [2].

A realização do exame específico externo baseia-se principalmente na inspeção e na palpação. Devem ser observadas na região perineal e vulvar alterações de posição, forma, grau de dilatação, relaxamento dos ligamentos sacroisquiáticos, fechamento e tamanho da vulva, edemas, abcessos, hematomas, ferimentos. Se há presença de secreção, avaliar cor, odor, consistência e transparência, sendo uma indicação de um processo fisiológico ou patológico do trato genital. Inspeccionar a mucosa vestibular através do afastamento dos lábios vulvares, devendo atentar-se a coloração, umidade, lesões, nódulos, formações císticas, estreitamento, aderências [1,2]. A glândula mamária deve ser inspecionada e deve ser avaliada quanto a forma do úbere e dos tetos, tamanho, pele, coloração, e na palpação observar se há presença de nódulos [2].

Para um exame ginecológico interno, inclui-se a palpação via retal e a vaginoscopia. Além de exames complementares, como a ultrassonogra-

fia, exames citológico, histológico, microbiológico, sorológico e dosagem hormonal.

A palpação via retal tem como objetivo avaliar a cérvix, o útero e os ovários, em vacas e éguas. Através deste exame é possível verificar o tamanho, espessura, simetria, contratilidade, consistência e se há presença de conteúdo no útero. A palpação dos ovários permite avaliar a presença de folículos, corpo lúteo, aumento de volume, cistos e tumores. O tamanho pode variar de acordo com a idade, raça e fase do ciclo estral [1].

Em cadelas, gatas e pequenos ruminantes é recomendada a palpação digital. A parede da pelve é examinada para avaliar simetria, irregularidades, fraturas antigas, estreitamento do canal pélvico e para determinar se há presença de tumores, principalmente na parede dorsal da vagina [3].

A vaginoscopia é fundamental à complementação do exame ginecológico de palpação retal. A observação da cavidade vaginal é realizada por meio de um espéculo tubular estéril ou do tipo Polanski, de calibre variável conforme a espécie do animal [1].

A forma da cérvix, o grau de abertura do canal cervical, a coloração da mucosa, o grau de umidade da mucosa e a característica do muco cervical e vaginal podem ser avaliados, assim como, anormalidades anatômicas congênitas (encurtamento no comprimento da vagina – novilhas Freemartin; hímen persistente – White Heifer disease; orifício externo duplo) ou causadas por trauma [2].

Fezes, urina, ar, muco ou pus são conteúdos patológicos que podem ser encontrados na vagina, como consequência de fistulas retrovaginais, lacerações perineais, lesões graves do meato urinário externo ou imperfeita coaptação dos lábios vulvares [3].

Em relação aos exames complementares, a ultrassonografia tem sido adotada como uma técnica clínica de rotina para acessar estruturas fisiológicas e patológicas do trato reprodutivo em todas as espécies de mamíferos [4,5]. Tem sido utilizada em larga escala como parte integral do exame do trato reprodutivo, sendo um método de monitoramento não invasivo e direto. Pode ser utilizada para o diagnóstico de doenças uterinas, como presença de fluidos intrauterino, cistos, identificação de irregularidades ovarianas, como

folículos anovulatórios, neoplasia e hematomas.

O desenvolvimento de probes que podem ser utilizadas por via transretal, permite visualizar os ovários e auxilia também na determinação do estágio do ciclo estral, permitindo examinar a dinâmica do crescimento folicular, a regressão e desenvolvimento do corpo lúteo [5].

A citologia vaginal é um método diagnóstico bastante utilizado nos pequenos animais (cadelas e gatas) devido as características descamativas do epitélio vaginal acompanharem as mudanças hormonais do ciclo estral. É frequentemente utilizada para o diagnóstico da fase do ciclo reprodutivo, o que permite diferenciar alterações patológicas de fisiológicas. Não é muito utilizada nas outras espécies, por sua pouca especificidade às modificações hormonais.

No entanto, as citologias cervical e uterina são frequentemente utilizadas em bovinos e equinos. A avaliação da morfologia celular e a verificação de presença de muco, leucócitos e bactérias, pode ser indicativo de processos inflamatórios e tumorais [1]. Através do exame histológico, amostras uterinas têm sido utilizadas para o diagnóstico de problemas de infertilidade, em particular endometrites e endometrioses. O achado de células polimorfonucleares nas amostras uterinas demonstra a presença de inflamação endometrial, mas sem a identificação do agente causal. Utilizando a análise histológica do tecido, removido através da biópsia, é possível diferenciar se é uma alteração inflamatória ou degenerativa [6].

Nos casos de suspeita de infecções genitais específicas ou inespecíficas, deve ser realizada a confirmação através de cultura e antibiograma. O exame microbiológico da secreção vaginal e cervical é utilizado para o diagnóstico etiológico e teste de resistência bacteriana aos antibióticos [2].

Os testes sorológicos são um método indireto para o diagnóstico de infecções, utilizados para a detecção de anticorpos específicos produzidos pelo hospedeiro em resposta a infecções virais ou bacterianas. É uma boa opção para diagnosticar uma infecção prévia, uma vez que o agente infeccioso tende a ser eliminado com a evolução do quadro, somente os anticorpos permanecem e servem como indicativo de que a infecção ocorreu [7].

A dosagem hormonal é um método complementar de diagnóstico de um estado fisiológico ou de distúrbios endócrinos. Pode ser realizada no soro ou plasma sanguíneo, e em alguns casos no leite, urina e fezes. Os principais hormônios analisados são a progesterona, estrógeno, FSH e LH, além de hormônios tireoidianos [1].

### Exame Andrológico

A realização do exame andrológico tem como princípio fundamental caracterizar o potencial reprodutivo dos machos, e deve atender ao diagnóstico da saúde sexual, saúde hereditária e saúde reprodutiva tanto no aspecto da capacidade de monta (*potentia coeundi*) quanto na capacidade fecundante (*potentia generandi*) [8]. O exame andrológico deve ser indicado nos casos de histórico de infertilidade individual, para que possam ser detectadas alterações do desenvolvimento, inflamatórias, tumorais e degenerativas do sistema genital, bem como distúrbios na libido e na habilidade de cópula [9].

Deve ser realizada uma anamnese cuidadosa para que o clínico obtenha uma história completa do animal, antes de investigar o sistema reprodutivo. Doenças de outros órgãos ou sistemas podem, secundariamente, afetar o sistema reprodutivo [10].

Considerando que a produção espermática é um processo contínuo, que requer cerca de 60 dias desde o início da espermatogênese até a ejaculação, é importante saber do estado de saúde do macho durante o período precedente ao exame. O histórico reprodutivo do animal é de particular interesse e deve incluir, dependendo do objetivo do exame, os dados relacionados ao rebanho, ao estabelecimento e ao manejo dos animais na propriedade, o número e a frequência dos acasalamentos, as taxas de gestação obtidas em acasalamentos anteriores, a normalidade das progêneses, e a situação sanitária e reprodutiva do rebanho, bem como outras informações julgadas necessárias [9].

Após a anamnese, o animal deverá ser submetido ao exame clínico geral, com avaliação do sistema respiratório, circulatório, nervoso e digestivo, inspeção do aparelho locomotor e aferição da temperatura. O escore de condição corporal do

animal deve ser avaliado.

O exame do sistema genital se inicia com a inspeção do escroto, quanto à presença de ectoparasitas, lesões, dermatites. Através da palpação verifica-se a espessura da pele, sensibilidade, mobilidade e temperatura. Em seguida os testículos são palpados para se examinar a presença, forma, simetria, consistência, sensibilidade e mobilidade dentro do escroto. Uma consistência macia ou pastosa sugere degeneração testicular, enquanto uma consistência endurecida sugere neoplasia ou orquite [10]. Em cães, a chegada dos testículos no escroto geralmente se completa aos 10 dias de idade, porém somente após seis meses de vida do animal, quando o anel inguinal se fecha, é que a ausência dos testículos no escroto pode sugerir criptorquidismo [11].

Em ruminantes, é realizada a medida de circunferência escrotal, pois este é um importante parâmetro correlacionado com a produção de espermatozoides. A produção espermática tem uma correlação positiva com o peso gonadal, quanto maior e mais pesado o testículo, maior a produção espermática [12].

Os epidídimos devem estar intimamente aderidos aos testículos. A cabeça, o corpo e a cauda do órgão são examinados através da palpação, para que a forma, simetria, presença e consistência sejam avaliadas.

Em seguida os funículos espermáticos são palpados, verificando-se a simetria, já que o aumento do volume e temperatura pode estar relacionado com varicocele, que altera a capacidade de termorregulação testicular. O aumento de volume também pode sugerir hérnia. A dor e aumento de volume à palpação pode estar relacionado com a torção do funículo espermático.

O prepúcio deve ser examinado quanto ao orifício externo (óstio prepucial) já que cicatrizes e ferimentos podem provocar diminuição do óstio prepucial, determinando fimose. Segundo Cunha [10], o prepúcio do cão deve ser tracionado caudalmente e o bulbo da glândula exposto. Depois de exposto, o pênis deve ser totalmente avaliado. Em ruminantes, o pênis pode ser examinado em repouso ou após ereção, para a detecção inflamações, traumas, ou massas tumorais. O pênis de pequenos ruminantes apresenta o processo uretral ou apêndice vermiforme na glândula, com



comprimento de 4 cm, cuja função é distribuição do sêmen no fundo de saco vaginal através de movimentos rotatórios [13].

Por fim, o exame dos órgãos genitais internos dos grandes animais pode ser feito por palpação retal ou ultrassonografia transretal. Devem ser avaliadas as ampolas dos canais deferentes e as glândulas vesiculares, quanto a tamanho, forma, lobulação e sensibilidade (9). No cão é feita a palpação digital da glândula prostática. Segundo Cunha [10], a presença de tamanho e consistência anormais, assimetria entre lobos ou dor à palpação pode estar relacionada à presença prostatite ou hiperplasia prostática benigna, e indica a necessidade de um diagnóstico complementar para a avaliação da glândula.

O comportamento sexual dos machos deve ser avaliado por ocasião da coleta de sêmen com vagina artificial. Cada espécie manifesta um comportamento característico durante o cortejo sexual, que inclui aproximação da fêmea, cheirar diversas partes do corpo, realizar o reflexo de flehmen e algumas tentativas de monta [13].

Segundo Alfaro [8], o teste de libido em touros expressa as diversas reações comportamentais durante o cortejo sexual e a cópula. Sua interpretação será dada por meio da classificação quantitativa, em escala que varia de 0 a 10, em que 0 representa falta de interesse sexual, e 10 duas ou mais montas com serviço completo. A capacidade de serviço representa o número de montas efetuadas por um touro, de forma individual ou competitiva, num período de 10 minutos.

Para a realização do espermograma, deve-se realizar a coleta do sêmen. Os métodos de coleta de sêmen mais comumente utilizados são: vagina artificial, eletroejaculação e manipulação do pênis. A escolha do método de coleta depende da espécie e das circunstâncias da avaliação [13].

Imediatamente após a colheita do sêmen, o tubo coletor deve ser levado ao banho-maria a 35-37°C, para que o ejaculado seja submetido às avaliações. O volume do sêmen varia entre as espécies, e entre animais da mesma espécie, assim como a cor, que pode ser amarelada em alguns touros e caprinos, perolada em ovinos, esbranquiçada nas demais espécies. O odor é o característico da espécie (*suis generis*), excetuando a espécie caprina (odor hircino) e o pH deve estar

em torno de 7. O aspecto do sêmen varia entre as espécies, é soroso em equinos, cães e suínos, leitoso em bovinos e cremoso em pequenos ruminantes, já que o sêmen de ruminantes é muito concentrado de células espermáticas, e por isso é possível observar o movimento de massa dos espermatozoides macroscopicamente.

A seguir devem ser realizadas as análises microscópicas do sêmen. O turbilhonamento (movimento das ondas de espermatozoide) do sêmen é avaliado apenas em ruminantes, o mínimo deve ser 3, em uma escala de 0 a 5. Para realizar esta avaliação, uma gota de sêmen é colocada sobre lâmina aquecida e observada em microscópio com aumento de 100 vezes.

A motilidade retilínea e progressiva dos espermatozoides é avaliada colocando-se uma gota de sêmen de ruminantes diluída em solução fisiológica aquecida a 37°C, entre lâmina e lamínula também aquecidas, e observada em microscópio com aumento de 200 vezes. Nas demais espécies, coloca-se uma gota de sêmen puro entre lâmina e lamínula para se realizar esta avaliação. Aceita-se uma motilidade retilínea e progressiva acima de 70%. Nesta mesma lâmina é avaliado o vigor espermático, isto é, a propulsão dos espermatozoides, que varia em uma escala de 0 a 5. Aceita-se vigor acima de 3.

A concentração do sêmen é determinada com auxílio da câmara de Neubauer.

Para se realizar a análise da morfologia espermática pode-se utilizar o método de câmara úmida, no qual é colocada entre lâmina e lamínula uma gota de sêmen previamente diluído em solução de formol-salino aquecido a 37°C, e é feita vedação com esmalte ao redor da lamínula. Após 24 horas é feita a contagem de 200 células com avaliação da morfologia em microscópio com aumento de 1000 vezes, e então é calculada a porcentagem de defeitos encontrados nos espermatozoides. Pode-se realizar esfregaço de sêmen em lâmina aquecida para a realização de coloração, e neste caso são avaliados os defeitos de cabeça e acrossomo dos espermatozoides. Na maioria das espécies são permitidos a presença de 30% de defeitos totais em espermatozoides. Na tabela 1 estão descritos os parâmetros normais do ejaculado das diferentes espécies de animais domésticos.

As avaliações microscópicas do sêmen podem

ser realizadas através do sistema computadorizado (CASA), o qual minimiza a subjetividade nas análises de sêmen convencionais.

Para a avaliação do potencial reprodutivo dos reprodutores, tem sido proposta a classificação andrológica por pontos – CAP, a qual possibilita classificar os reprodutores, expressando de forma quantitativa o desempenho relacionado com: motilidade individual progressiva, vigor, defeitos maiores, defeitos totais e perímetro escrotal. A interpretação desta classificação será expressa em satisfatórios, 60 a 100 pontos; questionáveis, 31 a 59 pontos; e insatisfatórios, abaixo de 30 pontos [8].

Os exames complementares incluem os exames sorológicos e a identificação laboratorial por PCR de agentes infecciosos e parasitários que acometem os reprodutores, a exemplo de brucelose, tricomonose em bovinos e outras doenças. Outros exames, como cariotipagem e dosagem hormonal, podem ser incluídos na avaliação andrológica[8].

Segundo Paz et al. [14], a citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) é uma técnica simples e eficiente na avaliação da atividade espermatogênica, sendo um importante método auxiliar no diagnóstico de casos de sub/infertilidade, no qual a biópsia testicular seria de uso desaconselhável.

As análises espermáticas realizadas de rotina, como motilidade, vigor, concentração e morfologia são de fundamental importância, no entanto, somente estas avaliações não são suficientes para prever a fertilidade de uma amostra de sêmen. O exame de várias características físicas pode determinar um maior potencial de fertilidade [15].

Para que o espermatozoide seja considerado qualitativamente viável e potencialmente fértil é necessário que possua morfologia, atividade metabólica e membranas plasmáticas normais. A presença de membranas íntegras é pré-requisito para que os eventos relacionados ao processo de fertilização, como a capacitação espermática, penetração nos revestimentos do oócito, ligação à zona pelúcida e fusão com o oolema possam ocorrer [16].

Existem testes que permitem avaliar a capacidade funcional dos espermatozoides. É possível avaliar através de colorações simples e com um microscópio óptico convencional, a integridade

da membrana acrossomal, utilizando a coloração Fast Green / Rosa Bengala [17]. O acrossoma é uma organela que contém enzimas hidrolíticas, entre elas, acrosina e hialuronidase, que estão envolvidas no processo de fertilização permitindo que ocorra a fecundação do espermatozoide na zona pelúcida do oócito [15].

Outra técnica é a avaliação da integridade da membrana plasmática utilizando a coloração Eosina – Nigrosina [18]. A membrana plasmática é o componente mais externo que envolve todo o espermatozoide, formada por proteínas e lipídeos, é responsável pelo mecanismo de manutenção do equilíbrio osmótico celular atuando como barreira entre os meios intra e extracelulares. Alterações na sua estrutura levam a perda da homeostase com posterior morte celular. É fundamental que esteja íntegra para a sobrevivência do espermatozoide no trato genital da fêmea e para a manutenção da capacidade fecundante [19].

É possível avaliar a atividade mitocondrial através do método baseado na oxidação de 3'3 diaminobenzidina (DAB) pelo Complexo Citocromo C, no qual numa reação em cadeia, o reagente é polimerizado e depositado nos locais aonde ocorre a reação (mitocôndria), podendo ser identificada pela sua coloração marrom, através de microscopia com contraste de fase [20]. A mitocôndria está localizada na peça intermediária do espermatozoide e é responsável pela produção de energia, a partir da geração de ATP, possibilitando o movimento da célula. Também é responsável pela maior parte da produção endógena de espécies reativas ao oxigênio (ROS), sendo considerada a reguladora central da apoptose celular [21].

Para avaliar o DNA espermático existem técnicas como Cometa Alcalino, ensaio da estrutura da cromatina espermática e o TUNEL. O DNA espermático íntegro é essencial para a transmissão precisa do material genético para a próxima geração. Uma alteração no DNA, não necessariamente impede a fertilização, mas pode causar alterações congênitas na prole e maior índice de abortos [22].

Existem também outras formas de se avaliar a funcionalidade das células espermáticas, através do uso de sondas fluorescentes, que são corantes fluorescentes utilizados isoladamente ou

em combinação para determinar a integridade e função celular, o que possibilita a análise de diversos compartimentos espermáticos simultaneamente. No entanto, para esta análise é necessário

um microscópio de epifluorescência ou um citômetro de fluxo [16].

**Tabela 1:** Características macroscópicas e microscópicas do sêmen de algumas espécies de animais.

Espécie	Volume (ml)	Concentração (espermatozoides/ml)	Aspecto	Espermatozoides morfolologicamente normais
Bovina	5-8	350 x 10 <sup>6</sup>	leitoso	≥70%
Bubalina	2-8	300 a 1200 x 10 <sup>6</sup>	leitoso	≥70%
Ovina	0,5 a 3	1 a 3 x 10 <sup>9</sup>	cremoso	≥80%
Caprina	0,5 a 1,5	2 a 5 x 10 <sup>9</sup>	cremoso	≥80%
Equina	40 a 60	100 a 200 x 10 <sup>6</sup>	soroso	≥70%
Suína	50 a 600	200 a 400 x 10 <sup>6</sup>	soroso	≥70%
Canina	1,5 a 8	20 a 300 x 10 <sup>6</sup>	soroso	≥70%

Fonte: Adaptado de CBRA,2013

## Referências

- GRÜNERT E, GREGORY R.M. **Diagnóstico e terapêutica da infertilidade na vaca**: Sulina; 1984.
- FEITOSA F.L.F. **Semiologia Veterinária : a Arte do Diagnóstico : Cães, Gatos, Equinos**. 2 ed: ROCA; 2008.
- RADOSTITS O.M, HOUSTON D.M, MAYHEW I.G. **Veterinary Clinical Examination and Diagnosis**: W.B. Saunders; 2000.
- KÄHN W. **Ultrasonography as a diagnostic tool in female animal reproduction**. *Animal Reproduction Science*. 1992;28(1-4):1-10.
- MEDAN M.S, ABD EL-ATY A.M. **Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction**. *Journal of Advanced Research*. 2010;1(2):123-8.
- NIELSEN J.M, NIELSEN F.H, PETERSEN M.R. **Diagnosis of equine endometritis – Microbiology, cytology and histology of endometrial biopsies and the correlation to fertility**. *Pferdeheilkunde*. 2012;28(1):8-13.
- BARCELLOS D.E.S.N.D., MARQUES B.M.F.P.P., MORES T.J., CENTENARO F, SOBESTIANSKY J. **Uso de perfis sorológicos e bacteriológicos em suinocultura**. *Acta scientiae veterinariae Porto Alegre, RS*. 2009.
- ALFARO C.E.P. **Importância da avaliação andrológica na seleção de reprodutores a campo**. *Rev Bras Reprod Anim*. 2011;35(2):152-3.
- BARBOSA R. **A importância do exame andrológico em bovinos**: Embrapa Pecuária Sudeste; 2005. 13 p.
- CUNHA I. **Exame andrológico do cão**. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal*. 2008;1(1):49-65.
- JOHNSTON S.D, KUSTRITZ M.V.R., OLSON P.S. **Canine and Feline Theriogenology**: Saunders; 2001.
- JOHNSON A, GOMES W, VANDEMARK N. **The testis. Volume I. Development, anatomy and physiology**. *The testis Volume I Development, anatomy and physiology*. 1970.
- COLÉGIO Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal**. 3 ed. Belo Horizonte: CBRA; 2013.
- PAZ, R.C.R., LEME, D.P., ZÜGE, R.M., PESSUTI, C., SANTOS, E.F., BARNABE, R,C. **Citologia aspirativa por agulha fina (CAAF), em testículo de onça pintada (Panthera onca), utilizada como ferramenta no diagnóstico de infertilidade**. *Braz J vet Res anim Sci*. 2003;40:2.
- HAFEZ ,B. **Reprodução animal**. 7 ed: Manole; 2004.
- ARRUDA, R.P, CELEGHINI, E.D.C., ALONSO, M.A., CARVALHO, H.F, OLIVEIRA, L.Z., SILVA, D.F. **Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros**. *Revista Brasileira de Reprodu-*

ção Animal.35(2):145-51.

17. POPE, C.E., ZHANG, Y.Z., DRESSER, B.L. **A simple staining method for evaluating acrosomal status of cat spermatozoa.** Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 1991:87-95.

18. CAMPBELL, R., DOTT, H., GLOVER, T. **Nigrosin eosin as a stain for differentiating live and dead spermatozoa.** The Journal of Agricultural Science. 1956;48(01):1-8.

19. PARKS, J.E., GRAHAM, J.K. **Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes.** Theriogenology.38(2):209-22.

20. HRUDKA, F. **Cytochemical and ultra-cytochemical demonstration of cytochrome c oxidase in spermatozoa and dynamics of its changes accompanying ageing or induced by stress.** International journal of andrology. 1987;10(6):809-28.

21. RIBEIRO ,D., PESSOA, M.M. **Mitocôndria espermática: além da síntese de adenosina trifosfato (ATP).** Rev Bras Reprod Anim 2008;32(2):93-9.

22. DONNELLY, E.T., O'CONNELL, M., MCCLURE, N., LEWI, S. S.E.M. **Differences in nuclear DNA fragmentation and mitochondrial integrity of semen and prepared human spermatozoa.** Human Reproduction. 2000;15(7):1552-61.