

JESUALDO GOMES DE LUNA

**EFEITO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Anthurium affine*,
SCHOTT “MILHO DE URUBU” EM MODELOS EXPERIMENTAIS
PARA ESTUDO DE DERMATITE EM CAMUNDONGOS**

RECIFE

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

JESUALDO GOMES DE LUNA

**EFEITO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Anthurium affine*,
SCHOTT “MILHO DE URUBU” EM MODELOS EXPERIMENTAIS
PARA ESTUDO DE DERMATITE EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador:

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

Co-Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Daniela M. Bastos de Souza

Co-Orientador:

Prof. Dr. Francisco de Assis Leite Souza

RECIFE

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

L961e Luna, Jesualdo Gomes de
 Efeito do extrato hidroalcoólico de *Anthurium affine*, Schott
 “milho de urubu” em modelos experimentais para estudo de
 dermatite em camundongos / Jesualdo Gomes de Luna. - 2017.
 127 f. : il.

 Orientador: Joaquim Evêncio Neto.
 Coorientadores: Daniela Maria Bastos de Souza, Francisco
 de Assis Leite Souza.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de
 Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária,
 Recife, BR-PE, 2017.
 Inclui referências.

 1. Antúrio 2. Dermatite canina 3. Fitoterapia 4. Planta
 medicinal I. Evêncio Neto, Joaquim, orient. II. Souza, Daniela
 Maria Bastos de, coorient. III. Souza, Francisco de Assis Leite,
 coorient. IV. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

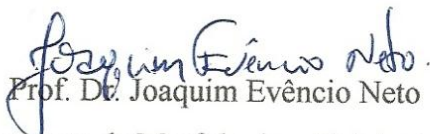
**EFEITO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Anthurium affine*,
SCHOTT “MILHO DE URUBU” EM MODELOS EXPERIMENTAIS
PARA ESTUDO DE DERMATITE EM CAMUNDONGOS**

Dissertação de mestrado elaborada por

JESUALDO GOMES DE LUNA

Aprovada em 15 de fevereiro de 2017.

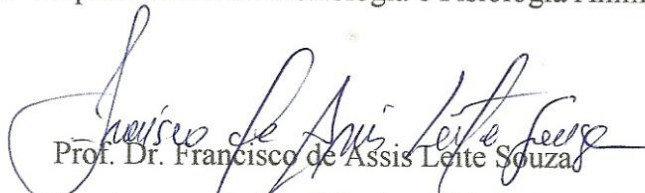
BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

Orientador – Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE


Prof^ª. Dr^ª. Daniela Maria Bastos de Souza

Co-Orientadora - Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE


Prof. Dr. Francisco de Assis Leite Souza

Co-Orientador - Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE


Prof. Dr. George Chaves Jimenez

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

Dedico este trabalho com muito carinho e gratidão ao meupai Luiz de Luna *in memorian* e a
minha mãe D. Zulmira.

AGRADECIMENTOS

Quero aqui nesse espaço, expressar o meu sentimento de gratidão a todos àqueles que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho:

Agradeço a Deus pela minha existência;

Agradeço a meus pais e irmãos, em especial ao mano Geraldo Luna que tornou possível a minha formação;

Agradeço a minha esposa Valma Luna pela paciência, compreensão, bons conselhos e companheirismo quando da realização deste trabalho;

Agradeço a Pedro Luiz pelos conselhos, pela amizade e pela felicidade de tê-lo como filho;

Agradeço ao meu orientador professor Joaquim Evêncio pela paciência e pela oportunidade de poder voltar a estudar com alegria de um garoto;

Agradeço a professora Daniela Bastos pela amizade e auxílio nas atividades do curso, por conselhos dela foi que decidi fazer o mestrado;

Agradeço ao professor George Jimenez pela sapiência, paciência, bons conselhos e dedicação a mim e ao nosso trabalho;

Agradeço a meu amigo José Ferreira Neto pessoa de valor e de coração bom que muito me auxiliou neste trabalho;

Agradeço ao professor Francisco Leite e a Jessica Bernardi pelo auxílio na histopatologia e patologia clínica;

Agradeço ao professor Celerino Carricone do Centro Nordestino de Medicina Popular em Olinda e Sra. Giselda do CESAM (Centro de Saúde Alternativa de Muribeca) que nos proporcionou encontrar a planta - Milho de urubu;

Agradeço UFRPE por me acolher como aluno e também como servidor desta casa.

RESUMO

A ocorrência de dermatites é relativamente elevada nos animais domésticos em especial de cães, com tratamentos onerosos e recidivas constantes, dessa forma busca-se alternativas de tratamento com custo mais acessível e eficaz no âmbito da medicina veterinária. Este trabalho teve como objetivo verificar a composição fitoquímica do extrato hidroalcoólico de folhas do *Anthurium affine*, Schott, “milho de urubu”, avaliando-se os níveis de toxicidade celular e sistêmica e resposta inflamatória em modelo de implante de algodão subcutâneo, além de avaliar os efeitos do extrato hidroalcoólico em modelo experimental de dermatite em camundongos. Após um processo de triagem, amostra de folhas da planta foi colocada para maceração em solução hidroalcoólica a 70%(400mL) por sete dias. Após esta etapa alíquotas do extrato foram utilizadas para a realização dos ensaios de fitoquímica. A citotoxicidade foi avaliada em culturas de *Saccharomyces cerevisiae* e a toxicidade sistêmica em modelo de atividade espontânea com camundongos. A atividade antiinflamatória foi dimensionada em modelo de implante de algodão subcutâneo e o modelo de dermatite foi confeccionado com aplicação tópica de acetona e hidróxido de sódio a 2,5% em área previamente tricotomizada no dorso dos animais, ambas com avaliações bioquímicas, hematológicas e histopatológicas. Como resultado, para uma concentração do extrato de 85 mg/mL; obteve-se resposta positiva para taninos, flavonóides, alcalóides e saponinas, na avaliação fitoquímica. Nos testes de citotoxicidade, não foram observadas alterações significativas na taxa de crescimento celular, embora na concentração de 10,75 mg/mL ocorreu diminuição importante no número de células. Quanto a toxicidade sistêmica, na condição aguda, não foram observados óbitos até a concentração de 2913,6mg/Kg embora tenham ocorrido efeitos do tipo dose dependente; essas respostas que são excitatórias e depressoras sobre o SNC, assim como as respostas sobre o SNA ocorreram de forma característica conforme a dose empregada. O extrato de *A. affine* na dose de 145,75mg/Kg inibiu a cascata de eventos associados à resposta pró-inflamatória de forma significativa ($p < 0,05$), interferindo sobre os mecanismos de sinalização, indução, produção e liberação de leucócitos, com elevação na taxa de albumina. Verificou-se também que o extrato interferiu sobre os eventos relacionados com os mecanismos de reorganização de áreas injuriadas, afetando a infiltração de células do tipo polimorfonucleares e mononucleares, assim como os mecanismos de sinalização envolvidos nos processos de formação de crosta, organização angiogênica e de distribuição dos fibroblastos.

PALAVRAS CHAVE: antúrio, dermatite canina, fitoterapia, planta medicinal.

ABSTRACT

The occurrence of dermatitis is relatively high in domestic animals, especially dogs, with expensive treatments and constant recurrences. In this way, alternative treatments with more accessible and effective costs are sought in the field of veterinary medicine. This study intended to verify the phytochemical composition of the hydroalcoholic extract of *Anthurium affine* Schott leaves, the “vulture corn”, evaluating the levels of systemic and cellular toxicity and inflammatory response in a subcutaneous cotton implant model, besides evaluating the effects of the hydroalcoholic extract in an experimental model of dermatitis in mice. After a screening process, samples of the plant's leaves were put to maceration in a hydroalcoholic solution at 70% (400mL) by seven days. After this stage, aliquots of the extract were used for phytochemical assays. The cytotoxicity was evaluated in tilths of *Saccharomyces cerevisiae* and the systemic toxicity in a model of spontaneous mice activity. The anti-inflammatory activity was scaled-out in a subcutaneous cotton implant model, and the dermatitis model was made with topical application of acetone and sodium hydroxide at 2.5% in a previously trichotomized area in the animal's back, both with biochemical, hematological and histopathological evaluations. As a result, for an extract concentration of 85 mg/mL, it was obtained a positive response for tannins, flavonoids, alkaloids and saponins in the phytochemical evaluation. In the tests for cytotoxicity, no significative alterations on the cell growth were noticed, although in the 10,75 mg/mL concentration it has occurred an important cell decrease. As for the systemic toxicity, in the acute condition, no deaths were observed until the 2913,6mg/Kg concentration, although it has occurred dose-dependent effects; these responses that are excitatory and depressant about the CNS in the same way that the responses on the ANS has occurred characteristically according to the employed dose. The *A. affine* extract on the 145,75mg/Kg dose has inhibited the cascade effect associated to the proinflammatory response in a significative way ($p < 0,05$), interfering on the leukocyte's signaling, induction, production and release mechanisms, with a high albumin rate. This study also verified that the extract has interfered with the reorganization mechanisms of injured areas, affecting the infiltration of mononuclear and polymorphonuclear cells and the signaling mechanisms of the incrustation processes, angiogenic organization and distribution of fibroblasts.

KEYWORDS: Anthurium, Canine Dermatitis, Phytotherapy, Medical Plant.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Acido araquidônico
DCA	Dermatite de contato alérgica
ADP	Adenosina difosfato
ALT	Alanina aminotransferase
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agencia nacional de vigilância sanitária
AST	Asparato aminotransferase
ATM	Atmosfera
ATP	Adenosina trifosfato
BAS	Bastonetes
CEUA	Comissão de ética no uso dos animais
GD	Grupamento de diferenciação
DAC	Dermatite atópica canina
DAG	Diacilglicerol
DMFA	Departamento de morfologia e fisiologia animal
DMV	Departamento de Medicina Veterinária
EOS	Eosinófilos
EPM	Erro padrão da media
FA	Fosfatase alcalina
FB	Farmacopeia brasileira
HB	Hemoglobina
HEM	Hemácias
HCT	Hematócrito
HT	Hidróxitriptamina
DCI	Dermatite de contato irritante
IL	Interleucina
IgE	Imunoglobulina do tipo E
IP	Intraperitoneal
LANAGRO	Laboratório nacional agrônômico

LCs	Células de Langehans
LEU	Leucócitos
LIN	Linfócitos
LT	Leucotrienos
MAPA	Ministério da agricultura pecuária e abastecimento
MON	Monócitos
MS	Ministério da Saúde
NaCl	Cloreto de Sódio
NKs	Natural Killers
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	Tampão fosfato
PGs	Prostaglandinas
PKa	Constante de ionização ácida
PKC	Proteína Kinase do tipo C
PL	Plaquetas
PT	Proteína total
RDW	Red Cell Distribution Width
SA	Sociedade Anônima
SEG	Segmentados
SC	Subcutâneo
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SUS	Sistema Único de Saúde
TCM	Células de Memória Centrais
TH	Células do tipo T. Helper
TNFα	Fator de Necrose Tumoral
TRM	Células de Memória Residentes
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco

SUMÁRIO

	pag.
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Pele	14
2.2 Processo inflamatório	18
2.3 Dermatopatias	20
2.3.1 Alguns tipos de dermatite.....	21
2.3.1.1 Dermatite de contato	21
2.3.1.2 Dermatite de contato alérgica(DCA)	22
2.3.1.3 Dermatite de contato irritante(DCI)	22
2.3.1.4 Dermatite de origem genética	23
2.3.1.5 Dermatite por malassezia	24
2.3.1.6 Dermatite seborreica.....	25
2.4 Plantas medicinais	26
2.5 Plantas da família <i>Araceae</i>	29
3 REFERÊNCIAS	32
4 ARTIGOS CIENTIFICOS	44
4.1 Análises fitoquímicas em extrato das folhas de <i>Anthurium affine</i> Schott (milho de urubu)	44
4.2 Toxicidade celular em cultivo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> estimulado com extrato hidroalcólico de folhas de <i>Anthurium affine</i> Schott (milho de urubu)	52
4.3 Toxicidade aguda em camundongos estimulados com o extrato hidroalcólico de folhas de <i>Anthurium affine</i> Schott (milho de urubu)	65
4.4 Avaliação do potencial antiinflamatório do extrato hidroalcólico de folhas de <i>Anthuriumaffine</i>, Schott (Milho de Urubu) em camundongos	82
4.5 Avaliaçãodo efeito do extrato hidroalcólico de <i>Anthuriumaffine</i>, Schott “Milho de urubu” em modelo experimental de dermatite em camundongos <i>Mus musculus</i>, albino suíço	100
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	125

1 INTRODUÇÃO

As dermatopatias representam hoje um importante percentual de ocorrência na nossa sociedade, afetando tanto humano como os animais domésticos. A sua manifestação pode apresentar características próprias, podendo estar relacionada com diferentes fatores, variando desde distúrbios metabólicos, até a predisposição genética. Assim sendo, algumas dermatoses apresentam-se resistentes ao tratamento, o que por sua vez pode proporcionar desconfortos diversos para o paciente, afetando de sobremaneira a qualidade de vida do mesmo (DUARTE et al., 2009). As doenças dermatológicas permanecem como algumas das afecções mais frequentes e frustrantes para o clínico de pequenos animais e o diagnóstico e tratamento podem representar um desafio, visto que a pele responde de forma limitada aos diferentes tipos de injúrias, o que resulta no aparecimento de lesões semelhantes em um amplo espectro de doenças e ainda, lesões que não apresentaram resolução definitiva e são apenas parcialmente controladas, o que exige um acompanhamento prolongado do paciente (CRMV-MG, 2013).

Na medicina veterinária, a dermatologia é uma área em ascensão. Acredita-se que hoje, entre 20% e 75% dos atendimentos veterinários realizados em clínicas e hospitais de pequenos animais estejam diretamente relacionados a problemas dermatológicos (Scott et al. 2001). Um estudo norte-americano (Ralston Purina Company 1989) indicou que 25% de todas as atividades relacionadas com pequenos animais envolviam o diagnóstico e o tratamento de problemas com a pele e a pelagem; outro estudo (Alpo Veterinary Panel 1985), com a participação de 2.540 clínicos de pequenos animais nos Estados Unidos, mostrou que as doenças de pele são os principais motivos de visita ao veterinário. Essa alta prevalência se deve, provavelmente, ao fato de que alterações de pele chamam a atenção e frequentemente causam repulsas, fazendo com que o proprietário procure auxílio veterinário (SOUZA et al., 2006).

Uma pele saudável, além de se renovar normalmente como outros órgãos do corpo humano, é capaz de se auto-regenerar quando sofre algum tipo de lesão; e o fato da pele ser a principal interface entre o corpo e o meio externo, torna-a o primeiro alvo de bactérias, vírus e fungos, além dos irritantes físicos e químicos. Como a manutenção da integridade da pele é de extrema importância para o desempenho de suas funções em condições ótimas, ela própria possui um mecanismo que, em condições fisiológicas normais e através da renovação constante das células nas camadas mais profundas, assegura a manutenção de sua estrutura e funcionamento normal. No entanto, existem situações patológicas que comprometem este equilíbrio fisiológico, promovendo alterações estruturais e funcionais da pele, implicando no desenvolvimento de patologias inflamatórias cutâneas (DEBENEDICTIS *et al.*, 2001; BRAD, 2000; MAKRANTONAKI E ZOUBOULIS, 2007; LEE *et al.*, 2009; PROKSCH *et al.*, 2008). A inflamação é uma resposta inicialmente protetora que tem por objetivo eliminar ou neutralizar

o agente lesivo. E essa finalidade é concluída de modo satisfatório quando os mecanismos antiinflamatórios endógenos são por fim ativados, protegendo os tecidos de danos maiores e promovendo a restauração de sua estrutura e função (LAWRENCE e GILROY, 2007).

Geralmente, após uma prévia sensibilização cutânea, uma vez que o prurido se inicie, normalmente segue-se a injúria mecânica dos queratinócitos que, uma vez lesados, liberam mediadores pró-inflamatórios.(OLIVRY et al., 2004). A liberação destes fatores normalmente sinaliza cascatas de eventos em especial aquela associada ao metabolismo do ácido aracdônico que por sua vez resultam no desenvolvimento dos sinais da inflamação, como eritema, edema e aumento do prurido (WHITE, 1998). Na presença de infecção bacteriana, os queratinócitos são ativados por produtos microbianos e derivados de fatores imunomediados, liberando citocinas e quiminocinas. (KISICH, 2008; SCHAUBER e GALLO, 2008).

As dermatites são caracterizadas pela presença de eritema, edema, infiltração, vesiculação, secreção, formação de crostas e escamas. Essas lesões se sucedem e se associam, formando os aspectos multiformes das dermatites e ao lado dessas lesões há um sintoma constante, moderado ou intenso, que é o prurido. Este é causado pela liberação de substâncias que excitam as terminações nervosas cutâneas, sendo os estímulos levados ao córtex cerebral (SAMPAIO e RIVITTI, 2000).

Atualmente existe uma busca por novos compostos com propriedades farmacológicas, antiinflamatórias eficazes no combate a dermatites e que possuam menos efeitos colaterais. Entre esses, o estudo de produtos naturais, em especial o uso de plantas, que na verdade é uma prática muito antiga (VEIGA JÚNIOR, 2008), onde no Brasil, mesmo com o avanço da indústria farmacêutica, se verifica um grande apelo popular (principalmente da área rural), onde se emprega insumos de origem vegetal para o alívio de desconfortos sintomatológicos ou cura de algumas enfermidades, mesmo na dimensão dos animais domésticos (BOSCOLO e VALLE, 2008; BARREIRO e BOLZANI, 2009; BADKE et al., 2011).

O uso das plantas medicinais é uma prática que sempre esteve presente ao longo da história da humanidade, assumindo diferentes configurações conforme as tendências culturais dos povos, cujas práticas podem ser identificadas até os dias atuais, como é o caso da fitoterapia. As plantas se constituem fonte de matérias-primas diversas que se configuram como ingredientes importantes na produção de medicamentos para fins terapêuticos (TAUFNER, 2006; BARREIRO e BOLZANI, 2009; MENEGASSO et al., 2016).

Muitas enfermidades, apesar da ampla disposição de medicamentos alopáticos disponíveis no mercado, ainda carecem de uma estratégia terapêutica eficiente que concilie a estabilidade das respostas na erradicação do problema com a preservação da qualidade de vida

e bem-estar dos pacientes acometidos, como é o caso da ocorrência das dermatites na clínica de pequenos animais domésticos.

As plantas da família Araceae são ervas que apresentam uma distribuição cosmopolita, incluindo cerca de 100 gêneros e 3000 espécies, podendo ser encontrada em todos os continentes, exceto na Antártida. A maioria das espécies encontra-se distribuída em regiões tropicais como no Brasil onde podem ser identificados 35 gêneros e cerca de 400 espécies (TESKI e TRENTINI, 1997).

Desta família, merece destaque as plantas do gênero *Anthurium* Schott que compreende mais de 600 espécies; normalmente herbáceas, caracterizando-se como epífitas nativas da América tropical, conhecidas popularmente por antúrio, ou vulgarmente como língua de sogra, anthurium selvagem ou “milho de urubu”; esta última denominação mais característica no nordeste brasileiro (SOUZA e LOURENZI, 2005). A espécie *Anthurium affine* Schott pode ser encontrado na Mata Atlântica e nos ambientes domésticos onde geralmente podendo ser empregado como planta ornamental. Popularmente os seus insumos são aplicados no tratamento do diabetes, micoses e doenças cardiovasculares (NOMURA et al., 2012).

Segundo alguns estudos, o extrato de folhas do *A. affine* Schott pode apresentar grande quantidade de flavonoides entre os quais se destacam a quercetina, o kaempferol e a luteína, flavonoides estes com propriedades antiinflamatórias, antimutagênicas, antioxidantes, antitumorais, reepitelizantes e cicatrizantes (CARRICONDE, 1996; TOMBOLATO, 2000; CROAT, 2004; VEIGA JUNIOR, 2008; NOMURA et al., 2012).

O *A. affine* Schott tem sido referido como um importante recurso coadjuvante no tratamento de dermatites nos animais domésticos, oferecendo resultados estáveis, permitindo a rápida recuperação do quadro clínico apresentado pelos animais acometidos, motivo pelo qual se despertou o interesse em se estudar esta planta.

O presente trabalho teve como objetivos determinar a composição fitoquímica do extrato hidroalcoólico de folhas do *Anthurium affine*, Schott, “milho de urubu”, avaliando-se os níveis de toxicidade celular e sistêmica e resposta inflamatória em modelo de implante de algodão subcutâneo, além de verificar os efeitos do extrato hidroalcoólico em modelo experimental de dermatite em camundongos *Mus musculus*, albino suíço.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pele

A pele é o maior e mais pesado órgão do corpo, tendo origem através de precursores ectodérmicos (queratinócitos, melanócitos e nervos periféricos) e mesodérmicos (fibroblastos, leucócitos e vasos). Normalmente as estruturas ectodérmicas compõem a epiderme e as mesodérmicas estão mais profundamente na derme e hipoderme, porém durante o desenvolvimento fetal e em algumas ocasiões da vida, alguns leucócitos atravessam a barreira epiderme-derme permanecendo temporariamente na epiderme (SCOTT et al.,1996; BRAD, 2000).

Trata-se de um órgão complexo que apresenta múltiplas funções, entre elas: manutenção da homeostasia endógena (regulando a temperatura corporal e a perda de líquidos), controle do metabolismo (síntese de vitamina D), sentido do tato (por conter terminações nervosas sensitivas) e proteção contra ameaças externas (DEBENEDICTIS et al., 2001; MAKRANTONAKI e ZOUBOULIS, 2007; PROKSCH et al., 2008). Além de promover uma barreira protetora entre os órgãos internos e o ambiente externo, a pele é ainda o principal componente periférico do sistema imune, sendo capaz de iniciar uma resposta primária frente a um patógeno (PROKSCH et al., 2008).

A pele é constituída de três camadas principais: a mais superficial - a epiderme, formada por um epitélio estratificado queratinizado, uma intermediária – a derme, constituída por tecido conjuntivo e a mais profunda - a hipoderme ou tecido subcutâneo, formada por tecido adiposo. A epiderme é a camada mais superficial da pele, composta por múltiplas camadas de células que variam da forma colunar a achatada, sendo de quatro tipos distintos: queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel (SCOTT et al.,1996).

Os queratinócitos compõem cerca de 90% de todas as células encontradas na epiderme e, além de exercerem seu papel na síntese de queratina, possuem atividade bioquímica que auxiliam outras células no microambiente dérmico. Entre as atividades bioquímicas dos queratinócitos podemos citar como exemplo a secreção de uma grande variedade de substâncias mediadoras tais como peptídeos antimicrobianos, quimiocinas e citocinas (IL-1, IL-6, IL-10, IL-18 e TNF α) (ALBANESI et al., 2005). Assim, estas ações podem influenciar sua proliferação e diferenciação; afetando algumas funções do sistema imune, como a migração e diferenciação de células inflamatórias.

Ainda encontram-se na epiderme outros tipos de células e estruturas, como: os melanócitos (responsáveis pela pigmentação da pele), linfócitos T, terminações nervosas, anexos cutâneos (pêlos, unhas e glândulas), além das células de Langerhans e Merkel, funcionando como parte do sistema imune e sensorial respectivamente (BRAD, 2000; DEBENEDICTIS et al., 2001; SCOTT et al., 2001; DENNING, 2004; MAKRANTONAKI e ZOUBOULIS, 2007; PROKSCH et al., 2008;).

As células de Langerhans (LCs) são células dendríticas residentes na camada basal da epiderme (DOAN et al., 2008), que estão entre as primeiras a entrar em contato com antígenos na pele. Estudos *in vitro* têm mostrado que as LCs podem processar antígenos lipídicos e ou microbianos e apresentá-los a células T efectoras (HUNGER et al., 2004), que normalmente são residentes na pele e desempenham um papel fundamental na resposta imunológica local. As células T epidérmicas estão principalmente distribuídas na camada basal, freqüentemente próximas às células de Langerhans.

A epiderme normal dos mamíferos funciona como o posto periférico mais avançado do sistema imune; considera-se que as células de Langerhans, os queratinócitos, os linfócitos T epidérmicos e os linfonodos periféricos de drenagem formam coletivamente um sistema integrado de tecido linfóide associado à pele, que medeia a imunovigilância cutânea (SCOTT et al., 1996).

Tendo como base o grau de diferenciação dos queratinócitos, a epiderme pode ser dividida em cinco camadas ou estratos: estrato basal, estrato espinhoso, estrato granuloso, estrato lúcido e estrato córneo (DYCE, K. M. et al., 1997; NORRIS, 2004). O estrato basal está ancorado fortemente por hemidesmossomos a uma membrana basal que separa a epiderme da derme. Esta membrana basal é composta por colágeno tipo IV, laminina, glicosaminoglicanos e sulfato de heparina, todos sintetizados pelos queratinócitos, além da fibronectina que é produzida por fibroblastos dérmicos (ROBERT, 1998).

Como a epiderme é totalmente avascular, os leucócitos que residem nesta camada provêm de vasos da camada dérmica, portanto, a membrana basal citada acima também forma um obstáculo físico para a translocação dos leucócitos da derme para a epiderme, que quando recrutados para o local de inflamação devem forçar a passagem através dessa barreira resistente (BRAD, 2000). O estrato basal é ainda constituído por uma população de células epiteliais escamosas indiferenciadas que tem propriedade de auto-renovação, essas células estão ligadas entre si horizontalmente, por desmossomos, e se multiplicam continuamente através de mitoses, de forma que as novas células geradas empurram as células velhas para cima, em direção à

camada mais superficial do corpo (DYCE. K. M. et al.,1997; GARTNER e HIATT, 1999; SAMPAIO et al., 2000;).

À medida que os queratinócitos vão sendo produzidos na camada basal, eles migram desta camada até o estrato córneo, enquanto diferenciam-se e adquire quantidades gradualmente crescentes de proteína fibrosa, queratina, tornando-se cada vez mais achatados. É no estrato espinhoso que os queratinócitos produzem filamentos de queratina, sendo esse estrato responsável pela queratinização. Passando para o estrato granuloso, as células tornam-se mais achatadas e com maior quantidade de queratina em seu interior, é nesse estrato que se inicia o processo de cornificação, onde as células sofrem apoptose e diferenciam-se em corneócitos. Já na camada lúcida são encontradas células anucleadas, achatadas e ricas em queratina. Por fim, o estrato córneo, é formado por diversas células mortas que constituem uma capa de queratina que se renova continuamente (MAKRANTONAKI e ZOUBOULIS, 2007). Esse último estrato serve como a principal barreira contra a penetração de agentes químicos e microbianos, além de ser capaz de resistir a forças mecânicas (BRAD, 2000; PROKSCH et al., 2008)

Esta migração e diferenciação que ocorrem no decorrer das diferentes camadas fazem da epiderme uma estrutura bastante dinâmica e a regulação desta sequência de proliferação dos queratinócitos é de extrema importância para a homeostasia do órgão, sendo que qualquer alteração no processo pode levar ao desenvolvimento de problemas cutâneos como dermatites seborréicas e atópicas (SCOTT et al., 2001), psoríase, lesões crônicas e câncer de pele (ROBERT, 1998).

Como matriz de separação entre a epiderme e a derme subjacente, podemos encontrar uma membrana basal, muito bem estruturada, constituída por uma malha de proteínas derivadas tanto dos queratinócitos epidérmicos quanto dos fibroblastos dérmicos, além de vários tipos de colágeno, lamininas, subunidades de integrinas e proteoglicanas.

A derme é a camada de tecido conjuntivo intimamente ligado à epiderme, que além de sustentá-la possui uma rica rede vascular para supri-la com nutrientes. Esta camada também é invadida por folículos pilosos, glândulas sebáceas e glândulas sudoríparas que crescem a partir da epiderme (DYCE K. M. et al., 1997). A derme representa a maior parte da força tênsil e elasticidade da pele, esta envolvida na remodelação, manutenção e substituição da pele e modula a estrutura e função de epiderme (SCOTT et al., 2001). Na derme, as células T estão situadas preferencialmente na junção dermo-epidérmica ou em apêndices cutâneos subjacentes. As células T CD4⁺ e CD8⁺ estão presentes em números praticamente iguais e são, em sua maioria, células T de memória que expressam antígenos associados a linfócitos (NESTLE et al., 2009).

Estudos recentes têm mostrado que células T de memória residentes (TRM) na pele não recirculam e são potentes efetoras da resposta imune cutânea a antígenos e a agentes infecciosos, funcionando como uma linha de defesa rápida, sendo que sua ativação excessiva está correlacionada a algumas patologias cutâneas, como psoríase e dermatite de contato (COENRAADS e GONÇALO, 2007). Por outro lado, existe uma grande variedade de células dendríticas e macrófagos na derme apresentando cada uma destas, respostas imunológicas altamente diferenciadas (NESTLE et al., 2009).

As células dendríticas dermais podem ser ativadas por patógenos ou por sinais de injúria tecidual participando da resposta inflamatória cutânea através da liberação de mediadores inflamatórios e recrutamento por quimiotaxia de neutrófilos ao local da injúria. Em alguns casos, os mediadores liberados por estas células podem desempenhar ações benéficas, contribuindo para a erradicação de agentes infecciosos e ou reparo tecidual, mas, podendo também desencadear uma resposta tecidual patológica com inflamação persistente (CHE e NUNES, 2010).

Os macrófagos da pele são em sua maioria células residentes que exercem funções homeostáticas removendo células apoptóticas, mas também atuando como células imunes sentinelas, pois expressam uma grande variedade de receptores que são capazes de reconhecer substâncias estranhas ou células anormais. Sob condições infecciosas ou inflamatórias, outros macrófagos, além dos residentes podem ser recrutados para o tecido com o objetivo de combater infecções, iniciar o reparo tecidual e resolver a inflamação. Entretanto, devido às suas propriedades citotóxicas e pró-inflamatórias, os macrófagos podem gerar dano tecidual e contribuir para o desenvolvimento de processos inflamatórios crônicos (NESTLE et al., 2009; GORDON e MARTINEZ, 2010).

A hipoderme ou tecido subcutâneo é constituído por tecido adiposo e tecido conjuntivo frouxo e faz conexão entre a derme e a fáscia muscular, sendo a espessura da camada de tecido adiposo variável ao indivíduo e à localização. Essa camada é responsável pela reserva de energia, isolamento térmico do organismo, modelação da superfície corporal, absorção de choques e fixação dos órgãos (SAMPAIO et al., 2000). Ela também é importante como reservatório esteróide, como local de metabolismo de esteróides e produção de estrogênios (SCOTT et al., 1996).

Uma pele saudável, além de se renovar normalmente como outros órgãos do corpo é capaz de se auto-regenerar quando sofre algum tipo de lesão; o tempo de renovação da célula epidérmica em cães normais é de aproximadamente 22 dias. E o fato da pele ser a principal interface entre o corpo e o meio externo, torna-a o primeiro alvo de bactérias, vírus e fungos,

além dos irritantes físicos e químicos (SCOTT et al., 1996). Como a manutenção da integridade da pele é de extrema importância para o desempenho de suas funções em condições ótimas, ela própria possui um mecanismo que, em condições fisiológicas normais e através da renovação constante das células nas camadas mais profundas, assegura a manutenção de sua estrutura e funcionamento normal (DYCE. K. M. et al., 1997). No entanto, existem situações patológicas que comprometem este equilíbrio fisiológico, promovendo alterações estruturais e funcionais da pele, implicando no desenvolvimento de patologias inflamatórias cutâneas como as dermatites (SCOTT et al., 1996; BRAD, 2000; DEBENEDICTIS et al., 2001; MAKRANTONAKI e ZOUBOULIS, 2007; PROKSCH et al., 2008; LEE et al., 2009), e muitas destas condições dermatológicas não são facilmente restabelecidas carecendo de tratamentos para obter as condições fisiológicas normais. Contudo, é comum não haver uma resposta satisfatória com os tratamentos convencionais, havendo desta forma uma busca constante de tratamentos alternativos (AGUIAR JÚNIOR e COSTA, 2011).

2.2 Processo inflamatório

O processo inflamatório pode ser definido como uma cascata de eventos que ocorrem em resposta a um estímulo nocivo, trauma ou infecção (CALIXTO et al., 2004). Os queratinócitos são células com grande quantidade de interleucina-1 α (IL-1 α) em seu interior, por isto são capazes de desencadear uma resposta imune quando danificados, pois a IL-1 α contida é liberada para o meio circundante iniciando a cascata inflamatória (BRAD, 2000). A IL-1 α é, portanto, um sinal de perigo imediato liberada pelos queratinócitos quando estes sofrem algum tipo de injúria (DEBENEDICTIS et al., 2001). Consequentemente, os queratinócitos circundantes respondem a IL-1 α , produzindo mais IL-1 α , bem como IL-1 β , fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) e IL-6, amplificando o sinal inicial. Lesões por raios ultravioletas e infecção microbiana podem estimular diretamente a liberação destas citocinas. Além disso, os queratinócitos produzem quimiocinas, como por exemplo, a IL-8, cuja expressão causa um recrutamento de granulócitos, e ao mesmo tempo secretam fatores de crescimento de colônia de macrófagos e granulócitos (M-CSF, GM-CSF, IL-7 e IL-15), esses fatores induzem a ativação e apoiam a sobrevivência dos leucócitos para responderem às quimiocinas (BRAD, 2000).

As citocinas secretadas se difundem através da membrana basal até chegarem à derme, nesta camada os fibroblastos, estimulados pelas citocinas dos queratinócitos começam a produzir IL-1, IL-6, TNF- α e quimiocinas próprias. Com todo o evento de liberação de citocinas

pelos queratinócitos e fibroblastos da pele, devido a um estímulo nocivo, as células endoteliais microvasculares da derme são ativadas e fornecem um reforço para defender o órgão (CALIXTO et al., 2004; LAWRENCE e GILROY, 2007). As células endoteliais então expressam a P-selectina em sua superfície, proteínas de adesão responsável pela diapedese dos leucócitos que são atraídos por quimiotaxia até o local da lesão. Com a chegada dos neutrófilos ao local da inflamação têm-se uma reposta mais reforçada, pois esses já iniciam fagocitose de componentes inflamatórios iniciais e antígenos, além da liberação de mais quimiocinas (BRAD, 2000).

Além da expressão de moléculas de adesão, o endotélio se contrai e abre os poros nos capilares papilares e vênulas da camada reticular e isto, somado aos efeitos promovidos pela vasodilatação, facilita o extravasamento dos leucócitos para o interstício extracelular. O endotélio também secreta metabólitos do ácido araquidônico (AA), como leucotrienos (LT) e prostaglandinas (PGs), resultando em vasodilatação local, aumento do fluxo sanguíneo, seguido de extravasamento de líquido e edema (BRAD, 2000; DEBENEDICTIS et al., 2001).

Enquanto isto, na epiderme, as células de Langerhans apresentam o antígeno aos linfócitos T e ativa-os gerando uma resposta imune. Após a estimulação local das células T, gera-se um ambiente muito mais complexo de citocinas na epiderme, que passam pela derme e culminam na ativação e recrutamento de leucócitos do compartimento vascular, com o objetivo de se restabelecer a homeostasia do órgão (DENNING, 2004).

A resposta inflamatória na pele também tem participação do sistema nervoso central (SNC), pois suas fibras nervosas que terminam na epiderme modulam o tônus vascular nas reações inflamatórias através de secreção de uma variedade de fatores, incluindo óxido nítrico (NO) e substância P. Além disso, o SNC recebe informações através de sinais aferentes e modula a resposta imune através de sinais eferentes, podendo gerar uma resposta estimulante ou inibitória dependendo da duração da sinalização aferente, se forem sinais agudos geram uma resposta eferente estimulante, se forem sinais prolongados provocam uma resposta inibitória (BRAD, 2000).

Assim, a estimulação das fibras nervosas pelas citocinas locais faz com que ocorra a liberação da substância P, e essa provocará nas células endoteliais uma vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, além de induzir a degranulação dos mastócitos somado ao efeito de outros neuropeptídeos. A histamina e outros mediadores liberados pelos mastócitos, por sua vez, facilitam o efluxo de leucócitos para o interstício dérmico, pois amplificam a vasodilatação local e derrame vascular (NATHAN, 2002).

A regulação do processo inflamatório da pele é crucial, pois qualquer anormalidade na resposta imune ou inflamatória está diretamente implicada na patogênese de muitas doenças cutâneas (LEE et al., 2009b).

A inflamação, portanto, é uma resposta inicialmente protetora que tem por objetivo eliminar ou neutralizar o agente lesivo. E essa finalidade é concluída de modo satisfatório quando os mecanismos antiinflamatórios endógenos são por fim ativados, protegendo os tecidos de danos maiores e promovendo a restauração de sua estrutura e função (LAWRENCE e GILROY, 2007). Porém, quando este processo se cronifica, passa para um estado patológico caracterizado pela resposta contínua e inapropriada do sistema imune a um estímulo inflamatório. A inflamação crônica é responsável pelos sintomas de muitas doenças auto-imunes. Ao contrário da resposta inflamatória aguda, que é dominada pelos neutrófilos, uma das características essenciais da inflamação crônica consiste no predomínio de macrófagos. Os macrófagos ativados secretam mediadores inflamatórios, como proteases e eicosanóides, bem como collagenases e fatores do crescimento. Esses produtos secretados iniciam e mantêm um ciclo de lesão e reparo teciduais, resultando em remodelagem do tecido. Com o decorrer do tempo, a inflamação crônica pode causar destruição inexorável do tecido e se tornar de difícil tratamento (GOLANet al., 2013).

Diante disso, atualmente existe uma busca por novos compostos com propriedades farmacológicas antiinflamatórias eficazes para o combate aos processos inflamatórios em geral, como por exemplo, as dermatites e que possuam menos efeitos colaterais. Entre esses, o estudo de produtos naturais que apresentam alguma ação antiinflamatória e menor incidência de efeitos indesejáveis está cada vez mais sendo realizado (VEIGA JÚNIOR, 2008), no Brasil, mesmo com o avanço da indústria farmacêutica, muitos habitantes (principalmente da área rural), ainda utiliza os vegetais, para o alívio de desconfortos sintomatológicos ou cura de algumas enfermidades mesmo na dimensão dos animais domésticos (BOSCOLO e VALLE, 2008; BARREIRO e BOLZANI, 2009; BADKE et al., 2011).

2.3 Dermatopatias

As dermatites representam hoje um importante percentual de ocorrência na nossa sociedade, afetando tanto humano como os animais domésticos. A sua manifestação pode apresentar características próprias, podendo estar relacionada com diferentes fatores, variando desde distúrbios metabólicos, até a predisposição genética. Assim sendo, algumas dermatites apresentam-se resistentes ao tratamento, o que por sua vez pode proporcionar desconfortos

diversos para o paciente, afetando de sobremaneira a qualidade de vida do mesmo (DUARTE et al., 2009). As doenças dermatológicas permanecem como algumas das afecções mais frequentes e frustrantes para o clínico de pequenos animais e o diagnóstico e tratamento podem representar um desafio, visto que a pele responde de forma limitada aos diferentes tipos de injúrias, o que resulta no aparecimento de lesões semelhantes em um amplo espectro de doenças e ainda, lesões que não apresentaram resolução definitiva e são apenas parcialmente controladas, o que exige um acompanhamento prolongado do paciente (CRMV-MG, 2013).

As dermatites são caracterizadas pela presença de eritema, edema, infiltração, vesiculação, secreção, formação de crostas e escamas. Essas lesões se sucedem e se associam, formando os aspectos multiformes das dermatites e ao lado dessas lesões há um sintoma constante, moderado ou intenso, que é o prurido. Este é causado pela liberação de substâncias que excitam as terminações nervosas cutâneas, sendo os estímulos levados ao córtex cerebral (SAMPAIO e RIVITTI, 2000).

Os casos dermatológicos apresentam grande prevalência em pequenos animais, sendo a razão mais comum para serem levados ao Médico Veterinário (SCOTT et al., 2001; HIIL et al., 2006). Estima-se que entre 20 e 75% de todos os animais examinados na prática clínica veterinária apresentem enfermidades do sistema tegumentar como queixa principal ou como doença secundária (IHRKE, 1996; SCOTT et al., 2001). Sendo que o primeiro estudo realizado na década de 70 demonstrou que, na Inglaterra, 20% dos cães e 15% dos gatos apresentavam enfermidades de pele e ouvido (EVANS et al., 1974), semelhante ao encontrado posteriormente no Canadá, onde o índice foi de 18,8% dos cães e 15,2% dos gatos (SCOTT e PARADIS, 1990). Em 2001, nos Estados Unidos, esta incidência chegou a 25% (SCOTT et al., 2001).

2.3.1 Alguns tipos de dermatites

2.3.1.1 Dermatite de contato

A dermatite de contato é uma doença inflamatória cutânea induzida pelo contato repetido com substâncias químicas de baixo peso molecular, chamadas de xenobióticos ou haptenos (NOSBAUM et al., 2009). A dermatite de contato pode ser subdividida em dois tipos: dermatite de contato alérgica (ACD -*allergic contact dermatitis*) e dermatite de contato irritante (ICD -*irritant contact dermatitis*). Com sinais clínicos similares, geralmente são distinguidas pelas características dos respectivos mecanismos imunológicos (KU et al., 2009). A ICD tem sido considerada uma inflamação que envolve apenas células inflamatórias da imunidade inata,

enquanto que a ACD é considerada uma inflamação dependente de células T que envolve mecanismos típicos da imunidade adquirida (COENRAADS e GONÇALO, 2007; SLODOWNIK et al., 2008).

2.3.1.2 Dermatite de contato alérgica (DCA)

A dermatite de contato alérgica tem sido considerada uma reação de hipersensibilidade do tipo IV (NOSBAUM et al., 2009). Estas reações geralmente resultam da inflamação mediada por células T, não envolvendo anticorpos, uma vez que estas respostas inflamatórias são provocadas pela forma como as células T encontram e respondem aos antígenos (DOAN et al., 2008). Este tipo de reação ocorre em duas fases: uma fase sensibilização e uma fase de indução. Na fase de sensibilização, os haptenos penetram na epiderme e são captados por células de Langerans (LCs) que migram para os linfonodos de drenagem, onde apresentam os haptenos conjugados a peptídeos às células T CD8⁺ efectoras e as células T CD4⁺. Precusores de células T expandem-se clonalmente nos linfonodos, recirculam pelo sangue e migram de volta à pele. Quando o mesmo hapteno é aplicado sobre a pele, ele é captado por células epidérmicas, como queratinócitos e LCs, que apresentam os haptenos conjugados a peptídeos a células T específicas. A ativação destas células T induz a apoptose de queratinócitos e a produção de citosinas e quimiocinas pelas células cutâneas, levando ao recrutamento de leucócitos do sangue para a pele (KAPLAN et al., 2008).

2.3.1.3 Dermatite de contato irritante (DCI)

A dermatite de contato irritante é o tipo mais comum de dermatite, embora estudos sobre a sua ocorrência, prevenção e tratamento são escassos (SLODOWNIK et al., 2008). Em linhas gerais, a DCI é uma reação inflamatória local não alérgica da pele que ocorre independentemente da participação de células T (NOSBAUM et al., 2009). Acredita-se que este tipo de dermatite seja iniciado por dano ou ativação de células epidérmicas induzido por exposição aguda ou crônica a agentes químicos (HAN et al., 2007). Após a exposição a agentes químicos com potencial irritante, células epidérmicas liberam citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e outros mediadores que levam a vasodilatação, infiltração de leucócitos, edema e eritema (HAN et al., 2007), mecanismos típicos de uma reação inflamatória estéril (CHEN e NUNEZ, 2010). Portanto, neste tipo de dermatite, as propriedades tóxicas da substância

química são responsáveis pela injúria tecidual que leva a uma resposta inflamatória inata característica (GIBBS, 2009).

Os queratinócitos possuem um papel essencial na iniciação e no desenvolvimento da DCI. Eles produzem mediadores que recrutam outras células aos locais da lesão gerando uma cascata de produção de mediadores inflamatórios por diversos tipos celulares que levam às modificações histológicas e clínicas manifestadas em pacientes com DCI (NOSBAUM et al., 2009). Estudos com camundongos deficientes em certos tipos celulares demonstram que macrófagos, células dendríticas, mastócitos, células NK e células endoteliais também contribuem para o desenvolvimento da doença (VOCANSON et al., 2007).

2.3.1.4 Dermatites de origem genética

A Dermatite Atópica Canina (DAC) é uma doença inflamatória pruriginosa, crônica e recorrente, de alta incidência em cães (HILLIER, 2002). Embora de etiologia multifatorial, sua fisiopatologia está relacionada a mutações genéticas que conduzem a distúrbios da função de barreira tegumentar, a defeitos na resposta imune antimicrobiana e a hiper-reatividade cutânea a aeroalérgenos, antígenos microbianos, irritantes e trofoalérgenos (HILLIER, 2002; AKDIS et al., 2006; CORK et al., 2006; HOMEY et al., 2006).

Atualmente, é consenso que os aeroalérgenos podem penetrar no corpo via inalação ou por via percutânea (ROOSJE, 2005). Após a prévia sensibilização cutânea, uma vez que o prurido se inicie, este conduz à injúria mecânica dos queratinócitos que, uma vez lesados, liberam fatores pró-inflamatórios. Através de um mecanismo mediado por IgE, alérgenos microbianos e ambientais penetram ativamente a epiderme e tornam-se alvo das células de Langerhans, levando à desgranulação de mastócitos e liberação de histamina e proteases, o que permite um influxo de granulócitos (neutrófilos e eosinófilos) e linfócitos Th2 alérgeno-específicos, tornando a pele mais reativa (OLIVRY et al., 2004).

Estima-se que pacientes atópicos apresentem defeitos genéticos na barreira epidérmica e na codificação das proteínas de adesão (CORK et al., 2006), determinando um aumento da meia-vida da enzima quimiotróptica do estrato córneo, conduzindo a quebra dos corneodesmossomos, levando à descamação prematura dos corneócitos e ao adelgaçamento da camada córnea (CORK et al., 2006; MORAR et al., 2006). As áreas predispostas a lesões da dermatite atópica são aquelas onde esta camada é mais fina, especulando-se que sejam suscetíveis à penetração de alérgenos (MARSELLA; SAMUELSON, 2009).

A atopia canina é o segundo distúrbio cutâneo alérgico mais comum, sendo menos frequente apenas que a dermatite alérgica à picada de pulgas (WHITE, 1998; HILLIER; GRIFFIN, 2001; SOUSA; HALLIWELL, 2001; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 2001). Devido ao seu caráter genético, esta é uma doença que na maioria das vezes não tem cura, apenas controle. O tratamento em geral é vitalício. Utilizando-se drogas como os corticosteróides, que muitas vezes podem causar efeitos colaterais que em longo prazo, são capazes de diminuir o período de vida do animal acometido (VOCANSON, 2007).

2.3.1.5 Dermatite por *Malassezia*

É uma doença cutânea de manifestação comum em cães e mais rara em gatos, e causada pela lipofílica e não micela denominada *Malassezia pachydermatis* (*Pityrosporum pachydermatis*, *Pityrosporum canis*), ou outras espécies de *Malassezia*. A *Malassezia pachydermatis* é há muito tempo reconhecida como um organismo comensal onipresente no cão. Desde o início de 1990 a *Malassezia* foi apontada como um patógeno oportunista que se prolifera de modo secundário a outras doenças pruriginosas cutâneas nos cães (MASSON e EVANS, 1991).

A *Malassesia spp.* é um fungo leveduriforme pertencente a microbiota normal, mas pode configurar-se como um patógeno oportunista do meato acústico externo e tegumento de cães e gatos, podendo ser encontrado no reto, pele interdigital, sacos anais e vagina, podendo assim, causar dermatite e otite externa (MARTINS et al., 2014).

Geralmente os sinais clínicos apresentados são, prurido, alopecia, liquenificação, hiperpigmentação, eritema, podendo em alguns casos associar-se com atopia e alergia alimentar (RHODES, 2005); localizando-se predominantemente no conduto auditivo externo, face, região ventral do pescoço, axilas, ventre, pele interdigital e áreas intertriginosas (MELO et al., 2014). Sendo também importante observar que a produção excessiva de sebo, acúmulo de umidade e ruptura da barreira cutânea pode causar proliferação de levedura, inflamação e prurido (MASSON e EVANS, 1991).

Enzimas sintetizadas pela levedura induzem a formação de respostas imunes e inflamatórias do hospedeiro (BOND, 2002). Normalmente, a inflamação da derme varia de leve a moderada e se compõe por uma mistura variável de linfócitos, eosinófilos, neutrófilos, e algumas vezes, mastócitos proeminentes e alguns macrófagos e plasmócitos (MAULDIN et al., 1997).

O diagnóstico pode ser realizado através da citologia por impressão ou de fita adesiva, onde o crescimento excessivo do fungo é confirmado ao serem encontradas mais de duas unidades de fungo por campo. No exame histopatológico da pele normalmente ocorre de dermatite perivascular superficial a intersticial linfocítica com fungos e ocasionalmente pseudohifas.

2.3.1.6 Dermatite seborreica

A dermatite seborréica caracteriza-se por uma inflamação crônica que afeta a face e o couro cabeludo; manifestando-se por lesões descamativas e eritematosas, alopecia, envolvendo diferentes fatores, como por exemplo, alterações do pH da pele afetando o mecanismo de produção do sebo. Seja como for, a prevalência da dermatite seborréica no organismo adulto é elevada, apresentando-se cronicamente, o que por sua vez causa prurido, odor desagradável, com lesões na face e couro cabeludo, podendo muitas vezes causar grande impacto sobre componentes neurológicos, afetando o comportamento (GUPTA et al., 2004; MARASCHIM et al., 2008; FEROLLA, 2010).

Seborréia primária e dermatite seborreica são termos mais sucintos, utilizados para descrever as alterações caracterizadas por esfoliação vistas em determinadas raças de cães; cornificação se refere ao processo inteiro de formação do envelope corneano na epiderme, incluindo a queratinização e o desenvolvimento do interstício rico em lipídeos. As doenças que cursam com cornificação anormal, geralmente se caracterizam por acúmulo de queratina na superfície da epiderme e no interior dos folículos pilosos.

Os cães seborreicos são propensos a infecções estafilocócicas secundárias ou dermatite por *Malassézia*. A administração de antibiótico apropriado ou cetoconazol frequentemente é necessária por ocasião do estabelecimento do tratamento anti-seborreico para resolver infecções preexistentes. O sustentáculo do tratamento desses cães envolve o uso de xampus anti-seborréicos e umidificantes; a escolha do xampu e a eficiência do tratamento dependem da natureza da seborréia (SCOTT et al., 1996).

A inflamação dérmica oriunda da dermatite seborreica apresenta contingente misto e se manifesta de forma variável; inflamação superficial perivascular a intersticial e composta por uma população de células mistas, incluindo linfócitos, plasmócitos, macrófagos e alguns neutrófilos; eosinófilos e mastócitos também podem ser encontrados, principalmente em casos complicados pelas doenças decorrentes de hipersensibilidades ou pela dermatite por malassézia (THELMA et al., 2009).

Atualmente, mesmo com o avanço da indústria farmacêutica, muitos habitantes (principalmente da área rural), ainda utilizam os vegetais, para o alívio de desconfortos sintomatológicos ou cura de algumas enfermidades mesmo na dimensão dos animais domésticos (BOSCOLO e VALLE, 2008; BARREIRO e BOLZANI, 2009; BADKE et al., 2011).

2.4 Plantas medicinais

As plantas medicinais vêm sendo utilizadas para o tratamento, cura e prevenção de doenças desde a antiguidade, possuindo origem na China e Egito, difundindo-se, posteriormente, para outras regiões do mundo. O conhecimento dessas plantas simboliza recurso terapêutico de muitas comunidades, tal como indica a cultura transmitida dentro das civilizações (PHILLIPSON, 2001; MARTINS e GARLET, 2016). Ganhou destaque como alternativa ao tratamento das mais diversas enfermidades, sobretudo nos países em desenvolvimento, onde existe grande acessibilidade da população às plantas medicinais e os serviços públicos de saúde são limitados (AGRA et al., 2007). Nesse sentido as plantas se configuram como ingredientes importantes na produção de medicamentos para fins terapêuticos (DA SILVA et al., 2005; TAUFNER, 2006; BARREIRO e BOLZANI, 2009; MENEGASSO et al., 2016).

O emprego de plantas no tratamento de doenças começou de maneira empírica; através do efeito de algumas plantas por ele ingeridas, o homem observou que se controlasse sua dosagem, elas poderiam ser usadas para outros fins além da alimentação, como curar e/ou aliviar dores e enfermidades. Além, disso, o homem passou a observar os hábitos dos animais e os efeitos oriundos de sua utilização (LORENZI e MATOS, 2002; SARTI e CARVALHO, 2004; DANTAS e GUIMARAES, 2006). De acordo com dados da OMS (Organização Mundial da Saúde), 80% da população de países em desenvolvimento utilizam os recursos tradicionais em seus cuidados básicos e 85% utilizam plantas medicinais e produtos derivados destas (BRASIL, 2012; VENTURA et al., 2016).

O isolamento de princípios ativos só ocorreu a partir do século XIX, com o desenvolvimento da química orgânica paralelo ao estudo de plantas com potencialidade terapêutica (PHILLIPSON, 2001). Esses estudos propiciaram a caracterização química de muitos princípios ativos consagrados até hoje pela sua eficácia no tratamento de doenças. Prova disso é a quantidade de medicamentos atualmente utilizados que foram isolados ou sintetizados a partir de plantas medicinais, como, por exemplo, a morfina (analgésico opióide), o taxol

(antitumoral), a aspirina (antiinflamatório e analgésico), a quinina (antimalárico) e a pilocarpina (tratamento de glaucoma) (MONTANARI e BOLZANI, 2001).

A pesquisa fitoquímica tem por objetivos conhecer os constituintes químicos das espécies vegetais ou avaliar sua presença nos mesmos. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica pode identificar os grupos de metabólitos secundários (SIMÕES, 2001). As análises realizadas nesta área do conhecimento objetivam detectar os principais grupos de compostos fitoquímicos presentes em plantas que, segundo a medicina popular, tenham propriedades curativas.

A detecção de grupos metabólitos que interessam à fitoquímica é realizada por meio de testes qualitativos preliminares em extratos vegetais; historicamente, essas análises fitoquímicas têm sido realizadas através de reações químicas que impliquem no acréscimo de coloração e/ou precipitado peculiar. Através destas avaliações do potencial terapêutico das plantas medicinais e de alguns de seus constituintes, tais como flavonóides, alcalóides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, lignanas, entre outros; tem se comprovado as ações farmacológicas através de testes pré-clínicos com animais (CECHINEL FILHO e YUNES, 1998).

Sabe-se que já foram isolados e caracterizados até o momento cerca de 140 mil metabólitos intermediários de aproximadamente 10% da biodiversidade mundial estudada. No entanto, muitos desses compostos ainda não foram avaliados biologicamente (CALIXTO, 2003), podendo futuramente ser aproveitadas como fármacos potencialmente eficientes (CECHINEL FILHO e YUNES, 1998).

Os metabólitos secundários já foram considerados produtos de excreção vegetal; entretanto, sabe-se que essas substâncias são responsáveis pela adaptação do seu produto ao meio. Portanto, possuem funções biológicas importantes e são de grande interesse nas áreas farmacêutica, alimentar, agrônômica e cosmética. Entre essas se destaca a farmacêutica (GAMBETA, 2008). Apenas um pequeno percentual das espécies vegetais foi adequadamente estudado, no que se refere às atividades farmacológicas, sendo difícil selecionar as espécies vegetais a serem investigadas, considerando-se a imensa quantidade de espécies a explorar (AURICCHIO e BACCHI, 2003; SÁ, 2008).

Quando se procura obter substâncias ativas de plantas, um dos principais aspectos a serem observados consiste nas informações da medicina popular. Já é senso comum que é muito mais provável encontrar atividade biológica em plantas orientadas pelo uso na medicina popular, do que em plantas escolhidas ao acaso. Nesse sentido, os relatos da medicina popular costumam ser eficazes quando considerados no intuito de guiar a identificação de espécies vegetais

potencialmente terapêuticas (YUNES, 2001). O uso de plantas medicinais não pode ser considerado apenas como cultura de povos ou tradição, mas como ciência que vem sendo estudada, aperfeiçoada e utilizada por grande parte da população mundial, como terapia alternativa, a qual pode trazer inúmeros benefícios aos usuários (TOMAZZONI et al., 2006).

Na atualidade, o grande desafio para o aproveitamento racional da biodiversidade brasileira visando à produção de medicamentos é, sem dúvida, como transformar um imenso patrimônio genético natural em riquezas, criando indústrias de base tecnológica e gerando empregos qualificados. No Brasil, apesar das iniciativas de desenvolvimento tecno-científico em áreas relacionadas ao estudo de novos fármacos, é necessário ainda uma ampliação dos núcleos de pesquisa, com maior investimento, incentivos e formação de novos cientistas (MONTANARI e BOLZANI, 2001). Neste contexto de importância e diversidade de estruturas que as plantas representam é que percebemos que nos últimos anos o interesse nas espécies vegetais vem aumentando na ânsia de se descobrir novos tratamentos para doenças que não respondem satisfatoriamente às terapias existentes (HOUGHTON, 1995).

O comércio de plantas medicinais é regulamentado por meio da Lei no 5.991/1973. Plantas medicinais não podem ser comercializadas como medicamentos, não podendo alegar indicação terapêutica em suas embalagens (BRASIL, 1973). Medicamentos podem ser manipulados ou industrializados, e ainda ser destinados ao uso humano ou veterinário, sendo os para uso humano regulamentados pela ANVISA e os para uso veterinário regulamentados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

A Farmacopéia Brasileira (FB) e o código oficial farmacêutico do país onde são estabelecidos critérios da qualidade dos medicamentos em uso, tanto manipulados como industrializados, constituindo o conjunto de normas e monografias de fármacos químicos, estabelecido por e para o país. Nesse sentido, o Ministério da Saúde deve, conforme determina a Política Nacional de Medicamentos, promover o processo de revisão permanente da FB. A atualização da FB constitui mecanismo de fundamental importância para as ações legais de vigilância sanitária e das relações de comércio exterior, tanto de importação quanto de exportação (BRASIL, 1998).

A OMS, considerando as plantas medicinais como importantes instrumentos da assistência farmacêutica, por meio de vários comunicados e resoluções, expressa sua posição a respeito da necessidade de valorizar a sua utilização no âmbito sanitário ao observar que 70% a 90% da população nos países em vias de desenvolvimento dependem delas no que se refere à Atenção Primária à Saúde (WHO, 1993; 2011). Em alguns países industrializados, o uso de produtos naturais é igualmente significativo, como o Canadá, França, Alemanha e Itália, onde

70% a 90% de sua população têm usado esses recursos da medicina tradicional sobre a denominação de complementar, alternativa ou não convencional (WHO, 2011). De forma semelhante no Brasil, cerca de 80% da população brasileira utiliza produtos à base de plantas medicinais nos seus cuidados com a saúde, seja pelo conhecimento tradicional na medicina tradicional indígena, quilombola, entre outros povos e comunidades tradicionais, seja pelo uso popular na medicina popular, de transmissão oral entre gerações, ou nos sistemas oficiais de saúde, como prática de cunho científico orientada pelos princípios e diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS). É uma prática que incentiva o desenvolvimento comunitário, a solidariedade e a participação social (RODRIGUES e DE SIMONI, 2010).

2.5 Plantas da família *Araceae*

As plantas medicinais que pertencem à família da *Araceae*, estas são ervas que apresentam uma distribuição cosmopolita, incluindo cerca de 100 gêneros e 3000 espécies, podendo ser encontrada em todos os continentes, exceto na Antártida. A maioria das espécies encontra-se distribuídas em regiões tropicais. No Brasil, ocorrem 35 gêneros e cerca de 400 espécies (TESKI e TRENTINI, 1997).

Destacam-se geralmente como espécies ornamentais, principalmente devido à folhagem ou pelas brácteas vistosas. Incluem-se os antúrios (*Anthurium andraeanum*) e outras espécies como os imbés ou filodendros (*Philodendron spp*), o copo de leite (*Zantedeschia aethiopica*), o lírio da paz (*Spathiphyllum spp*), a costela de adão (*Monstera deliciosa*) e a jibóia (*Epipremnum aureum*), mas há uma quantidade muito maior de gêneros e espécies nativas com grande potencial ornamental ainda pouco explorado. Certas *Araceae* apresentam sistemas subterrâneos que acumulam amido e, por esta razão, são utilizados na alimentação, destacando-se a taioba (*Xanthosoma agittifolium*) e o inhame (*Colocasia esculenta*), (HIGAKI et al., 1976; FREITAS, 2010).

A presença de ráfides de oxalato de cálcio faz com que as folhas de muitas espécies de *Araceae* sejam venenosas, o que se traduz no nome popular de comigo-ninguém-pode (*Dieffenbachia amoena*), planta que apesar desta característica, é amplamente cultivada como ornamental (TESKI e TRENTINI, 1997).

O gênero *Anthurium*, Schott (*Araceae*), compreende mais de 600 espécies; normalmente herbáceas, caracterizando-se como epífitas nativas da América tropical, conhecidas popularmente por antúrio, ou vulgarmente como língua de sogra, anthurium selvagem ou “milho de urubu”, esta última mais característica no nordeste brasileiro (SOUZA e LOURENZI,

2005). Portanto, o *Anthurium affine*, Schott é uma *Araceae* encontrada na mata atlântica, com potencial como planta ornamental, mas apresentando algumas propriedades medicinais popularmente referidas no tratamento do diabetes, micoses e doenças cardiovasculares. A escolha desta planta vem da utilização ainda discretana Medicina Veterinária e Medicina humana quanto ao uso nas dermatites e psoríases, porém sem os devidos cuidados quanto aos estudos e comprovações científicas referentes às dosagens, avaliações fitoquímicas e toxicológicos. Alguns autores avaliaram o extrato da planta identificando grande quantidade de flavonóides entre os quais se destacam a quercetina, o kaempferol e a luteína, flavonóides estes com propriedades antiinflamatórias, antimutagênicas, antioxidantes e antitumorais, re-epitelizantes e cicatrizantes (CARRICONDE, 1996; TOMBOLATO, 2000; CROAT, 2004; VEIGA JUNIOR, 2008; NOMURA et al., 2012).

Os flavonóides representam um dos grupos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal e são amplamente distribuídas no reino vegetal. Com poucos relatos em algas, alguns representantes foram identificados em briófitas, existindo apenas um relato de ocorrência em fungos. Em pteridófitas também foram encontrados, mas sua variabilidade estrutural é pequena. Todavia estão presentes em abundância nas angiospermas, apresentando nesse grupo enorme diversidade estrutural (SIMÕES et al., 2000). A distribuição dos flavonóides nos vegetais depende de diversos fatores de acordo com o filo/ordem/família do vegetal, bem como da variação das espécies. Geralmente, flavonóides encontrados nas folhas podem ser diferentes daqueles presentes nas flores, nos galhos, raízes e frutos. O mesmo composto ainda pode apresentar diferentes concentrações dependendo do órgão vegetal em que se encontra (SIMÕES et al., 2000).

Certos flavonóides podem bloquear os processos biosintéticos dos eicosanóides. Eles também são responsáveis pela inibição de processos mitogênicos, interações célula-célula, incluindo possíveis efeitos na adesão molecular. O mecanismo de inibição exercido pelos flavonóides sobre as enzimas ciclooxigenase e lipoxigenase está sendo extensivamente pesquisado (NIJVELTD et al., 2001). Flavonóides como a quercetina e a apigenina têm demonstrado possuir ação antiinflamatória por causar inibição de COX-2 e de óxido nítrico sintase. (MUTOH et al., 2000; RASO et al., 2001). Segundo Friesenecker, Tsai, Intagliatta, (1995), flavonóides, como a quercetina e a luteolina, podem reduzir a ativação do sistema complemento, diminuindo a adesão de células inflamatórias ao endotélio, resultando em uma redução da resposta inflamatória.

Figura 1 - Foto das partes aéreas da espécie *Anthurium affine* Schott – “milho de urubu”.



Fonte: LUNA (2015).

3 REFERÊNCIAS

AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA (ANVISA). **RDC nº 10, de 10 de março de 2010**. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto a Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.brasilsus.com.br/legislacoes/rdc/103202-10.html>>. Acesso em: 13 out. 2016.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. Brazilian. **Journal of Pharmacognosy**, João Pessoa - PB, v. 17, p. 114-140, 2007.

AGUIAR JUNIOR, N. R.; COSTA, I. M. C. O uso da medicina alternativa ou complementar em crianças com dermatite atópica. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 86, p. 167-168, 2011.

AKDIS, C. A. et al. Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: European Academy of Allergology and Clinical Immunology/ American Academy of Allergy, Asthma and Immunology/ PRACTALL Consensus Report. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, EUA - Biblioteca Nacional de Medicina, v. 118, p. 152-169, 2006.

ALBANESI, C.; SCARPONI, C.; GIUSTIZIERI, M.L.; GIROLOMONI, G.. Keratinocytes in inflammatory skin diseases. **Current Drug Targets Inflammation and Allergy**, EUA – Biblioteca Nacional de Medicina, v.4, p.329-334, 2005.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, p.55-61, 2003.

BADKE, M.R.; BODÓM.L. D.; SILVA, F. M.; RESSEL, L.B. Plantas Medicinais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery**, Rio de Janeiro, v.15, p.132-139, 2011.

BARREIRO, E. J; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para descoberta de novos fármacos, **Revista Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, p.679 – 688. 2009.

BOSCOLO, O. H.; VALLE, L. S. Plantas de uso medicinal em Quissamã, **Iheringia Série Botânica**, Rio de Janeiro, Brasil, v.63, p.263-277, 2008.

BRAD, S. The cutaneous citadel: A holistic view of skin and immunity. **Life Sciences**, Los Angeles - EUA, v. 67, p. 477-502, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde**. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2012. 156 p. : il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica ; n. 31) ISBN 978-85-334-1912-4 1. Fitoterapia. 2. Plantas medicinais e fitoterápicos. I. Título. II. Série.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973. **Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, e das outras providências**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L5991.htm>. Acesso em 5 out. 2016.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3, p. 37-39, São Paulo, Julho/Set. 2003.

CALIXTO, J. B.; CAMPOS, M. M.; OTUKI, M. F.; SANTOS, A. R. S. Anti-Inflammatory Compounds of Plant Origin. Part II. Modulation of Pro-Inflammatory Cytokines, Chemokines and Adhesion Molecules. **Planta Medicinal**, São Paulo, v. 70, p. 93 -103, 2004.

CANDI, E.; SCHMIDT, R.; MELINO, G. The cornified envelope: a model of cell death in the skin. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, Roma – Itália, v. 6, p. 328-40, 2005.

CARRICONDE, C.; MORES, D.; VON FRITSCHEN, M.; CARDOZO JUNIOR, E. L. Plantas medicinais e alimentícias. **Olinda: Centro Nordestino de Medicina Popular**; Universidade Federal Rural de Pernambuco. v.1, p.45-47, 1996.

CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, p. 99-105, 1998.

CHEN, G.Y.; NUNEZ, G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. **Nature Reviews Immunology**, Michigan – EUA, v.10, p.826-837, 2010.

COENRAADS, P.J.; GONÇALO, M. Skin diseases with high public health impact contact dermatitis. **European Journal of Dermatology**, v.17, p.564-565, 2007.

CORK, M. J. et al. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: gene-environment interactions. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, v. 118, n. 1, p. 3-21, 2006.

CRMV-MG, Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de Minas Gerais. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**. (Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG), Nº 71 - DEZEMBRO DE 2013.

CROAT, T.B. History and current status of systematic research with araceae. 2 ed. St. Louis, USA: **Missouri Botanical Garden**, p.299, 2004

DANTAS, I. C.; GUIMARAES, F. R. 2006. Perfil dos raizeiros que comercializam plantas medicinais no município de Campina Grande, PB. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, 6(1): 39-44.

DEBENEDICTIS, C.; JOUBEH, S.; ZHANG, G.; BARRIA, M.; GHOMESTANI, R. F. Immune functions of the skin. **Clinics in Dermatology**, v. 19, n. 5, p. 573-585, 2001.

DENNING, M.F. Epidermal keratinocytes: regulation of multiple cell phenotypes by multiple protein kinase C isoforms. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 36, p. 1141-1146, 2004.

DOAN, T., MELVOD, R., VISELI, S.,; WALTENBAUGH, C. **Imunologia Ilustrada**, Artmed, ed. (Porto Alegre). 2008.

DUARTE, E. R.; RESENDE, J. C. P.; HANDAM, J. S. Characterization of typical and atypical *Malassezia* spp, from cattle and dog by random amplified polymorphic DNA analysis. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, p.157-164, 2009.

DYCE, K. M. et al. **Tratado de anatomia veterinária**. 2. ed. editora Guanabara:Goonan s.a. Riode Janeiro.1997. 663p.

EVANS, J.M.; LANE, D.R.; HENDY, P.G. The profile of small animal practice. **Journal Small Animal Practice**, London, v.15, n.10, p.595-608, 1974.

FEROLLA, C. Dermatite seborreica da face. **Revista Brasileira Medicina - Especial Dermatologia**, São Paulo, v.67, p.11-15, dez-2010.

FREITAS, R. M. O.; SILVA NETO, R. V.; DOMBROSKI, J. L. D.; NOGUEIRA, N. W.; CÂMARA, F. A.A. Teste de diferentes substratos para cultivo de mudas de *Anthurium affine*, Schott. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.5, n.1, p. 96 - 100 jan/mar de 2010.

FRIESENECKER, B.; TSAI, A. G.; INTAGLIETTA, M. Cellular basis of inflammation, edema and the activity of Daflon 500 mg. **International Journal of Microcirculation: Clinical & Experimental**. v. 15, p. 17-21, 1995.

GAMBETA, R. M. **Perfil fitoquímico de diferentes extratos de *Ilex paraguariensis***. Hilaire. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI). Erechim, 2008.

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. **Tratado de Histologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara: Koogan S.A. p 253–259, 1999.

GIBBS, S. In vitro irritation models and immune reactions. **Skin PharmacolPhysiol**22,Amsterdam, p.103-113.2009.

GORDON, S.; MARTINEZ, F.O. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. Oxford - Reino Unido, **Immunity**32. p.604,2010.

GRIFFIN, C. E.; DEBOER, D. J. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 81, n.3-4, p. 255-269, 2001.

GUPTA, A. K.; MADZIA, S. E.; BATRA, R. Etiology and management of Seborrheic dermatitis. **Dermatology**. Toronto – Canada, v. 208(2), p. 89-93, 2004.

HAN, M. H.; YOON, W.K.; LEE, H.; HAN, S. B.; LEE, K.; PARK, S. K.; YANG, K. H.; KIM, H. M.; KANG, J.S. Topical application of silymarin reduces chemical-induced irritant contact dermatitis in BALB/c mice. **International Immunopharmacology**, Republic of Korea, v.7. p.1651-1658, 2007.

HIGAKI, T.; WATSON, D.P.; LEONHARDT, K.W. **Anthurium culture in Hawaii**. Honolulu, University of Hawaii at Manoa/College of Tropical Agriculture e Human Resources/Cooperative Extension Service, Circular n. 420. p.20. 1976.

HILL, P.B.; LO, A.; EDEN, C.A.N.; HUNTLEY, S.; MOREY, V.; RAMSEY, S.; RICHARDSON, C.; SMITH, D.J.; SUTTON, C.; TAYLOR, M.D.; THORPE, E.; TIDMARSH, R.; WILLIAMS, V. Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. **Veterinary Record**, Londres, v.158, n.16, p.533-539, abril 2006.

HILLIER, A. Definitively diagnosing atopic dermatitis in dogs. **Veterinary Medicine**, v. 97, n. 3, p.198-208, 2002.

HILLIER, A.; GRIFFIN, C. E. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 81, n. 3-4, p. 147-151, 2001.

HOMEY, B. et al. Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Germany, v.118, n.1, p.178-189, 2006.

HOUGHTON, P. J. The role of plants in traditional medicine and current therapy. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**. v.1, n. 2, p. 131-43, 1995.

HUNGER, R. E.; SIELING, P. A.; OCHOA, M. T.; SUGAYA, M.; BURDICK, A. E.; REA, T. H.; BRENNAN, P. J.; BELISLE, J. T.; BLAUVELT, A.; PORCELLI, S.A. Langerhans cells utilize CD1a and langerin to efficiently present nonpeptide antigens to T cells. **Journal of Clinical Investigation**. Ohio – USA, v.113, p. 701-708.2004.

IHRKE, P.J. **Bacterial infections of the skin**. In: Greene C. editor, Infectious diseases of the dog and cat. 2 ed. Philadelphia: Saunders, p.72-79, 1996.

KAPLAN, D. H.; KISSENPFENNIG, A.; CLAUSEN, B.E. Insights into Langerhans cell function from Langerhans cell ablation models. **European Journal of Immunology** 38, p.2369-2376, 2008.

KISICH, K. O. et al. Defective killing of Staphylococcus aureus in atopic dermatitis is associated with reduced mobilization of human β -defensin-3. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, v. 122, n. 1, p. 62-68, Jul. 2008.

KU, H. O.; JEONG S. H.; KANG, H. G.; PYO, H. M.; CHO, J. H.; SON, S.W.; YUN, S. M.; RYU, D.Y. Gene expression profiles and pathways in skin inflammation induced by three different sensitizers and an irritant. **Toxicology Letters Journal**. v.190, p. 231-237.2009.

LAWRENCE, T.; GILROY, D. W. Chronic inflammation: a failure of resolution? **International Journal of Experimental Pathology**, v. 88, n. 2, p. 85-94, 2007.

LEE, D. Y.; CHOO, B. K.; YOON, T.; CHEON, M. S.; LEE, H. W.; LEE, A. Y.; KIM, H. K. Anti-inflammatory effects of Asparagus cochinchinensis extract in acute and chronic cutaneous inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 1, p. 28-34, 2009.

LORENZI, H. E.; MATOS, F.J. DE A. Plantas medicinais no Brasil/ Nativas e exóticas. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**. 2002. 512 p.

MAKRANTONAKI, E.; ZOUBOULIS, C. C. The skin as a mirror of the aging process in the human organism – State of the art and results of the aging research in the German National Genome Research Network 2 (NGFN-2). **Experimental Gerontology**, v. 42, n. 9, p. 879-886, 2007.

MARASCHIM, M.M.; SPADER, T.; DAN, M.; ROSSATO, L.; LOPES, P. G. M. Infecções causadas por *Malassezia*: Novas abordagens. **Saúde**, Santa Maria.; v. 34(1-2): p. 4-8.2008.

MARSELLA, R.; SAMUELSON, D. Unravelling the skin barrier: a new paradigm for atopic dermatitis and house dust mites. **Veterinary Dermatology**, v. 20, p. 533-540, 2009.

MARTINS, A. A.; ROSA, C. S.; NASCENTE, P. S.; SOUZA, L. L.; SANTOS, D. V.; FARIA, R. O.; MEIRELES, M. C. A. Utilização dos Tweens 20, 40, 60 e 80 para identificação das espécies do gênero *Malassezia*. <http://www.ufpel.edu.br/cic/2004/arquivos/CA_01129.doc> Acessado em 1 de novembro de 2016.

MARTINS, M. C.; GARLET, T. M. B. Desenvolvendo e divulgando o conhecimento sobre plantas medicinais. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. Santa Maria, v.20, n.1, jan.-abr. p. 438–448, 2016.

MELO, M. B.; SANTOS, D. V.; CRUZ, L. S.; HERK, A. G.; RIBEIRO, M. B.; ARAÚJO, C. B. Dermatite de localização atípica por *Malassezia pachydermatis* em um cão apresentando redução nos níveis de zinco. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. Garça, 2008. Disponível em: <<http://www.rbspa.ufba.br/include/getdog.php>> Acessado em 31 de outubro de 2016.

MENEGASSO, P. E.; RIZZI, R. C. D.; FERREIRA, M. M. ; SANTOS JÚNIOR, A. G. R. Plantas Medicinais e Fitoterápicos: **Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo**, 84 p.2016.

MINISTÉRIOD A SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. Brasil, 1973. Disponível em: <<http://www.farmacopeia.org.br>>. Acesso em: 13 out. 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria GM/MS nº 2.960, de 9 de dezembro de 2008. Aprova o **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos** e cria o Comitê Nacional de Plantas Fitoterápicos. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri2960_09_12_2008.html>. Acesso em: 13 out. 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 3.916, de 30 de outubro de 1998. Aprova a **Política Nacional de Medicamentos**, cuja integra consta do anexo desta Portaria. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/consolidada/portaria_3916_98.pdf>. Acesso em: 5 out. 2016.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 105-111, 2001.

MORAR, N. et al. The genetics of atopic dermatitis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.118, n., p. 24-34, 2006.

MUTOH, M. et al. Suppression by flavonoids of cyclooxygenase-2 promoter-dependent transcriptional activity in colon cancer cells: structure-activity relationship. **Japanese Journal of Cancer Research** . v.91, p. 686-691, 2000.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, v. 420, p. 846-852, 2002.

NESTLE, F. O.; Di MEGLIO, P.; QIN, J.Z.; NICKOLOFF, B.J. Skin immune sentinels in health and disease. **Nature reviews Immunology**, v.9.p. 679-691.2009.

NIJVELDT, J. R. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.74, p. 418-425, 2001.

NOMURA, E. S.; FUZITANI E. J.; JÚNIOR E. R. D. Cultivo do antúrio -**Pesquisa e Tecnologia**, vol. 9, n.1, Jan-Jun 2012.

NORRIS, A. Targeting mast cells. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 13, n. 7, p. 739-741, 2004.

NOSBAUM, A.; VOCANSON, M.; ROZIERES, A.; HENNINO, A.; NICOLAS, J.F. Allergic and irritant contact dermatitis., **European Journal of Dermatology**. v. 19, n. 4, P. 325-332. 2009.

OLIVRY, T. et al. Mechanism of lesion formation in canine atopic dermatitis: hypothesis. **Advances in Veterinary Dermatology**, v. 5, p. 11-16, ago. 2004.

PAULO, A. O. V.; JOÃO P. O. J.; JOSÉ R. S. N.; ALVARO C. G. R. Análise fitoquímica e avaliação da susceptibilidade antimicrobiana de diferentes tipos de extratos de *Plantago major* L. (Plantaginaceae) **Infarma**. Brasília – DF. v. 28. p. 33-39.2016.

PERFEITO, J. P. S. **O registro sanitário de medicamentos fitoterápicos no Brasil: uma avaliação da situação atual e das razões de indeferimento**. 2012. 162p, Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -Universidade de Brasília, Brasília- DF.

PHILLIPSON, J. D. Phytochemistry and medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 56, p.237-243, 2001.

PROKSCH, E.; BRANDNER, J. M.; JENSEN, J. M. The skin: an indispensable barrier. **Experimental Dermatology**, v. 17, n. 12, p. 1063-1072, 2008.

RASO, G. M. et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage J774A.1. **Life Sciences**. v. 68, p. 921–31, 2001.

RHODES, K. H. **Dermatologia de Pequenos Animais: consulta em 5min**. Editora Revinter, Rio de Janeiro, 1 ed. p.13 - 18, 2005.

ROBERT, G. Regulation of Keratinocyte Proliferation. General Pharmacology: **The Vascular System**, v. 30, n. 5, p. 619-622, 1998.

RODRIGUES, A. G.; DE SIMONI, C. Plantas medicinais no contexto de políticas publicas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 7-12, mar./abr. 2010.

ROOSJE, P. Canine atopic dermatitis: new concepts. **European Journal of Companion Animal Practice**. v. 15, n. 2, p. 189-195, 2005.

SÁ, A. P. C. S. **Potencial antioxidante e aspectos químicos e físicos das frações comestíveis (polpa e cascas) e sementes de Jamelão (*Syzygiumcumini*, L. Skeels)**.2008.57p.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SAMPAIO, A. L.; RAE, G. A.; HENRIQUES, M. M. Role of endothelins on lymphocyte accumulation in allergic pleurisy. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 67, n. 2, p. 189-95, 2000.

SAMPAIO, S. A.; CASTRO, R.; RIVITI, E.A. **Dermatologia básica**. 2 ed. São Paulo: Artes Médicas, 466p, 2000.

SARTI, S.J.; CARVALHO, J.C.T.; **Fitoterapia e fitoterápicos**. In: Fitoterápicos Anti-Inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. 13-38 p.

SCHAUBER, J.; GALLO, R. L. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 122, n. 2, p. 261-266, 2008.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. **Small animal dermatology** 6.ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, p. 667-779.2001.

SCOTT, D. W; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. **Dermatologia de pequenos animais**. 5.ed. Rio de Janeiro: Interlivros, p. 01- 08-16-25, 1996.

SCOTT, D.W.; PARADIS, M. A survey of canine and feline skin disorders seen. in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec (1987-1988). **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.31, n.12, p.830-835, dezembro1990.

SIMÕES, C. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2ª ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade /UFRGS/ Ed. Universidade/ UFSC, 2000.

SIMÕES, C. M. O. et. al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2001.

SLODOWNIK, D.; LEE, A.; NIXON, R. Irritant contact dermatitis: a review. **Journal Dermatol** 49, v. 1-9; p. 10-11, 2008.

SOUSA, C. A.; HALLIWELL, R. E. W. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 81, n. 3-4, p. 233-237, 2001.

SOUSA, C. A.; MARSELLA, R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (II): genetic factors. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 81, n. 3-4, p. 153-157, 2001.

SOUZA, V. C.; LOURENZI, H. **Guia ilustrado para Identificação das Famílias de Angiospermas da Flora Brasileira**, baseado em APG II - Botânica sistemática - Instituto Plantarum de estudos da flora Ltda. Nova Odessa, SP; 2005, 640p.

TAUFNER, C. F.; FERRAÇO, E. B.; RIBEIRO, L. F. Uso de plantas medicinais como alternativa fitoterápica nas unidades de saúde pública de Santa Teresa e Marilândia, ES. **Natureza online**, Espírito Santo, v. 4, n. 1, p. 30-39, 2006.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. 3 ed. Curitiba: Herbarium.v. 42. p.317, 1997.

THE WORLD medicines situation: traditional medicines: global situation, issues and challenges. Geneva: **World Health Organization**, 12p. 2011

THELMA, L. G. et al., **Doenças de pele do cão e do gato**: Diagnóstico clínico e histopatológico. 2 ed. São Paulo: Roca, 2009 p. 159-160.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapeuta. **Texto e Contexto Enfermagem**, Florianópolis, v.15, n.1, p.115-21, 2006.

TOMBOLATO, A. F. C. Seleções IAC de Antúrios. **O Agrônomo**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 26-27, 2000.

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: Aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população; **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 18(2): 308-313, Abr./Jun. 2008.

WAGNER, H.; WISENAUER, M. **Fitoterapia: fito fármacos, farmacologia e aplicações clínicas**. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 424p, 2006.

WHITE, P. D. Atopia. In: BICHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual saunders: clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, p. 343-351.1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Regional office for the Western Pacific. Researchguidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines**. Manila: WHO, 86p.1993.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. 1. Ed. Chapecó: Argos, 524p, 2001.

4 ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1 Artigo 1

Análises fitoquímicas em extrato das folhas de *Anthurium affine* Schott (milho de urubu)

[Phytochemical analysis in extract of *Anthurium affine* Schott sheets (urubu corn)]

JG Luna^{1(*)}, DMB Souza², GC Jimenez², JF Silva Neto², JE Neto²

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Programa de Pós- Graduação em Ciência Veterinária, Recife, PE, Brasil.

²Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, PE, Brasil.

Autor para correspondência/Corresponding author: ¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Programa de Pós- Graduação em Ciência Veterinária. CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: jesualdoluna@gmail.com.

Resumo

Apesar da ampla disposição de medicamentos no mercado, muitas dificuldades ainda existem quanto ao tratamento de determinados tipos de doenças, como é o caso das dermatites nos animais domésticos, mais especificamente nos cães. Apoiando-se na hipótese de que plantas da família das Araceae podem oferecer insumos importantes no tratamento deste tipo de doença, idealizou-se este trabalho tendo-se como principal objetivo estudar mais precisamente a composição fitoquímica do *Anthurium affine* Schott (*A. affine*), conhecido popularmente como “milho de urubu”. A partir de amostras da planta colhidas na Região Metropolitana do Grande Recife, foi confeccionado o extrato hidroalcolico (etanol a 70%), das folhas da planta, sendo colocado para maceração por sete dias. A partir desta etapa o material foi submetido a procedimentos de filtragem e caracterização do extrato final obtido. Posteriormente, alíquotas deste material foram colhidas e trabalhadas para a realização dos ensaios de identificação fitoquímica, conforme protocolo padrão disponível na literatura. Como resultados, obteve-se um extrato hidroalcolico da planta na concentração de 85 mg/mL; as análises fitoquímicas apresentaram resposta positiva para taninos, flavonóides, alcalóides e saponinas. Verificou-se que o *A. affine* apresentou um potencial fitoterápico mais rico do que normalmente se apresenta, embora estudos mais precisos sejam necessários para se avaliar os reais riscos de toxicidade no

uso terapêutico da planta, como também para melhor definir os mecanismos de ação por traz dos efeitos farmacológicos atribuídos aos seus extratos.

Palavras-chave: antúrio, dermatite canina, fitoterapia, planta medicinal.

Abstract

Despite the broad disposal of medicaments in the market, many difficulties still exist about the treatment of some types of disease, like the dermatitis on domestic animals, more specifically on dogs. Standing on the hypotheses that the plants from the family of Araceae may offer important inputs on the treatment of this kind of disease, this study was idealized, with the purpose of studying the phytochemical composition of *Anthurium affine* Schott (*A. affine*), known as "vulture corn". From the samples harvested on the Recife Metropolitan Area, the hydroalcoholic extract (70% of ethanol) from the leaves of the plant was made and placed for maceration for seven days. From this stage, the material was subject to procedures of filtration and description of the extract final obtained. Posteriorly, aliquots of this material were harvested and processed for a phytochemical identification tests, according to the standard protocol available on the internet. As results, a hydroalcoholic extract of the plant was obtained in a concentration of 85 mg / mL; the phytochemical analyzes showed a positive response for tannins, flavonoids, alkaloids and saponins. After the study, the *A. affine* showed a greater phytotherapeutic potential than it normally does although more precise studies are needed to evaluate the real risks of toxicity in the therapeutic use of this plant, as well to define better the mechanisms of action behind the pharmacological effects assigned to its extracts.

Keywords: Anthurium, Canine Dermatitis, Phytotherapy, Medical Plant.

Introdução

O uso das plantas medicinais é uma prática que sempre esteve presente ao longo da história da humanidade, assumindo diferentes configurações conforme as tendências culturais dos povos, cujas práticas podem ser identificadas até os dias atuais, como é o caso da fitoterapia. As plantas se constituem fonte de matérias-primas diversas que se configuram como ingredientes importantes na produção de medicamentos para fins terapêuticos (MENEGASSO et al., 2016; TAUFNER, 2006; BARREIRO e BOLZANI, 2009).

Muitas enfermidades, apesar da ampla disposição de medicamentos alopáticos disponíveis no mercado, ainda carecem de uma estratégia terapêutica eficiente que concilie a estabilidade

das respostas na erradicação do problema com a preservação da qualidade de vida e bem-estar dos pacientes acometidos, como é o caso da ocorrência das dermatites na clínica de pequenos animais domésticos.

As plantas da família *Araceae* são ervas que apresentam uma distribuição cosmopolita, incluindo cerca de 100 gêneros e 3000 espécies, podendo ser encontrada em todos os continentes, exceto na Antártida. A maioria das espécies encontra-se distribuída em regiões tropicais como no Brasil onde podem ser identificados 35 gêneros e cerca de 400 espécies (TESKI e TRENTINI, 1997).

Desta família, merece destaque as plantas do gênero *Anthuriumaffine* Schott, que compreende mais de 600 espécies; normalmente herbáceas, caracterizando-se como epífitas nativas da América tropical, conhecidas popularmente por antúrio, ou vulgarmente como língua de sogra, anthurium selvagem ou “milho de urubu”; esta última denominação mais característica no nordeste brasileiro (SOUZA e LOURENZI, 2005). *A.affine* Schott pode ser encontrado na Mata Atlântica e nos ambientes domésticos onde geralmente pode ser empregado como planta ornamental. Popularmente os seus insumos são aplicados no tratamento do diabetes, micoses e doenças cardiovasculares em seres humanos (NOMURA et al., 2012).

Segundo alguns estudos, o extrato de folhas do *A. affine* Schott pode apresentar grande quantidade de flavonoides entre os quais se destacam a quercetina, o kaempferol e a luteína, flavonoides estes com propriedades antiinflamatórias, antimutagênicas, antioxidantes, antitumorais, reepitelizantes e cicatrizantes (CARRICONDE, 1996; TOMBOLATO, 2000; CROAT, 2004; VEIGA JUNIOR, 2008; NOMURA et al., 2012). No entanto, poucos são os estudos fitoquímicos que mencionam uma análise mais completa da composição química da espécie de planta em questão, assinalando outros grupos químicos que podem estar eventualmente associados com os princípios ativos mais voltados para o tratamento das doenças de pele, como possivelmente alguns dos seus metabólitos secundários (FUMAGALI et al., 2008; GRANATO et al., 2013).

Desta forma objetiva-se com este trabalho estudar mais precisamente a composição fitoquímica do *A. affine* Schott, conhecido popularmente como milho de urubu, dando-se ênfase aos metabólitos secundários.

Material e Métodos

Folhas de *A. affine* Schott foram obtidas a partir de amostras disponíveis em área residencial situada no bairro Córrego do Jenipapo, na Região Metropolitana do Grande Recife. A colheita

dos espécimes vegetais foi feita no período matutino no dia 29 de abril de 2015 e os mesmos foram encaminhadas para o Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), local de realização dos ensaios fitoquímicos. Parte do material contendo a florescência foi encaminhada em forma exsicata para os devidos procedimentos de confirmação botânica junto ao Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho da UFRPE. Amostra da planta encontra-se inserida no citado Herbário sob número de registro – 44368.

Para obtenção do extrato as folhas do *A. affine* Schott, após procedimento de triagem e higienização, foram trituradas até a obtenção de uma massa de 100g, que foi posteriormente colocada para maceração em solução hidroalcoólica, com etanol a 70% em um volume de 400 mL, por um período de sete dias. Após esta etapa, o extrato foi filtrado (papel filtro com porosidade de 14µm), avaliada a concentração final, e posteriormente armazenado em recipiente e colocado em ambiente escuro refrigerado.

Um volume de 50mL do extrato bruto foi submetido à evaporação espontânea em temperatura ambiente de 25°C, até a obtenção do extrato seco da planta. O resíduo final obtido foi submetido a diferentes tipos de protocolo de análise fitoquímica, tomando-se como referência os trabalhos de Sogu(1995), Matos(1997) e Barbosa(2004). Foram considerados os seguintes parâmetros: ácidos orgânicos, heterosídeos cianogênicos, polissacarídeos, fenóis, taninos, flavonoides, alcaloides, glicosídeos cardíacos, esteroides, triterpenóides, antraquinonas e saponinas.

Os dados foram devidamente tabelados assinalando-se a condição de positividade ou negatividade dos resultados obtidos nas análises.

Resultados

Como resultados podemos observar que a concentração do extrato hidroalcoólico bruto de folhas do *A. affine* Schott foi de 85 mg/mL, com um rendimento de extração de 0,85 mg/mL/g de folha.

Os resultados obtidos nas análises fitoquímicas realizadas com o extrato das folhas de *A. affine* Schott estão demonstrados na Tab.1.

Tabela 1. Caracterização fitoquímica do extrato bruto das folhas de *Anthurium affine* Schott (milho de urubu).

Ensaios fitoquímicos	Resultados
Ácidos orgânicos	-
Heterosídeos cianogênicos	-
Polissacarídeos	-
Fenóis	-
Taninos	+
Flavonóides	+
Alcalóides	+
Glicosídeos cardíacos	-
Esteroides e triterpenoides	-
Antraquinonas	-
Saponinas	+

Nota: (-) Resultados negativos; (+) Resultados positivos.

Discussão

Na literatura muitas citações disponíveis referem-se, em sua maioria, a estudos gerais sobre as características fitoquímicas da família Araceae, atribuindo-se suas potencialidades na recuperação de pacientes portadores de doenças como o diabetes, alguns tipos de infestações por fungos e doenças cardiovasculares (NOMURA et al., 2012).

São poucas as informações sobre produtos comercializados a base de plantas da família Araceae, porém podem ser encontrados produtos fitoterápicos na forma de cremes, xampus e extratos feitos com partes da planta “milho de urubu” normalmente indicado para o tratamento de doenças de pele em humanos como a psoríase, enquanto na clínica veterinária sugere-se o seu uso em pequenos animais com problemas de dermatite seborreica, em especial nos cães.

Mesmo alguns estudos dando ênfase à presença de flavonoides como principal componente fitoquímico do “milho de urubu” (CARRICONDE, 1996; TOMBOLATO, 2000; CROAT, 2004; VEIGA JUNIOR, 2008; NOMURA et al., 2012), nossos estudos revelaram a presença de outros componentes além dos flavonoides, como taninos, alcalóides e saponinas. Os taninos identificados se enquadraram entre os denominados taninos catéquicos, cuja presença geralmente confere à planta certo grau de toxicidade. Neste aspecto, não podemos desconsiderar as influências climáticas e do solo de onde os espécimes empregados neste estudo foram retirados. Os vegetais, normalmente, tendem a acomodar os seus componentes bioquímicos conforme os desafios de adaptação que o espécime enfrenta em seu respectivo nicho ecológico. Seja como for, este resultado sugeriu cautela na formulação de expedientes para fins

fitoterápicos. Mas, alguns taninos podem apresentar propriedades com ações cicatrizantes, antidiarréica, bactericida e hemostática (ALONSO, 2008).

A presença de alcalóides no extrato hidroalcóolico do “milho de urubu”, assim como de saponinas, confere à planta outras potencialidades além daquelas assinaladas na literatura. Muitos alcalóides, por exemplo, podem estar associados a respostas de toxicidade, mas também podem protagonizar efeitos como os analgésicos, narcóticos, amebicidas, antimaláricos, antitumorais e vasoconstritores (ALONSO, 2008). Assim como, as saponinas podem atuar como diurético, estimulante imunológico, anticolesteroloso mesmo como antiviral (ALONSO, 2008).

Devido à carência de informações relativas à planta estudada nesse trabalho, se faz necessário mais pesquisas com o intuito de elucidar as potencialidades da mesma, como por exemplo, a quantificação dos metabólitos secundários pesquisados nesse estudo.

Conclusão

As análises fitoquímicas realizadas assinalaram a presença de substâncias com potencial fitoterápico como flavonóides já citados na literatura, mas também os taninos, os alcalóides e as saponinas, que conferem ao *Anthurium affine* Schott novas potencialidades farmacológicas que ratifica a importância dos estudos sobre esta espécie de planta na obtenção de recursos que possam ser dirigidos para o uso terapêutico na clínica veterinária.

Referências

- ALONSO, J. R. **Fitomedicina: curso para profissionais da área da saúde**. São Paulo: Pharmabooks, 2008. 195p.
- BARBOSA, W. L. R. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, 2004. Disponível em: <<http://www.ufpa.br/rcientifica>>. Acesso em: 20 set. 2015.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para descoberta de novos fármacos. **Revista Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.
- CARRICONDE, C.; MORES, D.; VON FRITSCHEN, M.; CARDOZO JUNIOR, E. L. **Plantas medicinais e alimentícias**. Olinda: Centro Nordestino de Medicina Popular; Universidade Federal Rural de Pernambuco. v.1, p.45-47, 1996.
- CROAT, T.B. **History and current status of systematic research with Araceae**. St. Louis USA: Missouri Botanical Garden, 2004. 299p.
- FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R.A.C.; MACHADO, M.F.P.S.; VIDOTI, G.J.; OLIVEIRA, A.J.B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas:

- o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba – PR, v. 8, n. 4, p. 627-641, 2008.
- GRANATO, E. M.; GRANATO, M. M.; GERENUTTI, M.; SILVA, M. G.; FERRAZ, H. O.; VILA, M. M. D. C. Prospecção fitoquímica da espécie vegetal *Trixis antimenorrhoea* (Schrank) Kuntze. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 94, n. 2, p. 130-135, 2013.
- MATOS, F. J. A. Roteiro sequencial de prospecção de constituintes químicos de extratos de plantas. In: **Introdução a fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 1997. Cap. 4, p. 41-75.
- MENEGASSO, P. E.; RIZZI, R. C. D.; FERREIRA, M. M. & SANTOS JÚNIOR, A. G. R. **Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo. – São Paulo: Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo, 2016, 84 p.
- NOMURA, E. S.; FUZITANI E. J.; JUNIOR E. R. D. Cultivo do antúrio. **Pesquisa e Tecnologia**, v. 9, n. 1, 2012.
- SOBU, Y. H.; YAMANKA, H.; ZUANON NETTO, J. Z. Separação de ácidos orgânicos do suco de laranja por meio de cromatografia em camada delgada. **Eclética Química**, Araraquara – SP, v. 20, p. 95-100, 1995.
- SOUZA, T. M.; SANTOS, L. E.; MOREIRA, R.R.D.; RANGEL, V. L. B. I. Avaliação da atividade foto protetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa – PB, v. 15, n. 1, p. 6-38, 2005.
- TAUFNER, C. F.; FERRAÇO, E. B.; RIBEIRO, L. F. Uso de plantas medicinais como alternativa fitoterápica nas unidades de saúde pública de Santa Teresa e Marilândia, ES. **Natureza online**, Espírito Santo, v. 4, n. 1, p. 30-39, 2006.
- TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. Curitiba: Herbarium, 1997. 317p.
- TOMBOLATO, A. F. C. Seleções IAC de Antúrios. **O Agrônomo**, São Paulo – SP, v. 52, n. 1, p. 26-27, 2000.
- VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: Aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 2, p. 308-313, 2008.

4.2 Artigo 2

Toxicidade celular em cultivo de *Saccharomices cerevisiae* estimulado com extrato hidroalcólico de folhas de *Anthurium affine* Schott (milho de urubu)

Cell toxicity in culture of *Saccharomyces cerevisiae* stimulated with hydroalcoholic extract of leaves of *Anthurium affine* Schott (vulture corn)

Jesualdo Gomes de Luna^{a#}, Daniela Maria Bastos de Souza^b, George Chaves Jimenez^b, José Ferreira da Silva Neto^b e Joaquim Evêncio Neto^b.

^aUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Programa de Pós- Graduação em Ciência Veterinária, Recife, PE, Brasil.

^bUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, PE, Brasil.

Autor para correspondência/Corresponding author: ^aUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Programa de Pós- Graduação em Ciência Veterinária. CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: jesualdoluna@gmail.com.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o nível de toxicidade celular do extrato hidroalcólico de folhas de *A. affine* Schott, em sistema de cultivo com *Saccharomices cerevisiae*, considerando-se como parâmetros de abordagem a taxa de crescimento celular e o número de células num intervalo específico de fase de crescimento exponencial. Tomando-se como referência, no que se refere a protocolo, o trabalho de Faria (2010). Como resultado verificou-se que *A. affine* Schott não interferiu sobre o metabolismo de sistemas de cultivo de *S. cerevisiae*, até a concentração de 85mg/mL, mas na concentração de 10,75 mg/mL em cultivo até 15 horas promoveu redução significativa do número de células em relação ao controle, nestes termos caracterizando uma ação de citotoxicidade.

PALAVRAS-CHAVE: Antúrio, Dermatite canina, Planta medicinal, Toxicidade.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the level of celular toxicity of the hydroalcoholic extract from the leaves of *A. affine* Schott in cultivation system with *Saccharomices cerevisiae*, considering as approach parameters the rate of celular growth and the number of cells in a specific range of exponential growth stage. Taking as reference, in relation to protocol, the study of Faria (2010) showed as result that *A. affine* Schott did not interfere on the metabolism of cultivation system of *S. cerevisiae* until the concentration of 85mg/mL, but in the concentration of 10,75 mg/mL in cultivation until 15 hours promoted a significative reduce of the number of cells related to control, characterizing na action of citotoxicity.

KEYWORDS: Anthurium, Canine Dermatitis, Medical Plant, Toxicity.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas para fins terapêuticos se insere nos diferentes contextos da história da humanidade, assumindo características peculiares conforme as tendências culturais dos povos, onde hoje algumas destas práticas nos chegam, como é o caso da fitoterapia. Os vegetais constituem-se como principal fonte de matéria-prima para a produção de diferentes tipos de medicamentos (DA SILVA et al., 2005; TAUFNER, 2006; BARREIRO e BOLZANI, 2009).

Apostando-se na hipótese de que seja possível o emprego de plantas da família Araceae na terapia de doenças como as dermatites nos animais domésticos, busca-se avaliar com maior critério de abordagem o que as práticas fitoterápicas populares na região vêm relatando já há algum tempo a este respeito.

As plantas da família Araceae são ervas que apresentam uma distribuição cosmopolita, abrangendo cerca de 100 gêneros e 3000 espécies, podendo ser encontrada em todos os continentes, exceto na Antártida. A maioria das espécies encontra-se distribuída em regiões tropicais como no Brasil onde podem ser identificados 35 gêneros e cerca de 400 espécies (TESKI e TRENTINI, 1997). Entre estes gêneros destaca-se o gênero *Anthurium* que compreende mais de 600 espécies; normalmente apresentando-se como plantas herbáceas, caracterizando-se como epífitas nativas da América tropical, conhecidas popularmente por antúrio, ou vulgarmente como língua de sogra, anthurium selvagem ou “milho de urubu”, sendo esta última denominação mais frequente no nordeste brasileiro (SOUZA e LOURENZI, 2005). Deste gênero, destaca-se a espécie *A. affine* Schott, que pode ser encontrada na mata atlântica,

podendo ser reconhecida, nos ambientes domésticos, como planta ornamental; popularmente os seus insumos são aplicados no tratamento do diabetes, micoses e doenças cardiovasculares (NOMURA et al., 2012).

Alguns estudos revelaram que o extrato de folhas do *A. affine* Schott pode apresentar grande quantidade de flavonoides entre os quais se destacam a quercetina, o kaempferol e a luteína, flavonóides estes com propriedades antiinflamatórias, antimutagênicas, antioxidantes, antitumorais, re-epitalizantes e cicatrizantes (CARRICONDE, 1996; TOMBOLATO, 2000; CROAT, 2004; VEIGA JUNIOR, 2008; NOMURA et al., 2012). FUMAGALI et al. (2008) e GRANATO et al.(2013), atribuem aos metabólitos secundários a possibilidade de uso da planta para o tratamento das doenças de pele.

Nesse trabalho, vale ressaltar que o cultivo de *S. cerevisiae* para avaliação dos níveis de toxicidade celular de *A. affine*, Schott deve-se principalmente à ocorrência de algumas semelhanças quanto à resposta biológica deste tipo de organismo em relação à maioria dos tipos celulares de animais e seres humanos, em especial fibroblastos, osteoblastos e queratinócitos (KEMMER et al., 2009; GONÇALVES, et al., 2014), o que justifica o seu emprego como modelo experimental em ensaios de citotoxicidade e genotoxicidade, (QUIRINO et al., 2012; MELLO et al., 2013; BORGHETTI, 2015).

Iniciando os ensaios “*in vivo*” com a planta, este trabalho teve como objetivo avaliar o nível de toxicidade celular do extrato hidroalcólico de folhas de *A. affine* Schott, em sistema de cultivo com *Saccharomices cerevisiae*, considerando-se como parâmetros de abordagem a taxa de crescimento celular e o número de células num intervalo específico da fase de crescimento exponencial.

Destaca-se ainda a importância farmacológica do cultivo de *S. cerevisiae* para o desenvolvimento de modelos que permitam a elucidação de mecanismos de ação de drogas, bem como o desenvolvimento de instrumentos para intervenções terapêuticas para diferentes tipos de patologias (ALBERGHINA, et al., 2012), doenças renais (KOLB et al., 2011), e câncer (CHEN e SHI, 2002).

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material biológico e confecção do extrato:

As Cepas de *Saccharomices cerevisiae* foram adquiridas no comércio local, sendo higienizadas e amplificadas para a realização dos bioensaios.

O extrato da *A. affine* Schott foi obtido a partir de amostras do vegetal disponíveis em área residencial situada no bairro Córrego do Jenipapo, na região Metropolitana do grande Recife. A coleta das folhas realizada sempre no período matutino, no interstício compreendido entre os meses de abril a maio, sendo encaminhadas para o Laboratório de Farmacologia da UFRPE para os procedimentos de preparação do extrato bruto da planta e realização de bioensaios.

Para obtenção do extrato bruto, as folhas do *A. affine* Schott, após procedimento de triagem e higienização, foram trituradas até a obtenção de uma massa de 100 g, que foi posteriormente colocada para maceração em solução hidroalcoólica, com etanol a 70% em um volume de 400 mL, por um período de sete dias. Após esta etapa, o extrato foi filtrado (papel filtro com porosidade de 14 μ m), e avaliado a concentração final, sendo posteriormente armazenado em recipiente apropriado, devidamente etiquetado e colocado em ambiente escuro refrigerado.

Um volume de 10 mL do extrato bruto foi submetido à evaporação espontânea em temperatura ambiente a 25°C, até a obtenção do extrato seco da planta. O resíduo final obtido foi ressuspenso em solução salina a 0,9% e as soluções finais foram disponibilizadas em diferentes protocolos para avaliação dos níveis de toxicidade celular.

Bioensaios para Citotoxicidade:

Tomando-se como referência o trabalho de Faria (2010), células de *Saccharomyces cerevisiae* na concentração de 1% foram adicionadas em meio de cultivo contendo extrato de batata 2% e glicose 2%; pH $5,6 \pm 0,2$ a 30°C, 1 ATM, para um volume final de 100 mL, até um período de 18 horas. Ao final desta etapa amostras de 10 μ L das preparações foram obtidas, e verificada a viabilidade celular em cada uma delas mediante técnica de exclusão do azul de Tripán a 0,25% e microscopia óptica. Em seguida, alíquotas de 1mL, contendo de 10^5 a 10^6 células/mL, foram adicionadas em sequencia de tubos de ensaio contendo em cada um deles 1mL de meio de cultivo mais 1mL de solução salina para ajuste final de 0,9%, contendo diferentes concentrações do extrato bruto de *A. affine* Schott de forma que a concentração final fosse respectivamente de 85,00; 42,50; 21,25; 10,75 e 5,38 mg/mL, além de tubo controle sem extrato da planta, mas recebendo 1mL de solução salina. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Estas preparações acima foram colocadas para incubação por 18 horas e o número de células de *S. cerevisiae* avaliada nos tempos de 0, 3, 11 e 15 horas, mediante leitura espectrofotométrica (Biochrom Mod. Libra S22- Analítica) em 620nm.

Os dados obtidos a cada leitura espectrofotométrica foram convertidos em número de células, e ao final, foram construídas curvas que relacionavam o número médio de células por cada intervalo temporal, para cada concentração do extrato da planta, definindo-se para cada curva os parâmetros de regressão linear incluindo o coeficiente de determinação; todos os parâmetros obtidos mediante emprego de planilha estatística do programa Excel versão 2010 da Microsoft.

Com as expressões matemáticas obtidas, avaliou-se os coeficientes angulares e lineares de cada equação. Os valores médios relativos aos coeficientes angulares obtidos para cada concentração de *A. affine* foi tomado como parâmetro para avaliação da taxa de crescimento celular. Por outro lado, os valores médios relativos ao número de células de *S. cerevisiae* obtidos no intervalo temporal de 15 horas foram tomados como referência para a avaliação do nível de destruição celular mediado por diferentes concentrações da planta.

Sendo os dados expressos em termos de média e desvio padrão, bem como o delineamento experimental do tipo inteiramente casualizado, com seis concentrações diferentes e três repetições, as diferenças estatísticas foram avaliadas mediante análise de variância e o emprego do teste de Dunnett, considerando-se como nível descritivo um valor de $p < 0,05$, segundo metodologia sugerida em Reis (2003).

RESULTADOS

As curvas que avaliam o crescimento celular de *Saccharomices cerevisia* cultivadas em diferentes concentrações do extrato hidroalcólico de folhas de *A. affine*, Schott pode ser visualizadas na figura 1, sendo que os parâmetros de regressão destas curvas podem ser observados na tabela 1. Inicialmente, uma atenção especial pode ser dada aos coeficientes de determinação, verificando a ocorrência de valores satisfatórios. Mas, uma atenção especial pode também ser dada para os valores do coeficiente angular destas curvas, assinalando que estes podem ser usados para se dimensionar a velocidade de crescimento celular em cada preparação. Apesar da variação apresentada, a diferença não foi significativa ($p < 0,05$).

Na figura 2 pode ser observada a linha de tendência que tenta descrever uma possível relação entre o coeficiente angular e a concentração do extrato da planta em cada condição de cultivo avaliada, assinalando uma possível redução dos valores encontrados até a concentração de 40mg/mL.

Na figura 3 pode ser observado o total de células após 15 horas de cultivo de *Saccharomices cerevisiae* em diferentes concentrações do extrato hidroalcólico de folhas de *A. affine* Schott.

Nesta figura verificou-se uma redução significativa do número de células na concentração de 10,75 mg/mL em relação ao grupo controle, para um valor de $p < 0,05$.

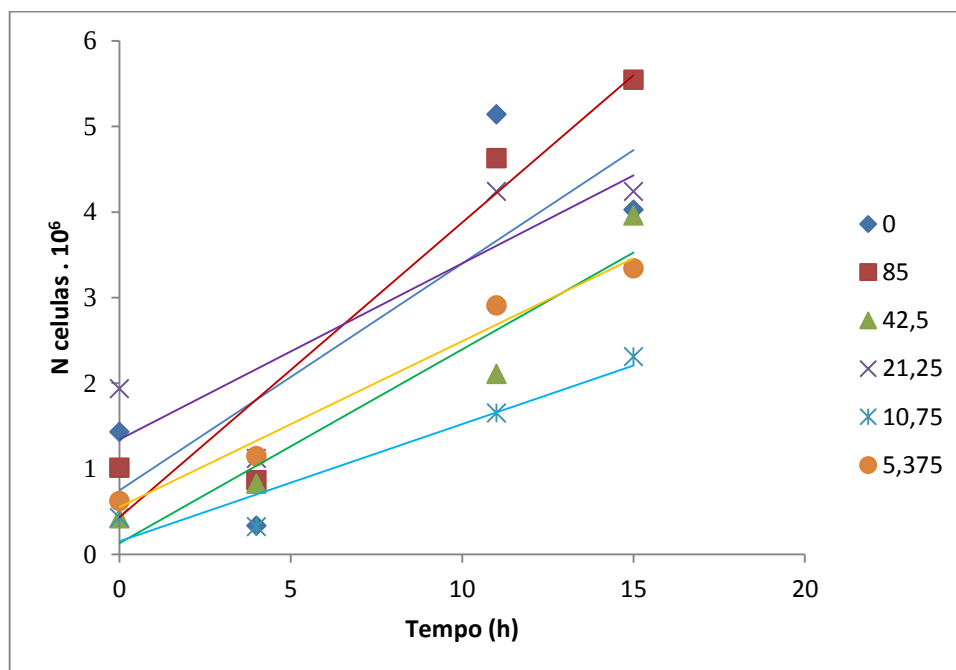


Figura 1. Crescimento celular de *Saccharomyces cerevisiae* cultivadas em diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de folhas de *A. affine* Schott.

Tabela 1. Parâmetros de regressão linear das curvas de crescimento celular de *Saccharomyces cerevisiae* cultivadas em diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de folhas de *A. affine*.

Concentração (mg/mL)	a (N cel.10 ⁵ /h)	b (10 ⁶)	R ²
85,00	0,344±0,086	0,432±0,108	0,921±0,184
42,50	0,227±0,057	0,131±0,033	0,924±0,185
21,25	0,206±0,051	1,342±0,446	0,755±0,151
10,75	0,137±0,034	0,154±0,038	0,918±0,184
5,38	0,194±0,048	0,554±0,139	0,981±0,196
0*	0,265±0,066	0,747±0,187	0,645±0,129

OBS: a – Coeficiente angular; b – Coeficiente linear; R² – Coeficiente de determinação.* - Controle.

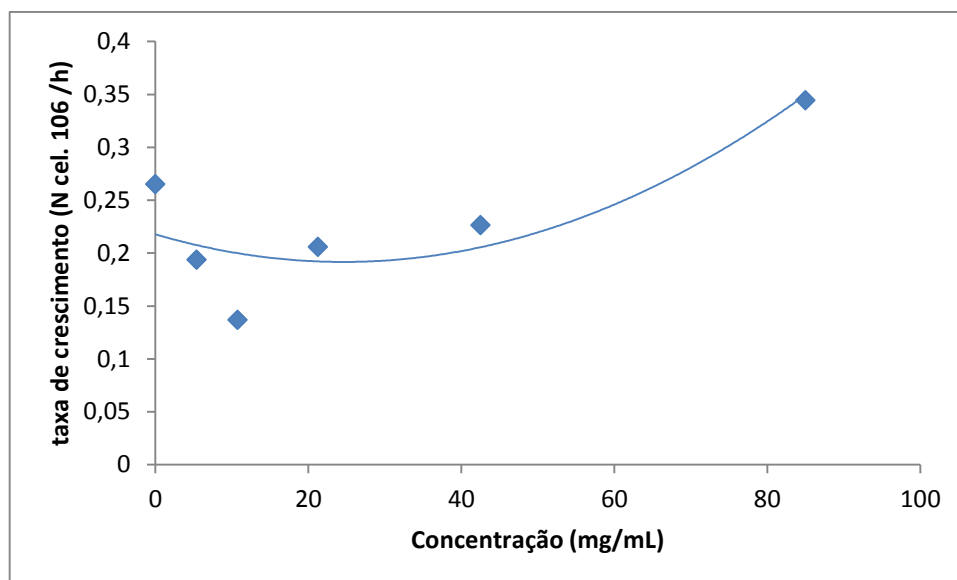


Figura 2. Variação do coeficiente angular em função da variação da concentração do extrato hidroalcolólico de folhas de *A. affine* Schott

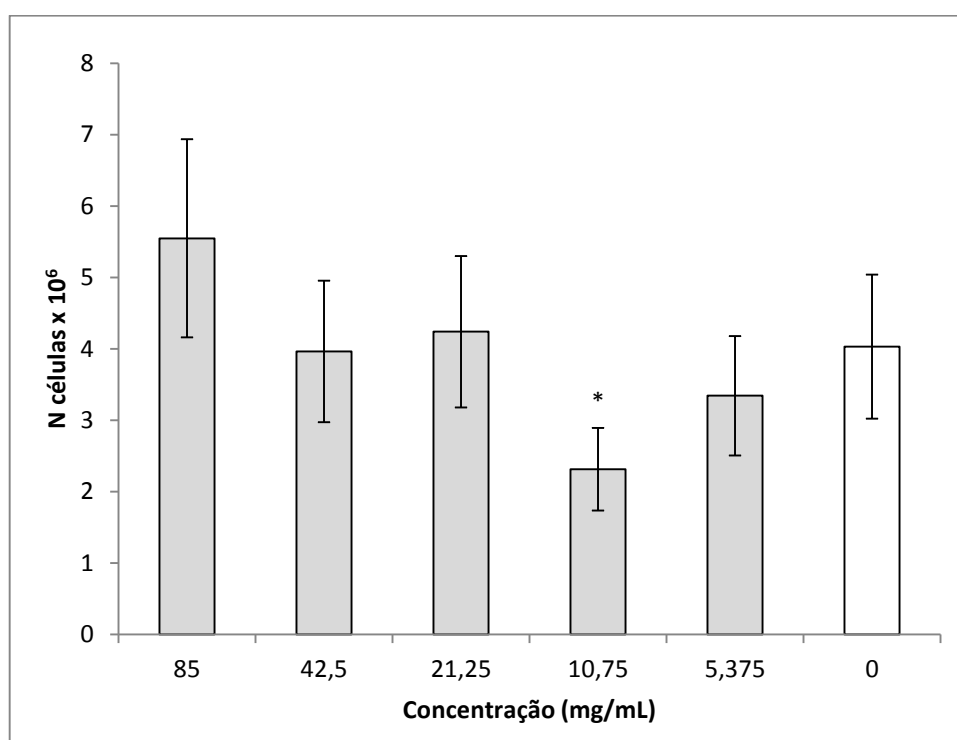


Figura 3. Total de células após 15 horas de cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* sob diferentes concentrações do extrato hidroalcolólico de folhas de *A. affine* Schott.

DISCUSSÃO

Vale ressaltar que o cultivo de *S. cerevisiae* para avaliação dos níveis de toxicidade celular de *A. affine*, Schott deve-se principalmente à ocorrência de algumas semelhanças quanto à resposta biológica deste tipo de organismo em relação à maioria dos tipos celulares de animais e seres humanos, em especial fibroblastos, osteoblastos e queratinócitos (KEMMER et al., 2009; GONÇALVES, et al., 2014), o que justifica o seu emprego como modelo experimental em ensaios de citotoxicidade e genotoxicidade, (QUIRINO et al., 2012; MELLO et al., 2013; BORGHETTI, 2015).

Destaca-se ainda a importância farmacológica do cultivo de *S. cerevisiae* para o desenvolvimento de modelos que permitam a elucidação de mecanismos de ação de drogas, bem como o desenvolvimento de instrumentos para intervenções terapêuticas para diferentes tipos de patologias, como as doenças neurodegenerativas (ALBERGHINA, et al., 2012), doenças renais (KOLB et al., 2011), e câncer (CHEN e SHI, 2002).

Neste trabalho, através da construção de curvas de crescimento de *S. Cerevisiae* procurou-se verificar se o extrato hidroalcólico de *A. affine*, Schott provocava alguma interferência sobre o metabolismo deste tipo de organismo, em especial os componentes associados à reprodução e crescimento celular, ou provocaria deleções estruturais afetando o crescimento destes tipos celulares. Segundo Friedl et al. (1998), quando a levedura é exposta a um agente físico, é esperado em termos gerais, que o agente atue como um fator citotóxico ou como um fator de estresse, induzindo dano celular ou então não causando nenhum efeito imediato na célula.

O crescimento celular foi dimensionado por funções lineares, que traduzem a capacidade de crescimento das leveduras na fase de crescimento rápido, focalizando especial atenção sobre o coeficiente angular das funções obtidas. Aqui é importante assinalar que sendo as funções observadas do tipo linear, pode-se obter a primeira derivada de cada função, que traduz cada uma destas a taxa de crescimento de *S. Cerevisiae* em função do tempo, sendo esta uma característica exclusiva da forma como estes tipos celulares realizam o crescimento e expansão de suas respectivas culturas. Na prática, isto é equivalente ao coeficiente angular de cada função. Desta forma, pode-se dizer que o extrato hidroalcólico de *A. affine*, Schott não afetou os mecanismos de *S. cerevisiae* associados ao crescimento e desenvolvimento celular, uma vez que não ocorreram diferenças significativas entre os valores médios obtidos para os coeficientes angulares de preparações com diferentes concentrações do extrato da planta em relação ao grupo controle, até uma concentração de 85,00 mg/mL considerando-se um valor de $p < 0,05$.

Apesar do que foi assinalado acima, considerando-se as condições em que foram realizados os bioensaios, pode-se verificar na Figura 2 uma certa tendência à um aumento na taxa de crescimento celular com o aumento da concentração do extrato hidroalcólico de *A. affine*, Schott. Em princípio, esta seria uma característica positiva em relação à condição de citotoxicidade.

Quanto ao número células de levedura em 15 horas de cultivo, pode-se observar que na concentração de 10,75 mg/mL ocorreu uma diminuição significativa no número de células em relação ao grupo controle para um valor de $p < 0,05$; provavelmente, por protagonizar efeitos deletérios sobre a estrutura física deste tipo de célula, em especial estrutura de parede celular e membrana plasmática, o que afetaria, de sobre maneira, a condição de sobrevivência da célula. Assim, pode-se dizer da ocorrência de atividade citotóxica, embora este efeito não tenha apresentado uma relação do tipo dose-dependente, muito menos com o aumento da concentração do extrato da planta nas preparações.

O *A. affine* Schott tem sido empregado na condição de recurso coadjuvante no tratamento de dermatites nos animais domésticos, oferecendo resultados estáveis, permitindo uma rápida recuperação do quadro clínico apresentado pelos animais tratados, motivo pelo qual se despertou o interesse em se estudar esta planta.

Uma vez que a literatura especializada só apresenta estudos gerais sobre as características fitoquímicas da família Araceae, assinalando a capacidade de alguns gêneros serem empregados como insumos na recuperação de pacientes portadores de doenças como o diabetes, doenças cardiovasculares e infestações protagonizadas por fungos (CROAT, 2004; VEIGA JUNIOR, 2008; NOMURA et al., 2012), é possível de se encontrar no mercado produtos fitoterápicos na forma de cremes, xampus ou extratos feitos com partes da planta “milho de urubu”, disponibilizando estes produtos para o tratamento de doenças de pele em humanos como a psoríase, e na clínica veterinária de pequenos animais para tratamento da dermatite seborréica, especialmente em cães.

Em nossos estudos foram encontrados componentes fitoquímicos como flavonoides, taninos, saponinas e alcaloides, sendo que destes, os alcaloides, os taninos e as saponinas parecem ser os ingredientes mais prováveis em ter ações sobre a parede celular e membrana plasmática, inviabilizando-as estruturalmente, o que por sua vez afetaria a estabilidade citoplasmática destes organismos além dos mecanismos de osmorregulação (MATOS, 1997; LIMA, 2008; ALONSO, 2008; BARBOSA 2015).

É possível também que haja alguma relação entre a queda do número de células em 15 horas e a discreta redução na taxa de crescimento celular ambas na concentração de 10,75 mg/mL.

Algumas vezes se observam comportamentos desta natureza na farmacologia e toxicologia, acreditando-se que em concentrações maiores, a presença de determinados componentes bioquímicos no próprio extrato vegetal, acabe por compensar a ação de citotoxicidade observada.

É importante assinalar também as possíveis influências climáticas e as características do solo de onde foram retirados os espécimes colhidos para este estudo, acrescentando ligeiras modificações nas características bioquímicas da planta, conseqüentemente sugerindo certa cautela no emprego do extrato de *A. affine* Schott para fins fitoterápicos.

CONCLUSÃO

O extrato hidroalcóolico de folhas de *A. affine* Schott não apresentou efeito significativo sobre a taxa de crescimento celular em culturas de *S. Cerevisiae* até a concentração de 85mg/mL, embora a concentração de 10,75mg/mL tenha afetado o número de células de *S. cerevisiae* em 15 horas de cultivo, reduzindo-o de forma significativa, para um valor de $p < 0,05$; portanto efeito citotóxico.

REFERÊNCIAS

ALBERGHINA, L.; MAVELLI, G.; DROVANDI, G.; PALUMBO, P.; PESSINA, S.; TRIPODI, F.; COCCETI, P.; VANONI, M. Cell growth and cell cycle in *Saccharomyces cerevisiae*: basic regulatory design and protein–protein interaction network, **Biotechnology Advances is a review journal**, v.30 p. 52–72.2012.

ALONSO, J. R. **Fitomedicina: curso para profissionais da área da saúde**. 1 ed. São Paulo: Pharmabooks.2008. 195p.

BARBOSA, W. L. R. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista científica da UFPA**, Pará v. 4, 2004. Disponível em: <<http://www.ufpa.br/rcientifica>>. Acesso em: 20 set. 2015.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para descoberta de novos fármacos. **Revista Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, n.3, p. 679-688, 2009.

BORGHETTI, R. L., **Avaliação *in vitro* da Citotoxicidade, Genotoxicidade e mutagenicidade de Materiais Estéticos de Preenchimento Facial**, 2015, 150p, Tese (Doutorado em Estomatologia Clínica), Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS.

CARRICONDE, C.; MORES, D.; FRITSCHEN, M.; CARDOZO JUNIOR, E. L. **Plantas medicinais e plantas alimentícias**. Olinda: Centro Nordestino de Medicina Popular; Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1996, 153p.

CHEN, F.; SHI, X. Intracellular signal transduction of cells in response to carcinogenic metals. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**. v.42: p.105–121. 2002.

CROAT, T. B. **History and current status of systematic research with araceae**. St. Louis USA: Missouri Botanical Garden, 2004, 299p.

DA SILVA, M. P. L.; ALMASSY, J. A. A.; DA SILVA, F.; DA SILVA, M. **Levantamento etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais utilizadas por comunidades rurais de Mutuípe-BA integrantes do “Projeto Ervas”**. Bahia, 2006 - 2007. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/9/309.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2015.

FARIA, F. P. Alumínio: **Ação Tóxica Sobre a Levedura *saccharomyces Cerevisiae* Pe-2 a o Efeito Protetor do Ácido Cítrico e Magnésio**, 2010, 78p. Dissertação (Mestrado em produção vegetal), Universidade Federal de Goiás – UFG, Campus Jataí - Goiás.

FRIEDL, A. A, et al. Radiation – induced chromosome aberrations in *Saccharomyces cerevisiae* influence of DNA repair pathways. **Genetics** – v. 148, p.975-988, 1998.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá – PR, v. 8, n. 4, p. 627-641, 2008.

GONÇALVES, T.S.; DE MENEZES, L. M.; RIBEIRO, L. G.; LINDHOLZ, C. G.; MEDINA SILVA, R. Differences of cytotoxicity of orthodontic bands assessed by survival tests in

Saccharomyces cerevisiae, **BioMed Research International**, Porto Alegre – RS, p.1-7, 2014.

GRANATO, E. M.; GRANATO, M. M.; GERENUTTI, M.; SILVA, M. G.; FERRAZ, H. O.; VILA, M. M. D. C. Prospecção fitoquímica da espécie vegetal *Trixisantimenorrhoea* (Schrank) Kuntze. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 94, n. 2, p. 130-135, 2013.

KEMMER, D.; MCHARDY, L. M.; HOON, S.; REBÉRIOUX, D.; GIAEVER, G.; NISLOW, C.; ROSKELLEY, C. D.; ROBERGE M., Combining chemical genomics screens in yeast to reveal spectrum of effects of chemical inhibition of sphingolipid biosynthesis, **BMC Microbiology Journal**, v. 9, p.1- 9, 2009.

KOLB, A. R.; BUCK, T. M.; BRODSKY, J. L. *Saccharomyces cerevisiae* as a model system for kidney disease: what can yeast tell us about renal function? **American Journal of Physiology - Renal Physiol.** Pittsburgh, Pennsylvania, v. 301, F1-11, 2011.

LIMA, E. Índice terapêutico fitoterápico – **ITF, Ervas medicinais**. 1. ed, Petrópolis, RJ; Editora de Publicações Biomédicas Ltda. – Electronic Publication, 2008. 328p.

MATOS, F. J. A. **Roteiro sequencial de prospecção de constituintes químicos de extratos de plantas**. Cap. 4. Em, Introdução à fitoquímica experimental – 2ed. Fortaleza, Edições UFC P. 41-75. 1997.

MELLO, D. F.; GONCALVES, K. C.; FRAGA, M. F.; PERIN, L. F.; HELENE, A. Jr., Local complications after industrial liquid silicone injection – Case series, **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias**, São Paulo, v.40, p. 37-42, 2013.

NOMURA, E. S.; FUZITANI E. J.; JUNIOR E. R. D. Cultivo do antúrio. **Pesquisa e Tecnologia**, v. 9, n. 1, 2012.

PANIZZA S. **Plantas que curam – Cheiro de Mato**. 20ª. Edição. São Paulo, Instituição Brasileira de Difusão Cultural Ltda. - IBRASA, (Biblioteca Saúde; 41), 1997, 280p.

QUIRINO, M. R.; NEVES, A. C.; CAMPOS, M. S.; BRANDÃO, A. A.; ANBINDER, A. L. Oral granuloma formation after injection of cosmetic filler. **Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery**, Taubaté – SP, v.40, 7, p.194-197, 2012.

REIS, J. C. Teste de Dunnett, em Escolha do teste adequado para comparação de médias, capítulo 25, em Estatística aplicada à pesquisa em ciência veterinária. **Journal Citation Report**, Olinda, p. 494, 495, 2003.

SOBU, Y. H.; YAMANKA, H.; ZUANON NETTO, J. Z. Separação de ácidos orgânicos do suco de laranja por meio de cromatografia em camada delgada. **Eclética Química**, Araraquara, v. 20, p. 95-100, 1995.

SOUZA, T. M.; SANTOS, L. E.; MOREIRA, R.R. D.; RANGEL, V. L. B. I. Avaliação da atividade foto protetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa – PB, v. 15, n. 1, p. 6-38, 2005.

TAUFNER, C. F.; FERRAÇO, E. B.; RIBEIRO, L. F. Uso de plantas medicinais como alternativa fitoterápica nas unidades de saúde pública de Santa Teresa e Marilândia, ES. **Natureza online**, Marilândia, ES. v. 4, n. 1, p. 30-39, 2006.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. Curitiba: Herbarium, 1997.317p.

TOMBOLATO, A. F. C. Seleções IAC de Antúrios. **O Agrônomo**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 26-27, 2000.

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: Aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 2, p. 308-313, 2008.

4.3 Artigo 3

Toxicidade aguda em camundongos estimulados com o extrato hidroalcólico de folhas de *Anthurium affine* Schott (milho de urubu)

Acute toxicity in mice stimulated with the hydroalcoholic extract of leaves of *Anthurium affine* Schott (vulture corn)

Jesualdo Gomes de Luna^{a#}, Daniela Maria Bastos de Souza^b, George Chaves Jimenez^b, José Ferreira da Silva Neto^b e Joaquim Evêncio Neto^b.

^aUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Programa de Pós- Graduação em Ciência Veterinária, Recife, PE, Brasil.

^bUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, PE, Brasil.

Autor para correspondência/Corresponding author: ^aUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Programa de Pós- Graduação em Ciência Veterinária. CEP: 52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: jesualdoluna@gmail.com.

RESUMO

Com o objetivo avaliar o nível de toxicidade aguda em camundongos *Mus musculus*, albino Swiss, em modelo de atividade espontânea, inicialmente confeccionamos um extrato etanólico a 70% de folhas de *Anthurium affine* Schott (*A. affine*). Para realização do presente trabalho experimentalmente foram formados cinco grupos com oito animais cada, onde em cada grupo eles recebiam uma determinada dose do extrato bruto ajustado em solução fisiológica (ip). Após a aplicação do extrato, em dose única, os animais eram observados a campo aberto por um período de 100 min. contínuos e as respostas comportamentais registradas. Após esta etapa os animais ainda permaneciam sob observação episódica até 168 horas. Como resultado verificou-se que *A. affine* proporcionou a ocorrência de respostas importantes que denunciam ações estimulantes e depressoras sobre o SNC e sobre o SNA, algumas destas numa relação de dose-efeito, justificando cautela, embora não tenham sido observados óbitos até a dosagem de 2913,60 mg/Kg; recomendando-se para novos estudos a dose de $139,26 \pm 63,41$ mg/Kg.

PALAVRAS-CHAVE: Antúrio, Dermatite, Planta medicinal, Fitoterapia.

ABSTRACT

With the objective of evaluate the level of high toxicity in mice *Mus musculus albinus* Swiss, in an spontaneous model, first we built an ethanolic extract with 70% of *Anthurium affine* Schott (*A. affine*)leaves. So we could realize this, experimentally, were formed five groups with eight animals each. Each of these groups received certain doses of raw extract, adjusted in physiologic solution (ip). After the application of this raw extract, in a single dose, the animals were observed in open field, for a minimum period of 100 continuous minutes and the responses were registered. After this stage the animals kept being observed periodically until 168 hours. As result was verified that the *A. affine* has caused the occurrence of important responses, that denounce stimulant and depressive about the SNC and the SNA, some of these in a relation of dose-effect, justifying the cautiousness, although there hasn't been deaths observed until the application of a dose of 291,60mg/Kg; it is recommended, to new studies, the dose of 139,26mg/Kg $\pm$ 63,4 mg/Kg.

KEYWORDS: Anthurium, Canine Dermatitis, Medical Plant, Toxicity.

INTRODUÇÃO

A fitoterapia de hoje reflete, de certa maneira, a arte de manipular plantas para obtenção de recursos terapêuticos na tentativa de eliminação dos problemas de saúde tanto do homem como nos animais. Assim, nos diferentes contextos da história da humanidade, esta arte tem assumido diferentes condições de importância assim como aspectos peculiares conforme as características culturais dos povos, sendo ainda hoje uma importante fonte de matéria-prima para a produção de diferentes tipos de medicamentos (DA SILVA et al., 2005; TAUFNER, 2006; BARREIRO e BOLZANI, 2009).

Apostando-se na hipótese de que seja possível o emprego de plantas da família *Araceae* na terapia de doenças como as dermatites nos animais domésticos, procura-se avaliar com maior critério de abordagem o que as práticas fitoterápicas populares na região vêm assinalando já há algum tempo a este respeito.

As plantas da família *Araceae* são herbáceas de distribuição cosmopolita, constituindo cerca de 100 gêneros e 3000 espécies. Podem ser encontradas em todos os continentes, exceto na Antártida, onde maioria das espécies está distribuída nas regiões tropicais. No Brasil podem ser identificados 35 gêneros e cerca de 400 espécies (TESKI e TRENTINI, 1997), onde se destaca o gênero *Anthurium* que no mundo todo compreende mais de 600 espécies. Esta variedade de

herbácea distribui-se como epífitas nativas em toda extensão da América tropical, recebendo diferentes denominações conforme a região, sendo conhecidas popularmente por antúrio, língua de sogra, anthurium selvagem ou “milho de urubu”, sendo esta última mais freqüente no nordeste brasileiro (SOUZA e LOURENZI, 2005). Deste gênero, pode-se destacar a espécie *A. affine* Schott, normalmente encontrada na mata atlântica, mas também podendo ser reconhecida nos ambientes domésticos como planta ornamental. A fitoterapia popular reconhece os benefícios dos seus extratos no tratamento de micoses, do diabetes, e doenças cardiovasculares (NOMURA et al., 2012).

Trabalhos têm revelado alguns constituintes nos extratos de folhas do *A. affine* Schotttais como os flavonoides quercetina, kaempferol e a luteína, normalmente atribuindo a estas propriedades como ação antiinflamatória, antimutagênica, antioxidante, antitumoral, re-epitelizante e cicatrizante (CARRICONDE, 1996; TOMBOLATO, 2000; CROAT, 2004; VEIGA JUNIOR, 2008; NOMURA et al., 2012).

Alguns autores atribuíram à presença de metabólitos secundários de *A. affine* Schott a sua eficácia quanto ao tratamento de doenças de pele (FUMAGALI et al., 2008; GRANATO et al., 2013).

Um aspecto importante da fitoterapia é o tema da toxicidade. Schulz, Hansel e Tyler (2002) analisaram estudos populacionais sobre a expectativa e a percepção emocional dos usuários quanto aos “remédios vegetais”, cujos resultados se mostram inequívocos no sentido de uma confiança significativa em sua eficácia, o que para os autores soa como uma superestimação com relação ao seu efeito em geral brando e gradual, combinada com uma subestimação numericamente ainda mais expressiva, de sua possível toxicidade. Os fitoterápicos não estão isentos de toxicidade, como qualquer medicamento, e há evidências bibliográficas de reações adversas, precauções necessárias e interações medicamentosas. Ainda assim, a tolerância aos fitoterápicos é em geral maior se comparada aos fármacos (SCHULZ et al., 2002; FINTELMANN et al., 2010).

Na realização de ensaios “*in vivo*” com a planta, este trabalho teve como objetivo avaliar o nível de toxicidade aguda do extrato hidroalcolico de folhas de *A. affine* Schott, em camundongos *Mus musculus*, albino suíço, em modelo de atividade espontânea.

MATERIAL E MÉTODOS

Drogas e material biológico:

Os camundongos *Mus musculus*, albino suíço, foram adquiridos a partir do Biotério do Laboratório Nacional Agrônômico - LANAGRO do Ministério da Agricultura – Recife – PE. Todos os animais eram machos adultos com peso de 35 ± 3 g, que foram colocados por um período de 25 dias para aclimação em gaiolas de polipropileno em ambiente sob ciclo de luminosidade de 12x12h, temperatura de 25°C, onde recebiam alimentação específica livre de suplementação com antibióticos da Labina Ltda.

Obtenção do extrato:

O extrato da *A. affine* Schott foi obtido a partir de amostras devidamente identificadas do vegetal a partir de cultivo em área residencial situada no bairro Córrego do Jenipapo, na região metropolitana do grande Recife. A coleta das folhas era feita sempre no período matutino, no interstício compreendido entre os meses de abril e maio, sendo encaminhadas para o Laboratório de Farmacologia da UFRPE para os procedimentos de preparação do extrato bruto da planta e realização de bioensaios.

Para obtenção do extrato bruto, folhas do *A. affine* Schott, após procedimento de triagem e higienização, eram trituradas até a obtenção de uma massa de 100 g, que foi posteriormente colocada para maceração em solução hidroalcóolica, com etanol a 70% em um volume de 400 mL, por um período de sete dias. Após esta etapa, o extrato foi filtrado (papel-14 μ m), e avaliado a concentração final, sendo as soluções finais armazenadas em recipiente apropriado, devidamente etiquetado e colocados em ambiente escuro refrigerado.

Para os bioensaios, um volume de 20 mL do extrato bruto foi submetido à evaporação espontânea em temperatura ambiente a 25°C, e umidade relativa de 75%, até a obtenção do extrato seco da planta. O resíduo final obtido foi ressuscitado em solução salina a 0,9% e as soluções finais foram disponibilizadas para os testes para avaliação dos níveis de toxicidade aguda.

Bioensaios:

Todos os bioensaios foram desenvolvidos nas dependências do Laboratório de Farmacologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Foram idealizados segundo metodologia disponível em Malone (1983), Lapa et al. (2002) e Almeida(2006), assim como os descritores para avaliação da resposta clínica, obedecendo-se rigorosamente as recomendações sobre o uso de animais em

experimentação, protocolo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRPE, sob licença de número 009/2015.

Bioensaios de atividade espontânea:

Cinco grupos, com oito animais cada, foram formados, sendo que em cada um os camundongos recebiam, em dose única (ip), um volume de 0,2mL do extrato hidroalcoólico bruto de folhas de *A. affine* Schott, o qual após evaporação do solvente, o resíduo final era ressuspenso em solução salina a 0,9% e as doses finais ajustadas para 24,28mg/Kg; 145,68mg/Kg; 242,80mg/kg; 1456,80mg/Kg e 2913,60mg/Kg respectivamente, conforme o grupo. Em seguida, de cada grupo, os animais foram alocados em ambiente aberto, onde as respostas comportamentais espontâneas foram registradas por um período de 100 minutos de observação ininterrupta. Após esta etapa, os animais foram recolhidos e devidamente acondicionados para observações episódicas em 24, 48, 72 e 168 horas.

É importante assinalar que foi tomado como parâmetro de quantificação das respostas observadas o número de animais responsivos a cada intervalo de 10 min, até serem completados os 100 min de observação, para cada grupo.

Após esta fase, as principais respostas eram devidamente tabuladas e organizadas segundo os descritores disponíveis na literatura acima assinalada.

Para a determinação da dose crítica para intoxicação aguda foram consideradas as sugestões disponíveis em Darmelis (2005) e Valadares (2006), mas também a ocorrência de respostas desfavoráveis do tipo dose-efeito, obtendo-se as expressões matemáticas que descreviam estas relações, com os respectivos coeficientes de determinação, obtendo-se assim as doses críticas para estas respostas. A relação dose/efeito foi dimensionada considerando-se o número médio de animais responsivos a cada dosagem empregada, no período completo de 100 min de observação, aferindo-se o coeficiente de correlação entre estes dois parâmetros, mediante emprego de planilha estatística do programa Excel da Microsoft, versão Office 2010.

Avaliação estatística:

Sendo os dados expressos em termos de percentagem ou de media e desvio padrão, os intervalos de confiança foram definidos considerando-se a estatística de t de Student, tendocomo nível descritivo um valor de $p < 0,05$, segundo metodologia sugerida em Spiegel (1974) e Reis (2003).

RESULTADOS

Como resultado, verificou-se a ocorrência de respostas comportamentais características, conforme a dose do extrato de *A. affine* Schott empregada, como revelam os dados da figura 1. Nesta figura, pode-se também observar que em praticamente todas as doses a quantidade de resposta não previstas nos descritores utilizados como referência foi superior em relação às demais respostas, atingindo um percentual geral de 39,34 %, contra 28% de respostas depressoras sobre o Sistema Nervoso Central - SNC, 17,23% de respostas estimulantes sobre o SNC e 14,95% de respostas sobre o Sistema Nervoso Autônomo (SNA).

É interessante chamar a atenção para o fato de que a quantidade de efeito de uma determinada característica farmacológica estava mais bem representada numa determinada dose do extrato, registrando-se assim a tendência destas respostas, até o intervalo de 2913,60 mg/Kg. Até o período de 168 horas de observação intermitente quanto aos grupos experimentais, não foram observados óbitos. Mas, entre o montante de comportamentos revelados ocorreram respostas do tipo dose-dependente, sendo nesse trabalho consideradas aquelas em que o coeficiente de correlação linear foi superior a 0,5 como mostram os dados das tabelas de 1 a 4, que contem o percentual médio de animais responsivos para um determinado comportamento considerado e o coeficiente de correlação linear, como melhor estimativa para se estabelecer a relação entre o número de animais responsivos e a dose empregada.

É importante destacar que alguns coeficientes de correlação foram negativos, enquanto outros foram positivos; no primeiro caso tratou-se da ocorrência de um efeito que envolvia um número menor de animais na resposta, conforme o aumento da dose. No segundo caso tratou-se da ocorrência de um efeito que envolveu um número maior de animais conforme a dose empregada.

Nestes termos, considerando-se os efeitos do tipo dose-dependente, encontrando-se as expressões que descreviam a relação linear entre o percentual de animais responsivos e a dose empregada para um determinado tipo de tratamento, definiu-se a dose crítica para intoxicação aguda, considerando-se como referência uma dose media capaz de intoxicar 50% dos animais de um grupo experimental, conforme mostram os dados da tabela 5. A dose crítica para intoxicação aguda para um intervalo de confiança de 95% foi de $13926,36 \pm 6341,33\text{mg/Kg}$.

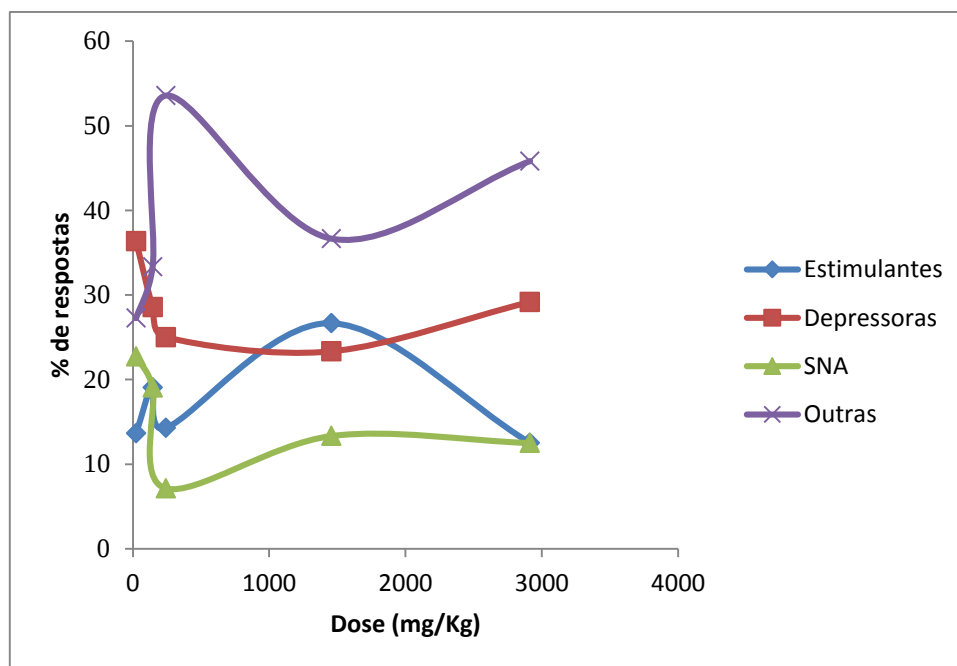


Figura 1. Percentual de efeito conforme a dose empregada nos ensaios de atividade espontânea em camundongos estimulados por *A. affine* Schott.

Tabela 1. Respostas comportamentais que assinalam efeitos estimulantes sobre o SNC numa relação de dose-efeito em camundongos que receberam o extrato de *A. affine* Schott.

Comportamentos	%	r
Tremores no corpo	1,25±2,17	-0,52
Tremores na cabeça	0,25±0,56	0,88
Espasmos	9,75±14,98	0,88
Movimento das vibríças	6,50±7,47	0,97

OBS: “r” – Coeficiente de correlação linear. % - Percentual de animais responsivos.

Tabela 2. Respostas comportamentais que assinalam efeitos depressores sobre o SNC numa relação de dose-efeito em camundongos que receberam o extrato de *A. affine* Schott.

Comportamentos	%	r
Analgesia	16,75±9,83	0,91
Cauda em Straub	2,25±2,56	0,88
Sedação	32,75±19,74	0,72
Ptose	9,25±5,49	0,82

OBS: “r” – Coeficiente de correlação linear. % - Percentual de animais responsivos.

Tabela 3. Respostas comportamentais que assinalam efeitos sobre o SNA, numa relação de dose-efeito em camundongos que receberam o extrato de *A. affine* Schott.

Comportamentos	%	r
Cauda paralela	17,75±24,63	-0,63
Taquipnéia	32,75±38,60	-0,68
Piloereção	5,50±4,38	0,62

OBS: “r” – Coeficiente de correlação linear. % - Percentual de animais responsivos.

Tabela 4. Respostas comportamentais que assinalam efeitos não previstos nos descritores de referência, numa relação de dose-efeito em camundongos que receberam o extrato de *A. affine* Schott.

Comportamentos	%	r
Prurido nos testículos	11,75±14,70	-0,63
Prurido no dorso	0,75±1,12	0,72
Edema de focinho	16,75±11,65	-0,71
Contração abdominal	2,75±4,37	0,99
Lambendo os testículos	1,50±3,35	0,88

OBS: “r” – Coeficiente de correlação linear. % - Percentual de animais responsivos.

Tabela 5. Dose crítica para intoxicação aguda em 50% dos animais estimulados com extrato de *A. affine* Schott.

Tipo de resposta farmacológica	r	a	b	Dose (mg/Kg)
Estimulante				
Espasmos	0,88	0,0107	-0,448	4372,04
Movimento das vibriças	0,97	0,006	+0,891	8376,08
Depressora				
Analgesia	0,98	0,007	+9,819	5545,32
Cauda em Straub	0,81	0,002	+0,511	27221,82
Ptose	0,92	0,004	+5,784	12194,2
Outras respostas				
Contração abdominal	0,99	0,004	-0,604	14443,59
Lamber os testículos	0,88	0,002	-0,663	25331,50
Media $\pm$ epm				13926,36 $\pm$ 3235,37
Com intervalo de confiança de 95%				13926,36 $\pm$ 6341,33

OBS: Parâmetros de regressão linear, r – Coeficiente de correlação linear. a – Coeficiente angular. b – coeficiente linear. Erro padrão da media (epm).

DISCUSSÃO

Foram observadas uma grande variação de respostas comportamentais conforme a dose de *A. affine* Schott aplicada em camundongos em atividade espontânea; considerando-se que muitas delas, como prurido nos testículos, prurido no dorso, edema de focinho, contração abdominal e lambadura dos testículos não estavam presentes nos descritores normalmente empregados para o dimensionamento clínico dos animais em estudo.

Uma vez que Almeida (2006) fala da ocorrência de espasmos(estimulantes SNC),Silva (2006) fala de tremores na cabeça(estimulantes SNC) e Lapa et al. (2002); Almeida(2006) relatam da ocorrência de cauda em Straub(depressores SNC).Isto, de certa forma, denuncia a heterogeneidade bioquímica da composição do extrato, onde, conforme a dose empregada, um determinado grupo de substâncias atuava mais intensamente proporcionando respostas

comportamentais características conforme a dimensão do metabolismo animal afetada. Verificou-se também que até uma concentração de 2913,60 mg/Kg não tinha ocorrido óbitos, o que em princípio significaria um extrato de baixa toxicidade. Mas, uma observação atenta, nos fez verificar a ocorrência de respostas do tipo dose-dependente, em domínios farmacológicos como os estimulantes e depressores do SNC e as que afetam o SNA.

Para um melhor dimensionamento das relações do tipo dose-dependente, utilizamos o aferimento do coeficiente de correlação linear como melhor parâmetro circunstancial para verificarmos a relação entre o percentual de animais responsivos no grupo para um determinado comportamento em 100 minutos de observação e a dose do extrato empregada.

Considerando-se valores de $r > 0,80$ verificamos a ocorrência de tremores na cabeça, uma resposta genuinamente de excitabilidade excessiva, normalmente manifestada quando no extrato estão presentes substâncias que se assemelham a agonistas serotoninérgicos (ALMEIDA, 2006).

É importante lembrar que os agonistas serotoninérgicos são drogas que atuam preferencialmente em receptores do tipo 5HT (receptores para o neurotransmissor serotonina - 5-hidroxitriptamina), havendo vários subtipos destes receptores, estrategicamente distribuídos em vários tecidos, apresentando resposta farmacológica específica (HUMPHREY et al., 1993). Os efeitos observados sugerem uma ação estimulante sobre receptores do tipo 5HT₃ que pode ser encontrado no SNC, Sistema Nervoso Periférico-SNP em neurônios sensitivos, nociceptivos e em neurônios autonômicos e entéricos. A estimulação deste tipo de receptor aciona canais iônicos para cátions, gerando muita excitabilidade (HANG et al., 1997).

Apesar de que a ocorrência de espasmos com extensão do trem posterior sugira a presença de componentes no extrato de natureza ácida, irritando nociceptores em áreas adjacentes ao peritônio (MALONE, 1983); pode-se também admitir, que a estimulação de receptores do tipo 5HT_{2A} que se encontra distribuído no SNC, músculo liso e plaquetas, estimulando o aumento do metabólito InsP₃ e Diacilglicerol – DAG, que por sua vez funcionam como mediadores de sistemas de cascatas enzimáticas do tipo fosfolipase C ativadas por cálcio (SILVA, 2006), possa também ter participação na contração da musculatura lisa dos intestinos e brônquios nos animais avaliados. A estimulação de receptores do tipo 5HT₄ envolvendo o SNP via Sistema gastroentérico – GI e SNC, em função do aumento do AMPc poderia também proporcionar efeito excitatório afetando a motilidade gástrica (HANG et al., 1997; MARTIN et al., 1998).

Das respostas excitatórias, é importante assinalar que o movimento das vibrissas, em camundongos normalmente caracteriza sinal que antecede respostas convulsivas, com relata Arandas e Sena, (2006). Neste estudo não foram observadas convulsões ao longo do período de

100min de observação. É possível que este tipo de resposta também esteja associado à estimulação dos receptores serotoninérgicos, especialmente os do tipo 5HT₃.

A contração abdominal poderia ser justificada pela presença de alcaloides, de maneira semelhante as ações tóxicas dos alcaloides da Vinca como vincristina e vimblastina obtidos a partir de extratos da *Catharanthus roseus* (ROWINSKY, 1992; LOBERT et al., 1996). Na avaliação fitoquímica do extrato de *A. affine* Schott foi observada reação positiva para alcaloides.

Dos efeitos depressores, verificou-se a presença de analgesia em resposta ao pinçamento de cauda, intensificando-se conforme o aumento da dose, como também a cauda em Straub, em que o animal caminha com a cauda ereta com a extremidade apontada para a cabeça. Este tipo de efeito ocorre devido a um forte espasmo na musculatura da base da cauda e em torno do ânus, geralmente associado à presença de substâncias que atuam como agonistas opioides ou por substâncias que se assemelham à agonistas serotoninérgicos (ALMEIDA, 2006). Em função do que foi dito acima, é possível que os efeitos serotoninérgicos sejam os mais prováveis, muito embora os opioides possam estar relacionados com a resposta analgésica observada nos animais. Os opioides na verdade estimulam receptores específicos distribuídos em vários domínios do SNC, em especial ao nível do periarqueduto mesencefálico e corno dorsal da medula espinal. A estimulação destes receptores normalmente inibe o sistema adenilato ciclase, modificando as condições de mobilidade de íons de potássio se o receptor for pós-sináptico ou do cálcio se o receptor for pré-sináptico. De qualquer forma o potencial elétrico de membrana de células é afetado, diminuindo a excitabilidade (PASCOE, 2000).

Efeitos de sedação também foram observados, mas é importante assinalar que o camundongo é um animal de hábitos noturnos, e considerando-se o horário de realização dos bioensaios, pode-se admitir que este efeito seja decorrente de sua própria condição biológica, quando substâncias presentes no extrato da planta não antagonizem este tipo de efeito, incluindo-se também a reação de Ptose palpebral, onde ocorre o fechamento das pálpebras quando o animal experimenta um certo grau de sedação.

Quanto ao SNA, verificou-se a ocorrência de movimentos com cauda paralela, que pode denotar excitabilidade simpática (MALONE, 1987), bem provavelmente relacionada com a estimulação indireta sobre os receptores do tipo 5HT₃ mencionado acima, juntando-se a isto as respostas de taquipnéia. Mas também é digno de nota o fato de que substâncias que atuem como inibidores do sistema enzimático acetilcolinesterásico podem potencializar os efeitos colinérgicos sobre a placa mioneural, assim como na medula supra-renal, nas sinapses ganglionares, nas sinapses neuroefetoras do componente parassimpático do SNC. Como

consequência pode-se observar respostas como miose, caimbras abdominais, defecação, incontinência urinária, broncoconstrição e bradicardia decorrente da estimulação ganglionar, entre outras respostas. Do aumento da estimulação colinérgica sobre o SNC ainda podem ser observados tremores, ansiedade, perturbação do sono, convulsão, depressão circulatória e respiratória entre outras respostas (SILVA, 2006).

A piloereção é um tipo de resposta que pode estar associada a diferentes fatores, como o frio, a umidade, ou ainda a mudanças de sensibilidade tátil devido à presença de um efeito tóxico (ALMEIDA, 2006).

Houve ocorrência de prurido em várias regiões do corpo, em especial nos testículos e no dorso, onde a sua manifestação foi do tipo dose-dependente. Golan et al. (2013), relata que a ocorrência de prurido parece estar relacionada com a presença de mediadores como a histamina, bradicinina e prostaglandina do tipo PGE₂, onde estes mediadores, por intermédio de um mensageiro secundário do tipo proteína G acionam sistemas enzimáticos do tipo PKC ou PKA₂ que modificam o padrão de fosforilação de canais de sódio específicos, diminuindo o limiar de excitabilidade dos mesmos em resposta à presença de estímulos químicos, térmicos e mecânicos.

No SNC a histamina parece atuar em alguns domínios como neurotransmissor, exercendo um papel importante na regulação neuroendócrina, atividade cardiovascular, termorregulação e vigília. A histamina pode promover a contração do músculo liso na área bronquiolar gerando dificuldade para respirar, assim como contração da musculatura intestinal. Podem ser também observadas reações de hipersensibilidade, vasodilatação e permeabilidade vascular, sendo algumas destas respostas semelhantes à uma resposta inflamatória aguda mediada parcialmente por receptores histaminérgicos do tipo H1 (ROCHA, 2006).

É possível que as respostas de formação de edema de focinho, assim como de contração abdominal observadas neste trabalho, possam ser justificadas por uma ação de substâncias presentes no extrato de *A. affine* Schott que se assemelham a histamina, embora, como já dito acima drogas que potencializem o sistema colinérgico se comportem como agonistas serotoninérgicos para receptores do tipo 5HT₃, como exemplo.

Cabe ainda dizer que os sistemas purinérgicos são sensibilizados por mediadores do tipo adenosina, nucleotídeos do tipo ATP, ADP, UTP e ainda diadenosina polifosfato. Normalmente estes mediadores são liberados como cotransmissores em neurônios noradrenérgicos, colinérgicos, serotoninérgicos e histaminérgicos em áreas motoras como cerebelo e núcleos da base, assim como no SNP e em áreas não neurológicas, apesar de existirem neurônios puramente purinérgicos em regiões como bexiga, estômago, nos vasos deferentes e células

cromoafins da suprarrenal. Os polifosfatos atuam sobre os receptores do tipo P4 e os nucleotídeos sobre receptores do tipo P2. Mas a adenosina normalmente atua sobre uma família de receptores do tipo A₁, A₂ e A₃ que podem ser antagonizados por substâncias que se assemelham à cafeína (A₁) e glicocorticóides (A₁, A₂), gerando em ambos os casos agressividade e estimulação excessiva (STUCKY, 2002).

É possível que a ação de lambedura dos testículos, denunciando a presença de um estímulo intenso, bem provavelmente afetando células do tipo C, associadas à cadeia nociceptiva nestes animais, possa ser justificada pelos argumentos acima levantados.

A presença de tanino do tipo catéquico na composição fitoquímica da planta, como foi identificado em estudos prévios com o material biológico deste trabalho, assinala certo grau de toxicidade, lembrando que a sua ação quelante pode predispor o surgimento de fragmentos de peptídeos e material proteico com potencial para a sensibilização de anticorpos do tipo IgE potencializando os efeitos assinalados acima.

Retomando-se a questão da dose crítica do extrato de *A. affine* Schott, verificou-se que se considerarmos a possibilidade de 50% dos animais de um grupo qualquer, onde estes seriam estimulados com um extrato similar da planta, seria necessária uma dose de $13926,36 \pm 6341,33$ mg/Kg. Mas para que nenhum animal apresentasse espasmos e contração abdominal deveríamos trabalhar como uma dose estimada de $107,19 \pm 32,57$ mg/Kg (Media $\pm$ epm), lembrando que num grupo experimental ou mesmo nos domínios da atividade clínica estas respostas seriam totalmente indesejáveis. Sugestão é que se trabalhe com uma dose 100 vezes menor do que a estimada para 50% dos animais, ou seja, $139,26 \pm 63,41$ mg/Kg.

CONCLUSÃO

Os ensaios para avaliação dos níveis de toxicidade aguda em camundongos *Mus musculus*, albino Swiss estimulados com diferentes doses de *A. affine* Schott (Milho de urubu), assinalaram a ocorrência de respostas importantes que denunciam ações estimulantes, depressoras sobre o SNC e ações sobre o SNA, algumas destas numa relação de dose-efeito, justificando cautela, embora não tenham sido observados óbitos até a dosagem de $2913,60$ mg/Kg, recomendando-se para novos estudos a dose de $139,26 \pm 63,41$ mg/Kg.

A relação quantitativa entre os efeitos estimulantes, depressores, sobre o SNA e outros (não previstos nos descritores de referencia), variaram conforme a dose do extrato empregada, muito embora os outros efeitos foram predominantes na maioria das doses avaliadas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. N. Triagem farmacológica comportamental, capítulo 11, em **Psicofarmacologia, Fundamentos Práticos**; Guanabara Koogan, p.131-137, 2006.

ALONSO, J. R. **Fitomedicina: curso para profissionais da área da saúde**.1 ed. São Paulo: Pharmabooks,2008.195p.

ARANDAS, F, S.; SENA, E. P. Drogas antiepilépticas, Capítulo 43 da Sessão 2, **Farmacologia do Sistema Nervoso Central**; em Farmacologia, Penildon Silva, Org;.7ª. Edição, Rio de Janeiro - Guanabara Koogan S. A.; p. 416 – 423, 2006.

BARBOSA, W. L. R. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista científica da UFPA**, v. 4, 2004. Disponível em: <<http://www.ufpa.br/rcientifica>>. Acesso em: 20 set. 2015.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para descoberta de novos fármacos. **Revista Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

CARRICONDE, C.; MORES, D.; VON FRITSCHEN, M.; CARDOZO J. E. L. **Plantasmedicinaisealimentícias**. Olinda: Centro Nordestino de Medicina Popular; Universidade Federal Rural de Pernambuco.v.1, p.45-47, 1996.

CROAT, T. B. **History and current status of systematic research with araceae**.St. Louis USA: Missouri Botanical Garden, 2004. 299p.

DA SILVA, M. P. L.; ALMASSY, J. A. A.; DA SILVA, F.; DA SILVA, M. **Levantamento etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais utilizadas por comunidades rurais de Mutuípe-BA integrantes do “Projeto Ervas”**. Bahia, 2006 – 2007, Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/9/309.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2015.

DARMELIS, C. C.; SCHOMEKER, D. R.; BORZELLECA, J. F. **A subchronic toxicity in rats and genotoxicity test with an aqueous ethyl cellulose dispersion.** *Food Chem Toxicol*, Set 43 (9): p.1355 – 1364, 2005.

FINTELMANN, V.; WEISS, R. F. **Manual de fitoterapia.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 526p.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá-PR, v. 8, n. 4, p. 627-641, 2008.

GOLAN, D. E.; TASHJIAN Jr. A. H.; ARMSTRONG, E. J. A. W. **Farmacologia da analgesia**, cap. 17, em *Princípios da Farmacologia: A base fisiopatológica da farmacoterapia*, 3ª. Ed.; R. Janeiro, Guanabara Koogan Ltda; p. 266-285, 2013.

GRANATO, E. M.; GRANATO, M. M.; GERENUTTI, M.; SILVA, M. G.; FERRAZ, H. O.; VILA, M. M. D. C. Prospecção fitoquímica da espécie vegetal *Trixis antimenorrhoea* (Schrank) Kuntze. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 94, n. 2, p.130-135, 2013.

HANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Outros mediadores periféricos: 5-Hidroxitriptamina e Purinas**; cap 8; em *Farmacologia*, 3ª. Edição; Rio de Janeiro -Guanabara Koogan S. A.; p. 139-149; 1997.

HUMPHREY, P. P. A.; HARTIG, P.; HOYER, D. A proposed new nomenclature for 5HT receptors, **Trends in Pharmacological Sciences**. v.14; p.233-236, 1993.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA, M. M. T. R.; LIMA T.C.M. **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais.** São Paulo: cyted CNPq – Programa Iberoamericano de Ciência e Tecnologia para o Desenvolvimento. 2002, 91p.

LOBERT, S.; VULEVIC, B.; CORRERIA, J. L. **Interaction of vinca alkaloids with tubulin: a comparison of vinblastine, vincristine, and vinorelbine.** *Biochemistry*, Mississippi - EUA.v.35, 6806p, 1996.

MALONE, M. H. The pharmacological evaluation of natural products general and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. **Journal of Ethnopharmacology**. v.8: p.127-147, 1983.

MARTIN, G. R.; EGLIN, R. M.; HAMBLIN, M. W.; HOYER, D.; YOCCA, F. **The structure and signalling properties of 5HT receptors: an endless diversity?** Trends Pharmacol Scientia, v.19: p.2-4, 1998.

NOMURA, E. S.; FUZITANI E. J.; JUNIOR E. R. D. Cultivo do antúrio. **Pesquisa e Tecnologia**, v. 9, n. 1, 2012.

PASCOE, P. J. Opioid analgesics. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 30, p.757-761, 2000.

REIS, J. C. Comparação de grupos, Cap 16, em Estatística aplicada à pesquisa em ciência veterinária. **Journal Citation Reports**. Olinda, p. 313 - 320, 2003.

ROCHA Jr, M. A. **Histamina e Anti-histamínicos**, cap. 56; em Farmacologia de Penildon Silva; 7ª Edição, Rio de Janeiro - Guanabara Koogan; p.553-565, 2006.

ROWINSKY, E. K.; DONEHOWER, R. C. The clinical pharmacology and use of antimicrotubule agents in cancer chemotherapeutics. **Pharmacology & Therapeutics Journal**, p.52:35, 1992.

SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V. E. **Fitoterapia racional**. 4. ed. (1. ed. brasileira). Barueri, SP: Manole, p. 99-100.2002.

SILVA, E. C. **Neurotransmissão Aminérgica Central**, cap. 33, em Farmacologia de Penildon Silva, 7. ed., Rio de Janeiro - Guanabara Koogan, S. A.; p. 297-312, 2006.

SILVA, P. **Colinérgicos e anticolinérgicos**, cap 32, em Farmacologia, Penildon Silva, 7 Edição, Rio de Janeiro - Guanabara Koogan S. A.; 276-294, 2006.

SOBU, Y. H.; YAMANKA, H.; ZUANON NETTO, J. Z. Separação de ácidos orgânicos do suco de laranja por meio de cromatografia em camada delgada. **Eclética Química**, Araraquara, v. 20, p. 95-100, 1995.

SOUZA, T. M.; SANTOS, L. E.; MOREIRA, R.R.D.; RANGEL, V. L. B. I. Avaliação da atividade foto protetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa – PB, v. 15, n. 1, p. 6-38, 2005.

SPIEGEL, M. R. Testes de hipótese e significância, em Teoria da decisão estatística, cap. 10; Estatística, **Coleção Schaum** – Mc Graw Hill do Brasil, Ltda. p. 276-310, 1974.

STUCKY, C.L. – Molecular mechanisms of sensory transduction and sensitization in nociceptor. In: Giamberardino MA - Pain 2002 -**An update review**. IASP press, Seattle, 2002.

TAUFNER, C. F.; FERRAÇO, E. B.; RIBEIRO, L. F. Uso de plantas medicinais como alternativa fitoterápica nas unidades de saúde pública de Santa Teresa e Marilândia, ES. **Natureza online**, Marilândia - ES. v. 4, n. 1, p. 30-39, 2006.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. Curitiba: Herbarium. 1997, 317p.

TOMBOLATO, A. F. C. Seleções IAC de Antúrios. **O Agrônomo**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 26-27, 2000.

VALADARES, M. C. Avaliação da toxicidade aguda: Estratégias após a “era do teste DL50”. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiania – Goiás, vol 3, n.2, p. 93-98, 2006.

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: Aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 2, p. 308-313, 2008.

4.4 Artigo 4

Avaliação do Potencial Antiinflamatório do Extrato hidroalcoólico de folhas de *Anthurium affine*, Schott (Milho de Urubu) em Camundongos.

Potential Evaluation of Anti-inflammatory hydroalcoholic of *Anthurium leaves affine*, Schott (Vulture Corn) in mice.

Jesualdo Gomes de Luna^{a#}, Daniela Maria Bastos de Souza^b, George Chaves Jimenez^b, Francisco de Assis Leite Souza^b, José Ferreira da Silva Neto^b, Jéssica Cristianne Mazer Bernardi^e e Joaquim Evêncio Neto^b.

^aUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Programa de Pós- Graduação em Ciência Veterinária, Recife, PE 52171-900, Brasil.

^bUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, PE 52171-900, Brasil. Email para correspondência: jesualdoluna@gmail.com

RESUMO

Apoiando-se na hipótese de que plantas da família das Araceae podem oferecer insumos importantes no tratamento de dermatites em pequenos animais, idealizou-se este trabalho tendo-se como objetivo verificar o efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Anthurium affine*, Schott sobre a resposta inflamatória induzida em modelo de implante de algodão subcutâneo (SC) em camundongos *Mus musculos*, albino Swiss, correlacionando os achados com parâmetros bioquímicos, hematológicos e histopatológicos. A partir das folhas da planta foi confeccionado o extrato hidroalcoólico (etanol a 70%); posteriormente foram realizados os bioensaios com 16 camundongos, que receberam implante de algodão (10mg) na região dorsal embebidos em 0,07mL de solução salina (controle) e em 0,07mL do extrato (tratamento). Após 12 dias os animais foram eutanasiados para retirada do implante, sendo aferido quanto à massa inicial e final, os animais também foram pesados juntamente com alguns órgãos e submetidos a exames complementares. Como resultado verificou-se que o peso do algodão no grupo tratado foi menor, conforme diferença significativa para um valor de $p = 0,0310$ ($n=8$), considerando-se um nível descritivo equivalente a um valor de $p < 0,05$; observou-se ainda que os animais do grupo controle apresentaram uma quantidade de leucócitos maior do que os animais do grupo tratado com extrato, principalmente considerando-se o valor de $p < 0,10$. Verifica-se, portanto, que o extrato de *A. affine* interferiu sobre os eventos relacionados com os mecanismos de deposição de material sobre o algodão implantado, assim como interferiu sobre os mecanismos

de sinalização e indução de produção e liberação de leucócitos, colocando-se como um importante agente na inibição do processo inflamatório.

PALAVRAS CHAVE: Antúrio, Dermatite canina, Extrato, Fitoterapia, Planta medicinal.

ABSTRACT

Standing on the hypothesis that plants from Araceae family can offer important inputs on the treatment for dermatitis in small animals, this study intended to verify the effect of the hydroalcoholic extract of *Anthurium affine*, Schott's leafs on the inflammatory response induced by subcutaneous cotton implant model in mice *Mus musculos*, correlating the results with biochemical, hematological and histopathological parameters. The hydroalcoholic extract (ethanol at 70%) was made from the plant's leafs; after that byoassays were made with 16 mice, that received cotton implant (10mg) in the dorsal region with 0,07mL of a salt solution (control) and in 0,07mL of the extract (treatment). After 12 days the animals were euthanized for the implant withdrawal, being measured at the inicial and final mass. The animals were also weighed with some organs and submitted to complementary exams. The result showed that the cotton weigh in the treated group was smaller, in a significant difference for a value of $p = 0.0310$ ($n=8$), considering a descriptive level equivalent to a value of $p < 0,05$; it was also observed that the animals of the control group presented a larger leukocyte rate than the animals of the group treated with the extract, specially considering the value of $< 0,10$. Is verified, then, that the *A. affine* extract has interfered on the events related to the sample's deposition mechanisms on the implanted cotton, and also with the leukocytes signaling, induction, and liberation mechanisms, placing itself as an important agent on the inhibition of the inflammatory process.

KEYWORDS: Anthurium, Canine Dermatitis, Exctract, Phytotherapy, Medical Plant

INTRODUÇÃO

Os casos dermatológicos apresentam grande prevalência em pequenos animais, sendo a razão mais comum para serem levados ao Médico Veterinário (SCOTT et al., 2001; HIIL et al., 2006). Estima-se que entre 20 e 75% de todos os animais examinados na prática clínica veterinária apresentem enfermidades do sistema tegumentar como queixa principal ou como doença secundária (IHRKE, 1996; SCOTT et al., 2001). Um estudo realizado na década de 70

demonstrou que, na Inglaterra, 20% dos cães e 15% dos gatos apresentavam enfermidades de pele e ouvido (EVANS et al., 1974). Curiosamente, percentuais semelhantes foram encontrados posteriormente no Canadá, onde o índice foi de 18,8% dos cães e 15,2% dos gatos (SCOTT e PARADIS, 1990). Em 2001, nos Estados Unidos, esta incidência atingiu a casa dos 25% (SCOTT et al., 2001).

Geralmente, após iniciar-se uma dermatose, há uma prévia sensibilização cutânea, e uma vez que o prurido se inicie, normalmente segue-se a injúria mecânica dos queratinócitos que, uma vez lesados, liberam mediadores pró-inflamatórios.(OLIVRY et al., 2004). A liberação destes fatores normalmente sinaliza cascatas de eventos em especial aquela associada ao metabolismo do ácido araquidônico que por sua vez resultam no desenvolvimento dos sinais da inflamação, como eritema, edema e aumento do prurido (WHITE, 1998). Na presença de infecção bacteriana, os queratinócitos são ativados por produtos microbianos e derivados de fatores imunomediados, liberando citocinas e quiminas. (KISICH, 2008; SCHAUBER e GALLO, 2008).

Em princípio, a inflamação é uma resposta inicialmente protetora que tem por objetivo eliminar ou neutralizar o agente lesivo. E essa finalidade é concluída de modo satisfatório quando os mecanismos antiinflamatórios endógenos são por fim ativados, protegendo os tecidos de danos maiores e promovendo a restauração de sua estrutura e função (LAWRENCE e GILROY, 2007).

Atualmente existe uma busca por novos compostos com propriedades farmacológicas, antiinflamatórias eficazes no combate a dermatopatias e que possuam menos efeitos colaterais. Entre esses, o estudo de produtos naturais, em especial o uso de plantas, que na verdade é uma prática muito antiga (VEIGA JÚNIOR, 2008), onde no Brasil, mesmo com o avanço da indústria farmacêutica, se verifica um grande apelo popular (principalmente da área rural), onde se emprega insumos de origem vegetal para o alívio de desconfortos sintomatológicos ou cura de algumas enfermidades, mesmo na dimensão dos animais domésticos (BOSCOLO e VALLE, 2008; BARREIRO e BOLZANI, 2009; BADKE et al., 2011).

O conhecimento popular tem assinalado que partes da planta *A. affine*, Schott, também denominada popularmente como Milho de urubu, na condição de infusão ou emplasto, apresenta importante efeito sobre as dermatites, o que motivou a iniciativa de se verificar parâmetros farmacológicos e toxicológicos, melhor contextualizados, afim de melhor caracterizar este recurso dentro de propostas metodológicas confiáveis. As plantas do gênero *Anthurium*, Schott (Araceae), apresenta-se normalmente como herbáceas, sendo bem conhecidas como epífitas nativas da América tropical, popularmente recebendo denominações

como antúrio, língua de sogra, *Anthurium* selvagem ou “milho de urubu”; esta última denominação mais característica no nordeste brasileiro (SOUZA e LOURENZI, 2005). No Brasil, podem ser identificados 35 gêneros e cerca de 400 espécies, sendo a família Araceae bem representada na mata atlântica, embora possam também ser encontradas como planta ornamental em ambientes domésticos (TESKI e TRENTINI, 1997).

Neste trabalho levantou-se a hipótese de que o extrato hidroalcoólico do *A. affine*, Schott, pode produzir uma resposta antiinflamatória satisfatória em animais de laboratório, desde que estabelecida à dosagem crítica para este fim. Popularmente, os insumos de *A. affine*, Schott são também aplicados no tratamento do diabetes, micoses e doenças cardiovasculares (NOMURA et al., 2012).

Segundo alguns estudos, o extrato de folhas do *A. affine*, Schott pode apresentar grande quantidade de flavonóides entre os quais se destacam a quercetina, o kaempferol e a luteína; despertando interesse econômico e clínico para estes flavonóides em virtude de suas diferentes propriedades, especialmente as ações antiinflamatórias, antimutagênicas, antioxidantes, antitumorais, re-epitalizantes e cicatrizantes (CARRICONDE, 1996; TOMBOLATO, 2000; CROAT, 2004; VEIGA JUNIOR, 2008; MACHADO et al., 2008; NOMURA et al., 2012; GRANATO et al., 2013).

Considerando-se, portanto a possibilidade de se obter um recurso de apoio à terapêutica para as dermatites em pequenos animais, este trabalho teve como objetivoverificar os efeitos do extrato hidroalcoólico de folhas de *A. affine* Schott sobre a resposta inflamatória induzida em modelo de implante de algodão SC em camundongos *Mus musculos*, albino Swiss, considerando-separâmetros bioquímicos, hematológicos e histopatológicos.

MATERIAL E METODOS

Folhas de *A. affine* Schott foram obtidas a partir de amostras disponíveis em área residencial situada no bairro Córrego do Jenipapo, na região metropolitana do grande Recife. A coleta do material dos espécimes vegetais foi feita no período matutino em 29 de abril de 2015 e encaminhadas para o Laboratório de Farmacologia do DMFA - UFRPE – local de realização dos bioensaios. Parte do material, contendo a florescência foi encaminhada em forma de exsicata para os devidos procedimentos de confirmação botânica junto ao Herbário Dr. Vasconcelos Sobrinho da UFRPE. Amostra da planta encontra-se inserida no citado Herbário sob número de registro – 44368. Para obtenção do extrato, folhas do *A. affine*, Schott, após

procedimento de triagem e higienização foram trituradas até a obtenção de uma massa de 100g, que foi posteriormente colocada para maceração em solução hidroalcoólica, com etanol a 70% num volume de 400 mL, por um período de sete dias. Após esta etapa, o extrato foi filtrado em papel (14µm), obtendo-se a concentração final de 85mg/mL de extrato bruto.

Para os bioensaios um volume de 5 mL do extrato bruto da planta foi submetido à evaporação do solvente com o auxílio de uma capela de exaustão, em temperatura ambiente de 25°C, até a obtenção do extrato seco da planta. Após esse procedimento foi feita a ressuspensão do material em 5 mL de solução salina NaCl a 0,9%, adicionando-se 200µL de Tween 80 para facilitar a homogeneização da amostra.

Os bioensaios foram realizados com 16 camundongos adultos (*Mus musculos*, albino Swiss), machos, com peso entre 35,0±17,0 gramas, provenientes do biotério do Laboratório Nacional Agrônômico - LANAGRO do Ministério da Agricultura – Recife – PE. Todos os animais foram colocados por um período de 25 dias para aclimação em gaiolas de polipropileno (n=8), em ambiente sob ciclo de luminosidade de 12x12h, temperatura de 25°C, onde recebiam água e alimentação “*ad libitum*” tendo-se o cuidado de usar ração específica livre de suplementação de antibióticos.

Todos os bioensaios foram realizados nas dependências do Laboratório de Farmacologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE, mediante autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRPE (CEUA), segundo o parecer de número 009/2015.

Após procedimento anestésico com cloridrato de cetamina (70mg/Kg i.p.) e xilazina (14mg/Kg i.p.), os animais de ambos os grupos receberam, cada um, por implante subcutâneo, na região dorsal direita, 10mg de algodão hidrofílico estéril embebido em 0,07mL de solução salina a 0,9%(CONTROLE) ou extrato de milho de urubu (TRATAMENTO), ajustado em solução salina para uma dose de 13,926 mg/Kg, tomando como referencia a metodologia de Swingle e Shiderman (1972). Esta concentração do extrato foi definida considerando-se o valor da dose crítica de toxicidade de 139,26mg/Kg.

Passado um período de 7 dias, os animais foram submetidos a um teste de ansiedade, conforme metodologia proposta em Leite e Siqueira (2006), que consistiu em expor os animais de ambos os grupos à um estímulo visual (10 esferas coloridas em cada gaiola), por 10 min. Após este período foram contadas em cada gaiola a quantidade de esferas visíveis que não foram cobertas por maravalha. O percentual de esferas cobertas por grupo foi considerado o parâmetro para se avaliar o nível de ansiedade.

Concluída essa etapa acima, 5 dias após, os animais foram eutanasiados, mediante aprofundamento anestésico com cloridrato de xilazina (20 mg/Kg/IM) e cloridrato de cetamina (185mg/Kg/IM) e Tiopental (185mg/Kg/IM), conforme metodologia descrita em Hall (2001). Antes da perda dos reflexos vitais os animais foram submetidos à coleta de sangue para exames hematológicos e bioquímicos realizados no Laboratório de Patologia Clínica do DMV - UFRPE. Após a perda dos reflexos vitais, os animais receberam incisão cirúrgica para remoção do tecido fibrovascular, o qual foi recolhido para as devidas avaliações de pesagem, em balança analítica da Metler Inc., e de constituição física, sendo o mesmo aferido mediante diferença entre a massa inicial (10mg) e a massa final.

Dos animais eutanasiados obteve-se o peso corpóreo, assim como da pele com implante e dos seguintes órgãos recolhidos: fígado, rins, baço, coração; sendo que fragmentos destes foram fixados em formaldeído 10% preparado em PBS 0,01M; pH 7,2 por 48h. Essas amostras foram também submetidas a procedimentos de desidratação em solução crescente etílica, diafanizadas em xilol e impregnadas e incluídas em parafina. Seguindo técnica de rotina do laboratório de histopatologia do DMFA – UFRPE. Os blocos foram cortados utilizando o micrótomo (Leica), ajustados a 5µm de espessura e em seguida, foram corados com hematoxilina-eosina (PROPHET et al., 1994). As lâminas obtidas foram submetidas a uma avaliação histopatológica.

Para o cálculo, os dados foram expressos em termos de média e desvio padrão e oportunamente em termos percentuais mediante planilha estatística do programa Excel do pacote Office 2010 da Microsoft. Foi também calculado o valor da massa específica de cada órgão (g/g de peso corpóreo), e estabelecido o nível de correlação linear entre estes dados ordenados em relação à massa corpórea. A significância das diferenças estatísticas foi dimensionada pela aplicação do teste t de Student, considerando-se como valor descritivo um valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, os testes de ansiedade realizados cinco dias após a aplicação dos implantes de algodão revelaram um percentual de 20% das esferas cobertas com maravalha para o grupo controle e um percentual de 10% no grupo que recebeu algodão embebido com solução do extrato do *A. affine*, Schott. Este resultado assinala que o nível de estresse nestes animais pode ser considerado baixo, mostrando que os efeitos da manipulação e implante do corpo estranho não geraram alterações significativas sobre o comportamento dos animais avaliados uma vez

que estes percentuais foram inferiores a 30% como prevê a metodologia descrita em Leite e Siqueira (2006).

Após 12 dias do implante em ambos os grupos (controle e tratado), verificou-se que o peso do algodão no grupo tratado foi menor, havendo uma diferença significativa para um valor de $p = 0,0310$ ($p < 0,05$; $n=8$). Sendo observado respectivamente que no controle e tratado o peso médio do algodão e o respectivo desvio padrão foram de $0,1604\text{mg} \pm 0,0271$ e $0,1321\text{mg} \pm 0,0194$.

Este dado acima sugere que a presença do extrato de *A. affine*, Schott inibiu os processos de deposição de sedimento (celularidade) sobre o material implantado, provavelmente por inibição dos mediadores associados à cascata do ácido araquidônico. Nos vertebrados este tipo de resposta relaciona-se a alterações bioquímicas importantes, que se associa a mudanças fisiológicas e imunológicas que quando juntas caracterizam o que se pode denominar de inflamação como relata White (1998). Geralmente podem ser identificados mediadores inflamatórios como, por exemplo, produtos da atividade metabólica de leucócitos e plaquetas ativados, além de mediadores do metabolismo do ácido araquidônico como as prostaglandinas e leucotrienos e ainda das cascatas da coagulação e do complemento, que têm o objetivo de restringir as consequências e a extensão das alterações metabólicas e do dano tecidual local. Quando este processo não é suficiente, a resposta inflamatória pode transcender os limites locais, manifestando-se sistemicamente, envolvendo geralmente outros tipos de substratos bioquímicos como as citocinas e as proteínas de fase aguda (ADAMS, 2003; SILVA, 2006).

As citocinas normalmente são importantes mediadores da defesa do hospedeiro contra infecções, lesões, e inflamações aguda e crônica, que podem ser liberadas por células, podendo agir sobre outros tipos celulares como linfócitos e macrófagos além de outras fora do sistema imune, atuando geralmente como mensageiros proteicos que influenciam e interligam o sistema imune com os outros sistemas fisiológicos do organismo (RANG, et al., 1997; WAGNER et al., 2009).

Na tabela 1 podem ser visualizados os valores médios relacionados ao peso corpóreo e de órgãos como fígado, baço, rins e coração, onde não houve alterações macroscópicas importantes e nem de massa corpórea relativa. Mas, ao se determinar o peso relativo de cada órgão, organizando-os conforme o peso corpóreo, em ordem decrescente, verificou-se que no grupo controle não foram estabelecidas boas correlações entre estruturas como fígado, baço e coração, mas com relação ao grupo tratado com extrato de Milho de urubu, foram evidenciadas algumas correlações significativas para um valor de $p < 0,05$, como podem ser visualizadas na tabela 2 e confirmadas nas figuras 1 e 2.

Tabela 1. Valores médios e respectivos desvio padrão do peso corpóreo e dos órgãos (g) em camundongos tratados com extrato hidroalcoólico de Milho de urubu.

Grupos	Corpo	Fígado	Baço	Rim D	Rim E	Coração
Controle	44,55±5,60	1,75±0,19	0,23±0,20	0,24±0,03	0,24±0,04	0,19±0,04
CV (%)	12,57	11,13	87,11	13,05	18,26	20,00
Tratado	50,08±10,59	1,80±0,28	0,22±0,11	0,25±0,05	0,26±0,07	0,20±0,04
CV (%)	21,15	15,32	51,40	18,33	26,76	18,56

OBS: D – Direito; E – Esquerdo.

Em princípio, estas correlações encontradas no grupo tratado revelam a persistência de certa relação linear inversa entre o peso do animal e o peso relativo do fígado, coração e baço, provavelmente sinalizando uma tendência natural de que estas estruturas sejam menores em animais maiores, uma vez que o sinal do coeficiente de correlação linear foi negativo perante os três tipos de órgãos avaliados. Considerando-se que exista uma relação inversa entre o tamanho do animal e a quantidade relativa de atividade metabólica de um organismo como cita Taylor et al.(1970), poder-se-ia dizer que o extrato de Milho de urubu contribuiu para ajustar as relações metabólicas entre estes sistemas, diminuindo a formação de edemaciamento e outras deformações decorrentes da necessidade destes órgãos ajustarem a sua capacidade de processamento metabólico às suas respectivas demandas, fato não observado nos animais do grupo controle, onde as correlações obtidas foram fracas. Tanto na figura 1 como na figura 2 as diferenças observadas para o tecido hepático em relação às demais estruturas avaliadas está relacionada com a importância metabólica de cada estrutura para o desenvolvimento do organismo no momento fisiológico abordado.

Tabela 2. Correlação entre o peso específico (g/g de peso corpóreo), dos órgãos de camundongos tratados com extrato hidroalcoólico de Milho de urubu, após 12 dias de observação, em relação ao peso corpóreo (g).

Grupos	Fígado	Baço	Coração	t crítico ($p < 0,05$)	gl
Controle					
Correlação (r)	-0,51156	0,583304	-0,41376		
Valor de t	-1,445	1,759	-	1,943	6
Tratado					
Correlação (r)	-0,746	-0,630	-0,713		
Valor de t	2,965	2,691	-2,147	1,896	7

OBS: “r” coeficiente de correlação linear. “t” é o parâmetro estatístico calculado. “t crítico é o valor tabelado conforme o grau de liberdade (gl) definido na montagem do teste estatístico de t de Student. “*” valor significativo para um intervalo de confiabilidade de 95%.

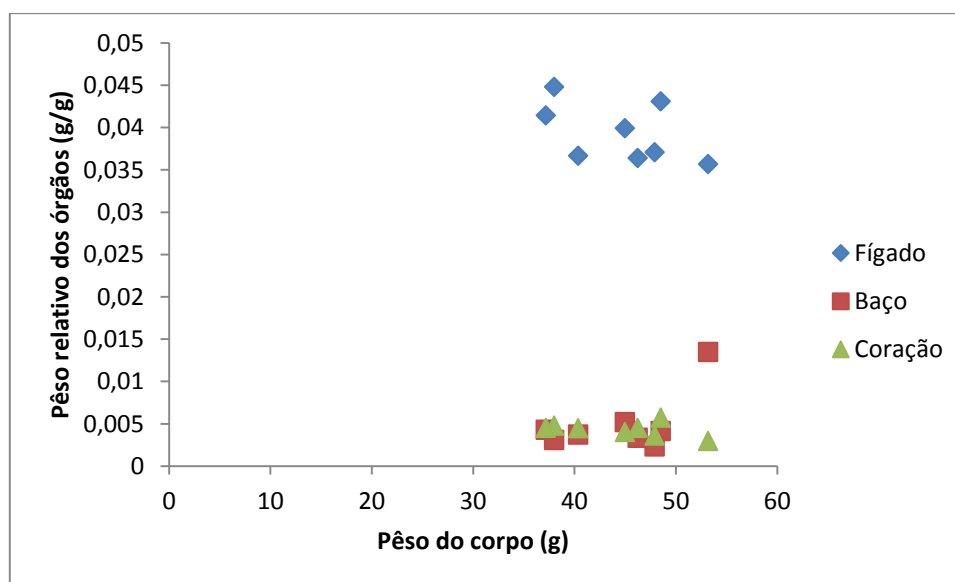


Figura 1. Correlação entre o peso relativo de cada órgão e o peso corpóreo para os animais do grupo Controle

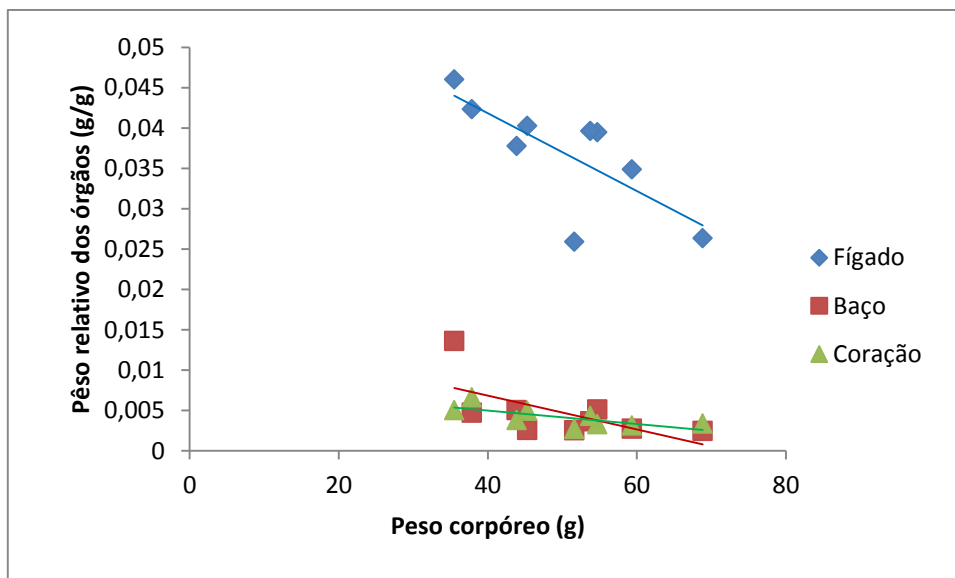


Figura 2. Correlação entre o peso relativo de cada órgão e o peso corpóreo para os animais do grupo tratado.

Na tabela 3 podem ser observados os parâmetros hematológicos, verificando-se a não ocorrência de diferença significativa entre os valores observados para os grupos controle e tratado ($p < 0,10$). Embora, uma visão atenta nos permita verificar um aumento do número de plaquetas tanto do grupo controle como no grupo tratado em relação ao valor esperado para este parâmetro como referenciasegundo Vasconcelos et al. (2007) e Spinelli et al. (2012). Em princípio, esta diferença pode estar relacionada à características específicas da linhagem dos animais empregados neste trabalho, considerando-se também o número de animais, a dieta, as climatológicas da região de onde foram obtidos os valores de referencia.

Assim como na tabela 4 pode-se observar que os animais do grupo controle apresentaram uma quantidade de leucócitos maior do que os animais do grupo tratado com extrato de *A. affine*, Schott, principalmente considerando-se o valor de $p < 0,10$. É importante assinalar que em relação ao parametro de referencia obtido a partir dos dados de Vasconcelos et al. (2007) e Spinelli et al. (2012), verifica-se que o número de leucócitos obtidos para o grupo controle se assemelha ao valor citado pelos autores acima.

Tabela 3. Parâmetros hematológicos em camundongos após tratamento com extrato hidroalcoólico de Milho de Urubu.

Grupos	HEM	HB	HT	RDW	PL	PT
	(10 ⁶ /mm ³)	(g%)	(%)	(%)	(10 ³ /mm ³)	(mg/dL)
Controle	7,6±1,4	11,0±2,3	40,7±2,0	12,2±0,5	968,6±212,2	5,5±0,3
Tratado	8,0±0,6	11,9±0,9	39,4±3,9	12,3±0,4	871,9±229,9	5,8±0,7
Referencia	8,7±0,8	13,4±2,5	40,8±3,0	-	254,0±38,5	6,2±0,5
p	0, 504	-	0, 511	0, 427	0, 473	0, 528

OBS: HEM – Hemácias; HB – Hemoglobina; HT – Hematócrito; RDW – Red Cell Distribution Width (Índice que indica a anisocitose celular); PL – Plaquetas; PT – Proteína total; “p”- valor de probabilidade de teste estatístico t de Student. “*” diferença significativa entre o grupo tratado e controle para um valor de p < 0,10.

Tabela 4. Valores médios de parâmetros hematológicos em camundongos após tratamento com extrato hidroalcoólico de Milho de urubu.

Grupos	LEU	SEG	LIN	EOS	MON	BAS
	(10 ³ /mm ³)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Controle	7,24±2,61	37,84±18,1	54,0±16,2	0,2±0,5	6,8±3,6	1,2±1,3
Tratado	4,63±2,25	39,71±10,8	53,7±8,3	0,3±0,5	5,9±3,2	0,4±1,1
Referencia	8,16±2,41	-	77,6±8,3	0,4±0,1	2,0±0,8	-
p	0, 093*	0, 652	0, 722	0, 646	0, 802	0, 273

OBS: LEU – Leucócitos; SEG – Segmentados; LIN – Linfócitos; EOS - Eosinófilos; MON – Monócitos; BAS – Basófilos; “p”- valor de probabilidade de teste estatístico t de Student. “*” diferença significativa entre o grupo tratado e controle, para um valor de p < 0,10.

Os dados sugerem que o extrato de *A. affine*, Schott inibiu o processo de quimiotaxia e de produção de leucócitos induzido pela presença do tecido fibrovascular introduzido, mostrando que este tipo de extrato interfere nos processos pró-inflamatórios, em diferentes dimensões. É também importante lembrar que apesar de não ter havido diferenças significativas entre os valores percentuais para as células da linhagem branca sanguínea, entre os animais de ambos os grupos controle e tratado, na verdade os valores nominais de frequência de ocorrência destes tipos celulares são menores no grupo tratado, uma vez que foi encontrado neste grupo um número menor de leucócitos. Por outro lado, a não ocorrência de diferenças nestes valores

percentuais denota a não ocorrência de alterações quanto à sinalização quimiotóxica e de produção relativamente a este tipo celular.

Na tabela 5 podem ser visualizados diversos parâmetros bioquímicos, não ocorrendo diferença significativa entre os valores médios destes parâmetros encontrados para os animais de ambos os grupos controle e tratado, considerando-se um nível descritivo equivalente a um valor de $p < 0,10$. Mas é importante assinalar que os valores observados para o sistema aspartato aminotransferase (AST), tanto do grupo controle como tratado foram mais elevados em relação ao valor observado para o grupo de referencia segundo Vasconcelos et al. (2007). Considerando-se que este sistema enzimático relaciona-se com diferentes etapas do metabolismo proteico, principalmente nos processos anabólicos pode-se conjecturar um possível comprometimento do tecido renal e hepático, sinalizando pelo menos um discreto processo lesivo nestes órgãos. É possível que o extrato de milho de urubu possa minimizar este tipo de efeito.

Tabela 5. Valores médios de parâmetros bioquímicos após tratamento com extrato hidroalcoólico de Milho de Urubu (n=8).

Grupos	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)
Controle	51,58±19,00	0,147±0,085	128,97±52,08	38,04±30,17
Tratado	80,58±76,74	0,292±0,394	98,45±43,81	76,70±135,69
Referencia	57,60±2,54	0,34±0,02	77,2±8,65	50,60±6,13
p	0,351	0,324	0,245	0,536

OBS: AST - (aspartato aminotransferase) (TGO); ALT - (alanina aminotransferase) (TGP). “p”- valor de probabilidade de teste estatístico t de Student. “*” diferença significativa entre grupo controle e tratado, para um valor de $p < 0,10$.

Na tabela 6 aos valores para o nível de albumina encontrado para os animais que receberam o extrato de *A. affine*, Schott foi maior em relação aos valores encontrados para os animais do grupo controle, sendo o valor obtido para o grupo tratado mais próximo em relação ao valor encontrado na literatura. Mas, é importante mencionar que a atividade da fosfatase alcalina para ambos os grupos tratado e controle estavam significativamente reduzidos em relação ao valor de referencia para a espécie, segundo Vasconcelos et al. (2007). Considerando-se, entretanto, o papel que esta hidrolase tem sobre o metabolismo e transferência de radicais do tipo fosfato,

envolvendo outros sistemas moleculares como proteínas, canais iônicos, outros sistemas enzimáticos e ácidos nucleicos, pode-se admitir que estes organismos estavam diferentes, embora deva-se também considerar as diferenças de linhagem, estado de maturação e outras situações como condições nutricionais e climáticas em relação ao que constitui o grupo denominado como referencia (Vasconcelos et al., 2007). Isto assinala que a presença do implante promove alterações importantes, provavelmente afetando o metabolismo proteico, mas que em presença do extrato de *A. affine*, Schott esta queda no nível de albumina é prevenida, considerando-se o valor de $p = 0,134$.

Tabela 6. Valores médios de parâmetros bioquímicos após tratamento com extrato hidroalcoólico de Milho de urubu (n=8).

Grupos	FA (U/L)	Albumina (g/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeo (mg/dL)
Controle	70,68±49,05	1,98±0,32	68,30±30,68	76,91±60,30
Tratado	92,94±28,00	2,19±0,14	77,72±36,31	85,00±72,06
Referencia	149,40±16,99	4,96±4,11	80,00±7,87	107,00±15,12
p	0,341	0,134	0,584	0,788

OBS: FA – Fosfatase alcalina. “p”- valor de probabilidade de teste estatístico t de Student. “*” diferença significativa entre grupo controle e tratado, para um valor de $p < 0,10$.

Do ponto de vista histopatológico, verificou-se que para o grupo controle, sobre a epiderme, observou-se a presença de uma crosta serocelular que recobre uma área focal de ulceração, caracterizada por perda epitelial com ruptura de membrana basal, aprofundando-se na derme (lesão associada à aplicação do tratamento). Nesta, observa-se fibroplasia e angiogênese com discreta hiperemia em área focal (imediatamente abaixo da área de ulceração, indicando processo de cicatrização). No panículo adiposo observa-se área focalmente extensa de infiltração de neutrófilos e macrófagos em moderada quantidade, além de menor número de plasmócitos. Envolvendo o panículo adiposo e o tecido muscular subjacente, observa-se uma área focal de necrose caseosa circundada por neutrófilos, macrófagos, alguns plasmócitos e fibrina, a qual apresenta-se em organização, conforme mostra a figura 3 A e B.

Na derme dos animais do grupo tratado foi observada grande quantidade de tecido conjuntivo frouxo recém-formado associado a numerosos capilares dispostos (angiogênese)

perpendicularmente às fibras colágenas, caracterizando tecido de granulação. Na derme profunda observou-se em meio a este, alguns macrófagos, mastócitos e neutrófilos em menor número. Imediatamente abaixo do músculo esquelético (local de aplicação do tratamento), observou-se grande quantidade de infiltrado celular misto, constituído predominantemente de neutrófilos, histiócitos, macrófagos epitelióides e fibroblastos, além de estruturas multifocais fracamente basofílicas birrefringentes de tamanhos variados sugestivas de algodão (no qual foi embebida a substância-teste), conforme mostra a figura 3 C e D.

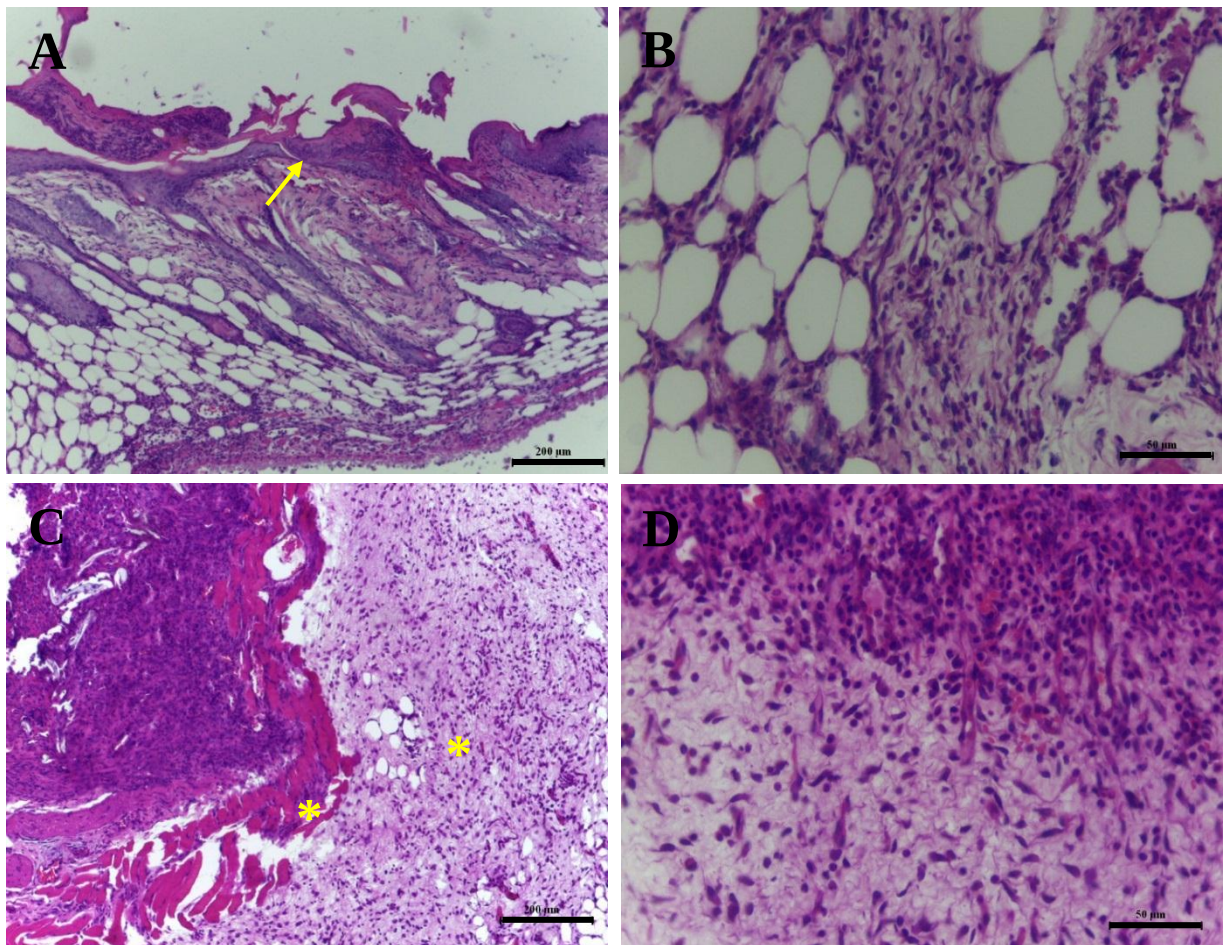


Figura 3. Fotomicrografia de pele do grupo controle (A e B) submetidas a implante de algodão com solução fisiológica a 0,9% e grupo tratamento (C e D) submetidos a implante subcutâneo de algodão com extrato de *Anthurium affine* Schott. Observar em (A) área focalmente extensa de úlcera (seta) associada a fibroplasia e angiogênese; no tecido (B) observa-se uma paniculite neutrofílica e histiocitária focalmente extensa subaguda; no (C) observar dermatite e miosite (*) neutrofílica e histiocitária subaguda focalmente extensa; e no tecido (D) observa-se tecido de granulação com vasos recém-formados em meio a macrófagos, mastócitos e neutrófilos em menor número. Coloração de hematoxilina e eosina.

CONCLUSÃO

Verificou-se, portanto que o extrato de *A. affine*, Schott interferiu sobre os eventos relacionados com os mecanismos de deposição de material sobre o algodão implantado, assim como interferiu sobre os mecanismos de sinalização e indução de produção e liberação de leucócitos, colocando-se como um importante agente no processo de inibição do processo inflamatório, sem protagonizar reações de desconforto ou de perturbações álgicas nas condições empregadas neste trabalho.

REFERENCIAS

BADKE, M. R. ;BODÓ, M.L.D. ;SILVA,F. M.;RESSEL, L.B.; Plantas Medicinais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery**. Rio Grande do Sul.; v.15, n.1, p.132-139, 2011

BARREIRO, E. J; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para descoberta de novos fármacos, **Revista Química Nova**,Rio de Janeiro, v. 32, n. 03, p.679- 688, 2009.

BOSCOLO, O. H.;VALLE, L. S. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia Série Botânica**. Porto Alegre, v. 63, n. 2, p. 263-277, jul./dez. 2008.

CARRICONDE, C.; MORES, D.; VON FRITSCHEN, M.; CARDOZO J. E. L. **Plantas medicinais e alimentícias**. Olinda: Centro Nordestino de Medicina Popular; Universidade Federal Rural de Pernambuco.v.1, p.45-47, 1996.

CROAT, T. B. **History and current status of systematic research with araceae**.2 ed. St. Louis USA: Missouri Botanical Garden, 2004, 299p.

EVANS, J.M.; LANE, D.R.; HENDY, P.G. The profile of small animal practice. **Journal Small Animal Practice**, London, v.15, n.10, p.595-608, setembro 1974.

GRANATO, E. M.; GRANATO, M. M., GERENUTTI, M.; SILVA, M. G.; FERRAZ H. O. ; VILA, M. M. D. C. Prospecção fotoquímica da espécie vegetal *Trixis antimenorrhoea*

(Schrack) Kuntze, **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 94, n. 2, p.130-135, 2013.

HALL, L.W. et al. Prevention and management of anaesthetic accidents and crises. In: **Veterinary anesthesia**. London: Saunders, 2001. p.507-533.

HILL, P.B.; LO, A.; EDEN, C.A.N.; HUNTLEY, S.; MOREY, V.; RAMSEY, S.; RICHARDSON, C.; SMITH, D.J.; SUTTON, C.; TAYLOR, M.D.; THORPE, E.; TIDMARSH, R.; WILLIAMS, V. Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. **Veterinary Record**, Londres, v.158, n.16, p.533-539, abril 2006.

IHRKE, P.J. Bacterial infections of the skin. In: **Diseases of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 1996.p.72-79.

KISICH, K. O. et al. Defective killing of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis is associated with reduced mobilization of human β -defensin-3. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, v. 122, n. 1, p. 62-68, Jul. 2008.

LAWRENCE, T.; GILROY, D. W. Chronic inflammation: a failure of resolution? **International Journal of Experimental Pathology**, London, v. 88, n. 2, p. 85-94, 2007.

LEITE, J. R.; SIQUEIRA, J. S. S. Teste de esconder as esferas, em: Métodos para avaliar drogas ansiolíticas. Capítulo 14. **Psicofarmacologia – Fundamentos Práticos**. Org. Reinaldo Nóbrega de Almeida. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro; 2006, p. 158.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim Centro Biologia e Reprodução**, Juiz de Fora.v.27,n.1/2,p.33-39,jan./dez.,2008.

NOMURA, E. S.; FUZITANI E, J.; JÚNIOR E. R. D. Cultivo do antúrio - **Pesquisa e Tecnologia**, vol. 9, n. 1, Jan - Jun 2012.

OLIVRY, T. et al. Mechanism of lesion formation in canine atopic dermatitis hypothesis. **Advances in Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 5, p. 11-16, ago. 2004.

PROPHET, E.B.; MILLS, B., ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. Washington DC: American Registry of Pathology, 1994, 279p.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. Hormônios locais, inflamação e alergia, capítulo 11, sessão dois; in: **Farmacologia**, 3ª. Edição, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A, 1997; p..169-193.

SCHAUBER, J.; GALLO, R. L. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 122, n. 2, p. 261-266, 2008.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E. **Small Animal Dermatology**.6.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001, 1528p.

SCOTT, D.W.; PARADIS, M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec (1987-1988). **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.31, n.12, p.830-835, dezembro1990.

SILVA, P. Autacóides, capítulo 57, in: **Farmacologia**, 7ª. Edição, Ed. Penildon Silva; Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A., 2006, p. 567-582.

SOUZA, T. M.; SANTOS, L. E.; MOREIRA, R.R.D.; RANGEL, V. L. B. I. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L.(Asteraceae)**Revista BrasileiraFarmacognosia**.vol.15 no.1, p.6-38, João Pessoa Jan./Mar. 2005.

SPINELLI, M. O.; CRUZ , R. J.; GODOY, C. M. S.; MOTTA,M. C.; Comparação dos parâmetros bioquímicos de camundongos criados em diferentes condições sanitárias. **Scientia Plena**, São Paulo, v. 8, n. 2, p.1-8, 2012.

SWINGLE, K. F.; SHIDEMAN, F. E. Phases of response inflammatory response to sub-cutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agents. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Bathesda; v. 183, n.1, p. 226 -234, oct. 1972.

TAYLOR, C. R.; SCHMIDT-NIELSEN, K.; RAAB, J. L. Scaling of the energetic cost of running body size in mammals. **American Journal of Physiology**, v.219, n.4, p.1104–1107, 1970.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. 3.ed.Curitiba: Herbarium. 1997, 317p.

TOMBOLATO, A. F. C. Seleções IAC de Antúrios. **O Agrônomo**, São Paulo, v. 52, n. 1, p 26-27, 2000.

VASCONCELOS, T. H. C.; MODESTO-FILHO J.; DINIZ, M. F. F. M.; SANTOS, H. B.; GUIAR, F. B.; MOREIRA, P.V.L. Estudo toxicológico pré-clínico agudo com o extrato hidroalcolico, folhas de *Cissus sicyoides* L. (*Vitaceae*). **Revista Brasileira de Farmacologia**. v.17, n.4, p.583-591, dez/2007.

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: Aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população; **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. Rio de Janeiro, v.18, n.2, p.308-313, Abr./Jun. 2008.

WAGNER, A. J.; ARNAOUT, R. A.; DEMETRI, G. D. Farmacologia da hematopoiese e imunomodulação; capítulo 43 in: **Princípios de farmacologia – A base Fisiopatológica da Farmacoterapia**, 2ª. Edição, Rio de Janeiro - Guanabara Koogan S. A, 2009, p.729-741.

WHITE, P. D. Atopia. In: **Manual saunders: clínica de pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 343-351.

4.5 Artigo 5

Avaliação dos efeitos do extrato hidroalcoólico de folhas de *Anthurium affine*, Schott (Milho de Urubu) em modelo de dermatite em Camundongos.

Evaluation of the effects of the hydroalcoholic extract of leaves of *Anthurium affine*, Schott (Urubu Corn) on model of dermatitis in Mice.

Jesualdo Gomes de Luna^{a#}, Daniela Maria Bastos de Souza^b, George Chaves Jimenez^b, Francisco de Assis Leite Souza^b, José Ferreira da Silva Neto^b, Jéssica Cristianne Mazer Bernardi^a e Joaquim Evêncio Neto^b.

^aUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Programa de Pós- Graduação em Ciência Veterinária, Recife, PE 52171-900, Brasil.

^bUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, PE 52171-900, Brasil. Email para correspondência: jesualdoluna@gmail.com

RESUMO

Idealizou-se este trabalho tendo como objetivo verificar o efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Anthurium affine*, Schott em modelo de dermatite em camundongos *Mus musculus*, albino Swiss, correlacionando os achados com parâmetros bioquímicos, hematológicos e histopatológicos. A partir das folhas da planta foi confeccionado o extrato hidroalcoólico (etanol a 70%); posteriormente realizados os bioensaios com 40 camundongos, machos com peso de 35±10g os quais foram submetidos a um processo de contenção para realização de tricotomia na região dorsal para a configuração de dois campos de aproximadamente 1cm², os quais receberam aplicação de discos de papel de filtro (0,8 cm de diâmetro) embebidos em acetona, ficando expostos por 1 min., em 3 dias consecutivos. No último dia os animais também receberam discos de papel de filtro contendo NaOH(Hidróxido de Sódio) a 2,5%, ficando sobre a área lesada também por 1 min para o desenvolvimento da dermatite. Após esta fase, os animais foram divididos em 5 grupos com 8 animais cada, sendo G1 – controle, onde os animais recebiam (i.p.) 0,1mL de solução de NaCl a 0,9%; G2 – animais pré-tratados com dexametasona (0,5mg/Kg – i.p.); G3 – animais pré-tratados com indometacina (0,5mg/Kg – i.p.); G4 – animais tratados pré-tratados com celecoxib (0,5mg/Kg – i.p.) e grupo G5 – controle negativo, animais tratados com salina, como em G1, mas sem o desafio efetuado com acetona e NaOH. Trinta minutos após, os animais de todos os grupos receberam do lado direito – D, 50µL de solução salina a 0,9% enquanto no lado esquerdo, sobre a região injuriada, os animais receberam 50µL

de extrato de *A. affine*, Schott na dose de 13,926mg/Kg em única aplicação, ficando este material em contato com a pele pelo menos 15 min. Após 4 dias os animais foram eutanasiados para retirada de fragmento de pele, e sangue, para a realização de exames histopatológico, bioquímico e hematológico. Órgãos como coração, baço, fígado e rins foram também retirados para uma avaliação macroscópica e as devidas pesagens. Os fragmentos de pele, de ambos os lados direito e esquerdo, foram submetidos a processamento histológico para posterior avaliação histopatológica. Como principal resultado, verificou-se que o extrato de *A. affine*, Schott interferiu sobre os eventos relacionados com os mecanismos de reorganização de áreas injuriadas, afetando a infiltração de células do tipo polimorfonucleares e mononucleares, assim como os mecanismos de sinalização envolvidos nos processos de formação de crosta, organização angiogênica e de distribuição dos fibroblastos. Este efeito foi mais intenso em animais pré-tratados com indometacina, sugerindo que as ações inibitórias ocorreram mais intensamente sobre o sistema enzimático das cicloxigenases do tipo 1, de natureza constitutiva.

PALAVRAS CHAVE: Antúrio, Dermatite canina, Inflamação, Fitoterapia, Planta medicinal.

ABSTRACT:

This study intended to verify the effect of the hydroalcoholic extract in the *Anthurium affine*, Schott leafs in a model of dermatitis in mice *Mus musculus*, correlating the findings with biochemical, hematological and histopathological parameters. The extract was made of the plant's leafs; after that, bioassays were made with 40 mice, male with 35±10g weight, which were submitted to a restraint process for the trichotomy to be made in the dorsal region for the configuration of two spots of 1cm², that received application in filter paper discs (0,8cm of diameter), soaked with acetone, being exposed by 1 min in three consecutive days. In the last day, the animals also received filter paper discs with NaOH at 2.5%, standing on the injured area also for 1min to the development of dermatitis. After this stage, the animals were divided in 5 groups with 8 animals each: G1 – control group, where the animals received NaCl solution at 0,9% (0,1mL – i.p.) ; G2 – animals pre-treated with dexamethasone (0,5mg/Kg – i.p.); G3 – animals pre-treated with celecoxib (0,5mg/Kg – i.p.) G4 – animals pre-treated with indomethacin (0,5mg/Kg – i.p.) G5 – negative control group, animals pre-treated with G1's NaCl, but without acetone and NaOH. Thirty minutes later, all the groups received on the right side 50µL of NaCl at 0,9% while on the left side, on the injured region, the animals received 50µL of *A. affine*, Schott extract at 13,926mg/Kg in a single dose. The sample stayed in contact

with the skin for 15 min. After 4 days the animals were euthanized for removing the skin fragment, and blood, for histopathological, biochemical and hematological exams to be made. Organs like heart, spleen, liver and kidneys were also removed for weighing and macroscopic evaluation. The skin fragments, from both sides, were submitted to histological processing for furthering histopathological evaluation. As the main result, it was verified that the *A. affine*, Schott extract has interfered on the events related to the reorganization mechanisms of injured areas, affecting the polymorphonuclear, and mononuclear cell infiltration, the same way that the signaling processes of crust formation, angiogenic organization and fibroblasts distribution. This effect were more intense in animals pre-treated with indomethacin, suggesting that the inhibitory effects occurred more intensely on the enzymatic system of the COX-1, of constructive nature.

KEYWORDS: Anthurium, Canine Dermatitis, Inflammation, Phytotherapy, Medical Plant.

INTRODUÇÃO

A prevalência de casos de dermatite em pequenos animais é uma das razões mais frequentes para a procura do Médico Veterinário, onde cerca de 50 % do total de animais avaliados clinicamente apresentam algum tipo de enfermidade do sistema tegumentar tanto como queixa principal ou como doença secundária (IHRKE, 1996; SCOTT et al., 2001; HIIL et al., 2006).

Um primeiro estudo realizado na década de 70 demonstrou que, na Inglaterra, 20% dos cães e 15% dos gatos apresentavam enfermidades de pele e de ouvido (EVANS et al., 1974). Percentuais semelhantes foram também encontrados posteriormente no Canadá, com valores de 18,8% para cães e 15,2% para os gatos (SCOTT e PARADIS, 1990).

Na maioria dos casos em uma dermatopatia, após uma prévia sensibilização cutânea, a partir do início da fase do prurido, normalmente pode-se observar uma fase de injúria mecânica dos queratinócitos que, uma vez lesados, passam a liberar mediadores pró-inflamatórios. (OLIVRY et al., 2004). A liberação destas substâncias favorece o início de cascatas de eventos moleculares, em especial aquela associada ao metabolismo do ácido araquidônico que por sua vez desenvolverá ações que culminaram nos sinais característicos da inflamação, como eritema, edema e aumento do prurido (WHITE, 1998). Na ocorrência de infecção bacteriana, os queratinócitos podem ser ativados por produtos microbianos e derivados de fatores imunomediados, liberando citocinas e quiminas específicas, amplificando o processo (KISICH, 2008; SCHAUER e GALLO, 2008).

Em princípio, a inflamação é uma resposta de característica protetora que tem por objetivo eliminar ou neutralizar o agente lesivo. E essa finalidade é concluída de modo satisfatório quando os mecanismos antiinflamatórios endógenos são por fim ativados, protegendo os tecidos de danos maiores, promovendo concomitantemente a restauração física de sua estrutura lesada e reestruturação do seu papel funcional (LAWRENCE e GILROY, 2007).

Em função das diferenças observadas na resposta individual nos quadros de dermatites, com recidivas importantes, evidencia-se que as doenças de pele são na verdade processos complexos, que envolvem muitos fatores, diferentes tipos celulares que se distribuem em diferentes estruturas com propriedades e dinâmicas moleculares características (FUCHS e RAGHAVAN, 2002; KOSTER e ROOP, 2004; RIBEIRO, 2010). Isto por si só justifica a busca por novos compostos com propriedades farmacológicas, antiinflamatórias eficazes no combate deste tipo de patologia, especialmente quanto a estabilidade da resposta e redução dos efeitos colaterais.

O estudo de produtos naturais, em especial o uso de plantas, tem sido um importante caminho, onde no Brasil, mesmo com o avanço da indústria farmacêutica, pode-se verificar na dimensão da fitoterapia popular, o uso de insumos de origem vegetal para o alívio de desconfortos sintomatológicos ou mesmo cura de algumas enfermidades, entre estas as dermatites, com casos interessantes de recuperação envolvendo animais domésticos (VEIGA JR., 2008; BOSCOLO e VALLE, 2008; BARREIRO e BOLZANI, 2009; BADKE et al., 2011).

Em algumas regiões do interior do Estado de Pernambuco, tem-se verificado que partes da planta *A. affine*, Schott, (Milho de urubu), na condição de infusão ou emplasto, apresenta importante efeito sobre as dermatites, o que despertou interesse em se verificar as condições farmacológicas e toxicológicas, em que ocorrem estes efeitos. As plantas do gênero *Anthurium*, Schott (Araceae), apresentam-se normalmente como herbáceas, sendo bem conhecidas como epífitas nativas da América tropical, recebendo denominações regionalmente características como antúrio, língua de sogra, *Anthurium* selvagem ou “milho de urubu”; como é conhecida no nordeste brasileiro (SOUZA e LOURENZI, 2005). No Brasil, podem ser identificados 35 gêneros e cerca de 400 espécies, sendo a família *Araceae* bem representada na mata atlântica, sendo muitas vezes empregadas como ornamento em ambientes domésticos (TESKI e TRENTINI, 1997).

Alguns estudos apontam que o extrato de folhas do *A. affine*, Schott pode apresentar grande quantidade de flavonóides entre os quais se destacam a quercetina, o kaempferol e a luteína; associando-os à respostas como ações antiinflamatórias, antimutagênicas, antioxidantes, antitumorais, re-epitalizantes e cicatrizantes (CARRICONDE, 1996; TOMBOLATO, 2000;

CROAT, 2004; VEIGA JUNIOR, 2008; MACHADO et al., 2008 NOMURA et al., 2012; GRANATO et al., 2013). Nomura et al. (2012), sugere a aplicação dos extratos de *A. affine*, Schott no tratamento do diabetes, micoses e doenças cardiovasculares.

Este trabalho teve como objetivo verificar os efeitos do extrato hidroalcoólico de folhas de *A. affine* Schott em modelo de dermatite em camundongos *Mus musculus*, albino Swiss, oportunamente tratados com diferentes tipos de antiinflamatórios como a dexametazona, indometacina ou celecoxib, considerando-se na avaliação parâmetros bioquímicos, hematológicos e histopatológicos. Considerando-se, portanto a possibilidade de se obter um recurso de apoio terapêutico para as dermatites em pequenos animais, em especial a dermatite seborréica, espera-se que o extrato obtido contemple respostas antiinflamatórias estáveis, com minimização de efeitos indesejáveis, e que seja de baixo custo, para que possa estar acessível aos diferentes extratos da população local.

MATERIAL E METODOS

Obtenção do extrato

Folhas de *A. affine* Schott foram obtidas a partir de amostras disponíveis em área residencial situada no bairro Córrego do Jenipapo, na região metropolitana do grande Recife. A coleta do material foi feita no período matutino em 29 de abril de 2015 sendo este encaminhado para o Laboratório de Farmacologia do DMFA - UFRPE – local de realização dos bioensaios. Parte do material, contendo a florescência foi encaminhada em forma de exsicata para os devidos procedimentos de confirmação botânica junto ao Herbário Dr. Vasconcelos Sobrinho da UFRPE. Amostra da planta encontra-se inserida no citado Herbário sob número de registro – 44368.

Para obtenção do extrato, foram empregadas as sugestões disponíveis em Matos (1998), assim, folhas do *A. affine*, Schott, após procedimento de triagem e higienização foram trituradas até a obtenção de uma massa de 100g, que foi posteriormente colocada para maceração em solução hidroalcoólica, com etanol a 70% num volume de 400 mL, por um período de sete dias. Após esta etapa, o extrato foi filtrado em papel (14µm), obtendo-se a concentração final de 85mg/mL de extrato bruto. Para os bioensaios um volume de 10 mL do extrato bruto da planta foi submetido à evaporação do solvente com o auxílio de uma capela de exaustão, a 25°C, até a obtenção do extrato seco da planta. Após esse procedimento foi feita a ressuspensão do material

em 10 mL de solução salina NaCl a 0,9%, adicionando-se 200µL de Tween 80 para facilitar a homogeneização da amostra.

Modelo de dermatite

O modelo de dermatite foi idealizado tomando-se como referência a metodologia descrita em Barcelos et al. (2013), sendo os protocolos experimentais apreciados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRPE (CEUA), recebendo deferimento segundo o parecer de número 009/2015.

Para os bioensaios, 40 camundongos *Mus musculus*, albino Swiss, machos, provenientes do biotério do Laboratório Nacional Agrônômico - LANAGRO do Ministério da Agricultura – Recife – PE; com peso médio estimado em 35 ± 10 g foram separados em gaiolas de polipropileno, com 8 animais cada, recebendo água e alimentação específica, além de serem acondicionados a ambiente a 25°C, umidade relativa acima de 70% e ciclo de luz de 12x12 horas, com lâmpadas de 40 Watts. Estes animais ficaram por 14 dias adaptação.

Vinte e quatro horas antes da fase de experimentação os animais de cada grupo foram submetidos a um processo de contenção manual para a realização da tricotomia na região dorsal para a configuração de dois campos (D - direita e E - esquerda) de aprox. 1cm^2 . Em cada campo, eram aplicados discos de 0,8 cm de diâmetro, embebidos em acetona até a saturação, que foi aplicado por 1min por 3 dias consecutivos com exceção de um grupo, onde estes recebiam solução salina 0,9%. No último dia cada animal recebeu um disco embebido em NaOH a 2,5% por 1 min, permanecendo os animais em atividade espontânea por uma hora.

Após esta fase, os animais foram subdivididos em cinco grupos: O grupo G1 – Controle, todos os animais receberam um volume de 0,05mL de solução salina a 0,9% (i.p.). Nos grupos G2, G3 e G4 os animais receberam 0,05mL de dexametazona (0,5mg/Kg - i.p.), 0,05 mL de Indometacina (0,5mg/Kg - i.p.) e 0,05mL de Celecoxib (0,5mg/Kg - i.p), respectivamente. Os animais do grupo G5 – controle negativo, receberam 0,05 mL de solução NaCl a 0,9% (i.p.) como em G1, mas sem o desafio efetuado com acetona e NaOH.

Trinta minutos após o a estimulação química conforme o grupo de tratamento, cada animal em seus respectivos grupos recebeu dorsalmente, no lado esquerdo (E) um disco embebido com 50µL solução do extrato de *A. affine*, Schott “Milho de urubu” na dose de 13,926 mg/Kg. Do lado direito (D), sobre a região lesada foi aplicado um disco semelhante contendo 50µL solução salina a 0,9%. Estes discos permaneceram em contato com as respectivas áreas lesadas por 15 min. Esta concentração do extrato foi definida considerando-se o valor da dose crítica de

toxicidade de 139,26mg/Kg conforme constatação efetuada, previamente, por este grupo de trabalho.

Após um período de 4 dias os animais foram eutanasiados, mediante aprofundamento anestésico com cloridrato de xilazina (20 mg/Kg/I.M), cloridrato de cetamina (185mg/Kg/ I.M), e Tiopental (185mg/Kg/IM), conforme metodologia descrita em Hall (2001). Antes da perda dos reflexos vitais os animais foram submetidos à coleta de sangue para os exames hematológicos e bioquímicos que foram por sua vez realizados no Laboratório de Patologia Clínica do DMV - UFRPE. Após a perda dos reflexos vitais, todos os animais, de todos os grupos, receberam incisão cirúrgica para remoção de pele dorsal de ambos os lados D e E, além da remoção de órgãos como fígado, baço, coração e rins para avaliação macroscópica.

Os fragmentos de pele foram submetidos a procedimentos de fixação com formaldeído 10% preparado em PBS 0,01M; pH 7,2 por 48h. Essas amostras foram em seguida desidratadas em solução crescente etílica, diafanizadas em xilol e impregnadas e incluídas em parafina; de acordo com os procedimentos de rotina do laboratório de histopatologia. Os blocos foram cortados utilizando o Microtomo (Leica), ajustados a 5µm de espessura, em seguida, foram corados com hematoxilina-eosina (PROPHET et al., 1994); e as lâminas obtidas foram submetidas a uma avaliação histopatológica mediante microscopia óptica. Para facilitar a apreciação histopatológica do laminário referente ao tecido cutâneo, foram estabelecidos escores qualitativos (3 – Intenso; 2 – Moderado; 1 – Brando; 0 – Ausente) de acordo com Pereira (2004), considerando-se as condições de infiltração de células polimorfonucleares, assim como a infiltração células mononucleares. Também foi considerada a presença de estruturas como tegumento, crosta, assim como angiogênese e a presença de fibroblastos.

Para os procedimentos de cálculo, os dados foram expressos em termos de média e desvio padrão e oportunamente em termos percentuais mediante planilha estatística do programa Excel do pacote Office 2010 da Microsoft.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

É importante assinalar que o modelo experimental escolhido, onde a expectativa era a de desenvolver uma lesão que melhor representasse o tipo de dermatite seborreica e ou atópica, como encontrada na maioria dos cães acometidos por problemas de pele nos traria algumas dificuldades, uma vez que o proposto por Barcelos et al. (2013), aplicava os procedimentos em

ratos, portanto animais maiores, com características fisiológicas um pouco diferentes em relação aos camundongos.

Destacamos também que este modelo desenvolvido assemelha-se a uma dermatite de contato irritante, que na verdade inicia-se como uma reação inflamatória local não alérgica da pele, que ocorre independente da participação de células linfocitárias do tipo T (NOSBAUM et al., 2009). Este tipo de dermatite irritante inicia-se geralmente por dano ou ativação de células epidermais devido à exposição aguda ou crônica a substâncias químicas (HAN et al., 2007). A ação irritante sobre as células da epiderme e derme proporciona a liberação de citocinas pró-inflamatórias, além de quimiocinas e outros mediadores que acabam por promover vasodilatação, infiltração de leucócitos, edema e eritema (CHEN e NUNEZ, 2010). Este processo apresenta como característica uma resposta inflamatória inata (GIBS, 2009). A partir dos queratinócitos desafiados, a produção de mediadores se intensifica, acionando processos quimiotáticos, que acabam por recrutar diferentes tipos celulares em direção a área lesionada, que promovem transformações bioquímicas locais, que levam a modificações estruturais locais, associadas à manifestação de sinais clínicos característicos (NOSBAUM et al., 2009).

Estudos com camundongos demonstram que macrófagos, células dendríticas, mastócitos, células NK e células endoteliais estão envolvidas no processo de desenvolvimento deste tipo de dermatite irritante (VOCANSON et al., 2007).

A condição atópica geralmente é desenvolvida quando uma sequência de eventos esta presente, decorrente na instalação de fungos do tipo leveduriforme (*Malassezia sp.*), que pode configurar-se como um patógeno oportunista do meato acústico externo e tegumento de cães e gatos, podendo ser encontrado no reto, pele interdigital, sacos anais e vagina, podendo assim, causar dermatite e otite externa (MELO et al., 2014). Geralmente os sinais clínicos apresentados são pruridos, alopecia, liquenificação, hiperpigmentação, eritema, podendo em alguns casos associar-se com atopia e alergia alimentar (RHODES, 2005).

Foram obtidos alguns dados, principalmente considerando a estratégia de distribuição dos grupos e tratamentos empregados. A intenção era a de avaliar as transformações nas áreas lesionadas em animais previamente tratados com um antiinflamatório esteroide inibidor de fosfolipase A₂ a dexametazona, como também em animais tratados com um inibidor de ciclooxigenase 1, a indometacina e ciclooxigenase 2 o celecoxib. Estes inibidores nos ajudariam a verificar mais de perto a participação dos mediadores da cascata do ácido araquidônico sobre os eventos associados à fase de recuperação tecidual mediados pelo extrato de *A. affine*, Schott “Milho de urubu”.

O peso relativo de alguns órgãos coletados em relação ao peso corpóreo pode ser visualizado na tabela 1. Uma comparação direta entre os valores dos pesos relativos de cada grupo em relação ao grupo controle G1, revelou que o fígado do grupo G4 apresentou uma diferença importante, com valor de $p = 0,057$; o que significa um aumento de massa nos animais pré-tratados com celecoxib em relação aos animais do grupo controle, embora o nível de significância adotado para este trabalho tenha sido de $p < 0,05$. Podendo-se argumentar que o aumento do tecido hepático pode estar associado a um aumento da atividade metabólica do tecido em questão, principalmente considerando-se o papel dos sistemas de biotransformação que este tecido desempenha quando da presença de estruturas moleculares desafiadoras.

Uma diferença agora significativa foi encontrada quanto ao aumento do baço dos animais do grupo G2 apresentando um valor de $p = 0,041$. Este aumento de massa pode também estar relacionado com o aumento de atividade do tecido em animais estimulados com dexametazona, embora um aumento discreto também tenha sido notado no baço de animais tratados com indometacina ($p = 0,079$) e celecoxib ($p = 0,063$), denunciando a participação de mediadores da cascata do ácido araquidônico nos eventos metabólicos deste órgão.

A presença de inibidores enzimáticos parece ter afetado, pelo menos em parte, as atividades metabólicas desempenhadas por estas estruturas, compensando a diminuição da atividade com o aumento de massa, na esperança de que o aumento de superfície local aumente a eficácia da estrutura na captura de substratos importantes para a expansão do metabolismo local.

Quanto ao estudo das correlações entre o aumento de massa do órgão em função do aumento de massa corpórea, verificou-se que este efeito foi mais importante no tecido hepático de animais do grupo G2 ($r = 0,847$) e G3 ($r = 0,851$). Isto sugere que quanto maior o animal, mais o tecido hepático aumenta de tamanho na presença de esteróides como a dexametazona e a indometacina. Denunciando o efeito impactante que estes inibidores enzimáticos proporcionam sobre o organismo, apesar de serem substratos importantes como inibidores de determinados tipos de processos inflamatórios (ADAMS, 2003).

É importante assinalar que em vertebrados os produtos da atividade de sistemas enzimáticos como a Fosfolipase A_2 bem como as cicloxigenases coordenam alterações bioquímicas importantes, que redundam em alterações fisiológicas e imunológicas que por sua vez acionam cascatas de eventos moleculares que culminam no que se denomina de inflamação. Assim, podem ser identificados mediadores inflamatórios derivados de certos tipos de leucócitos e plaquetas, como também mediadores do metabolismo do ácido araquidônico como as prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos; ou ainda das cascatas da coagulação e do sistema complemento, que têm o objetivo de restringir as conseqüências e a extensão das alterações

metabólicas e do dano tecidual local; não sendo suficiente, a resposta inflamatória pode transcender os limites locais, manifestando-se sistemicamente, requerendo a participação de outros tipos de substratos bioquímicos como as citocinas e as proteínas de fase aguda (RANG et al., 1997; SILVA, 2006).

As citocinas, por sua vez, podem atuar como fatores de defesa do hospedeiro contra infecções, lesões, e inflamações aguda e crônica, podendo ser liberadas por diferentes tipos celulares, podendo modular o padrão de interação de outros tipos celulares como linfócitos e macrófagos além de outras células fora do sistema imune, exercendo o papel de mensageiro, comunicando novas diretrizes para interligar o sistema imune com os outros sistemas fisiológicos do organismo (ADAMS, 2003; WAGNER et al., 2009).

Tabela 1. Peso relativo (mg/g de peso corpóreo) dos órgãos conforme o tratamento empregado entre os grupos.

Grupos	Fígado	Baço	Coração	Rim D	Rim E	Corpo
G1	36,0±5,0	3,0±1,0	4,0±1,0	7,0±2,0	6,0±2,0	46,60±5,13
G2	39,0±3,0	4,0±1,0	5,0±1,0	9,0±3,0	9,0±2,0	47,00±16,15
G3	37,0±6,0	4,0±1,0	4,0±1,0	6,0±1,0	6,0±1,0	45,50±5,42
G4	42,0±6,0	4,0±2,0	4,0±1,0	6,0±1,0	6,0±1,0	40,80±5,80
G5	36,0±7,0	3,0±1,0	5,0±1,0	7,0±1,0	7,0±2,0	52,30±9,20

OBS: G1- Controle; G2 – Dexa; G3- Indo; G4 – Celecoxib; G5 – Controle negativo.

Na tabela 2 podem ser visualizados parâmetros hematológicos dos animais avaliados conforme o tipo de tratamento. Nesta tabela pode-se verificar que em relação ao padrão os valores obtidos para hemácias, hemoglobina e hematócrito, em todos os grupos, foram menores, bem provavelmente em decorrência da variação de idade dos animais, ou ainda quanto à diferença de linhagem. Já em relação às plaquetas, os valores encontrados em todos os grupos foram maiores em relação ao padrão conforme dados disponibilizados em Vasconcelos et al. (2007).

Foi observada diferença significativa entre os valores de hemoglobina obtidos para os animais dos grupos G2 e G3 em relação ao controle, assim como os valores obtidos para o total de plaquetas entre os animais dos grupos G2, G4 e G5. O total de plaquetas dos animais do grupo G3 diferiram em relação ao grupo controle por um valor de $p = 0,0507$. Com estes dados pode-se argumentar que o pré-tratamento dos animais com dexametazona ou indometacina

influenciou negativamente etapas importantes para o metabolismo de produção de hemoglobina. Quanto à redução do número de plaquetas, não poderíamos atribuir à influência dos inibidores enzimáticos, uma vez que o número de plaquetas dos animais do grupo G5 foi menor também.

Na tabela 3 podem ser visualizados os parâmetros hematológicos relacionados à fase leucocitária, não sendo encontradas diferenças significativas entre os grupos tratados e o grupo controle, com exceção do número de leucócitos obtidos para os animais do grupo G2. Neste grupo pode-se verificar a não homogeneidade do parâmetro no grupo, considerando-se o tamanho de desvio padrão em relação ao valor médio. Assim, é possível que tenha ocorrido algum tipo de problema quanto à leitura dos dados no equipamento que efetuou a contagem, considerando-se que esta discrepância não tenha ocorrido nos demais grupos.

Tabela 2. Parâmetros hematológicos conforme o tipo de tratamento entre os grupos.

Grupos	HEM	HB	HT	RDW	PL
	(10 ⁶)	(g%)	(%)	(%)	(10 ³ /mm ³)
G1	6,61±1,57	12,75±0,21	39,5±0,71	-	1,26±0,18
G2	7,51±0,43	11,80±0,60*	38,5±1,76	11,00±0,35	0,95±0,12*
G3	6,62±0,58	10,87±0,86*	36,50±2,88	11,35±0,44	0,96±0,19
G4	7,46±0,47	12,14±1,16	40,25±4,27	11,30±0,38	0,92±0,16*
G5	7,42±0,54	12,05±0,65	39,88±1,81	11,33±0,85	0,96±0,15*
Referencia	8,66±0,80	13,36±2,46	40,76±3,02	-	0,25±0,38

OBS: G1- Controle; G2 – Dexa; G3- Indo; G4 – Celecoxib; G5 – Controle negativo. HEM – hemácias; HB – hemoglobina; HT – hematócrito; RDW - Red Cell Distribution Width (Índice que indica a anisocitose celular); PL – plaquetas. * - diferença estatística para um valor de $p < 0,05$.

Na tabela 4 podem ser visualizados alguns parâmetros bioquímicos do sangue, sendo encontrada uma redução significativa de proteína total nas amostras de sangue dos animais dos grupos G2, G3 e G5 em relação ao grupo controle G1. Esta redução pode estar relacionada com uma interferência direta sobre os mecanismos de produção protéica, em especial sobre o metabolismo do ácido aminoparabenzoico - PABA. A dexametazona e a indometacina poderiam desencadear este tipo de resposta, mas estes mediadores não estavam presentes nos animais do grupo G5.

É importante salientar que a dexametazona, dentre várias possibilidades de interação metabólica, pode inibir a incorporação de aminoácidos em proteínas de maneira a inibir a síntese de proteínas em tecidos periféricos como músculo, pêlo, tecido linfóide, adiposo ou conjuntivo. Desta forma estimulam o catabolismo protéico nestes tecidos aumentando o nível de aminoácidos no sangue para facilitar a gliconeogênese e a síntese de proteínas no tecido hepático (JERICÓ e DE MARCO, 2011).

Tabela 3. Parâmetros hematológicos, fase leucocitária, e proteína total, conforme o tipo de tratamento entre os grupos.

Grupos	LEU	SEG	LIN	EOS	MON	BAST
	(/mm ³)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
G1	5,20±0,85	29,50±4,95	67,50±4,95	0±0	3±0	0±0
G2	126,87±297,93*	30,00±6,16	66,80±7,50	0±0	3,20±2,17	0±0
G3	4,23±2,86	31,33±13,29	66,33±14,07	0±0	2,33±1,36	0±0
G4	4,71±1,98	21,88±9,34	74,38±10,06	0±0	3,75±2,31	0±0
G5	3,76±1,40	31,13±9,34	66,00±10,29	0±0	2,62±1,85	0,25±0,46
Referencia	8,16±2,41	-	77,6±827	0,36±0,11	2,00±0,78	-

OBS: G1- Controle; G2 – Dexa; G3- Indo; G4 – Celecoxib; G5 – Controle negativo. LEU – leucócitos; SEG – segmentados; LIN – linfócitos; EOS – eosinófilos; MON – monócitos; BAST – bastonetes. * - diferença estatística para um valor de $p < 0,05$.

Já a indometacina, como um anti-inflamatório não-esteroidal pode interferir indiretamente sobre o metabolismo protéico, a partir da inibição do sistema das cicloxigenases, em especial a COX-1, conseqüentemente reduzindo a síntese de prostanoídes (prostaglandinas e tromboxanos), além das oxigenases. A redução da produção de prostaglandinas do tipo PGE₂ e PGI₂ interfere sobre os mecanismos hipotalâmicos controladores, entre outras coisas, da temperatura corpórea, que por sua vez afeta o metabolismo (RANG et al., 1997). Este tipo de mediador pode controlar também a liberação de enzimas, citocinas e proteínas do sistema complemento, afetando por sua vez a coordenação do metabolismo a partir de células inflamatórias como linfócitos, macrófagos e mastócitos (TASAKA, 2011).

O nível de colesterol em todos os grupos estava acima dos valores observados para os animais do grupo de referencia, com exceção dos animais do grupo G4. Este fato pode ser em

decorrência das diferenças de idade entre os animais empregados nos experimentos em relação aos animais do grupo de referencia; considerando-se que muitos mediadores celulares estão relacionados com os sistemas enzimáticos associados ao metabolismo de fosfolipídeos e do colesterol, é possível que esta diferença tenha algum impacto sobre o controle da atividade metabólica nestes sítios (BOURGUET et al., 2000).

Foi observado também que não foram encontradas diferenças significativas entre os valores observados para os triglicerídeos entre os grupos avaliados, o que pode sugerir que as diferenças assinaladas acima em relação ao grupo G4 podem ser de natureza accidental.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos do sangue, conforme o tipo de tratamento entre os grupos

Grupos	Proteína Total (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeo (mg/dL)
G1	6,10±0,14	111,77±11,8	116,75±43,15
G2	5,48±0,30 *	104,19±11,69	158,62±46,97
G3	5,30±0,47 *	107,88±6,51	89,99±30,21
G4	5,60±0,73	95,79±10,90*	84,90±29,23
G5	5,26±0,34 *	99,29±28,63	81,98±37,93
Referencia	6,16±0,49	80,00±7,87	107,00±15,12

OBS: G1- Controle; G2 – Dexa; G3- Indo; G4 – Celecoxib; G5 – Controle negativo. * - Diferença estatisticamente significativa para um valor de $p < 0,05$ em relação ao grupo G1.

Na tabela 5 podem ser observados outros parâmetros bioquímicos importantes, entre estes a uréia cujos valores obtidos para os grupos avaliados estiveram abaixo em relação ao grupo de referencia; sendo que os animais do grupo G3 exibiram a menor taxa, diferindo significativamente em relação ao grupo G1. Esta relação com a redução dos níveis de uréia pode estar relacionada com a redução da taxa metabólica, como constatada acima, no mesmo grupo. Deve-se lembrar, entretanto, que os animais do grupo G3 foram pré-tratados com indometacina, também um importante metabólito que pode ser associado a reações de intoxicação, com conseqüências do tipo acidose metabólica, alcalose respiratória, afetando por sua vez o metabolismo celular (PAYAN, 1994; WANNAMACHER e FERREIRA, 2006).

O nível de creatinina em todos os grupos avaliados estava bem inferior em relação ao valor observado para o grupo de referencia, bem provavelmente em decorrência da idade dos animais

ou mesmo em função de diferenças de linhagem entre os animais estudados e os animais considerados como referencia. Este é um dado importante, que denota problemas com os mecanismos de fosforilação atrelados a tecidos como os rins, que a nível de tubo proximal efetua uma importante atividade na ativação de mecanismos de transporte de substâncias que precisam ser eliminadas em tempo hábil de evitar intoxicação. Apesar disto, não foram encontradas diferenças significativas entre os sistemas enzimáticos AST, ALT e Fosfatase alcalina, mesmo em relação aos animais do grupo de referencia.

Tabela 5. Outros parâmetros bioquímicos conforme o tipo de tratamento entre os grupos

Grupos	Ureia	Creatinina	AST	ALT	FA
	(mg/dL)	(mg/dL)	(U/L)	(U/L)	(U/L)
G1	29,56±3,70	0,07±0,04	97,61±28,74	38,59±8,21	99,25±38,09
G2	29,40±5,76	0,02±0	98,32±80,05	59,01±49,20	75,39±21,38
G3	27,49±3,62*	0,07±0,07	122,21±62,04	34,54±18,95	100,22±19,33
G4	35,77±17,78	0,12±0,03	93,15±19,64	32,51±15,71	109,26±50,22
G5	30,15±5,00	0,11±0,08	73,56±22,45	56,65±89,76	103,33±46,95
Referencia	57,60±2,54	0,34±0,02	77,2±8,65	50,60±6,13	149,40±16,99

OBS: G1- Controle; G2 – Dexa; G3- Indo; G4 – Celecoxib; G5 – Controle negativo. * – Diferença significativa para $p < 0,05$ em relação a G1. AST - (aspartato aminotransferase) (TGO); ALT - (alanina aminotransferase) (TGP); FA – fosfatase alcalina.

Na tabela 6, podem ser observados os escores definidos para a quantificação dos impactos dos pré-tratamentos efetuados sobre as transformações das áreas de pele lesadas, tratadas localmente com extrato de *A. affine*, Schott “Milho de urubu”. Como parâmetro quantitativo numa avaliação histopatológica, foi considerado o nível de infiltração de células polimorfonucleares, infiltração de células mononucleares, condição do tegumento, presença de crosta, angiogênese local e presença de fibroblastos. Inicialmente é importante assinalar que sempre que se observavam células do tipo polimorfonuclear foram evidenciados neutrófilos, assim como quando da identificação de células do tipo mononuclear, encontravam-se histiócitos (macrófagos) e linfócitos.

No grupo G1, considerado controle, especialmente sobre fragmento retirado da face direita - D, que recebia apenas solução de NaCl a 0,9%, sobre a epiderme pode-se observar uma crosta

serocelular que recobria uma extensa área de necrose dos queratinócitos com ruptura da membrana basal, estendendo-se até a derme profunda, evidenciando assim necrose de glândulas sebáceas. Ainda na derme e se estendendo até o panículo adiposo, observou-se área difusa de infiltração de neutrófilos e macrófagos variando em intensidade, encontrando-se também um menor número de plasmócitos. Na região mais profunda, abaixo do tecido muscular, foram observados tecido conjuntivo frouxo recém-formado associado a capilares dispostos perpendicularmente a fibras colágenas, com angiogênese evidente, caracterizando tecido de granulação com intensidade característica conforme o animal avaliado, como ilustra a figura 1A.

Segundo a tabela 6, as diferenças foram significativas quanto à intensidade da crosta, observando-se um escore menor, e a presença de angiogênese com um escore maior. Estes dados sugerem que o extrato de *A. affine*, Schott inibiu parcialmente os eventos associados ao desenvolvimento da crosta, como também estimularam a produção e a liberação de fatores de crescimento de endotélio. Este dado constata que um maior desenvolvimento vascular, sugere uma mobilização de mediadores e metabólitos mais eficaz, o que contribui para uma recuperação mais efetiva do tecido lesado.

Além disto, algumas particularidades foram encontradas nos fragmentos concernentes com a face E, que não foram encontradas na face D, nos animais do mesmo grupo. No animal 1 foi encontrado pouco infiltrado de neutrófilos, enquanto no animal 2 foi verificada perda completa da derme superficial, restando apenas o panículo adiposo (tecido subcutâneo), manifestando intenso infiltrado neutrofílico, mas com menor quantidade de linfócitos e macrófagos epitelióides. Também no fragmento E do animal 5 foi evidenciada presença moderada de mastócitos na derme profunda.

Nos fragmentos concernentes a face D dos animais do grupo G2 verificou-se uma redução significativa na intensidade de infiltrado de células polimorfonucleares, assim como a intensidade da crosta em relação aos fragmentos de face D observados para o grupo controle, sugerindo que esta inibição tenha ocorrido devido ao pré-tratamento dos animais com dexametazona.

Tabela 6. Escores para dimensionamento da análise histopatológica da pele de animais tratados com “Milho de Urubu” em diferentes condições de pré-tratamento.

Grupos	I PMN	I MONO	TG	Crosta	Angiogênese	Fibroblastos
G1D	2,38±0,74	1,63±0,52	1,38±0,52	2,88±0,35	1,00±0,00	1,75±0,46
G1E	2,00±1,07	1,75±0,88	1,13±0,99	1,38±1,30 ^{ab}	1,50±0,76 ^{ab}	1,50±0,76
G2D	1,14±0,38 ^a	1,29±0,49	1,29±0,95	2,29±0,76 ^a	1,29±0,49	1,57±0,53
G2E	2,13±0,83 ^b	1,50±0,53	1,88±0,83	2,13±1,36	1,63±0,52 ^a	1,88±0,99
G3D	2,63±0,52	1,38±0,74	1,75±1,04	2,63±0,52	1,25±0,46	2,13±0,35 ^a
G3E	1,57±0,79 ^{ab}	1,00±0,58 ^a	0,57±0,79 ^{ab}	1,86±0,90 ^{ab}	1,00±1,15	1,00±0,82 ^{ab}
G4D	2,22±0,97	1,56±0,88	1,33±1,32	2,22±0,67 ^a	1,44±0,88	1,22±0,83
G4E	2,33±0,87	1,33±0,71	1,33±0,87	2,44±0,73	1,33±0,87	1,33±1,00
G5D	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
G5E	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a

OBS: G1- Controle; G2 – Dexa; G3- Indo; G4 – Celecoxib; G5 – Controle negativo. M – Subgrupo em que os animais foram tratados com “Milho de urubu.” ^a – Diferença significativa para $p < 0,05$ em relação a G1. ^b - Diferença significativa para $p < 0,05$ quando da comparação entre os grupos GD e GE, em cada tratamento. O lado E sempre recebeu extrato de *A. affine*, Schott. Escores: 3 – Intenso; 2 – Moderado; 1 – Brando; 0 – Ausente. IPMN – Infiltração de polimorfonucleares. IMONO – Infiltração de células mononucleares. TG – Tecido de granulação.

Os animais deste grupo apresentaram redução significativa da proteína total, assim como hemoglobina e plaquetas, eventos estes bem provavelmente relacionados com a redução do infiltrado assinalado acima. Uma comparação entre os fragmentos do lado esquerdo - E com os fragmentos do lado direito - D dos animais do mesmo grupo, pode-se verificar uma diferença significativa quanto a intensidade do infiltrado de células polimorfonucleares onde a presença de extrato de *A. affine*, Schott estimulou o aumento do infiltrado mesmo sendo estes animais pré-tratados com dexametazona, o que sugere um efeito antagônico aos efeitos de inibição da proliferação celular protagonizada pela dexametazona (Macedo e Oliveira, 2006), conforme mostram os dados da tabela 6 e figura 1B.

Necessário se faz lembrar que a dexametazona inibe a enzima fosfolipase A₂, diminuindo a produção de ácido araquidônico, o que por sua vez diminui a produção de prostaglandinas e leucotrienos, o que por sua vez diminui o acúmulo de células no sítio inflamado. Este efeito

inibitório pode também afetar macrófagos e fibroblastos, que por sua vez diminui a produção de colágeno assim como a cicatrização e reparo nos processos inflamatórios (MACEDO e OLIVEIRA, 2006).

Outras ações também podem contribuir para a redução dos efeitos inflamatórios mediados por dexametazona, como por exemplo, o efeito de redução das ações de vasodilatação, com diminuição consequente da exsudação de líquidos, com redução do influxo de leucócitos, e células mononucleares incluindo a diminuição da expansão clonal de células T helper (NESTLE et al., 2009).

Destacamos que assim como os glicocorticóides, a dexametazona pode acionar receptores intracelulares que controla mediadores que interagem diretamente com o DNA, o que por sua vez pode promover repressão de genes pró-inflamatórios e o acionamento de outros que vão produzir proteínas que vão exercer papel importante no controle da inflamação como COX-2, citocinas, enzimas relacionadas com a cascata de síntese de óxido nítrico (NO) e lipocortina-1 (JERICÓ e DE MARCO, 2011).

Quanto ao grupo G3, verificou-se que o pré-tratamento dos animais com indometacina não provocou mudanças significativas nos fragmentos de pele do lado direito – D, em relação aos fragmentos D relativos ao grupo controle G1, com exceção ao aumento significativo dos fibroblastos. Mas, uma comparação entre os fragmentos D e E dos animais do grupo G3, revelou uma queda significativa entre os infiltrados do tipo polimorfonucleares, a presença de crosta e presença de fibroblastos, sugerindo que o extrato de *A. affine*, Schott em animais pré-tratados com indometacina reduz estes parâmetros, bem provavelmente em função da inibição parcial do sistema enzimático ciclooxigenase 1, como se estivesse potencializando os efeitos protagonizados pela indometacina. Estes dados sugerem que as ações protagonizadas pelos constituintes bioquímicos do extrato testado ocorrem mediante participação deste tipo de sistema enzimático, de característica constitutiva, conforme mostram os dados da tabela 6 e figuras 1C e 1D.

Com relação ao infiltrado de células mononucleares, verificou-se que no fragmento do lado E do grupo G3 foi menor em relação ao grupo controle G1, embora esta diferença não foi significativa em relação ao infiltrado de células observado no lado direito – D, do mesmo grupo G3. Este resultado também assinala a condição de que o extrato de *A. affine*, Schott potencializou os efeitos esperados pelo pré-tratamento com indometacina, como preconiza a literatura especializada (PAYAN, 1994; ADAMS, 2003).

Entretanto, é interessante assinalar que os animais do grupo G3 apresentavam uma redução significativa de proteína total, o que por sua vez deve ter afetado a concentração de uréia

plasmática, conforme mostram os dados das tabelas 4 e 5. Apesar de se reconhecer a importância da produção protéica na condução dos processos metabólicos, acreditamos que este efeito não foi o fator decisivo na redução dos parâmetros histopatológicos assinalados, uma vez que os fragmentos de tecido do lado direito D não apresentaram estas alterações; o que reforça a idéia de que o extrato avaliado conduz os seus efeitos, bem provavelmente, via inibição de mediadores da cicloxigenase 1, em especial as prostaglandinas PGE₂ e PGI₂.

No fragmento esquerdo do Animal 4 do grupo G3 verificou-se um infiltrado neutrofílico (polimorfonucleares), e em menor quantidade de linfócitos e histiócitos (mononucleares) entre as fibras musculares esqueléticas, sugerindo miosite local, que estendia-se ao panículo adiposo; evidenciou-se também a presença de quantidade moderada de mastócitos.

Não ocorreram diferenças significativas entre os fragmentos de tecido cutâneo de ambos os lados direito – D e esquerdo – E do grupo 4, conforme os dados da tabela 6. Embora, fragmentos do lado direito de alguns animais revelem sinais de fibroplasia na derme profunda e angiogênese com discreta hiperemia focal, além de uma quantidade moderada de mastócitos.

Em fragmentos do lado esquerdo E, de alguns animais, pode-se verificar um infiltrado neutrofílico e em menor quantidade de linfócitos e histiócitos entre as fibras musculares esqueléticas caracterizando miosite, estendendo-se ao panículo adiposo, conforme mostra a figura 1E.

Estes dados sugerem o não envolvimento de mediadores derivados da ativação do sistema enzimático cicloxigenase 2, de característica induzida, uma vez que os dados não diferiram de forma significativa em relação aos fragmentos direito e esquerdo do grupo G4, em que os animais eram previamente tratados com celecoxib.

Finalmente, nos fragmentos D e E dos animais do grupo G5, não foram evidenciadas lesões, o que caracteriza o grupo como controle negativo.

É importante que novos experimentos sejam realizados tendo em vista a elucidação dos reais mecanismos de ação associados com as respostas protagonizadas pelo extrato hidroalcoólico de *A. affine*, Schott, assim como a realização de ensaios de toxicidade crônica, afim de que seja possível o desenvolvimento de estratégias com maior número de doses e intervalos temporais de monitoramento de processos lesivos mais generosos.

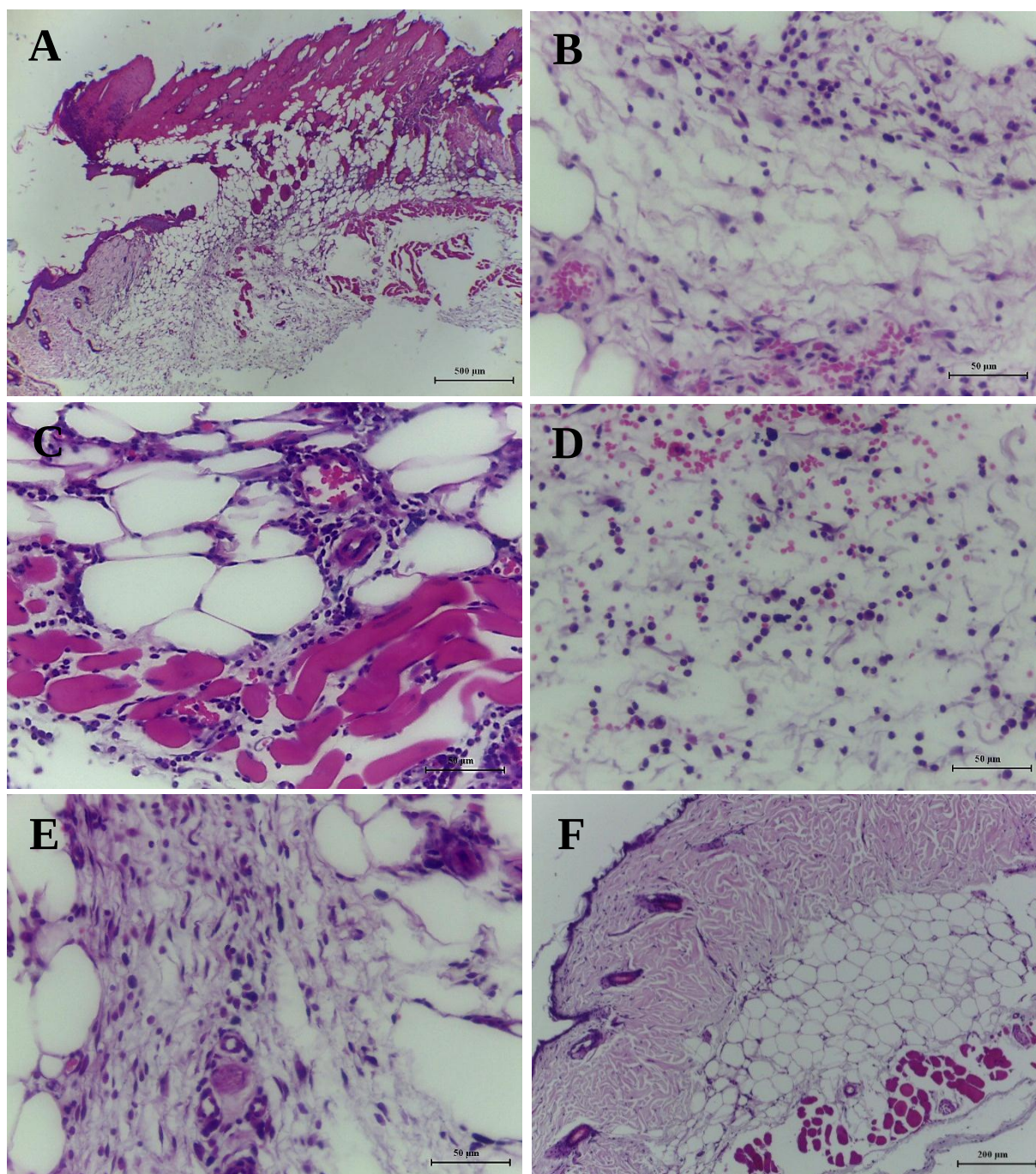


Figura 1. Fotomicrografia de lesões cutâneas em camundongos dos grupos tratados (A, B, C, D e E) e grupo controle negativo (F). **A:** lesão em camundongo do grupo G1D (controle tratado com NaCl a 0,9%), evidenciando uma área com perda de continuidade da epiderme e derme superficial, intensa crosta serocelular e necrose dos queratinócitos com ruptura da membrana basal; **B:** grupo G2E (tratado com solução de *A. affine* Schott tópico e dexametasona sistêmico), observa-se uma dermatite neutrofílica e histiocitária focal branda, além da presença de poucos mastócitos; **C e D:** grupo G3E (tratado com solução de *A. affine* Schott tópico e indometacina sistêmico), em (C) observar miosite neutrofílica e linfocitocitária estendendo-se até o pânículo adiposo com quantidade moderada de mastócitos, e em (D) discreto infiltrado neutrofílico e histiocitário com presença moderada de mastócitos; **E:** grupo G4E (tratado com solução de *A. affine* Schott tópico e colecoxib sistêmico), observa-se alguns fibroblastos caracterizando uma área de fibroplasia e angiogênese com discreta hiperemia focal com presença moderada de mastócitos e **F:** grupo controle negativo (sem lesão), pode-se observar integridade da pele com preservação de seus constituintes, epiderme, derme, pânículo adiposo, glândulas e anexos epidérmicos. Coloração de hematoxilina e eosina.

CONCLUSÃO

Verificou-se, portanto que o extrato de *A. affine*, Schott interferiu sobre os eventos relacionados com os mecanismos de reorganização de áreas injuriadas, afetando a infiltração de células do tipo polimorfonucleares e mononucleares, assim como interferiu sobre os mecanismos de sinalização envolvidos nos processos de formação de crosta, organização angiogênica e estadiamento de fibroblastos. Este efeito foi mais intenso em animais pré-tratados com indometacina, sugerindo que as ações inibitórias ocorreram mais intensamente sobre o sistema enzimático das cicloxigenases do tipo 1, de natureza constitutiva; portanto um efeito antiinflamatório com características relativamente similares aos antiinflamatórios não esteroidais inibidores de COX-1.

REFERENCIAS:

ADAMS, H. R. Autacóides e Drogas Antiinflamatórias, seção 4, em **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**, 8ª. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro; 2003 p.335-43.

ALBANESI, C., SCARPONI, C., GIUSTIZIERI, M. L.; GIROLOMONI, G. Keratinocytes in inflammatory skin diseases. **Current Drug Targets - Inflammation & Allergy**, v. 4, p. 329-334, 2005.

BADKE, M. R. ; BODÓ, M.L.D. ; SILVA, F. M.; RESSEL, L.B.; Plantas Medicinais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery**. Rio Grande do Sul, v.15, n.1, p.132-139.2011.

BARCELOS, R. C. S.; MELO-SAMPAYO, C.; ANTONIAZZI, C. T. D. ; SEGAT, H. J.; SILVA, H.; BÜRGER, M. E.; SILVA-LIMA, B.; RODRIGUES, L.M. Atopic dermatitis-like disease in a rat model. **Biomedical Sciences-Biomed Biopharm Res**. v.10,n.2, p.217-224, 2013.

BARREIRO, E. J; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para descoberta de novos fármacos, **Revista Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 03, p.679- 688, 2009.

BOSCOLO, O. H.;VALLE, L. S. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia Série Botânica**.Porto Alegre, v. 63, n. 2, p. 263-277, jul./dez. 2008.

BOURGUET, W.; GERMAIN, P.; GRONEMEYER, H. Nuclear receptor ligand-binding domains: three-dimensional structures, molecular interactions and pharmacological implications. **Trends in Pharmacological Sciences**. v. 21, p. 381-388, 2000.

CARRICONDE, C.; MORES, D.; VON FRITSCHEN, M.; CARDOZO J. E. L. **Plantas medicinais e alimentícias**. Olinda: Centro Nordestino de Medicina Popular; Universidade Federal Rural de Pernambuco.v.1, p.45-47, 1996.

CHEN, G. Y., NUNEZ, G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. **Nature Reviews Immunology**.v. 10, p.826-837, 2010.

CROAT, T.B. **History and current status of systematic research with araceae**.2 ed. St. Louis USA: Missouri Botanical Garden, 2004, 299p.

EVANS, J.M.; LANE, D.R.; HENDY, P.G. The profile of small animal practice. **Journal Small Animal Practice**, London, v.15, n.10, p.595-608, setembro 1974.

FUCHS, E.; RAGHAVAN, S. Getting under the skin of epidermal morphogenesis. **Nature Reviews Genetics**.v.3, p.199-209, 2002.

GIBBS, S. In vitro irritation models and immune reactions. **Skin pharmacology and physiology**.v.22,p.103-113. 2009.

GORDON, S., MARTINEZ, F.O. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions.**Immunity**. v.32, p.593-604, 2010.

GRANATO, E. M.; GRANATO, M. M., GERENUTTI, M.; SILVA, M. G.; FERRAZ H. O. ; VILA, M. M. D. C. Prospecção fotoquímica da espécie vegetal *Trixis antimenorrhoea* (Schrunk) Kuntze,**Revista Brasileira de Farmácia**. v. 94, n. 2, p.130-135, 2013.

HALL, L.W. et al. Prevention and management of anaesthetic accidents and crises. In: **Veterinary anesthesia**. London: Saunders, 2001. p.507-533.

HAN, M.H., YOON, W.K., LEE, H., HAN, S.B., LEE, K., PARK, S.K., YANG, K.H., KIM, H. M.; KANG, J.S. Topical application of silymarin reduces chemical-induced irritant contact dermatitis in BALB/c mice. **International Immunopharmacology**.n.7,p.1651-1658.2007.

HIIL, P.B.; LO, A.; EDEN, C.A.N.; HUNTLEY, S.; MOREY, V.; RAMSEY, S.; RICHARDSON, C.; SMITH, D.J.; SUTTON, C.; TAYLOR, M.D.; THORPE, E.; TIDMARSH, R.; WILLIAMS, V. Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. **Veterinary Record**, Londres, v.158, n.16, p.533-539, abril 2006.

IHRKE, P.J. Bacterial infections of the skin. In: **Diseases of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 1996. p.72-79.

JERICÓ, M. M.; DE MARCO, V. Anti-inflamatórios esteroidais. Cap. 22 em:**Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A./GEN. 2011, p. 261-271.

KISICH, K. O. et al. Defective killing of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis is associated with reduced mobilization of human β -defensin-3. **Journal Allergy and Clinical Immunology**, v. 122, n. 1, p. 62-68, Jul. 2008.

KOSTER, M.I., and ROOP, D.R. Genetic pathways required for epidermal morphogenesis.**European Journal of Cell Biology**. v.83, p.625-629. 2004.

LAWRENCE, T.; GILROY, D. W. Chronic inflammation: a failure of resolution? **International Journal of Experimental Pathology**, London, v. 88, n. 2, p. 85-94, 2007.

MACEDO, J. M. S.; OLIVEIRA, I. R. Corticosteróides, cap 82, em **Farmacologia de Penildon Silva** 7ª. Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A. 2006. p.824-839.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim Centro Biologia e Reprodução**, Juiz de Fora.v.27,n.1/2,p.33-39,jan./dez.,2008.

MATOS, F.J.A.; OLIVEIRA, F. Plantas medicinais. **Revista Brasileira Farmacia**. v.79, p. 84-87, 1998.

MELO, M. B.; SANTOS, D. V.; CRUZ, L. S.; HERK, A. G.; RIBEIRO, M. B.; ARAÚJO, C. B. Dermatite de localização atípica por *Malassezia pachydermatis* em um cão apresentando redução nos níveis de zinco. Bahia, 2001, Disponível em<<http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/viewArticle/597>> Acessado em 31 de outubro de 2014.

NESTLE, F. O.; Di MEGLIO, P.; QIN, J. Z.; NICKOLOFF, B.J. Skin immune sentinels in health and disease. **Nature reviews Immunology**.v.9.p. 679-691.2009.

NOMURA, E. S.; FUZITANI E. J.; JÚNIOR E. R. D. Cultivo do antúrio -**Pesquisa e Tecnologia**, vol. 9, n.1, Jan-Jun 2012.

NOSBAUM, A.; VOCANSON, M.; ROZIERES, A.; HENNINO, A.; NICOLAS, J.F. Allergic and irritant contact dermatitis., **European Journal of Dermatology**.P. 325-332. 2009.

OLIVRY, T. et al. Mechanism of lesion formation in canine atopic dermatitis: hypothesis. **Advances in Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 5, p. 11-16, ago. 2004.

PAYAN, D. G. Anti-inflamatórios não-esteróides. cap. 35 em **Farmacologia Básica e Clínica**, 5ª Edição. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S. A., 1994, p. 368-372.

PEREIRA, V. L. A. **Qualidade de frangos de corte ao abate pela relação entre peso, doença de gumboro e algumas enfermidades associadas**. 2004. 75 p. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói. 2004.

PROPHET, E.B.; MILLS, B., ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. Washington DC: American Registry of Pathology, 1994, 279p.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. Hormônios locais, inflamação e alergia,

capítulo 11, sessão dois; in: **Farmacologia**, 3ª. Edição, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A., 1997; p.169-193.

RIBEIRO, C.D.J. **Cosmetologia aplicada a dermoestética**, 2.ed., São paulo.Pharmabooks. 2010, 460p.

RHODES, K. H. **Dermatologia de Pequenos Animais: consulta em 5min.**1.ed., Rio de Janeiro, Editora Revinter, 2005, p. 13 a 18.

SCHAUBER, J.; GALLO, R. L. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 122, n. 2, p. 261-266, 2008.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E. **Small Animal Dermatology**.6.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001, 1528p.

SCOTT, D.W.; PARADIS, M. A survey of canine and feline skin disorders seen.in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec (1987-1988). **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.31, n.12, p.830-835, dezembro1990.

SILVA, P. Autacóides, capítulo 57, in: **Farmacologia**, 7.ed; Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A., 2006, p. 567-582.

SOUZA, V. C.; LOURENZI, H. **Guailustrado para Identificação das Famílias de Angiospermas da Flora Brasileira**, baseado em APG II - Botânica sistemática - Instituto Plantacum de estudos da flora Ltda. Nova Odessa, SP; 2005, 640p.

TASAKA, A. C., Antiinflamatórios não esteroidais. Cap. 21 em **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5ª Ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A./GEN. 2011, p. 245-260.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. 3. ed. Curitiba: Herbarium, 1997. 317p.

TOMBOLATO, A. F. C. Seleções IAC de Antúrios. **O Agrônomo**, São Paulo, v. 52, n. 1, p 26-27, 2000.

VASCONCELOS, T. H. C.; MODESTO-FILHO J.; DINIZ, M. F. F. M.; SANTOS, H. B.; AGUIAR, F. B.; MOREIRA, P.V.L. Estudo toxicológico pré-clínico agudo com o extrato hidroalcolico, folhas de *Cissus sicyoides* L. (*Vitaceae*). **Revista Brasileira de Farmacologia**. v.17, n.4p. 583-591, dez/2007.

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: Aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população; **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Rio de Janeiro, v.18, n. 2, p. 308-313, Abr./Jun. 2008.

VOCANSON, M., HENNINO, A., ROZIERES, A., POYET, G.; NICOLAS, J.F. Experimental models of contact dermatitis. **Revue francaise de allergologie** v.47, p.314-317.2007.

WAGNER, A. J.; ARNAOUT R. A.; DEMETRI, G. D. Farmacologia da hematopoiese e imunomodulação; capítulo 43 in: **Princípios de farmacologia – A base Fisiopatológica da Farmacoterapia**, 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A/, 2009, p. 729-741.

WANNAMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. Anti-inflamatórios não-esteroides, cap. 23; em **Farmacologia Clínica – Fundamentos da Terapêutica Racional**, 3. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A./ GEN, 2006; p. 298-305.

WHITE, P. D. Atopia. In: **Manual saunders: clínica de pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 343-351.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo da nossa dissertação desenvolvemos cinco artigos: Verificamos a composição fitoquímica do extrato hidroalcoólico de folhas do *Anthurium affine*, Schott, Verificamos os níveis de toxicidade celular, Verificamos os níveis de toxicidade aguda, estabelecendo os limites críticos de toxicidade, Verificamos a capacidade de inibição da resposta inflamatória em modelo de implante de algodão subcutâneo, Avaliamos os efeitos do extrato em modelo experimental de dermatite em camundongos *Mus musculus*, albino suíço. Observamos neste estudo que as hipóteses iniciais levantadas foram confirmadas, ou seja, que o extrato hidroalcoólico de milho de urubu atuou sobre a resposta inflamatória modelo de implante de algodão subcutâneo, interferindo sobre os eventos relacionados com os mecanismos de deposição de material sobre o algodão implantado, assim como interferiu sobre os mecanismos de sinalização e indução de produção e liberação de leucócitos, colocando-se como um importante agente no processo de inibição do processo inflamatório, sem protagonizar reações de desconforto ou de perturbações álgicas nas condições empregadas neste trabalho.

Outra atuação do extrato ocorreu no modelo experimental de dermatite em camundongos *Mus musculus*, albino suíço, interferindo sobre os eventos relacionados com os mecanismos de reorganização de áreas injuriadas (dermatite experimental, afetando a infiltração de células do tipo polimorfonucleares e mononucleares, assim como interferiu sobre os mecanismos de sinalização envolvidos nos processos de formação de crosta, organização angiogênica e estadiamento de fibroblastos. Este efeito foi mais intenso em animais pré-tratados com indometacina, sugerindo que as ações inibitórias ocorreram mais intensamente sobre o sistema enzimático das cicloxigenases do tipo 1, de natureza constitutiva; portanto um efeito antiinflamatório com características relativamente similares aos antiinflamatórios não esteroidais inibidores de COX-1. Além da descoberta de novos princípios ativos da planta, como Alcalóides, Saponinas e Taninos.

Com a elucidação destas hipóteses, acreditamos que este estudo venha proporcionar a obtenção de um importante recurso no controle das dermatites no âmbito da medicina veterinária, especificamente na clínica de pequenos animais onde a casuística destes distúrbios é bastante elevada, com tratamentos onerosos e pouco eficazes.

Sendo este, o primeiro estudo a trabalhar com o “milho de urubu” no combate a uma dermatopatia experimental, é importante que novos experimentos sejam realizados tendo em vista a elucidação dos reais mecanismos de ação associados com as respostas protagonizadas pelo extrato hidroalcoólico de *A. affine*, Schott, assim como a realização de ensaios de

toxicidade crônica, afim de que seja possível o desenvolvimento de estratégias com maior número de doses e intervalos temporais de monitoramento de processos lesivos mais generosos.