

Biologia, Biotecnologia e Meio Ambiente

Marcia de Fatima Inacio
Larisse Raquel Carvalho
(Organizadoras)



AYA EDITORA
2023

Marcia de Fatima Inacio
Larisse Raquel Carvalho
(Organizadoras)

Biologia, Biotecnologia e Meio Ambiente

Ponta Grossa
2023

Direção Editorial

Prof.º Dr. Adriano Mesquita Soares

Organizadoras

Prof.ª Dr.ª Marcia de Fatima Inacio

Prof.ª Dr.ª Larisse Raquel Carvalho Dias

Capa

AYA Editora©

Revisão

Os Autores

Executiva de Negócios

Ana Lucia Ribeiro Soares

Produção Editorial

AYA Editora©

Imagens de Capa

br.freepik.com

Área do Conhecimento

Ciências Biológicas

Conselho Editorial

Prof.º Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva

Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí

Prof.º Dr. Aknaton Toczec Souza

Centro Universitário Santa Amélia

Prof.ª Dr.ª Andréa Haddad Barbosa

Universidade Estadual de Londrina

Prof.ª Dr.ª Andreia Antunes da Luz

Faculdade Sagrada Família

Prof.º Dr. Argemiro Midonês Bastos

Instituto Federal do Amapá

Prof.º Dr. Carlos López Noriega

Universidade São Judas Tadeu e Lab. Biomecatrônica - Poli - USP

Prof.º Dr. Clécio Danilo Dias da Silva

Centro Universitário FACEX

Prof.ª Dr.ª Daiane Maria de Genaro Chirolí

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.ª Dr.ª Danyelle Andrade Mota

Universidade Federal de Sergipe

Prof.ª Dr.ª Déborah Aparecida Souza dos Reis

Universidade do Estado de Minas Gerais

Prof.ª Ma. Denise Pereira

Faculdade Sudoeste – FASU

Prof.ª Dr.ª Eliana Leal Ferreira Hellvig

Universidade Federal do Paraná

Prof.º Dr. Emerson Monteiro dos Santos

Universidade Federal do Amapá

Prof.º Dr. Fabio José Antonio da Silva

Universidade Estadual de Londrina

Prof.º Dr. Gilberto Zammar

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.ª Dr.ª Helenadja Santos Mota

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, IF Baiano - Campus Valença

Prof.ª Dr.ª Heloísa Thaís Rodrigues de Souza

Universidade Federal de Sergipe

Prof.ª Dr.ª Ingridi Vargas Bortolaso

Universidade de Santa Cruz do Sul

Prof.ª Ma. Jaqueline Fonseca Rodrigues

Faculdade Sagrada Família

Prof.ª Dr.ª Jéssyka Maria Nunes Galvão

Faculdade Santa Helena

Prof.º Dr. João Luiz Kovaleski

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.º Dr. João Paulo Roberti Junior

Universidade Federal de Roraima

Prof.º Me. Jorge Soistak

Faculdade Sagrada Família

Prof.º Dr. José Enildo Elias Bezerra

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Ubajara

Prof.ª Dr.ª Karen Fernanda Bortoloti

Universidade Federal do Paraná

Prof.ª Dr.ª Leozenir Mendes Betim

Faculdade Sagrada Família e Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais

Prof.ª Ma. Lucimara Glap

Faculdade Santana

Prof.º Dr. Luiz Flávio Arreguy Maia-Filho

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof.º Me. Luiz Henrique Domingues

Universidade Norte do Paraná

Prof.º Dr. Milson dos Santos Barbosa

Instituto de Tecnologia e Pesquisa, ITP

Prof.º Dr. Myller Augusto Santos Gomes

Universidade Estadual do Centro-Oeste

Prof.^a Dr.^a Pauline Balabuch

Faculdade Sagrada Família

Prof.º Dr. Pedro Fauth Manhães Miranda

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof.º Dr. Rafael da Silva Fernandes

Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Parauapebas

Prof.^a Dr.^a Regina Negri Pagani

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.º Dr. Ricardo dos Santos Pereira

Instituto Federal do Acre

Prof.^a Ma. Rosângela de França Bail

Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais

Prof.º Dr. Rudy de Barros Ahrens

Faculdade Sagrada Família

Prof.º Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares

Universidade Federal do Piauí

**Prof.^a Dr.^a Silvia Aparecida Medeiros
Rodrigues**

Faculdade Sagrada Família

Prof.^a Dr.^a Silvia Gaia

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**Prof.^a Dr.^a Sueli de Fátima de Oliveira
Miranda Santos**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.^a Dr.^a Thaisa Rodrigues

Instituto Federal de Santa Catarina

© 2023 - **AYA Editora** - O conteúdo deste Livro foi enviado pelos autores para publicação de acesso aberto, sob os termos e condições da Licença de Atribuição *Creative Commons* 4.0 Internacional (**CC BY 4.0**). Este livro, incluindo todas as ilustrações, informações e opiniões nele contidas, é resultado da criação intelectual exclusiva dos autores. Os autores detêm total responsabilidade pelo conteúdo apresentado, o qual reflete única e inteiramente a sua perspectiva e interpretação pessoal. É importante salientar que o conteúdo deste livro não representa, necessariamente, a visão ou opinião da editora. A função da editora foi estritamente técnica, limitando-se ao serviço de diagramação e registro da obra, sem qualquer influência sobre o conteúdo apresentado ou opiniões expressas. Portanto, quaisquer questionamentos, interpretações ou inferências decorrentes do conteúdo deste livro, devem ser direcionados exclusivamente aos autores.

B6155 Biologia, biotecnologia e meio ambiente [recurso eletrônico]. / Marcia de Fatima Inacio, Larisse Raquel Carvalho (organizadoras). -- Ponta Grossa: Aya, 2023. 77 p.

Inclui biografia
Inclui índice
Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
ISBN: 978-65-5379-394-1
DOI: 10.47573/aya.5379.2.253

1. Biologia. 2. Engenharia genética. 3. Toxinas botulínicas - Uso terapêutico. 4. Gestão ambiental. I. Inacio, Marcia de Fatima. II. Carvalho, Larisse Raquel. III. Título

CDD: 660.6

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Bruna Cristina Bonini - CRB 9/1347

International Scientific Journals Publicações de Periódicos e Editora LTDA

AYA Editora©

CNPJ: 36.140.631/0001-53
Fone: +55 42 3086-3131
WhatsApp: +55 42 99906-0630
E-mail: contato@ayaeditora.com.br
Site: <https://ayaeditora.com.br>
Endereço: Rua João Rabello Coutinho, 557
Ponta Grossa - Paraná - Brasil
84.071-150

SUMÁRIO

Apresentação..... 8

01

Educação ambiental: análise nas práticas pedagógicas do município de Floriano-PI..... 9

Ádria Amorim Avelino
Carlos Eduardo Santos Feitosa
Isadora Farias dos Santos
Odivette Maria Soares Felix

DOI: 10.47573/aya.5379.2.253.1

02

Incidência de aves marinhas costeiras em Arraial do Cabo, estado do Rio de Janeiro, Brasil 14

Maria Laura Silva Silveira
Rayane Aparecida de Souza
Jessé Garcia de Oliveira
Renan Rodrigues Felix Neres
Ana Carla Vita Lacerda
Douglas Barbosa Castro
Felipe da Silva Costa

DOI: 10.47573/aya.5379.2.253.2

03

Toxicidade da aflotoxina B1 no organismo humano – distúrbios gástricos ao câncer hepatocelular: revisão da literatura 26

Daniel Ben Judah Melo de Sabino
Gregório Otto Bento de Oliveira
Ikaro Alves de Andrade

Alexandre Pereira dos Santos
Nádia Carolina da Rocha Neves
Jackson Henrique Emmanuel de Santana
Alexandra Barbosa da Silva
Scarlat Goulart Ramos dos Anjos
Camille Silva Florencio
Marcela Gomes Rola

DOI: 10.47573/aya.5379.2.253.3

04

A ascensão da engenharia genética no tratamento de doenças genéticas: uma revisão da literatura 38

Lucas dos Santos Sa

DOI: 10.47573/aya.5379.2.253.4

05

Viabilidade celular de bactérias fixadoras de nitrogênio isoladas de nódulos após armazenagem..... 52

Larisse Raquel Carvalho Dias
Antônia Alice Costa Rodrigues
Leonardo de Jesus Machado Gois de Oliveira
Erlen Keila Candido e Silva
Érica Louzeiro Cunha
Larissa Ramos dos Santos
Edson Pimenta Moreira
Lorena Rejane Monteiro Farias
Maria Francisca Oliveira Borba
Gislaynne Barcelos do Nascimento

DOI: 10.47573/aya.5379.2.253.5

06

Aplicação da Toxina Botulínica (TB) em procedimentos estéticos faciais..... 60

Maria Eduarda Santos Aires

DOI: 10.47573/aya.5379.2.253.6

Organizadoras..... 72

Índice Remissivo..... 73

Apresentação

Apresentamos com entusiasmo o livro “**Biologia, Biotecnologia e Meio Ambiente**”, um compêndio essencial para estudantes, professores e profissionais interessados na complexa relação entre seres vivos e o lugar em que vivem. Este livro, organizado em seis capítulos, é uma vitrine de estudos e análises contemporâneas que abordam aspectos cruciais das ciências biológicas e suas aplicações práticas.

O primeiro capítulo mergulha na educação ambiental em Floriano-PI, destacando sua importância na formação de uma consciência ecológica. Este é um exemplo de como a educação pode ser uma ferramenta de mudança para a sustentabilidade.

Avançamos para Arraial do Cabo no segundo capítulo, onde um estudo sobre aves marinhas costeiras joga luz sobre a riqueza da biodiversidade e sua preservação.

No terceiro capítulo, a obra concentra-se nos perigos da aflotoxina B1, uma substância tóxica que pode afetar gravemente a saúde humana, desde problemas gástricos até o câncer de fígado.

O quarto capítulo nos leva ao campo da engenharia genética, explorando seu papel revolucionário no tratamento de doenças genéticas, oferecendo um panorama das inovações e desafios da área.

O quinto capítulo analisa como bactérias fixadoras de nitrogênio se mantêm viáveis após serem armazenadas, com implicações importantes para a agricultura e gestão ambiental.

Por fim, o sexto capítulo discute a aplicação médica da Toxina Botulínica em estética facial, evidenciando a conexão entre biotecnologia e bem-estar.

Este livro é uma contribuição valiosa à literatura científica, servindo como um recurso informativo para avançar no conhecimento e inspirar novas pesquisas no vasto campo da biologia.

Boa leitura!

Educação ambiental: análise nas práticas pedagógicas do município de Floriano-PI

Ádria Amorim Avelino

Graduanda em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal do Piauí - Campus Floriano

Carlos Eduardo Santos Feitosa

Graduando em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal do Piauí - Campus Floriano

Isadora Farias dos Santos

Graduanda em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal do Piauí - Campus Floriano

Odivette Maria Soares Felix

Professora Orientadora e Especialista do Instituto Federal do Piauí

RESUMO

O estudo a seguir descreve um projeto realizado por estudantes, no qual visitaram uma escola com o objetivo de estabelecer uma união com a gestão, conhecer como está sendo aplicada a educação ambiental e obter conhecimento sobre as atividades a serem aplicadas posteriormente. Em seguida, ocorreu a aplicação de um experimento durante as visitas, baseado nas metas e estratégias do Plano Municipal de Educação Ambiental (PMEA). O PMEa tem como objetivo promover a educação ambiental de forma integrada e participativa, envolvendo diversos setores da sociedade. Os resultados obtidos forneceram um aprimoramento das práticas educacionais nesta temática, buscando formar cidadãos mais conscientes e engajados com preservação, conservação e sustentabilidade.

Palavras-chave: sustentabilidade. educação ambiental. conscientização ambiental. preservação. práticas educacionais.

ABSTRACT

The following study describes a project carried out by students, in which they visited a school with the aim of establishing a union with the management, knowing how environmental education is being applied and obtaining knowledge about the activities to be applied later. Then, an experiment was applied during the visits, based on the goals and strategies of the Municipal Environmental Education Plan (PMEA). The PMEa aims to promote environmental education in an integrated and participatory way, involving different sectors of society. The results obtained provided us with an improvement of educational practices in this theme, seeking to form more aware citizens and engaged with preservation, conservation and sustainability.

Keywords: sustainability. environmental education. environmental awareness. preservation. educational practices.



INTRODUÇÃO

A educação ambiental é um tema de extrema relevância e atualidade, especialmente no contexto das escolas. Através da incorporação de práticas e conteúdos relacionados ao meio ambiente, as instituições de ensino têm a oportunidade de formar cidadãos conscientes e engajados em questões ambientais. A educação ambiental nas escolas visa desenvolver nos alunos uma compreensão aprofundada sobre a importância da preservação do meio ambiente, incentivando atitudes sustentáveis e responsáveis em relação à natureza e aos recursos naturais.

Baseado nos estudos de Oliveira (2007, p.106) ao incorporar a educação ambiental em seus currículos e práticas pedagógicas, as escolas podem desempenhar um papel fundamental na formação de uma geração comprometida com a preservação do meio ambiente. Além disso, a educação ambiental nas escolas permite que os alunos adquiram conhecimentos científicos, compreendam os efeitos das ações humanas no ambiente e desenvolvam habilidades para tomar decisões responsáveis em relação ao uso dos recursos naturais.

Neste contexto, torna-se crucial que as escolas adotem métodos e estratégias para promover a educação ambiental de forma efetiva. Isso inclui a utilização de métodos de ensino inovadores, como aulas práticas, projetos de sustentabilidade, visitas a áreas naturais e participação ativa dos alunos em atividades de preservação ambiental.

A escolha do tema decorre do fato de a educação ambiental ser frequentemente subestimada, mesmo o mundo estando passando por problemas ambientais de alta gravidade. Esta pesquisa teve como objetivo conhecer como está sendo praticada a educação ambiental na Unidade Escolar Monsenhor Lindolfo Uchôa conforme o institucionalizado pelo PMEA-2019 (Plano Municipal de Educação Ambiental) o ensino e a promoção de práticas ambientais.

Com o projeto aplicado na escola espera-se que os alunos que participaram ativamente das atividades possam contribuir positivamente na preservação ambiental da cidade. Contudo, este artigo tem foco de apresentar as etapas feitas no projeto e abordar sobre a educação ambiental na escola trabalhada.

METODOLOGIA

Este estudo constitui-se em uma pesquisa descritiva qualitativa, visto que se analisou a qualidade da educação ambiental que está sendo ministrada na escola por meio de questionário como coleta de dados. No livro como elaborar projetos de pesquisa Gil (2002, p.42) afirma que:

As pesquisas descritivas têm como objetivo primordial a descrição das características de determinada população ou fenômeno ou, então, o estabelecimento de relações entre variáveis. São inúmeros os estudos que podem ser classificados sob este título e uma de suas características mais significativas está na utilização de técnicas padronizadas de coleta de dados, tais como o questionário e a observação sistemática. (Gil, 2002, p.42)

Após análise das respostas, foi ministrada uma palestra para os alunos sobre

educação ambiental, como forma de complemento educacional levando em consideração que os dados obtidos durante o levantamento apontam que a escola tem um nível consideravelmente razoável de ensino ambiental.

O público-alvo da pesquisa foram alunos do 9º ano, com a professora de ciências responsável pela turma, vale ressaltar que a modalidade de ensino da escola é EJA (Educação de Jovens e Adultos). O questionário foi elaborado com seis perguntas objetivas para avaliar a qualidade do ensino ambiental e, a palestra aplicada foi feita da maneira mais dinâmica possível, incentivando a interação dos alunos junto a um *quiz* com brindes ao final da apresentação.

Este artigo é um relatório final que apresenta o objetivo, a metodologia, os resultados, a análise dos dados obtidos e as considerações finais baseadas em todo o processo de pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

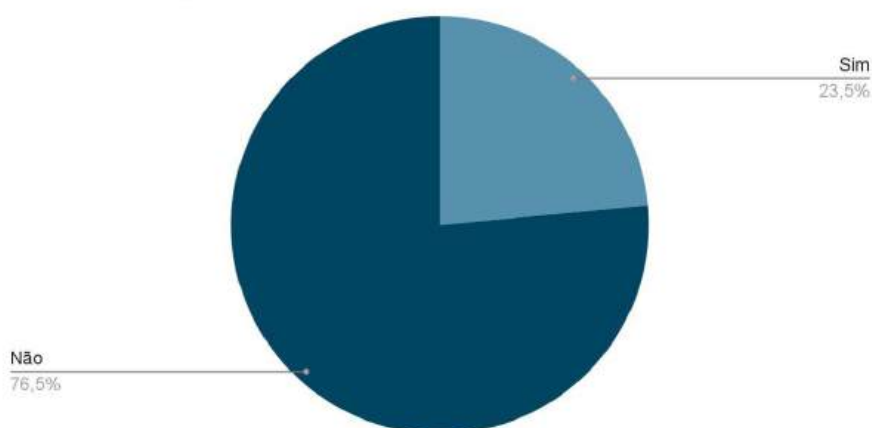
Inicialmente, foi organizado e realizado pelos discentes uma visita à escola portando um ofício emitido pela coordenação do curso com o intuito de estabelecer um vínculo com a gestão a fim de obterem consciência das atividades que iriam ser posteriormente aplicadas.

Na segunda etapa, elaborou-se um processo investigativo mediante aplicação de um questionário durante as visitas, e tiveram como fundamento as metas 3,1 e estratégias 3,2 do PMEA (Plano Municipal de Educação Ambiental) que atualmente visa a promoção da educação ambiental de forma integrada e participativa, envolvendo diferentes setores da sociedade, como escolas, organizações não governamentais, empresas, órgãos públicos e comunidades locais. Ele procura contribuir para a conservação e o uso sustentável dos recursos naturais, a melhoria da qualidade de vida e a construção de uma sociedade mais justa e ecologicamente equilibrada.

Baseando-se no PMEA (CAMPINAS, 2016) é possível afirmar que: no processo de elaboração, são realizados diagnósticos ambientais para identificar os desafios e oportunidades locais, além de serem alcançados objetivos, metas e estratégias para o período de vigência do plano, geralmente de médio ou longo prazo. É importante ressaltar que cada município pode adaptar o seu PMEA de acordo com suas necessidades específicas, considerando as características e peculiaridades da região.

Sucessivamente, realizou-se uma análise dos dados obtidos por meio das respostas documentadas. Essa análise permitiu identificar pontos fortes e fracos da educação ambiental na escola, bem como áreas que demandam maior atenção e investimento.

Na sua escola é realizada a promoção de ações abordando o tema "educação ambiental"?



Durante o levantamento foram realizadas perguntas com base no tema principal que é a educação ambiental, onde 76% dos alunos afirmaram não haver promoção de ações abordando o tema “educação ambiental” na escola.

Com base nos resultados da análise, foi desenvolvido uma palestra sobre educação ambiental direcionada aos alunos envolvidos no projeto. A palestra abordou temas relevantes, destacando a importância da sustentabilidade, da preservação e da conservação, tendo como tópicos principais os 3 “erres”: reduzir, reutilizar e reciclar. Seguindo uma análise atual e a preocupação para com o futuro da espécie humana Antikeira & Sekine (2020, p.71) afirmam que:

Analizando a situação atual e as possíveis perspectivas de futuro para a espécie humana, há uma necessidade urgente de que os 3 ERRES sejam mais que recomendações e se tornem princípios para um mundo pós-pandemia, incluindo na lista outros ERRES que são cruciais para a humanidade. (ANTIQUERA & SEKINE, 2020, p. 71)

Juntamente a palestra foi realizado um *quiz* interativo onde a turma que foi dividida em dois grupos com um mediador em cada um para maior controle da metodologia, no quiz foi adicionado perguntas relacionadas ao tema principal da palestra, sustentabilidade, preservação e conservação. Para Dermeval (2016) a utilização de tics na educação é uma maneira de acompanharmos e nos adequar a atual geração tecnológica que está tão familiarizada com tais inovações em seu cotidiano que torna interessante tais métodos nos meios de aprendizagem.

Após o processo investigativo, elaborou-se um relatório que engloba todas as etapas do projeto, para atender os requisitos da disciplina de projeto integrador III. O relatório apresentou o objetivo do projeto, a metodologia empregada, os resultados da pesquisa, a análise dos dados obtidos durante a coleta, as funções realizadas por cada discente e as considerações finais baseadas em todo o processo da pesquisa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa descritiva qualitativa realizada neste projeto permitiu analisar a qualidade da educação ambiental em uma escola com modalidade de ensino de jovens e adultos. Por meio do diálogo, do questionário e da palestra aplicada, identificou-se os pontos fortes e áreas onde poderiam ser levadas melhorias na abordagem de ensino da educação ambiental. Os resultados obtidos nos forneceram um aprimoramento das práticas educacionais nesta temática, buscando formar cidadãos mais conscientes e engajados com preservação, conservação e sustentabilidade. Este artigo foi um requisito apresentado no modelo inicial do projeto e serviu como consolidação dos resultados esperados e alcançados ao decorrer desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ANTIQUERA, Lia; SEKINE, Elizabete. Os “Erres” pós pandemia: princípios para a sustentabilidade e cidadania. São Paulo: Revbea, 2020.
- BRUZZI, Demerval. Uso da tecnologia na educação, da história à realidade atual. GOIÁS: Polyphonia, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5216/rp.v27i1.42325>
- GIL, Antonio. Como elaborar projetos de pesquisa. 4. Ed. São Paulo: Atlas, 2002
- BRASIL. Ministério da Educação. Vamos cuidar do Brasil: conceitos e práticas em educação ambiental na escola. Brasília: ME, 2007.
- SANTOS, Flávia; GRECA, Ileana. A PESQUISA em ensino de ciências no Brasil e suas metodologias. 2. Ed. RS: UNIJUÍ, 2011.
- PREFEITURA DE CAMPINAS. Plano Municipal de Educação Ambiental. 2016. Disponível em: <https://www.campinas.sp.gov.br/arquivos/meio-ambiente/pmea-volume-ii.pdf>
- PREFEITURA DE FLORIANO. Plano Municipal de Educação Ambiental. 2019.

Capítulo 02

Incidência de aves marinhas costeiras em Arraial do Cabo, estado do Rio de Janeiro, Brasil

Maria Laura Silva Silveira

Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Santa Marcelina, Muriaé, Minas Gerais

Rayane Aparecida de Souza

Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Santa Marcelina, Muriaé, Minas Gerais

Jessé Garcia de Oliveira

Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Santa Marcelina, Muriaé, Minas Gerais

Renan Rodrigues Felix Neres

Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Santa Marcelina, Muriaé, Minas Gerais

Ana Carla Vita Lacerda

Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Santa Marcelina, Muriaé, Minas Gerais

Douglas Barbosa Castro

Orientadores e professores do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Santa Marcelina, Muriaé, Minas Gerais

Felipe da Silva Costa

Orientadores e professores do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Santa Marcelina, Muriaé, Minas Gerais

RESUMO

As aves costeiras são importantes elementos do ecossistema marinho, sendo conhecidas por se adaptarem de maneira eficiente a esse meio. Em virtude disso, o estudo tem como finalidade avaliar a sazonalidade da abundância desses animais nas praias de Arraial do Cabo, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Sendo assim, para desenvolver o projeto, além do desempenho da análise bibliográfica com base em artigos científicos, os discentes estiveram presentes na Praia dos Anjos, na Praia Grande e no Pontal do Atalaia para realizar a captura de dados e fotos das espécies *Laurus dominicanus*, *Sula leucogaster*, *Nannopterum brasilianus* e *Sterna hirundinacea*.

Palavras-chave: aves marinhas. *Laurus dominicanus*. ecologia.

ABSTRACT

Coastal birds are essential elements of the marine ecosystem, is known to adapt efficiently to this environment. Because of this, the study aims to evaluate the seasonality of the abundance of these animals that use the beaches of Arraial do Cabo, in the State of Rio de Janeiro, Brazil. Thus, to execute the project, in addition to the performance of the bibliographic



analysis based on scientific articles, the students went to Praia dos Anjos, Praia Grande and Pontal do Atalaia to perform data capture and photos of the species *Laurus dominicanus*, *Sula leucogaster*, *Nannopterum brasilianus* and *Sterna hirundinacea*.

Keywords: seabirds. *Laurus Dominicanus*. ecology.

INTRODUÇÃO

O trabalho avaliou a sazonalidade da abundância desses animais no litoral, visto que atualmente existem apenas registros alusivos aos episódios de reprodução das aves nas ilhas costeiras. O seu monitoramento é necessário para o desenvolvimento de estratégias a favor da diminuição dos impactos humanos, além de servir para estudos a respeito das alterações climáticas e ambientais do ecossistema e ser um bioindicador ecológico de poluentes químicos e resíduos sólidos no meio ambiente. Portanto, podem existir potenciais descobertas de espécies, até então desconhecidas em uma área, devido à proximidade do Brasil com as áreas de reprodução no Hemisfério Sul, fazendo com que seja catalogado um número maior de indivíduos provenientes do sul do continente, assim como aquelas do Hemisfério Norte que realizam migração trans-equatorial no verão.

JUSTIFICATIVA

As regiões costeiras de Arraial do Cabo são habitats de grande importância ecológica, mas carece de estudos abrangentes a respeito das aves que as habitam, com isso a falta de conhecimento sobre a diversidade da ave e sua ecologia dificulta a implementação de estratégias de conservação eficazes. Esta área pode abrigar aves costeiras ameaçadas de extinção, cuja sobrevivência depende da preservação do seu habitat específico, desse modo, identificar e documentar estas espécies é essencial para o planejamento de medidas de conservação eficazes.

Ademais, as aves costeiras ocupam frequentemente ecossistemas sensíveis, como praias, falésias e zonas de estuário, e estas localidades enfrentam uma pressão crescente da urbanização, do turismo e das alterações climáticas. Portanto, é importante entender como essas aves interagem com esses ambientes em mudança.

Além do aspecto científico, o projeto também é capaz de conscientizar a população sobre a importância da biodiversidade local e da conservação dos ecossistemas costeiros, podendo levar a um maior envolvimento da comunidade na proteção destes ambientes em benefício a esses animais por ser um excelente indicador da saúde dos ecossistemas costeiros e marinhos. As mudanças nas populações ou no seu comportamento podem refletir mudanças nos recursos naturais disponíveis, na qualidade da água e noutros factores ambientais.

OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho é o levantamento estratégico de avifauna nas regiões costeiras de Arraial do Cabo que possuem maior presença da ação antrópica para identificação de espécies presentes nos territórios selecionados e possíveis ações humanas que possam intervir na ausência da diversidade local.

Assim, foi desenvolvido com intuito de alcançar uma compreensão abrangente da diversidade e ecologia das aves que habitam o ambiente costeiro desta região. Dessa forma, o objetivo principal foi identificar e documentar as espécies de aves marinhas costeiras presentes no local, envolvendo a caracterização detalhada das aves residentes, migratórias e potencialmente ameaçadas que utilizam estes habitats.

Buscou-se quantificar a abundância relativa de cada espécie de ave ao longo das diferentes áreas costeiras da região, a análise forneceu uma compreensão das preferências de habitat e possíveis populações de aves ao longo da costa, assim como, avaliar as interações entre as aves costeiras e os recursos marinhos locais, incluindo forrageamento, nidificação e comportamentos relacionados. Esta análise fornece informações sobre as relações ecológicas presentes nos ecossistemas costeiros e visa avaliar possíveis impactos humanos e ambientais nas populações de aves costeiras, bem como analisar os efeitos de fatores como a poluição e as alterações climáticas.

REFERENCIAL TEÓRICO

O Brasil é um país diverso em fauna e flora, tendo em sua diversidade biológica um destaque importantíssimo na América do Sul, considerado um continente das aves e tendo aproximadamente um terço das espécies de aves existentes na terra (CRBO, 2007).

As aves representam em sua totalidade um dos grupos mais diversos e belos do mundo, em destaque pela sua aparência e os papéis que são atribuídos no equilíbrio ecológico, na qual são de eximia importância na dispersão de sementes, polinização de flores, além de auxiliar na reprodução de plantas e reagir no controle de pragas contaminantes. (CIAMBELLI, 2008, p. 1).

Segundo Cardoso (2022): “é cada vez mais importante conhecer a biodiversidade de uma região para ações de conservação e para avaliação do ambiente local [...]”. É de conhecimento cada vez mais generalizado que ocorrem alterações constantes no meio ambiente, sejam eles associados à clima, ação antrópica ou evoluções, assim, o levantamento avifaunístico vem como ferramenta indispensável para coleta de dados históricos de um determinado nicho ou ambiente e posteriormente utensílio de estudos nas áreas onde o levantamento é aplicado. O estudo de diversidade da avifauna brasileira pode contribuir e estimular novos profissionais e estudantes na área das ciências biológicas, nos estudos de campo e sua execução. (CARDOSO, 2022).

A vida das aves marinhas nos oceanos é uma jornada desafiadora que requer adaptações físicas, comportamentais e de sobrevivências únicas. Essas aves desenvolveram estratégias notáveis para enfrentar os obstáculos impostos pelo ambiente marinho,

contribuindo de maneira significativa para a biodiversidade e o equilíbrio dos ecossistemas marinhos. Um desses desafios é a sua alimentação. Os seres humanos indevidamente oferecem alimentos prejudiciais à saúde desses animais, o que pode resultar em uma série de riscos substanciais. Alimentos inadequados, como pão, salgadinhos e outros produtos processados oferecidos por humanos, não fornecem os nutrientes necessários para as aves marinhas. Isso pode resultar em deficiências nutricionais, enfraquecimento do sistema imunológico e aumento da vulnerabilidade a doenças (NUNES *et al.*, 2023). Além disso, a alimentação por humanos pode levar as aves a dependerem desses alimentos em vez de procurar por fontes naturais. Isso pode afetar negativamente suas habilidades de caça e forrageamento, tornando-as menos aptas a sobreviverem na natureza, afetando o equilíbrio natural do ecossistema. Por exemplo, se as aves deixarem de consumir suas presas naturais, poderá haver um aumento descontrolado dessas presas, impactando outras espécies e o ambiente como um todo.

A alta taxa de mortalidade de aves marinhas também se resulta devido à pescaria de espinhel pelágico, uma técnica de pesca que envolve o uso de uma linha-mestra longa, na qual são fixadas linhas secundárias equipadas com anzóis e iscas. Essa técnica é frequentemente usada para capturar grandes predadores marinhos, como atuns, tubarões e espadartes, que são alvos valiosos para a indústria pesqueira. No entanto, essa técnica de pesca também tem um impacto significativo nas aves marinhas, especialmente nas espécies como os albatrozes. As aves são atraídas pela isca e pelos peixes capturados na linha e podem se enroscar nas linhas de pesca, resultando em captura incidental. Isso ocorre porque muitas aves, como os albatrozes, voam atrás dos barcos pesqueiros em busca de restos de comida ou iscas descartadas. (NUNES *et al.*, 2023)

Outro fator existente na vida ameaçada das aves marinhas é a ingestão de lixo, onde muitas das vezes o lixo marinho, especialmente o plástico, representa um grave problema nos oceanos e tem impactos negativos diretos nas aves marinhas e em outros animais, muitas aves confundem pedaços de plástico e outros detritos com alimento. O plástico flutuante pode parecer com peixes ou outros itens alimentares, levando as aves a ingerirem esses materiais por engano levando a saúde desses animais em uma situação decadente, podendo causar obstrução no trato digestivo, o que leva a desnutrição e enfraquecimento, fazendo com que as aves fiquem vulneráveis a outras doenças. Além dos problemas físicos alguns plásticos contêm substâncias químicas tóxicas que podem ser liberadas no organismo das aves marinhas após a ingestão. Essas substâncias podem causar intoxicação e danos aos órgãos internos. (NUNES *et al.*, 2023)

MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado na Praia dos Anjos entre as coordenadas 22°58'31.57"S 42° 1'15.52"O e 22°58'23.12"S 42° 1'13.59"O, na Praia Grande entre 22°58'19.82"S 42° 1'56.54"O e 22°58'16.81"S 42° 1'58.77"O, na Praia do Forno entre 22°57'51.96"S 42° 0'49.95"O e 22°57'53.50"S 42° 0'52.00"O e no Pontal do Atalaia no ponto 22°59'13.11"S 42° 0'42.19"O, assim como em mar aberto, onde realizada prática de mergulho, nas

proximidades da coordenada 22°57'55.03"S 42° 0'3.06"O, em Arraial do Cabo, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. O trabalho foi desenvolvido por caminhamento nas praias, navegação e mergulho no ponto em alto mar, e por observação visual e registros fotográficos para posterior identificação das aves.

Coleta de dados

Os registros foram feitos nos dias 23, 24 e 25 de setembro de 2022, durante a temporada de mergulho. Primeiramente, se realizou o levantamento aproximadamente às 11:20 da manhã do dia 23/09 na Praia dos Anjos ao longo do percurso demarcado na figura 1.1 obtendo um total de vinte e três indivíduos da espécie *Laurus dominicanus* e um da espécie *Nannopterum brasilianus*. Logo, na Praia Grande, local marcado na figura 1.2, a partir da 15:30 desse mesmo dia, apontou-se dezesseis aves da espécies *Laurus dominicanus* e onze da *Sterna hirundinacea*. No dia 24/09, a princípio, foram registrados cinco espécimes de Gaivotão (*Laurus dominicanus*) e dezoito da espécie *Sula leucogaster* por volta da 10 horas da manhã até às 13 horas na região marcada na figura 1.5, ponto em que ocorreu o mergulho. Em seguida, em torno das 16 horas desse mesmo dia, apontou-se apenas quatro indivíduos de Gaivotão (*Laurus dominicanus*). No domingo, dia 25/09, próximo às 9 horas da manhã no local determinado na figura 1.4, na praia do Pontal do Atalaia, se teve registro de quatro Atobás-pardo (*Sula leucogaster*) e nove de Gaivotão (*Laurus dominicanus*).

Análise dos dados

Baseado na coleta de dados, é possível observar que apesar do grande número de espécies presentes na fauna costeira, foram vistos e contabilizados poucos exemplares de espécies que servem como bioindicadores, apontando uma grande influência humana nas espécies de pássaros presentes no litoral.

Figura 1.1 - Área de estudo, localizada na Praia dos Anjos em Arraial do Cabo, RJ.



Figura 1.2 - Área de estudo, localizada na Praia Grande em Arraial do Cabo, RJ.



Figura 1.3 - Área de estudo, localizada na Praia do Forno em Arraial do Cabo, RJ.



Figura 1.4 - Área de estudo, localizada no Pontal do Atalaia em Arraial do Cabo, RJ.



Figura 1.5 - Área de estudo, localizado no local em que se realizou o mergulho (22°57'55.03"S 42° 0'3.06"O).



Fig. 2.1. Gráfico do Levantamento de espécies de aves a partir do agrupamento por localização.

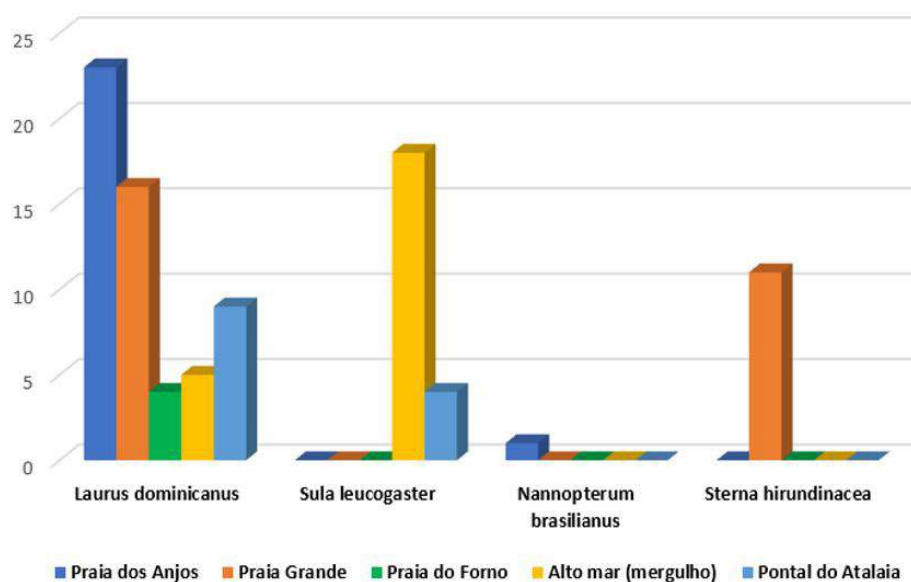
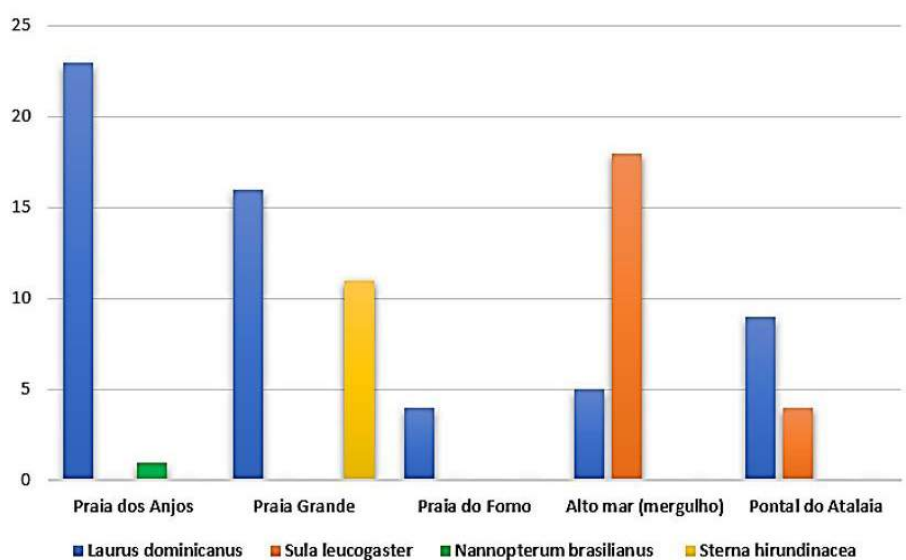


Fig. 2.2. Gráfico do Levantamento a partir do agrupamento por espécies.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos dados apresentados nos gráficos acima, conclui-se que a Praia dos Anjos apresentou maior abundância de aves quando comparado as demais regiões costeiras estudadas, sendo válido ressaltar que o percurso em que se realizou o levantamento desses animais foi maior do que o feito em outros locais. Vale ressaltar que, o número de indivíduos de *Larus dominicanus* foi superior às demais espécies por provavelmente se tratar de uma ave com dieta generalista e oportunista se alimenta de peixes, moluscos, artrópodes ou até mesmo resíduos humanos como restos de alimentos. Com isso, como as regiões estudadas são utilizadas por banhistas que, muitas vezes, oferecem alimentos de consumo próprio a esses animais, permitindo que se crie uma relação de aproximação e aproveitamento por parte das gaivotas. Ademais, elas se aproveitam dos e resíduos gerados pelos frequentadores das praias – segundo um estudo publicado em 27 de Dezembro na revista científica *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, cientistas encontraram muitos resíduos, desde plásticos a pedaços de metal e vidro em estômagos de quarenta e um animais, podendo provocar problemas no trato digestivo como úlceras e infecções, além de, substâncias liberadas pelo plástico após a sua ingestão interferir no sistema endócrino. Pode se afirmar, também, que o número superior de indivíduos dessa espécie é devido ao seu período de reprodução, caracterizado pelo deslocamento dessas aves para ilhas, demarcação de território e construção dos ninhos no solo, ocorrendo de março a setembro, seguido da redução deste comportamento em outubro e ausência das gaivotas a partir de dezembro.

Em segundo plano, temos o registro de um grande número de indivíduos da espécie Atobá-pardo (*Sula leucogaster*), principalmente na região costeira próximo ao alto mar, em razão aos hábitos reprodutivos dessa espécie, que nidifica na Ilha dos Franceses e se alimenta em águas próximas às colônias reprodutivas, em razão da área estudada ser diretamente influenciada pelo fenômeno de ressurgências, em que ocorre o aumento da produtividade biológica local após ser conduzida para a superfície do mar a partir das águas frias e ricas em nutrientes.

Figura 3.1 - Gaivota adulta (*Larus dominicanus*) na Praia dos Anjos, em Arraial do Cabo, RJ.



Figura 3.2 - Gaivota jovem (*Larus dominicanus*) na Praia Grande, em Arraial do Cabo, RJ.



Esses animais precisam encontrar muito alimento para realizarem a postura dos ovos ou, aqueles que já possuem filhotes, necessitam nutrir a cria em um curto espaço de tempo para garantir o bom desenvolvimento de sua prole, assim como, a si mesmos por se reproduzirem ao longo de todo o ano (COELHO *et al.*, 2004). Observou-se que, o *Larus dominicanus* se mantinha próximo às colônias reprodutivas do Atobá-pardo (*S. leucogaster*) pelo hábito cleptoparasita, por conta da pressão competitiva no mesmo ambiente de outras espécies. É válido constatar que, em ambas as espécies se observou indivíduos jovens juntamente com os adultos.

A respeito das espécies *Nannopterum brasilianus* e *Sterna hirundinacea*, com base nos registros feitos, estas tiveram baixa frequência e foram pouco abundantes. No caso do Trinta-réis-de-bico-vermelho (*S. hirundinacea*), trata-se de uma espécie que nidifica principalmente na Baía de Guanabara, no Rio de Janeiro, e ao longo da região costeira do Espírito Santo (YORIO *et al.*, 2008), bem como, sua baixa abundância está relacionada à exclusão competitiva contra o Atobá-pardo (*S. leucogaster*) pois, estes possuem maior tamanho corporal em comparação ao Trinta-réis (*S. hirundinacea*), por causa disso, são excluídos de regiões com maior disponibilidade de alimento sendo obrigados a se alimentarem em áreas menos produtivas (BALLANCE, 1997). Enquanto, que o Mergulhão (*Nannopterum brasilianus*) foi visto apenas no momento em que se alimentava de forma solitária, assim, mergulhando a partir da superfície da água e perseguindo sua presa. Esse hábito alimentar deve-se à sua característica como bom nadador, preferindo águas mais profundas para conseguir seu alimento (MORRISON, 1979). Vale acentuar que, sua baixa incidência durante a coleta de dados afere-se com a época de reprodução desses animais, quando se encontram nas colônias reprodutivas (QUINTANA, 2004), normalmente ocorre em abril até junho.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, conclui-se que os hábitos alimentares e os períodos reprodutivos inferem no resultado do estudo. Por essa razão, a espécie *Laurus dominicanus* foi mais abundante em comparação as outras. Vale acrescentar que, por conta da urbanização próximo ao litoral em Arraial do Cabo, assim como a presença humana durante a estação de verão devido o turismo, o lixo e materiais de pesca presentes na coluna da água ameaçam a integridade desses animais, sendo frequentemente alvos da captura incidental – visto que a cidade possui comunidades pesqueiras ativas – além da ingestão de resíduos que prejudicam sua saúde. Sendo assim, é necessário ser feito novos levantamento da avifauna durante um período maior, para avaliar como esses fatores podem alterar a composição das espécies de aves marinhas costeiras.

REFERÊNCIAS

As imagens são de autoria própria. Projeto Aves Marinhas - UNIVALI - Disponível em: <http://avesmarinhas.com.br/trinta_reis_bv.htm> Acesso em: 09/11/2022

SIGRIST, T. Avifauna Brasileira: The avis brasiliis field guide to the birds of Brazil, 1ª edição, São Paulo: Editora Avis Brasiliis, 2009. Disponível em: <<https://www.wikiaves.com.br/wiki/bigua>> Acesso em: 09/11/2022

CLEMENTS, J. F.; The Clements Checklist of Birds of the World. Cornell: Cornell University Press, 2005. <<https://www.wikiaves.com.br/wiki/gaivotao>> Acesso em: 09/11/2022

BRANCO, Joaquim Olinto, Luis Augusto Ebert. Estrutura populacional de *Larus dominicanus* Lichtenstein, 1823 no estuário do Saco da Fazenda, Itajaí, SC. Disponível em <<http://www.avesmarinhas.com.br/20.pdf>> Acesso em: 09/11/2022

DANTAS, Gisele Pires de Mendonça. Biologia Reprodutiva, estrutura populacional e variabilidade genética de *Larus dominicanus* (Resumo Original). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2007. Disponível em <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41131/tde-19122007-142419/>> Acesso em: 07/11/2022

CARDOSO, Reinaldo Côrrea Júnior Côrrea Júnior *et al.* Métodos de levantamentos quantitativos e qualitativos da avifauna. Caderno Intersaberes, v. 11, n. 35, p. 96-110, 2022.

CIAMBELLI, Ciamara Perroni. Levantamento de aves e sua contribuição para a recuperação da Floresta Estadual de Botucatu–Botucatu/SP. 2008.

CBRO. 2007. Lista das aves do Brasil. 6ª edição (16 de agosto de 2007). Comitê Brasileiro. de Registros Ornitológicos, Sociedade Brasileira de Ornitologia.

COELHO, E.P., Alves, V.S., Soares, A.B.A., Couto, G.S., Efe, M.A., Ribeiro, A.B.B., Vieliard, J., Gonzaga, L.P., 2004. O atobá– marrom (*Sula leucogaster*) na Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo, Rio de Janeiro, Brasil. p. 233–254. In: Aves marinhas e insulares brasileiras: bioecologia e conservação (Organizado por Joaquim Olinto Branco). Ed. UNIVALI, Itajaí, SC.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. 2012. Spotlight on seabirds. Disponível em: <<http://www.birdlife.org/datazone>>. Acesso em: 01/11/2022

- BIRDLIFE INTERNATIONAL. 2018. Species factsheet *Larus dominicanus*. Disponível em <<http://www.birdlife.org>> Acesso em: 01/11/2022
- BRANCO, J.O. 2004. Aves marinhas das Ilhas de Santa Catarina. p.15–36 In: Aves marinhas e insulares brasileiras: bioecologia e conservação (Organizado por Joaquim Olinto Branco). Ed. UNIVALI
- YORIO, P. A. B. L. O., & Bertellotti, M. 2002. Espectro trófico de la gaviota cocinera (*Larus dominicanus*) en tres áreas protegidas de Chubut, Argentina. *Hornero* 17:91–95
- TAVARES, D. C., da Costa, L. L., Rangel, D. F., de Moura, J. F., Zalmon, I. R., & Siciliano, S. 2016a. Nests of the brown booby (*Sula leucogaster*) as a potential indicator of tropical ocean pollution by marine debris. *Ecological indicators* 70:10– 14.
- SILVEIRA, L. F.; UEZU, A. Checklist das aves do Estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica*, São Paulo, v. 11, n. 1, p.1- 28.
- RANGEL, Danilo Freitas; TAVARES, Davi Castro, *et al.* Composição e abundância de aves marinhas costeiras em Arraial do Cabo, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Laboratório de Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ. Department of Theoretical Ecology and Modelling, Leibniz Centre for Tropical Marine Research, Bremen, Germany.
- PETRY, Maria Virginia, *et al.* Ocorrência, alimentação e impactos antrópicos de aves marinhas nas praias do litoral do Rio Grande do Sul, sul do Brasil. Programa de Pós-Graduação em Biologia: Diversidade e Manejo de Vida Silvestre, Laboratório de Ornitologia e Animais Marinhos, Universidade do Vale do Rio dos Sinos – Unisinos. Avenida Unisinos, 950, Cristo Rei, CEP 93022-000, São Leopoldo, RS, Brasil.
- PIACENTINI, V.Q., A. Aleixo, C.E. Agne, G.N. Mauricio, J.F. Pacheco, G.A. Bravo, G.R.R. Brito, L.N. Naka, F. Olmos, S. Posso, L.F. Silveira, G.S. Betini, E. Carrano, I. Franz, A.C. Lees, L.M. Lima, D. Pioli, F. Schunck, F.R. Amaral, G.A. Bencke, M. Cohn–Haft, L.F.A. Figueiredo, F.C. Straube & E. Cesari 2015. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee / Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. *Revista Brasileira de Ornitologia*.
- INEA. 2016. Histórico dos Boletins de Balneabilidade das Praias de Arraial do Cabo. Disponível em: [Http://www.inea.rj.gov.br/cs/groups/public/documents/document/zwew/mte0/~edisp/inea0114681.pdf](http://www.inea.rj.gov.br/cs/groups/public/documents/document/zwew/mte0/~edisp/inea0114681.pdf)>
- TELFAIR II, R.C, And M.L. Morrison. 2005. Neotropic Cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*). In: A. Poole (Ed.). *The Birds of North America Online*. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY. Disponível em <<http://bna.birds.cornell.edu/BNA/account/NeotropicCormorant/>>.
- DA SILVA, G. L., Dourado, M. S., Candella, R. N., & Sharples, D. J. 2006. Estudo preliminar da climatologia da ressurgência na região de Arraial do Cabo, RJ.
- QUITANA, F. 2004. Diving behaviour and foraging areas of the Neotropic cormorant at the marine colony in Patagonia, Argentina. *Wilson Bulletin* 116: 83–88.
- BALLANCE, L. T., Pitman, R. L., & Reilly, S. B. 1997. Seabird community structure along a productivity gradient: the importance of competition and energetic constraint. *Ecology* 78 (5):1502– 518.

MOURA, J. F., Tavares, D. C., Lemos, L. S., Acevedo–Trejos, E., Saint’Pierre, T. D., Siciliano, S., & Merico, A. 2018. Interspecific variation of essential and non–essential trace elements in sympatric seabirds. *Environmental Pollution* 242: 470–47.

NUNES, Guilherme Tavares, *et al.* AVES MARINHAS NO BRASIL: DESAFIOS PARA A CONSERVAÇÃO. *Oecologia Australis*.

Capítulo 03

Toxicidade da aflotoxina B1 no organismo humano – distúrbios gástricos ao câncer hepatocelular: revisão da literatura

Toxicity of aflatoxins in the human body - gastric disorders to hepatocellular cancer: literature review

Daniel Ben Judah Melo de Sabino

Faculdade Anhanguera de Brasília, Taguatinga Sul, Taguatinga, Brasília, DF. <http://lattes.cnpq.br/1193536437502603>

Gregório Otto Bento de Oliveira

Faculdade Anhanguera de Brasília, Taguatinga Sul, Taguatinga, Brasília, DF. Instituto Gregório Otto ME, Vicente Pires, Brasília, DF. <http://lattes.cnpq.br/8523196791970508>

Ikaro Alves de Andrade

Universidade de Brasília – Darcy Ribeiro, Brasília, DF. Faculdade Anhanguera de Brasília, Taguatinga Sul, Taguatinga, Brasília, DF. <http://lattes.cnpq.br/9506665216259271>

Alexandre Pereira dos Santos

Centro Universitário ICESP, Brasília, DF. <http://lattes.cnpq.br/2750971103839625>

Nádia Carolina da Rocha Neves

Faculdade Anhanguera de Valparaíso, Valparaíso, GO. Secretaria de Assistência Social, Valparaíso, GO. <http://lattes.cnpq.br/4367958882373418>

Jackson Henrique Emmanuel de Santana

Faculdade Anhanguera de Brasília – Unidade Taguatinga, Taguatinga, DF. <http://lattes.cnpq.br/0551045014158520>

Alexandra Barbosa da Silva

Instituto de Gestão e Estratégia do Distrito Federal/IGESDF, Brasília, DF. Centro Universitário do Distrito Federal – UDF, Brasília, Brasília, DF. <http://lattes.cnpq.br/4181218123122680>

Scarlat Goulart Ramos dos Anjos

Centro Universitário do Distrito Federal – UDF, Brasília, Brasília, DF. Laboratório de Bioquímica e Química de Proteínas, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília (UnB). <https://lattes.cnpq.br/5941411531041517>

Camille Silva Florencio

Faculdade Anhanguera de Brasília – Unidade Taguatinga, Taguatinga, DF. <http://lattes.cnpq.br/1920409655879399>

Marcela Gomes Rola

Faculdade Anhanguera de Brasília – Unidade Taguatinga, Taguatinga, DF. <http://lattes.cnpq.br/5551200316101130>



RESUMO

A aflatoxina é uma micotoxina produzida por fungos do gênero *Aspergillus*, são fungos com predominância em climas quentes e úmidos, além disso, possuem afinidade por grãos. A exposição às aflatoxinas ocorre através da ingestão de alimentos contaminados pelo fungo e inevitavelmente, sua toxina. As consequências dessa contaminação acarretam diversas complicações no organismo, que pode variar desde um distúrbio no sistema digestório podendo levar a óbito em casos agudos, em casos crônicos, o surgimento do carcinoma hepatocelular provocado pelo aduto AFB1-N7-Gua que ocasiona em uma alteração no nucleotídeo Guanina. As pesquisas feitas a respeito do tema “aflatoxinas” destacam-se como tema a saúde sanitária e o agronegócio, pois o contágio por essa substância está ligado diretamente a alimentação humana, e a alimentação dos animais que por sua vez, destinados à alimentação humana, podendo ser expostos à toxina e albergar a variante AFM (Aflatoxina M) em seu organismo. O capítulo proporciona uma ampla discussão em conceituar, compreender, descrever os mecanismos de ação da toxina e abordar suas manifestações clínicas.

Palavras-chave: Aflatoxina B1. Carcinoma hepatocelular. *aspergillus*. toxicidade. efeitos tóxicos.

ABSTRACT

Aflatoxin is a mycotoxin produced by fungi of the genus *Aspergillus*. These fungi predominate in hot and humid climates and have an affinity for grains. Exposure to aflatoxins occurs through eating food contaminated by the fungus and, inevitably, its toxin. The consequences of this contamination lead to various complications in the body, which can range from a disturbance in the digestive system that can lead to death in acute cases to, in chronic cases, the appearance of hepatocellular carcinoma caused by the AFB1-N7-Gua adduct, which causes an alteration in the Guanine nucleotide. The research carried out on the subject of “aflatoxins” stands out as a health and agribusiness issue, since the spread of this substance is directly linked to human food, and the feeding of animals which, in turn, are destined for human food, and can be exposed to the toxin and harbor the AFM (Aflatoxin M) variant in their bodies. The chapter provides a broad discussion on conceptualizing, understanding, describing the toxin's mechanisms of action and addressing its clinical manifestations.

Keywords: Aflatoxin B1. hepatocellular carcinoma. *aspergillus*. toxicity. toxic effects.

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas, são micotoxinas que são resultantes do metabolismo dos fungos do gênero *Aspergillus* (*A. flavus* e *A. parasiticus*, são os mais conhecidos), eles se desenvolvem em ambientes de clima quente e úmido e possuem afinidade por grãos (como milho, arroz, feijão e trigo) e oleaginosas (como amendoim, nozes e castanhas). Há estudos que levantam a hipótese de associação causal entre a ingestão de aflatoxinas e o desenvolvimento de doenças. As consequências da intoxicação por aflatoxinas, abordando as intoxicações agudas e crônicas, sua interação com as células do organismo e tratar de

seus efeitos tóxicos no corpo humano. Os estudos relacionados à aflatoxina, tiveram seu início na década de 1960 na Inglaterra, após um evento que resultou na morte de mais de 100.000 perus, as aves apresentavam sintomas, como perda de apetite, diminuição da mobilidade, fraqueza nas asas, pernas e lesões necróticas que apareciam no fígado. Após uma investigação, os pesquisadores concluíram que os sintomas apresentados pelas aves decorriam da ingestão que elas faziam das rações contaminadas pelo fungo. Os veterinários e cientistas ingleses batizaram-na de doença “X”.

A ingestão de aflatoxina é um problema de saúde pública, pois nos alimentos pode passar despercebida ou causar desconforto, como náuseas, quando em pequenas quantidades. Se o consumo for crônico, pode promover a ocorrência de carcinoma hepatocelular. Em contrapartida, comer alimentos altamente contaminados produzirá efeitos tóxicos no fígado, causando necrose. Esse padrão de ingestão caracteriza a intoxicação aguda, também conhecida como aflatoxicose. Pesquisas mais recentes mostram que existem cerca de 17 compostos de aflatoxina, no entanto, os de interesse médico e sanitário são denominados como B1, B2, G1 e G2. A intoxicação por aflatoxinas ocorre via ingestão de alimentos contaminados. A atenção dada por órgãos de fiscalização sanitária deve-se ao fato de a aflatoxina ser resistente a altas temperaturas. Embora graves, não ocorrem com muita frequência, todavia, a literatura se concentra nos danos causados na saúde humana por consumir alimentos contaminados por essas toxinas, demonstrando a importância do controle dessas substâncias em alimentos.

Com base nisso, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2006 estabeleceu especificações de contaminantes de alimentos e limites máximos permitidos para aflatoxina em leite líquido, leite em pó, amendoim, manteiga de amendoim, grãos de milho e fubá: 20 µg/kg. Sendo que a presença de micotoxinas nos alimentos é um problema de saúde pública que precisa ser amplamente divulgado, para que as pessoas tenham conhecimento da presença dessas toxinas nos alimentos e possam consumir alimentos de melhor procedência, não colocando em risco sua saúde. A contaminação dos alimentos ocorre principalmente se não forem colhidos, armazenados e preparados adequadamente.

CONCEITUANDO AFLATOXINA – ESPÉCIES E GÊNEROS

As aflatoxinas são metabólitos secundários e figuram entre as principais classes de micotoxinas e são produzidas por quatro espécies de fungos do gênero *Aspergillus*. Essas espécies são *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius* e *A. pseudotamarii*. Das quatro espécies do gênero, apenas *A. flavus* e *A. parasiticus* são os mais comumente pesquisados (OLIVEIRA e GERMANO, 1997; MARTINS, 2014). Com pesquisas atuais, acredita-se que a existência das aflatoxinas varia entre 16 e 18 compostos denominados de aflatoxinas, mas o termo na maioria das vezes refere-se a quatro complexos do grupo cumarínico-difurano, dos quais são pertencem as aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 (OLIVEIRA E GERMANO, 1997; MARTINS, 2014; TOTTA, 2016). Estas quatro substâncias distinguem-se pela sua cor de fluorescência sob luz UV: B corresponde ao azul (“Blue” termo vindo do inglês) e G corresponde ao verde (do inglês “Green”) (BAQUIÃO, 2012).

Casos de aflatoxicoses que acontecem naturalmente ocorrem quando os animais

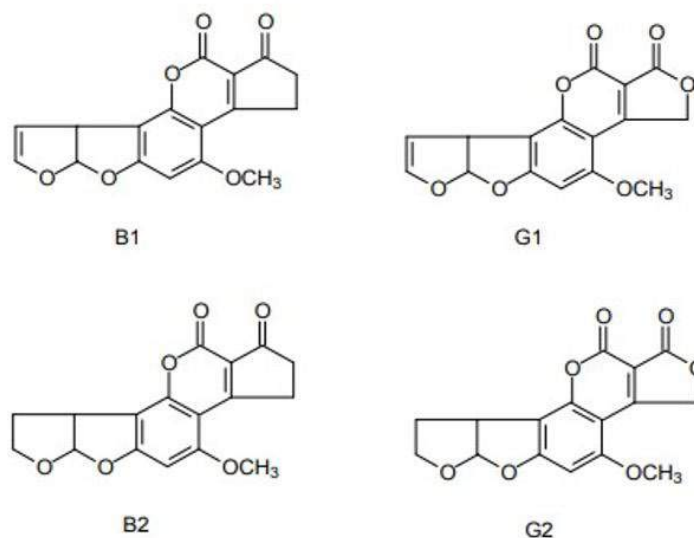
são alimentados com dietas contaminadas por aflatoxina B1 e B2 e, ao realizar o metabolismo corporal, excretam seus metabólitos conhecidos como aflatoxina M1 e M2 no leite e na urina (MALLMANN *et al.*, 1994; FERREIRA *et al.*, 2006).

A aflatoxina B1 (AFB1) é a toxina mais potente, seguida por B2 G1, e G2. Da mesma forma, no campo da saúde pública, a aflatoxina tem sido identificada como fator etiológico do câncer de fígado em humanos, causado pela ingestão de alimentos contaminados (OLIVEIRA E GERMANO, 1997)

Segundo Amoras e Costa (2021), as aflatoxinas são descritas na literatura como substâncias cristalinas amarelo-claro ou incolores, são levemente solúveis em água e em solventes como clorofórmio, dimetil sulfoxido e/ou metanol. Apresentam também propriedades termoestáveis, ou seja, são resistentes a temperaturas elevadas (>100 °C). Essas substâncias também são caracterizadas pelo seu baixo peso molecular, e propriedades lipofílicas, isso facilita sua rápida absorção via ingestão.

As aflatoxinas em sua estrutura química possuem um núcleo central de cumarina ligado ao furano. As aflatoxinas do grupo B, têm um anel de ciclopentona e a diferença entre B1 e B2 está na ligação dupla no carbono 15'. As do grupo G contêm um anel de lactona e se distinguem por uma ligação dupla no carbono 15'. As aflatoxinas do grupo M, exibem hidroxilação na posição 14' (AMORAS E COSTA, 2021).

Figura 1 - Fórmula estrutural das aflatoxinas dos grupos B e G.



Fonte: Schneider e Mostardeiro (2007).

MECANISMO DE AÇÃO DA AFLATOXINA

De acordo com Totta (2016), a aflatoxina (AFB1) quando é ingerida, passa pela biotransformação, que é um processo pelo qual o corpo transforma substâncias estranhas (xenobioticos) em substâncias derivadas (metabólitos), ou seja, é um processo em que a substância original é modificada para ser descartado desde o momento da sua absorção. AFB1 requer ativação do metabolismo para manifestar sua carcinogenicidade.

Logo após a ingestão de AFB1, ela é absorvida ativamente pelo sistema porta e

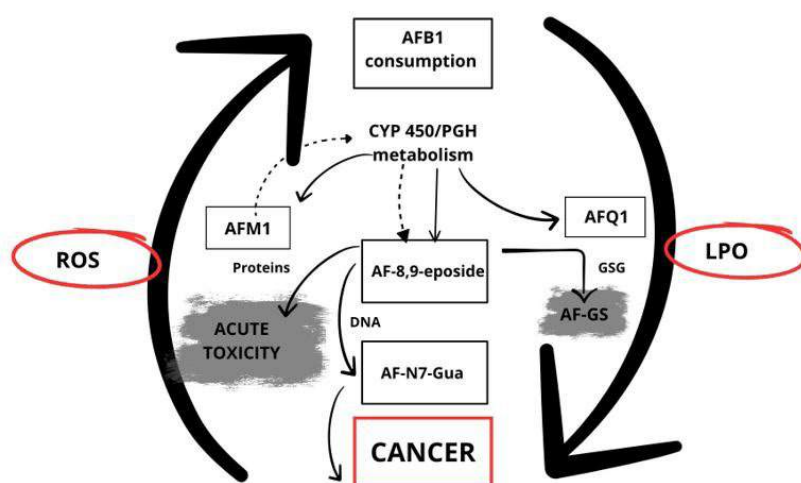
biotransformada antes da sua excreção por completo pelas vias urinária e fecal (TOTTA, 2016).

AAFB1 é encontrada no fígado e, em menor grau, no rim sendo também encontrada no sangue venoso mesentérico como AFB1 livre ou na forma de metabolitos solúveis em água (TOTTA, 2016)

A aflatoxina B1 (AFB1) é metabolizada no fígado através das enzimas microsossomais do sistema de funções oxidases mistas que compreende o citocromo P450 (CYP450). Após a ação dessas enzimas, a AFB1 é transformada no reativo 8,9-epóxido, existindo como dois estereoisômeros, exo e endo. O exo-8,9-epóxido ou AFB1-8,9-exo-epóxido é a forma ativada da aflatoxina, e possui uma grande afinidade de ligação ao DNA, levando a formação do aduto 8,9-dihidro-8-(N7guanil) -9-hidroxi-AFB1 (AFB1-N7-Gua), que ocasiona em mutações no DNA. A forma epóxida da aflatoxina está envolvida em outras vias também, como: fusão com glutathione (GSH) catalisada pela Glutathione-S-Transferase (GST) e posteriormente excretada como AFB-marcapturato; esta via é extremamente importante para a desintoxicação de AFB1 como agente carcinogênico, mesmo que a diminuição de GSH possa levar a elevados níveis de espécies reativas de oxigênio provocando danos oxidativo; conversão enzimática e não enzimática em AFB1-8,9-dihidroxiol, que pode ser posteriormente convertido na forma dialdeído. O dialdeído de aflatoxina pode ser excretado através da urina como dialcool por ação da aflatoxina aldeído redutase (AFAR) ou pode se ligar a proteínas, como a albumina; ligação a outras macromoléculas como proteínas ou RNA, causando desregulação das funções celulares normais e inibição da síntese de proteínas, DNA e RNA (MARCHESE *et al.*, 2018).

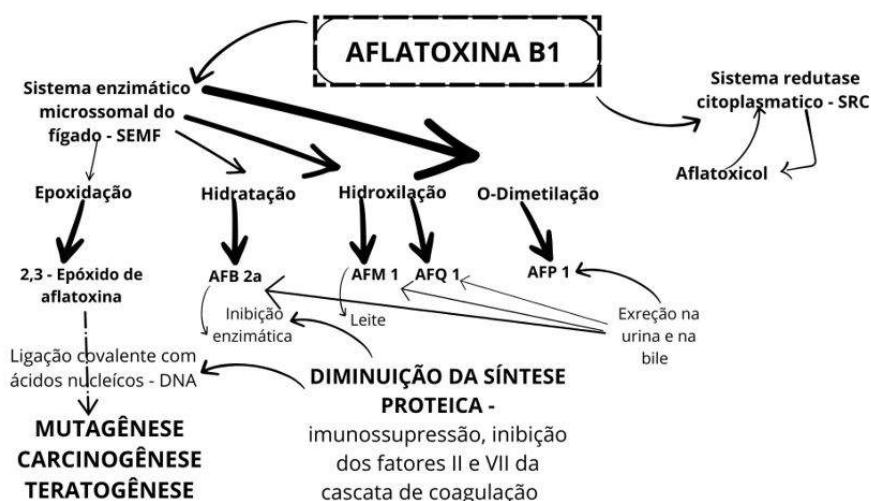
Durante o processo de biotransformação a AFB1 sofre uma hidroxilação, que leva a formação de metabólitos mais polares e com baixa toxicidade, como a aflatoxina M1 (AFM1) e aflatoxina Q1 (AFQ1). AS isoenzimas CYP1A2 e CYP3A4 são responsáveis pela ativação da AFB1. O CYP3A4 é responsável pela formação do AFB1-exo-8,9-epóxido e de pequenas quantidades de AFQ1, em contrapartida o CYP1A2 leva tanto ao exo - e endo-8,9-epóxido quanto ao AFM1 hidroxilado (MARCHESE, SILVIA *et al.*, 2018).

Figura 2 - Metabolismo da aflatoxina.



Fonte: (Adaptado: OLIVEIRA, 2023) MARCHESE, Silvia *et al.*, 2018.

Figura 3 - Metabolismo da aflatoxina B1 no fígado.



Fonte: (Adaptado: OLIVEIRA, 2023; MALLMANN et al., 1994)

A epoxidação da AFB1 é o estágio que o poder neoplásico da toxina é ativado e, portanto, desencadeia o processo de carcinogênese. A eletroafinidade do AFB1-8,9-exo-epóxido pelas bases purinas faz com que ele se ligue covalentemente ao DNA na posição N7 do nucleotídeo Guanina (G) levando a formação do aduto AFB1-N7-Gua. Essa união promove a depurinação, causando a formação de sítios apurínicos, a mutação é identificada como sendo transverção G→T no local do aduto original. Além disso, a mutação afeta localizações específicas dos pares de bases, isso mostra uma seletividade para as bases guanina com uma guanina ou com uma citosona (C) como base 5' especificamente na terceira base do códon 249 do éxon 7 do gene p53 (MARCHESE, SILVIA *et al.*, 2018).

Aligação da AFB1 à guanina altera a estrutura do DNA, assim, sua atividade biológica é alterada, propiciando a mutagenicidade e carcinogenicidade da AFB1. Os adultos AFB1-N7-guanina são instáveis e sofrem uma rápida depurinação. Como isso, os sítios apurínicos vazios na molécula de DNA tendem a ser preenchidos com adenina o que leva à conversão de guanina em timina. Essa mudança nas sequências nucleotídicas causada pela AFB1 é permanente, o que viabiliza a hepatocarcinogênese (TOTTA, MAURICIO de ROSA., 2016).

Cobaias, ex.: ratos, expostos a aflatoxina sofreram mutação no oncogene c-KRAS e a ativação do proto-oncogene HRAS humano foi relatada *in vitro* o que sugere um envolvimento desses genes na tumorigênese relacionados à AFB1 (MARCHESE, SILVIA *et al.*, 2018).

Conforme o processo de desintoxicação se dar pelo envolvimento das enzimas GST (glutathione-s-transferase) e o epóxidrolase (EPHX). A glutathione-s-transferase medeia a ligação da glutathione reduzida (GSH) com os reativos endo e exoepóxido para formar o conjugado AFB1-SG, que pode ser excretado através da urina na forma de ácido mecarptúrico-AFB. A junção eficiente de AFB18,9-exo-epóxido com a glutathione através de GST-α, se relaciona com maior resistência a mutagenicidade causada pela AFB1 em comparação com outras espécies suscetíveis, como o rato. Os humanos têm menor atividade de GST para conjugação de AFB1-epóxido do que ratos e camundongos, sugerindo uma menor capacidade de desintoxicação (VENEGAS, GUERRA e NAVAS., 2013).

O EPHX diminui através da hidrólise os níveis de exo e endoepóxido de AFB1, gerando AFB1-8,9-dihidrodiol, que ao abrir o anel dá origem ao íon fenolato-dialdeído (AFB1-dialdeído) e se une ao grupo amino das proteínas. Por outro lado, AFB1-dialdeído pode ser um substrato para a AFB1-dialdeído redutase (AFAR) produzindo aflatoxina-dialcool, que é excretado através da urina na forma de dialcool ou monoálcool (VENEGAS, GUERRA e NAVAS, 2013).

MANIFESTAÇÕES CLÍNICA DA AFB1

A exposição à aflatoxina pode ocorrer através da ingestão de alimentos contaminados, ela pode ser absorvida pele ou da inalação da substância suspensa o ar. O quadro clínico que caracteriza a intoxicação por aflatoxina se chama “aflatoxicose” e ela pode se manifestar em duas formas: aguda ou crônica (AMORAS e COSTA, 2021).

A aflatoxicose aguda ocorre após a ingestão de níveis elevados de aflatoxina e seus sintomas podem aparecer no período de aproximadamente 6 horas após a intoxicação, provocando depressão, inapetência, presença de sangue nas fezes, tremores musculares, incoordenação motora com hipertermia (até 41°C), podendo levar à morte nas próximas 12-24 horas. Em intoxicações subagudas, o organismo é exposto à níveis moderados de aflatoxina, os sinais clínicos são de evolução mais lenta, observando-se cerdas eriçadas, hiporexia (perda de apetite), letargia e depressão. Em animais os sintomas podem apresentar aspecto icterico, encontram-se desidratados e emaciados, com áreas de coloração vermelho púrpura na pele, além de perda progressiva de peso. A aflatoxicose crônica é caracterizada pela exposição à níveis baixos de aflatoxina por um longo período e apresenta sintomas como diminuição no ganho de peso e redução da conversão alimentar, inapetência, má aparência geral, diarreias, sinais de ataxia, icterícia e, às vezes, convulsões (AMORAS e COSTA, 2021; DILKIN e MALLMANN, 2004).

Em estudos experimentais comprovam esses efeitos em algumas espécies *in vitro* e *in vivo*. A aflatoxina em ratos, além dos efeitos hepatotóxicos, também apresenta um efeito neurotóxico, pois afeta o nervo ciático promovendo a degeneração Walleriana na bainha de mielina. Em cães o quadro clínico de intoxicação inclui sintomas como: diarreia, anorexia, melena, vômito, coagulopatia depressão, icterícia e morte súbita. Em caso de intoxicações agudas sinais clínicos de hepatite são desencadeados (AMORAS e COSTA, 2021).

Em seres humanos a forma aguda da intoxicação por AFB1 causa tremores musculares, hematoquezia (sangue nas fezes), degeneração gordurosa no fígado, necrose lobular com incremento de células basofílicas na periferia do lóbulo, proliferação dos ductos biliares e cirrose, diminuição do tempo de coagulação sanguínea, podendo observar-se coleções líquidas sanguinolentas nas cavidades bem como em mucosas e hemorragias em massas musculares. E em casos extremos pode levar à morte. Na forma crônica, seus principais sintomas são descritos como teratogênico, carcinogênico, mutagênico e hepatotóxico (AMORAS e COSTA, 2020; DILKIN e MALLMANN, 2004).

Em aves a exposição à toxina leva a distúrbios digestivos, pois causa uma má absorção das rações, esteatorréia acompanhada por uma diminuição nas atividades específicas e totais da lipase pancreática, principal enzima digestiva das gorduras, e pela

diminuição dos sais biliares, necessários tanto para a digestão como para a absorção de gorduras, esteatose hepática, palidez extrema das mucosas e pernas, diminuição na produção de ovos. A aflatoxina também causa alterações no tamanho dos ovos e proporcionalmente no tamanho da gema, devido aos prejuízos causados na síntese proteica e lipídica, e dificulta a eclosão dos ovos. A postura da ave é afetada dentro de 14 dias após a exposição (DILKIN e MALLMANN, 2004).

Alterações macroscópicas

Após 6 horas da intoxicação aguda o fígado apresenta uma alteração na cor, coloração pálido-bronzeada com aparência de “cozido”. Após 12 horas a superfície do órgão apresenta pontos vermelhos com 1 mm de espessura, no jejuno e íleo podem aparecer hemorragias disseminadas com sangue livre no lúmen. Nas áreas retais apresenta condições de hiperemia com sangue livre no lúmen do íleo, ceco e cólon. Da mesma forma, existe a possibilidade de sangramento dentro do coração, nas regiões subpericárdica e endocárdica. Na vesícula biliar pode ser observado edema e fluido na submucosa, muscular e serosa. Líquido pericárdico e peritoneal, formação de nódulos, sangramento gástrico, icterícia e sangramento intestinal podem ser observados. A nível renal a toxina pode ocasionar em palidez e hipertrofia nos rins (MALLMANN *et al.*, 1994).

Alterações microscópicas

Nas intoxicações agudas as principais alterações acontecem à nível hepático, como desorganização de cordões e hepatócitos com citoplasma granular e vacúolos dentro de 3h após a intoxicação. Dentro de 6 h, as células podem inchar levando ao estreitamento dos sinusóides com o aparecimento de pequenos focos de necrose. Após 12h podem ser observados pontos de necrose, maiores que 150µ de diâmetro, com infiltração de linfócitos e neutrófilos. 24h após a intoxicação observa-se uma severa congestão centrolobular acompanhada com uma grave necrose nos hepatócitos e hemorragia no Espaço de Disse. Nos casos crônicos, observa-se aparição de vacúolos nos hepatócitos, colestase e hiperplasia das vias biliares. Observa-se também infiltração gordurosa, fibrose além da necrose centrolobular (MALLMANN *et al.*, 1994).

Doenças relacionadas

A aparição de doenças relacionadas à AFB1 é descrita desde o seu descobrimento em 1960, através de pesquisas epidemiológicas e experimentos *in vivo* e *in vitro*. O quadro clínico mais comum é o surgimento de câncer hepatocelular, mas existem estudos que relatam o surgimento de câncer em outros órgãos e até apontam uma relação entre o HBV e os efeitos da AFB1.

Câncer hepatocelular

Carcinoma hepatocelular (CHC) é o câncer primário do fígado, o que significa um câncer que começa nas principais células do fígado, os hepatócitos. Como outros cânceres, ocorre quando há uma mutação nos genes de uma célula que faz com que ela cresça fora de controle. Essa mutação pode ser causada por agentes externos, como o vírus da

hepatite, ou por replicação celular excessiva, como a replicação crônica na hepatite crônica (GOMES *et al.*, 2013).

Os dados epidemiológicos sobre CHC em cerca de países como Brasil e Portugal ainda são escassos e dispersos, o que dificulta a organização e o planejamento de ações efetivas de promoção da saúde. No Brasil, na cidade de São Paulo, segundo dados divulgados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), a incidência de câncer primário de fígado é de 2,07/100.000 habitantes. A média de idade dos pacientes foi de 54,7 anos e anos com relação homem/mulher de 3,4:

1. A sensibilidade ao HbsAg foi de 41,6%; para anti-HCV é 26,9%; bebedores crônicos, 37%; e cirrose, 71,2% 0,5 (GOMES *et al.*, 2013).

Os principais fatores de risco para o desenvolvimento do CHC são infecção por HBV e HCV, doença hepática relacionada ao álcool, exposição à aflatoxina e principalmente doença hepática gordurosa não alcoólica. Causas menos comum incluem a hemocromatose hereditária (HH), deficiência de Alfa1Antitripsina, hepatite autoimune, certa porfiria e doença de Wilson (GOMES *et al.*, 2013).

As aflatoxinas, especialmente a aflatoxina B1 (AFB1), são potentes carcinógenos hepáticos produzidos por fungos (*Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*), contaminantes comuns em cereais em conserva. Uma mutação genética induzida por AFB1 no códon 29 no eixo 7 do gene supressor de tumor TP53 (conversão de G-C para T-A) foi identificada e correlacionada positivamente com a exposição à aflatoxina em meta-análises, incluindo 9 estudos. Além disso, aflatoxinas são sinérgicas com a infecção crônica pelo HBV para desenvolver HCC (GOMES *et al.*, 2013).

Em 2002 AFB1 foi indicado como pertencente ao Grupo 1 dos carcinogênicos, pois ela provoca a formação de adultos no DNA que cooperam para a formação de câncer de fígado. Cerca de 4,6 – 28,2% dos casos de carcinoma hepatocelular no mundo são atribuídos a exposição à AFB1. Além disso, o vírus da hepatite B (HBV) aumenta o risco de CHC em 30 vezes em pessoas expostas ao AFB1. A exposição a altas concentrações pode causar hepatite aguda e a exposição crônica pode levar ao desenvolvimento de câncer de fígado. Alguns autores avaliam a correlação entre exposição ao AFB1, expressão alterada da proteína p62 associada à autofagia e prognóstico em pacientes com CHC associados à infecção crônica pelo HBV. Em detalhes, eles se concentraram nos níveis de Membro A3 da Família Aldo-Keto Redutase 7 (AKR7A3), NAD (P) H Quinona Desidrogenase 1 (NQO1) e Fator Nuclear (derivado de eritróide 2) -like 2 (NRF2) em dois grupos de pacientes com alta e baixa expressão de P62, respectivamente. Salientando que, o NRF2 codifica um fator de transcrição que regula genes que contêm elementos de resposta antioxidante em seus promotores; NQO1 codifica uma redutase de 2 elétrons citoplasmática que impede a redução de um elétron de quinonas resultando na produção de espécies radicais; e AKR7A3 codifica uma aldo-cetoreductase que está envolvida na desintoxicação de aldeídos e cetonas. Esses estudos demonstraram que o grupo AFB1(+)/HBV(+) apresentou a menor sobrevida global e sobrevida livre de doença; e apresentaram maior expressão de P62 correlacionada com diminuição da expressão de AKR7A3 e aumento da expressão de NRF2 e NQO1. Em Todos esses dados evidenciaram que a exposição à AFB1 pode induzir um aumento da expressão de P62 e uma maior probabilidade de recorrência do câncer. Por outro lado,

os efeitos genotóxicos da AFB1 ainda são desconhecidos e recentemente alguns autores trataram as células hepáticas humanas HL7702 com MicrocistinaLR (MC-LR) e AFB1 e demonstraram que a coexposição de MC-LR e AFB1 induziu danos no DNA; e aumentou a atividade da Superóxido Dismutase e Catalase, os níveis de glutatona e a expressão de APE1 (apurínico/apirimidínico endonuclease 1) (MARCHESE, SILVIA *et al.*, 2018).

Além disso, outros estudos demonstraram a importância do intervalo entre a exposição ao AFB1 e o desenvolvimento de CHC na ausência e presença de cirrose e HBV e mostraram que a exposição ao AFB1 pode aumentar o risco de desenvolver cirrose e CHC em pacientes com HBV. Vários autores avaliaram quais genes foram metilados e envolvidos na transformação celular após a exposição à AFB1. Em particular, hepatócitos humanos (L02) expressando o alelo HRas oncogênico foram tratados com AFB1; essas células são denominadas células L02R e L02RTAFB1, respectivamente, o supressor de tumor foi metilado; LINE1 (representando elementos transponíveis no DNA) foi hipometilado; a expressão de CXCR (codificando o receptor de quimiocina CXC específico do fator 1 derivado de células estromais), INTS1 (que é uma subunidade do complexo Integral, que se liga ao domínio C terminal da subunidade) grande polimerase II), JUNB (codifica para um fator de transcrição envolvido na regulação da atividade do gene do fator de crescimento pós-reativo), NAV1 (codifica para uma proteína contendo regiões coiledcoil e específicas. O AAA conservado de ATPases envolvidas em várias atividades celulares), POLL (codifica uma DNA polimerase que desempenha um papel no splicing de extremidades não homólogas e outros processos de reparo de DNA), e RARRES1 (é um ácido retinóide que responde ao receptor (RA) e codifica uma proteína de membrana tipo 1) foi reduzida; e assim todos esses fatores causam um aumento no dano ao DNA (MARCHESE, SILVIA *et al.*, 2018).

Os tecidos de CHC associados à exposição de AFB1 apresentam uma mutação no gene AGGRB1, que induz a superexpressão de PD-L1. Em pacientes com CHC após exposição ao AFB1, apresentam desregulação dos mecanismos epigenéticos. Após a exposição ao AFB1, os hepatócitos humanos mostram seis genes superexpressos e hipometilados, como Ciclina K (CCNK), Diaphanous Related Form 3 (DIAPH3), 1-membered histone cluster family H2B f (HIST1H2BF), RAS Oncogene 27A (RAB27A) Proliferative Cell Nuclear Antigen (PCNA) e Tiorredoxina Redutase 1 (TXNRD1), que podem ser usados como marcadores iniciais para o desenvolvimento de HCC correlacionado com AFB1 (MARCHESE, SILVIA *et al.*, 2018).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A intoxicação por aflatoxina, em destaque a AFB1, é um risco a saúde sanitária e ao agronegócio, uma vez que os grãos fazem parte da dieta humana necessitando constantemente de estudos, sendo fácil a exposição ao agente tóxico, apesar de muitas vezes passar despercebido, as consequências aparecem depois ocasionado o câncer hepatocelular, patologia mais comum causada pela toxina. Apesar das diversas pesquisas sobre a toxina e seus efeitos negativos na saúde humana, os seus estudos são relevantes e necessário para o agronegócio e para as pesquisas epidemiológicas.

REFERÊNCIAS

- AMORAS, Eloiza Sarmiento; COSTA, Anderson Luiz Pena da. Aflatoxicoses: uma revisão das manifestações clínicas em seres humanos e animais. *Revista Arquivos Científicos (IMMES)*, Macapá, AP, v. 4, n. 1, p. 59, 2021. Disponível em: <https://arqcientificosimmes.emnuvens.com.br/abi/article/view/508/141>. Acesso em: 18 de novembro de 2021.
- BAQUIÃO, Arianne Costa. Fungos e micotoxinas em castanhas do Brasil, da colheita ao armazenamento. 18 de abril de 2012. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42132/tde-01082012113328/en.php>. Acesso em: 25 de maio de 2022.
- FERREIRA, Helder; PITTNER, Elaine; SANCHES, Hermes Francisco; MONTEIRO, Marta Chagas. Aflatoxinas: um risco à saúde humana e animal. *Janeiro/junho de 2006*. Disponível em: <https://revistas.unicentro.br/index.php/ambiencia/article/view/365>. Acesso em: 25 de maio de 2022.
- LOPES, Paulo Rodinei Soares *et al.* Crescimento e alterações no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados com dietas com aflatoxinas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 40, n. 10, p. 1029-1034, out. 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/ScMgftdnPXZJFqKnmXJXG7J/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 18 de novembro de 2021.
- MALLMANN, Carlos Augusto; MORAIS, Janio; WENTZ, Ilmo Santurio. Aflatoxinas: aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. 25 de agosto de 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/9rnc4dMDJwcMX3jpdDCpwQS/?lang=pt&stop=next&format=html>. Acesso em: 25 de maio de 2022.
- MALLMANN, Carlos Augusto; DILKI, Paulo. Sinais clínicos e lesões causadas por micotoxinas. 02 de julho de 2004. Disponível em: <https://www.lamic.ufsm.br/site/publicacoes/category/1aflatoxinas?start=40>. Acesso em: 25 de maio de 2022.
- MARCHESE, Silvi; POLO, Andrea; ARIANO, Andrea; VELOTTO, Salvatore; COSTANTINI, Susan; SEVERINO, Lorella. Aflatoxin B1 and M1: Propriedades biológicas e seu envolvimento no desenvolvimento do câncer. Maio de 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6024316/>. Acesso em: 01 de maio de 2022.
- OLIVEIRA, Gregório Otto Bento de. Metabolismo da Aflatoxina B1. 2023. Imagem Adaptada. Disponível em: URL_DA_IMAGEM_NO_CANVA. Acesso em: 03, outubro de 2023.
- OLIVEIRA, Carlos Augusto Fernandes de; GERMANO, Pedro Manuel Leal. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. *Revista Saúde Pública*, v. 31, n. 4, p. 418, ago. 1997. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsp/a/4rvH99c89Z5tG39Wk4TP7H/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 18 de novembro de 2021.
- CHNEIDER, Eliane Maria; MOSTARDEIRO, Clarice Pinheiro. Aflatoxinas em amendoim e toxicidade no organismo humano. *Revista Contexto & Saúde*, Ijuí, v. 7, n. 13, jul./dez. 2007. Disponível em: <https://revistas.unijui.edu.br/index.php/contextoesaude/article/view/1418>. Acesso em: 18 de novembro de 2021.
- TOTTA, Mauricio de Rosa. Correlação entre ingestão de aflatoxina B1, concentração sérica e urinária de AFB1-adutos e expressão hepática de marcadores moleculares relacionados à hepatocarcinogênese em ratos. 22 de outubro de 2016. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17143/tde-06012017145306/pt-br.php>. Acesso em: 01 de maio de 2022.

VALIN, Simone Busko; GASPARIN, Fabiana Rodrigues S. A toxicidade da aflatoxina B1 no metabolismo hepático. In: Anais do IV EPCC - Encontro de Produção Científica do Cesumar, 19 a 22 de outubro de 2005, Maringá, Paraná, Brasil. Disponível em: http://rdu.unicesumar.edu.br/bitstream/123456789/7780/1/Simone_Busko_Valim.pdf Acesso em: 18 de novembro de 2021.

VENEGAS, Andrea Carreño; GUERRA, Juan José Hurtado; NAVAS, María Cristina Navas. Exposição a aflatoxina: um problema de saúde pública. Março de 2014. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012107932014000100005&lng=en&nrm=iso&tlng=es. Acesso em: 01 de maio de 2022.

A ascensão da engenharia genética no tratamento de doenças genéticas: uma revisão da literatura

The rise of genetic engineering in the treatment of genetic diseases: a review of the literature

Lucas dos Santos Sa

RESUMO

A engenharia genética é uma das vertentes da genética humana que visa o desenvolvimento de ferramentas que possibilitem a manipulação do material genético de uma espécie, para dessa forma editar seu genoma, com o propósito de se obter tratamentos no combate de patologias ocasionadas pela ocorrência de mutações genéticas. Esse trabalho tem como finalidade avaliar a relevância que as pesquisas sobre engenharia genética têm para a compreensão do genoma humano, e dessa forma obter entendimento das anomalias que o acometem, e meios de se adquirir tecnologias que possibilitem o tratamento dessas doenças. Por meio de uma revisão bibliográfica, exploratória, descritiva com abordagem qualitativa em que foram coletados, analisados, interpretados e sintetizados os principais resultados de artigos que relatavam o resultado de ensaios clínicos em que as técnicas de manipulação genética foram empregadas em terapias gênicas no tratamento de uma ampla diversidade de doenças. As principais fontes de dados consultadas foram Google acadêmico, Scielo, Pubmed e Lilacs. Foram selecionados e analisados 15 trabalhos que estavam em inglês o que comprovou o impacto positivo que a terapia gênica tem sobre a fisiopatologia e manifestações clínicas de doenças genéticas comuns como câncer e as demais de caráter mais raras, com base nos dados levantados, consta-se que a ampla gama de aplicações da engenharia genética pode propiciar uma vasta quantidade de privilégios. Que promoveram o avanço dos seres humanos contribuindo para o tratamento de uma diversa quantidade de doenças.

Palavras-chave: Edição de genes. CRISPR. TALEN. ZNFs.



ABSTRACT

Genetic engineering is one of the aspects of human genetics that aims to develop tools that enable the manipulation of the genetic material of a species, in order to edit its genome, with the purpose of obtaining treatments to combat pathologies caused by the occurrence of mutations. This work aims to evaluate the relevance that research on genetic engineering has for understanding the human genome, and thus obtain an understanding of the anomalies that affect it, and means of acquiring technologies that enable the treatment of these diseases. through a bibliographical, exploratory, descriptive review with a qualitative approach in which the main results of articles that reported the results of clinical trials in which genetic manipulation techniques were used in gene therapies in the treatment of a wide range of diseases. The main data sources consulted were Google Scholar, Scielo, Pubmed and Lilacs. 15 works were selected and analyzed in English, which proved the positive impact that gene therapy has on the pathophysiology and clinical manifestations of common genetic diseases such as cancer and others of a rarer nature, based on the data collected, it appears that the wide range of applications of genetic engineering can provide a vast amount of privileges. That promoted the advancement of human beings by contributing to the treatment of a diverse number of diseases.

Keywords: gene editing. CRISPR. TALEN. ZNFs.

INTRODUÇÃO

Desde a década de 80 levanta-se a hipótese sobre a possibilidade de identificar todos os genes do nosso genoma, afim compreender suas funções, proporcionando assim o conhecimento das patologias resultantes de qualquer tipo de anomalia genética. Dentre elas a mais famosa é o câncer, proveniente de mutações relacionadas aos genes que regulam o ciclo celular. Em 1986, quando Dulbecco fez um pronunciamento em que afirmava que por meio do sequenciamento de todo o genoma humano seria obtido o entendimento sobre os fatores que favorecem o surgimento de mutações. Com isso no início da década de 90, durante o século XX, o *National Institutes of Health* (NIH) e o DOE foram responsáveis pelo início do projeto genoma humano, com o propósito de sequenciar todos os genes do genoma humano, sendo que seu término ocorreu durante o ano de 2005 (BUENO, 2009).

Com a conclusão do projeto genoma humano ocorreu o surgimento de novas tecnologias, dentre elas estão os testes genéticos, que permitem detectar a presença de um gene defeituoso no genoma de um paciente, e consequentemente calcular a probabilidade do desenvolvimento de uma doença mesmo anos antes de seu surgimento, estabelecendo assim um prognóstico e tratamento (BUENO, 2009). Devido sua relevância para a medicina clínica, saúde pública e pesquisas médicas, a genética passou a ter papel indispensável no diagnóstico de doenças, assim como na elaboração de estratégias aplicadas no tratamento e monitoramento de doenças hereditárias (FÉCCHIO; MACEDO; RICCI, 2015).

A molécula de DNA se caracteriza por ser um polímero, termo atribuído a macromoléculas, que são moléculas grandes constituídas por uma sequência de moléculas ainda menores que são denominadas monômeros. No caso do DNA os monômeros recebem o nome de nucleotídeos, esses por sua vez, são formados por uma pentose (carboidrato

constituído por cinco átomos de carbonos), grupo fosfato e uma base nitrogenada, os nucleotídeos ficam conectados através de uma ligação fosfodiéster. Desta forma a estrutura do DNA consiste em uma fita dupla-hélice composta pela pentose e fosfato e que irão ser mantidas interligadas pelas bases nitrogenadas. O DNA tem a capacidade de armazenar e transmitir a informação genética de cada ser vivo aos seus descendentes (FIGUEREDO, 2022).

Os genes são segmentos de DNA que contêm uma sequência específica de nucleotídeos que armazena a informação genética suficiente para sintetizar determinada proteína. Cada proteína desempenhará diferentes funções para que o organismo humano realize suas atividades fisiológicas. A ação de fatores externos ou falhas nos mecanismos de reparo do DNA podem ser responsáveis pelo surgimento de mutações, que consequentemente resultaram em doenças. Através da alteração dos genes é possível modificar o genótipo de um indivíduo e com isso também altera seu fenótipo. Esses processos de alteração podem ser realizados por meio da engenharia genética (BARTH, 2005).

A engenharia genética é uma das vertentes da genética humana que visa o desenvolvimento de ferramentas que possibilitem a manipulação do material genético de uma espécie, para dessa forma editar seu genoma, com o propósito de se obter tratamentos no combate de patologias ocasionadas pelas ocorrências de mutações genéticas (FIGUEREDO 2022). Com o progresso da engenharia genética houve o surgimento das técnicas de DNA recombinante, permitindo assim a clonagem de moléculas de interesse, como hormônios ou enzimas que clivam segmentos de DNA, em regiões onde se localizam genes defeituosos ou até mesmo realizando modificações que almejam o fortalecimento do sistema imune, com isso a edição de micro-organismos possibilitou assim a resolução de certas dúvidas relacionadas a função dos genes (BARBOSA, 2012). A engenharia genética passou a ser empregada na indústria farmacêutica, resultando assim na produção de novos fármacos, ocasionando o aprimoramento de vacinas, mais eficazes no desenvolvimento da resposta imune adaptativa, e diminuindo a probabilidade da ocorrência de infecções, passando a ter papel fundamental devido ao longo histórico de efeitos colaterais causados pelas vacinas (CASTELO, 2004). De acordo com o site Época Negócios Online (2018), o Brasil se encontra na 9ª posição estabelecida pelo ranking dos países que mais investem em inovação com um orçamento de cerca de 42,1 bilhões de reais (US\$), enquanto que EUA e China investem respectivamente 476,5 bilhões de reais (US\$) e 360,6 bilhões de reais (US\$) estando respectivamente em 1º e 2º lugar, o site Estadão (2021) relata que dentre 169 países, o Brasil ocupa a 66ª posição no ranking mundial de inovação em pesquisa e saúde. O País ainda tem representado um papel secundário em termos de quantidade de pesquisas, ocupando a 25ª colocação no ranking global pesquisa científica. É o que aponta o Guia 2020 da Interfarma, Associação da Indústria Farmacêutica de Pesquisa, com o balanço do ano de 2019 no mercado farmacêutico. Com base nas questões discutidas, se torna perceptível a diferença significativa entre os investimentos realizados pelo Brasil em comparação a outros países, por meio desses dados, é possível realizar uma avaliação quantitativa e qualitativa, em que é expresso o atual cenário científico brasileiro. Esses números demonstram a necessidade de avanço científico com ênfase na genética, para que isso aconteça é indispensável o investimento em pesquisa. O presente trabalho tem a finalidade de avaliar a relevância que as pesquisas sobre engenharia genética têm para

a compreensão do genoma humano, e dessa forma obter entendimento das anomalias que o acometem, e meios de se adquirir tecnologias que possibilitem o tratamento dessas doenças. Explicar como o advento da terapia gênica foi fundamental para o combate de doenças genéticas, compreender a relação entre a engenharia genética, e o aprimoramento das técnicas de manipulação genética, analisar o papel da engenharia genética no desenvolvimento de tratamentos contra patologias genéticas.

REFERENCIAL TEÓRICO

Terapia gênica

A terapia gênica pode ser definida como um tratamento que busca desenvolver métodos que permitam que um gene de procedência exógena com ação terapêutica seja introduzido no organismo de uma pessoa com o objetivo de substituir um gene multado e consequentemente tratar a patologia em questão (PÉREZ-LÓPEZ, 2013; FÉCCHIO; MACEDO; RICCI, 2015). A terapia gênica é classificada de acordo com as células que serão submetidas ao tratamento, quando aplicada em células somáticas, o resultado implicará em modificações que podem ser observadas apenas no paciente tratado, mas quando o alvo em questão são células germinativas, existe a possibilidade de ocorrer o surgimento de alterações indesejadas, responsáveis pela manifestação de doenças que serão repassadas as próximas gerações (REIS; OLIVEIRA, 2019).

Em 1997 foi elaborado a Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos, posteriormente em 2004 foi estabelecido a Declaração Internacional sobre os Dados Genéticos Humanos, e no ano de 2015 foi criado a cúpula Internacional sobre Edição Genética Humana/Washington DC, com a finalidade redigir regras para evitar o uso inadequado dos conhecimentos genéticos. No Brasil a manipulação de material genético de células germinativas é proibida devido a aprovação da Lei de Biossegurança nº 11.105/20055 (VIVANCO *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2017).

O uso de vetores biológicos é feito por meio dos métodos *ex vivo* e *in vivo*, o primeiro consiste na retirada de células dos pacientes, de preferência da medula óssea, para que a terapia gênica seja feita em laboratório, o segundo se resumir em injetar os vetores diretamente na região desejada (MENCK; VENTURA, 2007; SANTALLA *et al.*, 2013).

Vetores não virais

Através das técnicas de DNA recombinante é possível incorporar determinadas genes a estrutura química dos plasmídeos, que são moléculas de DNA bacteriano que apresentam estrutura circular e extracossomal e possuem alta capacidade em se associar com genes que possuem uma sequência de nucleotídeos longa, além de intensificarem o mecanismo de ação dos fatores transcrição, o que potencializar o processo de expressão gênica (BROWN, 2010; LIDEN, 2010; FALEIRO; ANDRADE; JUNIOR, 2011). Outro tipo de vetor não viral são os denominados lipossomas, componentes químicos formados por uma bicamada fosfolipídica e não apresentam características patogênicas ao organismo

humano, o que diminui a possibilidade de ocorrer algum tipo de rejeição, em decorrência da ação do sistema imunológico, devido a membrana lipídica possuir propriedades químicas iguais as membranas celulares, isso facilita a interação com as células humanas, permitindo assim a entrada do material genético (BATISTA *et al.*, 2007; BORSATTO, 2015).

Vetores virais

A maior parte da literatura científica definir os vírus como parasitas intracelulares obrigatórios. Os vírus que apresentam ciclo de vida lisogênico são os candidatos ideais para atuar como vetores durante a terapia gênica devido aos seus mecanismos de ação para adentrar na célula hospedeira, já que incorporam seu material genético ao DNA humano, os retrovírus, adenovírus, vírus adenoassociados são utilizados com grande frequência nesse tipo de processo. Para se chegar nesse objetivo primeiramente ocorre a manipulação do material genético viral para que sua presença no corpo humano não resulte em nenhuma resposta imunológica, para isso são usadas ferramentas de edição genética para remover os genes de caráter patogênico e posteriormente é feita a adição do gene terapêutico (SANTALLA *et al.*, 2013; LIDEN, 2010).

Tratamentos baseados na terapia gênica

Por meio das ferramentas de edição genética é possível programar vírus geneticamente modificados para identificar os receptores presentes nas células tumorais, dessa forma induzido os patógenos a infectar somente as células multadas, para esse processo são usados adenovírus, que possuem um ciclo de vida lítico (RODRIGUEZ *et al.*, 2014; TURNBULL; WEST; SCOTT *et al.*, 2015).

Kymriah é um medicamento produzido com células T CAR com o auxílio de lentivírus que são responsáveis por incorporar ao DNA dos linfócitos T um transgene com função de expressa o antígeno quimérico específico (CAR), com a finalidade de tratar pacientes diagnosticados com leucemia Linfoblástica aguda das células B, após o recolhimento das células do paciente, é feita a edição genética dos linfócitos T, e posteriormente é realizado sua reintrodução por administração intravenosa, o tratamento é indicado para pacientes que se encontram na faixa etária de 1-25 anos de idade (NOVARTIS, 2019).

O adenovírus P53 recombinante consiste em um tratamento realizado com base na atividade celular do gene P53, o mecanismo de ação do Gendicine se concentra no uso de um adenovírus geneticamente modificado que funciona como um vetor viral responsável pela transfecção do DNA recombinante ao núcleo e meio extracelular das células cancerígenas após o processo de administração, dessa forma atribuindo as células tumorais a capacidade de expressar o gene P53 que posteriormente vai exercer sua função antitumoral (PENG, 2005).

A terapia mais empregada no tratamento de AME tipo 1, Zolgensma® (*Onasemnogene Apeparvovec*) tem como objetivo introduzir uma cópia extra do gene SMN no organismo humano, com o uso do vetor viral AAV-9 (STEPHEN, 2015). *Vertigine neparvovec* (Luxturna®) é uma terapia gênica empregada na área da oftalmologia, consistindo em um tratamento do tipo in vivo, e tem como alvo as células do tecido epitelial da retina, responsáveis por sintetizar uma enzima chamada isomero-hidro-lase, que atua como pigmento que tem função

indispensável para o ciclo retinóide, com a aplicação de ferramentas de edição genética é possível modificar vírus adenoassociados para transportarem uma cópia extra do gene RPE65. Mutações relacionadas ao gene RPE65 resultam em complicações severas para a saúde ocular, ocasionando em uma série de doenças retinianas degenerativas, como é o caso da amaurose congênita de Leber, que no ano de 2017 teve sua aplicação em humanos aprovada pelo FDA (MARQUES, 2021).

O T-VEC é um vetor viral geneticamente modificado que é requisitado como ferramenta para a terapia oncolítica empregada no tratamento de pacientes diagnosticados com melanoma e linfonodo por administração intralesional quando o procedimento cirúrgico não é viável, as doses terapêuticas devem ser injetadas uma vez em um intervalo de 2 semanas, podendo ocorrer sintomas semelhantes a gripe e dor após a aplicação da injeção (FERREIRA, 2021)

Tabela 1 - Terapias Genicas aprovadas abordadas no trabalho.

Nome comercial	Data de aprovação	Agência aprovadora	Indicação	Fabricante
Gendicine	Outubro de 2003	SFDA	Câncer de cabeça e pescoço	Shenzhen SiBiono GeneTe
Strimvelis	Junho de 2016	EMA	ADA (ADA-SCID)	GlaxoSmithKline
Kymriah (tisagenlecleucel)	Agosto de 2017	FDA	LLA	Novartis Pharmaceuticals
Luxturna (voretigene neparvovec)	Dezembro de 2017 FDA	FDA	Distrofia Retiniana	Spark Therapeutics Inc.
Zolgensma® (onasemnogene abeparvovec)	Mai de 2019	FDA	AME	Novartis Pharmaceuticals
T-VEC Outubro	Outubro de 2015	FDA	Melanoma	Amgen

Fonte: Jørgensen e Kefalas (2021), Ginn (2018)

METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica, do tipo exploratória descritiva, de caráter qualitativo com o intuito de averiguar a importância do desenvolvimento de novas ferramentas de engenharia genética, por meio da análise dos resultados de diferentes artigos que abordaram os resultados de ensaios clínicos que fizeram uso de terapias genéticas para tratar pacientes diagnosticados com enfermidades causadas por mutações genéticas como câncer, e doenças genéticas raras. As bases de dados consultadas foram *Google Acadêmico*, *Scielo*, *PubMed*, *Lilacs*. Os principais termos utilizados na pesquisa foram: engenharia genética, edição gênica, terapia gênica, *Strimvelis clinical trial*, *Luxturna clinical trial*, *Zolegensma clinical trial*, *Kymriah clinical trial*, *T-VEC clinical trial*, *Gendicine clinical trial*.

Critérios de inclusão e exclusão dos trabalhos selecionados para a revisão: artigos encontrados nas bases de dados citados anteriormente, estarem em inglês e português, foram publicados nos últimos 15 anos. Com isso foram descartados artigos publicados antes de 2008, e que estavam em outras línguas, artigos de revisão bibliográfica ou pesquisa de campo foram escolhidos para a revisão. A construção do trabalho seguiu

as seguintes etapas, primeira: organização do referencial teórico, segunda: revisão da bibliografia. Terceira: escolha dos trabalhos, Quarta: análise dos trabalhos, Quinta: síntese das principais informações

RESULTADOS

Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, foram escolhidos um total de 15 artigos que atendiam os parâmetros do tema proposto, sendo que todos se encontravam na língua estrangeira inglês, com 9 artigos centralizados sobre a eficácia da terapia gênica aplicada no câncer que estão disponíveis para leitura na tabela 2, e 6 artigos abordando os resultados obtidos pela terapia gênica, quando aplicada em doenças raras, que se localizam na tabela 3.

Autor/ Ano de publicação	Título	Resultados
Shannon L. Maude. 2018	Tisagenlecleucel em crianças e adultos jovens com leucemia linfoblástica de células B.	Um número de 75 pacientes diagnosticados com LLB foram tratados com Kymriah, após a terapia com as células T CAR, chegou se a conclusão que 81% dos pacientes entraram em remissão completa, 90% dos pacientes conseguiram prolongar seu tempo vida além do que se era esperado, sendo que 75% passaram para uma condição assintomática.
Guoqing wei. 2017	Avanços das células T modificadas pelo receptor de antígeno quimérico dirigido por CD19 na leucemia Linfoblástica aguda refratária/revidivante.	Em um ensaio clínico de fase II os pacientes obtiveram uma taxa de remissão completa de 94% dentro de um período de 1 mês após o uso das células T CAR. Com taxas de recaídas baixas, crianças apresentaram uma taxa de recaída de 10% e adultos de 20%.
Shannon L. Maude. 2015	Terapia com células T do receptor de antígeno quimérico direcionado a CD19 para leucemia linfoblástica aguda.	Em um ensaio clínico envolvendo um número de 30 pacientes com LLA tratados com células T CAR, os resultados desejados foram alcançados, e uma taxa de 90% dos pacientes entraram em estado de remissão completa.
Daniel W. Lee. 2015	Células T expressando receptores de antígeno quimérico CD19 para leucemia linfoblástica aguda em crianças e adultos jovens: um estudo de fase 1 de aumento de dose.	Em um ensaio clínico com 20 pacientes que tinham LLA foi registrado uma taxa de 70% de remissão completa devido ao uso das células T CAR, 10 dos 20 pacientes foram declarados legíveis para o TCTH, sendo que após o procedimento cirúrgico todos permaneceram em estado de remissão completa
Marco L. Davila 2014	Gerenciamento de eficácia e toxicidade da terapia com células T CAR 19-28z na leucemia linfoblástica Aguda células B.	Um grupo de 16 candidatos com idade média de 50 anos atingiu uma taxa de remissão completa de 88% ao fazerem uso das células T CAR, sendo que a taxa de remissão média apresentada pelo tratamento convencional (quimioterapia) é de 30%.
Wei-Wei Zhang. 2018	O primeiro produto da terapia gênica aprovado para câncer Aid-P53 (gencicina): 12 anos de clínica.	No total 30 mil pacientes foram tratados com gencicina em um período de 12 anos dessa forma foram registrados que um número de 30-40% dos pacientes obtiveram resposta completa, enquanto 50-60% alcançaram a marca de resposta parcial, no total foi constatado que 90-96% dos pacientes obtiveram resposta total. Sendo que os efeitos adversos relatados foram febre, artralgia, mialgia.

Autor/ Ano de publicação	Título	Resultados
Pei-Hsin Cheng.	Replicação oncolítica de adenovírus deletados de E1b.	Em um ensaio clínico de fase III, 600 pacientes diagnosticados com melanoma foram tratados com terapia oncolítica viral, utilizando o vírus H101 em associação com quimioterapia, no geral 79% dos pacientes que foram tratados com a combinação das 2 terapias apresentaram respostas positivas, enquanto que a taxa de resposta foi de apenas 40% para aqueles que receberam quimioterapia.
Hiroshi Fukahara. 2016	Terapia com vírus oncolíticos: uma nova era de tratamento do câncer ao amanhecer.	Estudos relatam que o uso do vaccínia vírus, chamado JX-594 alcançou resultados positivo em ensaio clínicos, nesse estudo pacientes diagnosticados com câncer de fígado receberam uma injeção intratumoral, contendo o vetor, nenhuma fatalidade foi registrada, apenas sintomas semelhantes a gripe, após o início do tratamento os níveis de marcadores tumorais diminuíram em 50%, e foi verificado uma taxa de resposta antitumoral de 30%.
Pier Francesco Ferrucci. 2021	Talimogene laherparepvec (T-VEC): uma imunoterapia de câncer intralesional para melanoma avançado.	Em um estudo de fase II a terapia Oncolítica com T-VEC foi empregada no tratamento de 50 pacientes diagnosticados com melanoma metastático, por meio de exames foi possível detectar uma redução da carga tumoral nos tumores que receberam injeção, como também nos viscerais e também naqueles que não receberam injeção, sendo que o progresso atingido nesses ensaios se mantiveram por 3 anos, e os pacientes apresentaram uma taxa de sobre vida global 58% em 1 ano e 52% em 2 anos.

Fonte: Dados da pesquisa

Autor/ Ano de publicação	Título	Resultados
Albert M Maguire. 2019	Eficácia, segurança e durabilidade do voretigene neparvovec-rzyl na distrofia retiniana hereditária associada à mutação RPE65: resultados dos ensaios de fase 1 e 3.	Um grupo de 29 pacientes com voretigene neparvovec (Luxturna) O grupo de fase 1 foi monitorado por 4 anos e o grupo de fase 3 por 2 anos, dentro de um intervalo de 1 ano os participantes foram submetidos aos testes de mobilidade de multi-luminância(MLMT) e testes de sensibilidade a luz em campo completo e exame de acuidade visual, com a finalidade de calcular o progresso do tratamento, de forma geral os pacientes obtiveram resultados positivos todos os anos, atingindo pontuações que evoluíram ao longo dos anos, com exceção do grupo de controle que não obteve os mesmo resultado dos grupos que receberam o tratamento.
Sonia Messina 2020	Novos tratamentos na atrofia muscular espinhal: resultados positivos e negativos e novos desafios.	Após atingirem seus 14 meses de vida, pode se observa que um total 91%(20 de 22) pacientes que receberam a Zolgensma com menos de 6 meses, não apresentaram sintomas relacionados a fisiopatologia da AME, com 1 ano e meio, um número de 13 pacientes(59%) conseguia se sentar por mais de 30 segundos sem auxílio, e 18 pacientes (81%,) não necessitavam de nenhum suporte ventilatório e 86 % estavam conseguindo ingerir alimentos sólidos sem a necessidade de se recorrer ao uso de maquinas , e 14 (63%) permaneceram no peso ideal indicado para sua faixa etária e sexo.
Albert M Maguire. 2009	Efeitos dependentes da idade da terapia genética RPE65 para amaurose congênita de Leber: um estudo de fase 1 de escalonamento de dose	Após o início do tratamento com a terapia gênica foi perceptível as mudanças apresentadas, todos os 12 com pacientes tiveram melhora no seu campo de visão, além de conseguirem percorrer trajetos em ambiente pouco iluminados sem ajuda, houve o aumento dos reflexos pupilares, e redução do nistagmo, além da degradação de estocoma, sendo que uma criança de 8 anos obteve um nível de visão equivalente ao de uma pessoa normal.

Autor/ Ano de publicação	Título	Resultados
Emily South. 2019	Strimvelis® para o tratamento de imunodeficiência combinada grave causada por deficiência de adenosina desaminase: uma perspectiva de grupo de revisão de evidências de uma avaliação de tecnologia altamente especializada da NICE.	100% dos pacientes de um grupo formado por 18 pessoas diagnosticadas com ADA-SCID, atingiram a condição de sobrevida global, com média de 6 anos, após isso um total de 82% alcançou a condição de sobrevida global sem intervenção após o tratamento com Strimvelis. Foi registrado melhora na ação do sistema imune, com redução da taxa de infecções e aumento da contagem de linfócitos.
Alessandro Aiuti 2017	Terapia genética para ADA-SCID, a primeira aprovação de comercialização de uma terapia genética ex vivo na Europa: pavimentando o caminho para a próxima geração de medicamentos de terapia avançada.	Por meio da terapia Strimvelis 12 pacientes diagnosticados com imunodeficiência grave combinada conseguiram restaurar o funcionamento do sistema linfóide, o que contribuiu para o funcionamento dos linfócitos T, e redução de metabolitos tóxicos
Jerry R. Mendell 2021	Aplicações clínicas atuais da terapia gênica in vivo com AVVs.	Entre os 15 pacientes com AME 1 tratados com Zolgensma quando tinham 4 meses de vida, 12 atingiram a proeza de respirar sem o auxílio de máquinas, sendo que 11 se sentaram sem nenhuma ajuda, e 9 rolaram, e 11 conseguiram deglutir os alimentos e se comunicar verbalmente. Em dezembro de 2019, 11 dos candidatos estavam hábeis a respirar sem aparelhos de forma permanente, sendo que dois conseguiram ficar de pé com ajuda, e possuíam uma idade média de 5 anos, sendo que o mais velho atingiu a idade de 5 anos e 6 meses.

Fonte: dados pesquisa

DISCUSSÃO

Mesmo com a ocorrência de efeitos adversos, as células T CAR demonstraram ser uma ferramenta promissora em relação as metodologias mais frequentemente utilizadas no tratamento desse tipo de doença, essas afirmativas têm como base as respostas clínicas alcançadas pelos pacientes, devido aos princípios estabelecidos pela terapia e as estratégias para assim reverter os efeitos colaterais. Dessa forma passando a ter um papel de extrema relevância, especialmente para a imunologia, oncologia e biotecnologia (MARTHO, 2017).

O trabalho Jerry R Mendell (2021) relatar resultados de crianças que atingiram 5 anos e 6 meses de vida após administração de uma única dose de Zolgensma, o que comprova sua eficácia e durabilidade, o que torna a terapia uma ótima opção no combate a essa enfermidade, por aumentar a expectativa de vida em cerca de 3 anos e meio, até onde se sabe, ainda é necessário a realização de ensaios clínicos com crianças mais velhas, que apresentam um quadro mais avançado e debilitante da doença, já que em nenhum dos estudos citados os pacientes tinham idade superior a 2 anos.

A aprovação do Luxturna se tornou um marco inovador na prática médica, pois

ampliou o arsenal de recursos disponíveis para pacientes diagnosticados com mutações do RPE65, que no passado estavam sujeitos a um estilo de vida extremamente limitado devido sua deficiência. Os dados obtidos em diversos ensaios clínicos são evidências que comprovam a eficácia que Luxturna pode alcançar em períodos de tempo relativamente curtos, mesmo quando analisados em populações pequenas, essas informações têm papel fundamental no tratamento de doenças degenerativas. Principalmente as relacionadas a retina, já que a intervenção antes do surgimento dos sintomas é essencial para a evitar o progresso da doença, com foi visto nos ensaios clínicos (MAGUIRE, 2021).

O Transplante com células tronco hematopoiéticas é o tratamento indicado para pacientes com ADA-SID, porém só é viável em condições em que o as células tronco são de um familiar ou de doador compatível, com isso complicações surgem com frequência após o transplante com um doador não compatível, como é o caso da doença do enxerto versus hospedeiro, que pode gerar implicações sistêmicas que na maioria dos casos é fatal, outro recurso é a terapia enzimática de reposição(TER), que tem eficácia comprovada, porém quando usada a longo prazo pode influencia no desenvolvimento de insuficiência pulmonar crônica, e produção de anti corpos para ADA, sendo que se tratar de um tipo de tratamento que necessita da aplicação de injeções frequentemente, e por possui um custo elevado, resulta em uma terapia muito cara. (HASSAN, 2012). Por utilizar células tronco do próprio paciente Strimvelis é avaliada como uma terapia opcional que proporciona mais benefícios aos pacientes, já que os riscos de rejeição não existem (AIUTI, 2017).

O ensaio de fase II descrito no trabalho Ferrucci (2021) expõe evidências concretas com relação aos benefícios obtidos por pacientes diagnosticados com melanoma após serem submetidos a terapia oncolítica com T-VEC, comprovando assim que administração por injeção intralesional é eficaz em reduzir a massa tumoral em todos os tumores distribuídos pelo organismo, além de prolongarem a perspectiva de vida do paciente (FUKUHARA, 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados levantados, consta-se que a ampla gama de aplicações da engenharia genética pode propiciar uma vasta quantidade de privilégios. Que promoveram o avanço dos seres humanos, contribuindo para o tratamento de uma diversa quantidade de doenças, bem como de possibilitar o diagnóstico precoce de determinadas doenças de cunho genético, e por expandir as opções de tratamento para patologias de origem genética como por exemplo o câncer, e outras de caráter muito mais raro, que até então não possuíam terapias tão eficazes e com resultados concretos, comprovando assim o sucesso obtido pelas ferramentas de edição genética quando direcionadas para o campo da medicina.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, M. S. *et al.* A produção de insulina artificial através da tecnologia do DNA recombinante para o tratamento de diabetes mellitus. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v. 10, n. 1, p. 235-244, jan./jun. 2012.

BARTH, Wilmar Luiz. Engenharia genética e bioética. Teocomunicação, v. 35, n. 149, 2005.

BATISTA, Cinthia Meireles; CARVALHO, Cícero Moraes Barros de; MAGALHÃES, Nereide Stela Santos. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 43, p. 167-179, 2007.

BROWN, T. Vectors for gene cloning: Plasmids and bacteriophages. Brown T. Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction 6a edição. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2010.

BORSATTO, S. C. Terapia gênica: sucessos e insucessos. 2015. 44 f. Dissertação (especialização) do programa de ensino a distância da Universidade Federal do Paraná, Paranaíba, 2015.

BUENO, Maria Rita Passos. O projeto genoma humano. Revista Bioética, v. 5, n. 2, 2009.

CASTELO, A. A. M. C. *et al.* É possível uma vacina gênica auxiliar no controle da tuberculose? Jornal Brasileiro de Pneumologia, Ribeirão Preto, v. 30, n. 4, p. 469-476, maio 2004.

CHENG, Pei-Hsin *et al.* Oncolytic replication of E1b-deleted adenoviruses. Viruses, v. 7, n. 11, p. 5767-5779, 2015.

DAVILA ML, KLOSS CC, GUNSET G, SADELAIN M. CD19 CAR-targeted T cells induce long-term remission and B Cell Aplasia in an immunocompetent mouse model of B cell acute lymphoblastic leukemia. PloS one. 2013;8(4): e61338.

DAVILA, Marco L. *et al.* Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia. Science translational medicine, v. 6, n. 224, p. 224ra25-224ra25, 2014.

EPOCA NEGOCIOS ONLINE. Brasil está em 9º na lista de países que mais investem em inovação. Época Negócios Online, publicado em 19 de dezembro de 2018. Disponível em: <https://epocanegocios.globo.com/Mundo/noticia/2018/12/veja-quais-sao-os-paises-que-mais-investem-no-motor-da-inovacao-brasil-esta-na-lista.html> Acesso em 17 de outubro de 2022.

ESTADÃO. Brasil fica em 25º em um ranking de inovação na saúde. Portal Estadão Online, publicado em 06 de fevereiro de 2021. Disponível em: <https://www.google.com/amp/s/summitsaude.estadao.com.br/desafios-no-brasil/brasil-fica-em-25o-em-um-ranking-de-inovacao-na-saude/amp/> Acesso em 17 de outubro de 2022.

FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; JUNIOR, F. B. R. Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária. 1. Ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011.

FÉCCHIO, DÂNIA CAROLINE; MACEDO, LUCIANA CONCI; RICCI, GLÉIA C. LAVERDE. O uso da terapia gênica no tratamento de doenças. Uningá Review, v. 21, n. 1, 2015.

FERREIRA, Mariana Gonçalves *et al.* Opções de tratamento não cirúrgico do melanoma e suas indicações. International Journal of Health Management Review, v. 7, n. 1, 2021.

FERRUCCI, Pier Francesco *et al.* Talimogene laherparepvec (T-VEC): an intralesional cancer immunotherapy for advanced melanoma. Cancers, v. 13, n. 6, p. 1383, 2021. FU, Y.;

FIGUEREDO, Clara Ellis Adeilde Martins. Reflexões sobre a engenharia genética e a seleção embrionária sob a ótica do planejamento familiar. 2022

FUKUHARA, Hiroshi; INO, Yasushi; TODO, Tomoki. Oncolytic virus therapy: A new era of cancer treatment at dawn. *Cancer science*, v. 107, n. 10, p. 1373-1379, 2016.

GLAXOSMITHKLINE. Strimvelis: Summary of Product Characteristics. European Medicines Agency. Last updated June 2016.

HASSAN A, BOOTH C, BRIGHTWELL A, ALLWOOD Z, VEYS P, RAO K, *et al.* Outcome of hematopoietic stem cell transplantation for adenosine deaminase-deficient severe combined immunodeficiency. *Blood*. 2012; 120:3615–24. quiz 26

JØRGENSEN J.; KEFALAS P. O uso de mecanismos de pagamento inovadores para terapias genéticas na Europa e nos EUA. *Medicina Regenerativa*, v. 16, n. 4, pág. 405-422, abr. 2021.

KOLB, Stephen J; KISSEL, John T. Spinal Muscular Atrophy. *Neurologic clinics*. v. 33, n 4. p. 831-46. 2015.

LEE, Daniel W. *et al.* T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *The Lancet*, v. 385, n. 9967, p. 517-528, 2015.

LINDEN, Rafael. Terapia gênica: o que é, o que não é e o que será. *Estudos avançados*, v. 24, p. 31-69, 2010.

MAGUIRE, Albert M. *et al.* Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. *The Lancet*, v. 374, n. 9701, p. 1597-1605, 2009.

MAGUIRE, Albert M. *et al.* Efficacy, safety, and durability of voretigene neparvovec-rzyl in RPE65 mutation-associated inherited retinal dystrophy: results of phase 1 and 3 trials. *Ophthalmology*, v. 126, n. 9, p. 1273-1285, 2019.

MAGUIRE, Albert M. *et al.* Clinical perspective: treating RPE65-associated retinal dystrophy. *Molecular Therapy*, v. 29, n. 2, p. 442-463, 2021.

MARQUES, João Pedro *et al.* O Primeiro Tratamento com Luxturna em Portugal: Um Pequeno Passo para a Ciência Mundial, um Salto Gigante para a Oftalmologia Portuguesa. *Revista Sociedade Portuguesa de Oftalmologia*, v. 45, n. 2, pág. 67-69, 2021.

MAUDE, Shannon L. *et al.* Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine*, v. 378, n. 5, p. 439-448, 2018.

MAUDE, Shannon L. *et al.* CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, *The Journal of the American Society of Hematology*, v. 125, n. 26, p. 4017-4023, 2015.

MENDELL, Jerry R. *et al.* Current clinical applications of in vivo gene therapy with AAVs. *Molecular Therapy*, v. 29, n. 2, p. 464-488, 2021.

MENCK, C. F. M.; VENTURA, A. M. Manipulando genes em busca de cura: o futuro da terapia gênica. *Revista USP*. São Paulo, n75, p. 50-61, set/nov. 2007.

Messina S, Sframeli M. New Treatments in Spinal Muscular Atrophy: Positive Results and New Challenges. *J Clin Med*. 2020 Jul 13;9(7):2222. Doi: 10.3390/jcm9072222. PMID: 32668756; PMCID: PMC7408870.

NOVARTIS - Novartis recebe aprovação da Comissão Europeia prova de sua terapia com células CAR-T, Kymriah® (tisagenlecleucel). [Acedido em abril de 2019].

PENG, Zhaohui. Situação atual da gendicina na China: agente recombinante humano Ad-p53 para tratamento de câncer. *Terapia genética humana*, v. 16, n. 9, pág. 1016-1027, 2005.

PÉREZ-LÓPEZ, J. Terapia génica en el tratamiento de los errores congénitos del metabolismo. *Medicina clínica*, 2013.

REIS, Émilien Vilas Boas; OLIVEIRA, Bruno Torquato de. CRISPR-Cas9, biossegurança e bioética: uma Análise Jusfilosófica-Ambiental da Engenharia 18, n.1, p. 27-40. 2014.

RODRÍGUEZ, J. A.; MARTÍNEZ, L. M.; CRUZ, N.; CÓMBITA, A. L. Terapia génica para el tratamiento Del câncer. *Revista Colombiana de cancerologia*, Bogotá, v., v. 3, n. 2, p. 151-161, 2019.

SANTALLA, M.; FESSER, E.; ASAD, A. S.; ACOSTA, D.; HARNICHAR, E.; FERRERO, P. V. Terapia génica: desde los extractos y las píldoras a las pociones de ADN. *Insight Medical Publishing Journals*, v. 9, n. 2:3, p. 1-9. 2013.

SOUTH, Emily *et al.* Strimvelis® for treating severe combined immunodeficiency caused by adenosine deaminase deficiency: an evidence review group perspective of a NICE highly specialised technology evaluation. *PharmacoEconomics-open*, v. 3, n. 2, p. 151-161, 2019.

UTI, Alessandro; RONCAROLO, Maria Grazia; NALDINI, Luigi. Gene therapy for ADA-SCID, the first marketing approval of an ex vivo gene therapy in Europe: paving the road for the next generation of advanced therapy medicinal products. *EMBO molecular medicine*, v. 9, n. 6, p. 737-740, 2017.

TURNBULL, S.; WEST, E.J.; SCOTT, K.J.; APPLETON, E.; MELCHER, A.; RALPH C. Evidence for Oncolytic Virotherapy: Where Have We Got to and Where Are We Going? *VIRUSES*, Basileia, v. 3, n. 1, p. 6291-6312, jun, 2015.

VIVANCO, Cintia Ribeiro *et al.* CRISPR-CAS9: aspectos bioéticos e normativos do método. *Revista Brasileira de Bioética*, v. 14, n. edsup, p. 76-77, 2019.

WEI, Guoqing *et al.* Advances of CD19-directed chimeric antigen receptor-modified T cells in refractory/relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Experimental Hematology & Oncology*, v. 6, n. 1, p. 1-7, 2017.

ZHANG, Wei-Wei *et al.* The first approved gene therapy product for cancer Ad-p53 (Gendicine): 12 years in the clinic. *Human gene therapy*, v. 29, n. 2, p. 160-179, 2018.

AGRADECIMENTOS

Ao decorrer de minha jornada acadêmica passei por vários momentos de incerteza e insegurança, duvidei de minha própria pessoa, minhas capacidades, por muitas vezes me senti vazio e desorientado, e me via em cenário caótico com relação ao meu psicológico sem entender meu propósito, e por sofrer com minhas inseguranças, mas graças ao meu empenho, minha mãe, meus familiares e amigos, e todos os profissionais do magistério presente ao decorrer da minha graduação, minha orientadora Bárbara Fernandes Melo e Universidade Regional do Cariri- URCA, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior que me permitiu ser bolsista Programa Institucional de Bolsas de Iniciação à Docência (PIBID) consegui chegar aonde estou. Momento este que afirmo ser a maior realização de minha vida.

Viabilidade celular de bactérias fixadoras de nitrogênio isoladas de nódulos após armazenagem

Cellular viability of nitrogen-fixing bacteria isolated from nodules after storage

Larisse Raquel Carvalho Dias

Antônia Alice Costa Rodrigues

Leonardo de Jesus Machado Gois de Oliveira

Erlen Keila Candido e Silva

Érica Louzeiro Cunha

Larissa Ramos dos Santos

Edson Pimenta Moreira

Lorena Rejane Monteiro Farias

Maria Francisca Oliveira Borba

Gislaynne Barcelos do Nascimento

RESUMO

As bactérias do gênero *Bradyrhizobium* são capazes de promover o crescimento vegetal beneficiando às plantas hospedeiras, por meio da produção de fitohormônios, fixação de nitrogênio e aumentando a disponibilidade de macro e micronutrientes. Para que pesquisas com bioprodutos as bases desses microrganismos sejam estabelecidas, é fundamental que seja avaliada a viabilidade celular dessas bactérias após períodos de armazenagem. Com isso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a viabilidade celular da população bacteriana isoladas de nódulos associados a raízes de feijão-caupi após inoculação com *Bradyrhizobium* sp., sob efeito do tempo de armazenagem preservado no método de Castellani. As bactérias foram isoladas de nódulos de feijão-caupi, submetidos à assepsia e logo após, maceradas e cultivadas em meio de cultura BDA, mantidas durante 48 horas em câmeras do tipo BOD com temperatura $24 \pm 2^\circ\text{C}$. Após o crescimento, foi realizado a raspagem da colônia e transferência para método Castellani. A avaliação ocorreu após 24 meses de armazenagem, as colônias bacterianas foram analisadas quanto a correlação da densidade ótica (DO) medida a 540 nm em espectrofotômetro. Todas as bactérias isoladas apresentaram excelente crescimento após 48 h de incubação, além disso as placas se mantiveram livres de contaminantes após sete dias de observação, não houveram crescimento fúngicos indesejados. O método de preservação em Castellani foi eficiente em manter a viabilidade celular das células bacterianas isoladas de nódulos de feijão-



-caupi durante o período de armazenagem de 24 meses. Portanto, essa técnica pode ser utilizada para os testes de produção de inoculantes, para análise das respostas fisiológicas e capacidade bacteriana de melhoria de desempenho vegetal.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium* spp.. FBN. armazenamento.

ABSTRACT

Bacteria of the *Bradyrhizobium* genus are capable of promoting plant growth, benefiting host plants through the production of phytohormones, nitrogen fixation and increasing the availability of macro and micronutrients. For research into bioproducts based on these microorganisms to be established, it is essential that the cellular viability of these bacteria be assessed after periods of storage. Therefore, the objective of this work was to evaluate the cellular viability of the bacterial population isolated from nodules associated with cowpea roots after inoculation with *Bradyrhizobium* sp., under the effect of the storage time preserved in the Castellani method. The bacteria were isolated from cowpea nodules, subjected to asepsis and then macerated and cultivated in PDA culture medium, maintained for 48 hours in BOD-type cameras at a temperature of $24 \pm 2^\circ\text{C}$. After growth, the colony was scraped and transferred to the Castellani method. The evaluation took place after 24 months of storage, the bacterial colonies were analyzed for the correlation of optical density (OD) measured at 540 nm on a spectrophotometer. All isolated bacteria showed excellent growth after 48 h of incubation, in addition, the plates remained free of contaminants after seven days of observation, there was no unwanted fungal growth. The Castellani preservation method was efficient in maintaining the cell viability of bacterial cells isolated from cowpea nodules during the 24-month storage period. Therefore, this technique can be used for inoculant production tests, to analyze physiological responses and bacterial capacity to improve plant performance.

Keywords: *Bradyrhizobium* spp.. FBN. storage.

INTRODUÇÃO

As bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) habitam a rizosfera de várias espécies de plantas. Essas bactérias são capazes de promover o crescimento vegetal beneficiando às plantas hospedeiras, por meio da produção de fitohormônios, fixação de nitrogênio e aumentando a disponibilidade de macro e micronutrientes. Além disso, estimulam a resistência nas plantas, ajudando a combater doenças causadas por patógenos. No entanto, a eficácia da associação entre plantas e bactérias depende de vários fatores como a espécie vegetal, a estirpe bacteriana, as condições de cultivo e o processo de inoculação (HUNGRIA *et al.*, 2015).

A agricultura atual depende amplamente do uso intensivo de fertilizantes químicos, os quais apresentam preocupações quanto à poluição ambiental e aos custos elevados. Isso porque as fontes desses recursos não são renováveis e demandam aplicação em larga escala. Diante dessa realidade, os agricultores necessitam de alternativas mais sustentáveis e econômicas. Dentre essas alternativas, a inoculação de bactérias se destaca por ser

ecologicamente sustentável, que enriquece o solo e fortalece os sistemas agrícolas através de maior fornecimento de nutrientes (EVIDENTE *et al.*, 2019).

Dentre os gêneros de bactérias maior interesse agrícola pode-se destacar *Bradyrhizobium spp.*, *Azospirillum spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Bacillus spp.* A introdução de microrganismos no sistema agrícola representa uma ferramenta biotecnológica capaz de melhorar a produtividade das culturas, contribuindo assim para o desenvolvimento das práticas sustentáveis na agricultura (HUNGRIA *et al.*, 2015).

O gênero *Bradyrhizobium spp.*, em simbiose com leguminosas realiza a fixação de nitrogênio (FBN) em associação com as estruturas radiculares originam os nódulos e fixam o N₂ para a planta na forma de amônia. Em contrapartida, a planta fornece carbono e outros nutrientes essenciais ao rizóbio (HEATH; TIFFIN, 2009). Essa associação pode acrescentar na produção de grãos em até 40% em condições de campo experimental e até 52% em áreas de produtores (RUMJANEK *et al.*, 2006).

No entanto, a sobrevivência, durabilidade e pureza microbiana é fundamental para garantir a eficiência na utilização de inoculantes. Diante do exposto, essa pesquisa objetiva avaliar a viabilidade celular de *Bradyrhizobium spp.* isolados de nódulos associados a raízes de feijão-caupi, sob efeito do tempo de armazenamento preservado no método de Castellani.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Maranhão, São Luís – MA.

Em casa de vegetação, sementes de feijão-caupi da variedade tradicional Angelim e cultivares biofortificadas BRS Tumucumaque e BRS Aracê, foram inoculadas com a estirpe comercial de *Bradyrhizobium sp.* SEMIA 6462, autorizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso na cultura do feijão-caupi por um minuto e em seguida, semeadas em solo autoclavado.

Para isolamento das bactérias, os nódulos foram coletados das raízes? Dias após plantio e submetidos à assepsia com álcool 70 %, solução aquosa de hipoclorito de sódio na proporção 3:1 e duas lavagens com água destilada. Logo após, os nódulos foram macerados em 1 ml de ADE (Água destilada e esterilizada) e o macerado distribuído em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). As placas foram mantidas durante 48 horas em câmaras do tipo BOD com temperatura 24±2°C para o crescimento da bactéria.

Após crescimento bacteriano foram realizadas repicagem para novas placas a fim de purificar as colônias obtidas. Após purificação os isolados bacterianos foram preservados pelo método Castellani (CASTELLANI, 1939), adicionando-se 1 ml de ADE a placa purificada, realizando-se a raspagem da colônia e transferindo 1 ml ou µl da solução bacteriana para 5 ml de ADE, onde permaneceu armazenado em câmara fria com temperatura de 4°C.

Após 24 meses, alíquotas de 30 µl dos isolados preservados no método Castellani foram riscados em placas de Petri contendo meio BDA, logo após foram incubadas em

câmara tipo BOD, com fotoperíodo de 12 h e temperatura $24 \pm 2^\circ\text{C}$. Após 48 horas, as colônias foram analisadas morfológicamente e em seguida, realizada a quantificação dos isolados através da correlação da densidade ótica (DO). Para isto, estes foram diluídos em 10 mL de Cloreto de Sódio a 0,85% e realizada a leitura em espectrofotômetro a 540 nm.

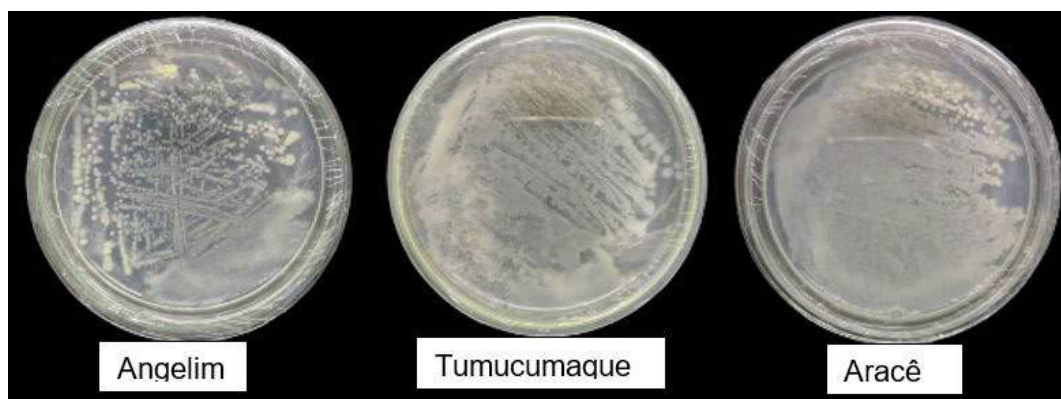
Os testes foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado totalizando 3 tratamentos, formados por nódulos oriundo das Bactérias isoladas das variedades Angelim, BRS Tumucumaque e BRS Aracê, com 6 repetições sendo a unidade experimental representada por uma placa de crescimento.

Os dados foram submetidos às análises de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey considerando o $p \leq 0,05$ (GODOY, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação de crescimento após 24 meses de armazenamento das bactérias, foi observado que todas as bactérias isoladas apresentaram crescimento após 48 h de incubação, sugerindo que o método Castellani foi eficiente em preservar as bactérias isoladas dos nódulos da variedade tradicional Angelim e das cultivares biofortificadas BRS Tumucumaque e BRS Aracê. Morfológicamente as colônias dos nódulos isolados de Angelim e BRS Aracê possuem coloração creme, são puntiformes, com bordas inteiras, aparência homogênea, forma circular e translúcidas, diferente de algumas das características das colônias bacterianas observadas nos nódulos isolados de BRS Tumucumaque que possuem coloração creme, são puntiformes, com bordas inteiras, aparência heterogênea, forma irregular e opaca. Além disso, as colônias em cultivo se mantiveram livres de contaminantes após sete dias de observação, não houveram crescimento fúngicos indesejados (Figura 1).

Figura 1 - Crescimento de bactérias isoladas de nódulos formados em raízes de feijão-caupi após inoculação com *Bradyrhizobium* sp. nas variedades Angelim, BRS Tumucumaque e BRS Aracê.



Fonte: DIAS, (2023).

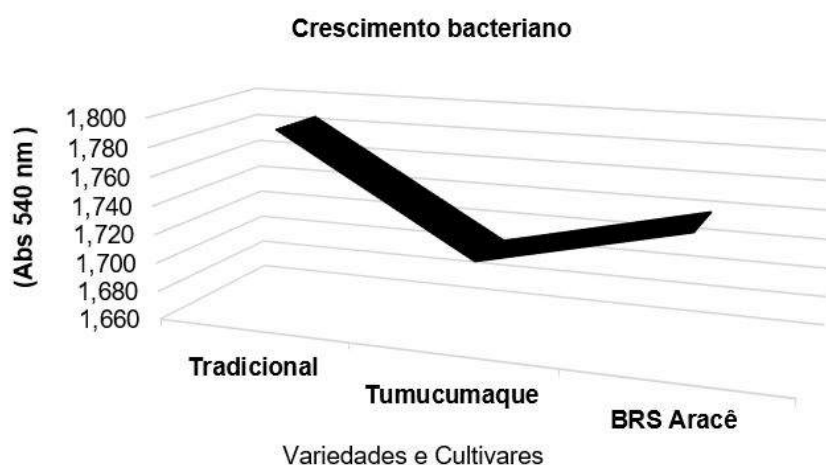
Na literatura, a importância de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* na promoção de crescimento vegetal é bem estabelecida, e diversos produtos que contêm essa bactéria são amplamente comercializados (SOUZA *et al.*, 2022). Essa reconhecida associação do gênero com a cultura do feijão-caupi, tem se tornado uma alternativa sustentável para mitigar a baixa produtividade associada a maioria das variedades e cultivares existentes para plantio, devido a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico que essas bactérias possuem (ALVES,

2017). No processo fixação biológica de nitrogênio (FBN), esses microrganismos usam a enzima nitrogenase para capturar o nitrogênio atmosférico e o transformar em amônia, uma forma facilmente utilizável pelas plantas. Esse mecanismo representa a principal via natural de incorporação de nitrogênio atmosférico no solo, sendo responsável por cerca de 90% do nitrogênio fixado (TAIZ *et al.*, 2017).

Devido essa importância e necessidade do mercado, atualmente existe uma procura crescente por esses inoculantes, porém há escassez desses produtos no mercado. Alguns microrganismos estão sendo produzidos em propriedades, muitas vezes em condições inadequadas. Resultando em produtos finais de qualidade inferior e aumento no risco de contaminação por patógenos indesejáveis (contaminantes), representando uma ameaça à saúde humana e ao meio ambiente (MONNERAT *et al.*, 2020).

Desse modo, técnicas seguras de armazenamento que mantenham a viabilidade celular bacteriana, mesmo após longos períodos de armazenamento (desafio para o mercado) são necessárias para suprir a demanda das perspectivas futuras e produção desses inoculantes. Essa pesquisa visando colaborar com essas técnicas, revela que na análise de turbidimetria ótica em espectrofotômetro a absorbância das amostras expressaram uma média o 1,789, 1.711 e 1.743 de crescimento para Angelim, BRS Tumucumaque e BRS Aracê, respectivamente (Figura 2).

Gráfico 2 - Média do crescimento bacteriano dos isolados obtidos dos nódulos de diferentes variedades e cultivares de feijão-caupi.



Fonte: Dias (2023).

Não houveram diferenças estatísticas entre o crescimento bacteriano para os nódulos isolados das diferentes cultivares, essa constância no crescimento provavelmente está relacionada com o método empregado (Figura 2).

Nossos resultados discordam das condições descritas por Malaquias *et al.* (2015), que relatam que meios complexos tem a maior capacidade de promover células metabolicamente ativas em bactérias da família Rhizobiaceae, os autores sugerem que esse método é a melhor alternativa para uso em veículos de nodulação. No entanto, o método empregado em nossas pesquisas revelou viabilidade celular de bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, mesmo em um método de cultivo de baixa complexidade. Corroborando com os dados de Martins *et al.* (2016) que observaram a viabilidade celular de bactérias *Lactobacillus plantarum* e *Streptococcus thermophilus* cultivadas em ágar inclinado de MRS

modificado (0,5% de glicose) utilizando um meio com pouca oferta de nutrientes somada a simples técnica de refrigeração, o que se manteve eficiente para tanto por dez meses.

São escassas as pesquisas que abordam a análise de métodos de preservação envolvendo o gênero *Bradyrhizobium*. No entanto, diversos trabalhos têm relatado protocolos para o armazenamento bacteriano (GODOY *et al.*, 2020; KONRAD, 2016; MONNERAT *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2023). Que variam basicamente quanto aos equipamentos usados e a concentração de bactérias. No entanto, trabalhos avaliando a sobrevivência bacteriana por longo períodos em métodos de armazenamento são escassos.

Reetha *et al.* (2014) observaram sobrevivência de *Azospirillum lipoferum* por após 12 meses na concentração de 10^9 UFC.mL⁻¹. Ivanova *et al.* (2005) relataram que a viabilidade celular de *Azospirillum brasiliense* durou até 6 meses após armazenamento usando concentrações de alginato como veículo.

Kaur *et al.* (2023) observaram alta taxa de sobrevivência durante um período de armazenamento de 120 dias de uma cepa bacteriana de *Myroid gitamensis*. Dos Santos *et al.* (2022) relataram que *Azospirillum brasiliense* e *Herbaspirillum seropedicae* sobreviveram na concentração de 10^8 células g⁻¹ por até 30 dias.

Guimarães *et al.* (2013) ressaltam a necessidade de estudos relacionados à viabilidade e qualidade dos inoculantes. Uma vez que a obtenção de isolados viáveis e a formulação de inoculantes são etapas essenciais na tecnologia de biofertilizantes. Encontrar soluções que prolonguem a vida útil desses inoculantes é um meio eficaz de reduzir os custos dessa biotecnologia, trazendo benefícios tanto para os agricultores quanto para o fortalecimento da sustentabilidade agrícola.

Neste trabalho foram obtidas células vivas e livres de contaminação após 24 meses de armazenamento, posteriormente conduzidos em ambiente asséptico obtendo-se culturas estáveis, homogêneas e padronizadas, revelando um potencial da técnica para ajustes e manipulação das bactérias para os mais diversos fins na pesquisa de bioprodutos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método de preservação em Castelanni foi eficiente em manter a sobrevivência das células bacterianas isoladas de nódulos de feijão-caupi inoculados com *Bradyrhizobium sp.*, durante o período de armazenagem de 24 meses. Com isso, essa técnica pode ser utilizada para os testes de produção de inoculantes, para análise das respostas fisiológicas e capacidade bacteriana de melhoria de desempenho vegetal tanto em casa de vegetação quanto em campo, inclusive como comparativo a inoculantes já existentes no mercado. Ampliando a gama de oportunidades para o mercado produtivo de inoculantes e popularização dessa tecnologia.

REFERÊNCIAS

ALVES, L. V. F. V. Estratégias de adubação com zinco para biofortificação agronômica do feijão-caupi. 2017. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Faculdade de Agronomia e

Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2017.

BRONZATTO, E. S. Compatibilidade de microrganismos em campo e in vitro na promoção de crescimento e no manejo de doenças em soja. 2023. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

CASTELLANI, A. The viability of some pathogenic fungi in sterile distilled water. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Oxford, v. 42, n. 3, p. 225-226, May 1939.

DOS SANTOS, L. G.; BALDANI, V. L. D.; FERREIRA, J. S.; BAHIA, B. L.; SANTANA, M. S.; PEIXOUTO, L. S. Sobrevivência de bactérias diazotróficas em suporte inoculante alternativo de casca de algodão. *Conjecturas*, 22 (2), 1386-1397. 2022.

EVIDENTE, A.; CIMMINO, A.; MASI, M. Phytotoxins produced by pathogenic fungi of agrarian plants. *Phytochem. Rev.* 18, 843–870. 2019.

GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. *Revista Brasileira de Agrocomputação*, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

GODOY, Fernanda de Almeida. Identificação de bactérias promotoras de crescimento de trigo e seu impacto na comunidade bacteriana da rizosfera. 2020. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, V. L. D.; NETO, J.J. Viabilidade do inoculante turfoso produzido com bactérias associativas e molibdênio. *Revista Ciência Agronômica*, v. 44, n. 1, p. 10-15. 2013.

HEATH, K. D.; TIFFIN, P. Stabilizing mechanisms in a legume–rhizobium mutualism. *Evolution*, v. 63, n. 3, p. 652-662, 2009.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean Seed Co-Inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A New Biotechnological Tool to Improve Yield and Sustainability. *American Journal of Plant Sciences*, v. 6, n. 6, p. 811–817, 2015.

IVANOVA, E.; TEUNOU, E.; PONCELET, D. Alginate based macrocapsules as inoculants carriers for production of nitrogen biofertilizers. In: BALKAN SCIENTIFIC CONFERENCE OF BIOLOGY IN PLOVDIV, 2005. Bulgaria. Department of Food Process Engineering - National High School of Food Technology: ENITIAA, 2005. p. 90-108.

KAUR, R.; KAUR, S.; DWIBEDI, V.; KAUR, C.; AKHTAR, N.; ALZHRANI, A. Desenvolvimento e caracterização de biofertilizante encapsulado à base de farelo de arroz e goma arábica para maior vida útil e liberação bacteriana controlada. *Fronteiras em Microbiologia*, v. 14. 2023.

KONRAD, D. Avaliação do tempo de armazenagem sobre a microbiota de inoculantes encapsulados. 2016. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em ENGENHARIA AGRONÔMICA) - Universidade Federal do Paraná, Palotina.

MALAGUIAS, A. M. N.; LIMA, L. M.; DIDONET, C. G. M. C.; NAVES, P. L. F. Determinação da viabilidade celular em biofilme formado por bactérias da família Rhizobiaceae. 55º Congresso Brasileiro de Química, Goiania. 2015.

MARTINS, J. A. B.; PAULO, E. M.; CARNEIRO, F. S. Determinação da viabilidade celular de bactérias lácticas submetidas a diferentes métodos de preservação. Anais dos Seminários de Iniciação Científica, n. 20, 2016.

MONNERAT, R.; MONTALVÃO, S.; MARTINS, E.; QUEIROZ, P.; da SILVA, E. Y. Y.; GARCIA, A.; GOMES, A. Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura. 2020.

OLIVEIRA, L. S.; LOPES, M. S. M.; PENATTI, M. P. A.; DE BRITO RÖDER, D. V. D.; DE PAULA MENEZES, R. Avaliação da viabilidade de bactérias estocadas em caldo bhi-glicerol a -20°C há quatro anos. Revista Científica Multidisciplinar, 4 (9). 2023.

REETHA. D.; KUMARESAN. G.; JOHN MILTON. D. Studies to improve the shelf life of *Azospirillum lipoferum* immobilized in alginate beads. International Journal of Recent Scientific Research, v. 5, n. 12, p. 2178-2182. 2014.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P. Fixação biológica de nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F. R.; ARAUJO LIMA, J. A.; SILVA, P. H. S.; RIBEIRO, V. Q. (ed.). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 279-335.

SOUZA, P. L.; DE ROSÁLIA, C. E.; SANTOS, S.; SIMÕES, A. N.; DE AVIZ, R. O.; DA SILVA, N. S. G.; DA SILVA, V. S. G. Produtividade e indução de enzimas antioxidantes em Feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) irrigado com água salina e Inoculado com *Bradyrhizobium*. Research, Society and Development, 11 (5), e50511528433-e50511528433. 2022.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6 eds. Porto Alegre: Artmed, 2017.

Capítulo 06

Aplicação da Toxina Botulínica (TB) em procedimentos estéticos faciais

Maria Eduarda Santos Aires

Graduanda em Biomedicina pela UNINORTE

RESUMO

A utilização da Toxina Botulínica (TB) em procedimentos estéticos faciais tornou-se popular devido aos seus efeitos rejuvenescedores, apesar dos benefícios estéticos proporcionados sua aplicação embora segura, pode resultar em complicações inesperadas. Visando compreender quais efeitos adversos podem ser gerados pela aplicação estética da TB na face este artigo tem como objetivo geral identificar por meio de revisão bibliográfica os principais efeitos adversos ou colaterais surgidos após a aplicação da TB em procedimentos estéticos faciais. Para cumprimento destes, foi realizada uma revisão bibliográfica de abordagem qualitativa descritiva, utilizando os bancos de dados Portal Capes, SciELO, PubMed e LILACS, com os descritores “Toxina Botulínica na aplicação da face AND estética facial” e “Toxina Botulínica AND efeitos adversos”. Diversas intercorrências relacionadas à aplicação da TB na estética facial foram identificadas, como ptose palpebral, inchaço palpebral, linha de demarcação visível na área tratada, hematomas, dor, avermelhamento da pele, manchas roxas, dores de cabeça, náuseas, risco de infecção e assimetrias no rosto. Casos específicos detalham assimetria no sorriso resultante da aplicação da TB, outras complicações mais graves, como visão dupla e perda de visão e paralisia dos músculos oculares foram documentadas. Apesar dos benefícios estéticos da TB, reações adversas podem ocorrer, contudo a gravidade das rugas pode ser significativamente reduzida com o tratamento de TB, e geralmente os efeitos adversos e ou colaterais irreversíveis são identificados em casos isolados.

Palavras-chave: estética facial. efeitos adversos. rugas. revisão bibliográfica.

ABSTRACT

The use of Botulinum Toxin (TB) in facial aesthetic procedures has become popular due to its rejuvenating effects. Despite the aesthetic benefits provided, its application, although safe, can result in unexpected complications. Aiming to understand which adverse effects can be generated by the aesthetic application of TB on the face, this article has the general objective of identifying, through a literature review, the main adverse or side effects arising after the application of TB in facial aesthetic procedures. To comply with these, a literature review with a descriptive qualitative approach was carried out, using the Portal Capes, SciELO, PubMed and



LILACS databases, with the descriptors “Botulinum Toxin in the application of the face AND facial aesthetics” and “Botulinum Toxin AND adverse effects”. Several complications related to the application of TB in facial aesthetics were identified, such as eyelid ptosis, eyelid swelling, visible demarcation line in the treated area, bruising, pain, reddening of the skin, purple spots, headaches, nausea, risk of infection and asymmetries in the face. Specific cases detail asymmetry in the smile resulting from the application of TB, other more serious complications such as double vision and loss of vision and paralysis of the eye muscles have been documented. Despite the aesthetic benefits of TB, adverse reactions can occur, however the severity of wrinkles can be significantly reduced with TB treatment, and generally irreversible adverse and/or side effects are identified in isolated cases.

Keywords: facial aesthetics. adverse effects. wrinkles. literature review.

INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo ela se estende por toda área externa, devido a sua camada de proteção possui funções vitais, como ser uma barreira protetora contra fatores externos, incluindo radiação solar e fluxo sanguíneo, além de ter funções sensoriais. Com o passar do tempo a pele sofre alterações decorrentes do processo natural de envelhecimento que podem incluir flacidez, rugas, linhas de expressão e ressecamento, afetando todo o organismo (BARBOSA; BRITO, 2020).

Apesar de ser um processo natural, muitas pessoas buscam prevenir e controlar essas mudanças, devido à valorização da aparência facial e corporal. Nessa busca pela aparência melhorada, muitas pessoas estão dispostas a investir em tratamentos estéticos eficazes e a Toxina Botulínica (TB) tem se destacado como uma substância das mais importantes (BARBOSA; BRITO, 2020). Pois quando utilizada em doses controladas tem diversas aplicações médicas e estéticas, sendo amplamente utilizada em procedimentos estéticos como um dos tratamentos mais populares no combate ao envelhecimento facial (GOUVEIA; FERREIRA; SOBRINHO, 2020).

Dados da Sociedade Internacional de Cirurgia Plástica Estética (ISAPS) mostram que em 2019 foram realizados mais de 4 milhões de procedimentos de aplicação de TB em todo o mundo. No Brasil, o uso da TB na estética facial também se popularizou, apenas em 2020 o país ocupou o segundo lugar no ranking de intervenções estéticas, com mais de 2,5 milhões de procedimentos realizados. Dentre as intervenções, 58,2% foram cirúrgicas, realizadas principalmente por mulheres. Já os métodos não cirúrgicos apresentaram um aumento de 32,5% nos últimos 4 anos, nesse contexto, a aplicação de TB é a mais procurada no país (ISAPS, 2020).

A forma de comercialização da TB varia de acordo com a regulação de cada país e com as políticas de venda dos fabricantes. Em alguns países, a venda é restrita apenas a profissionais médicos, enquanto em outros é possível comprar a toxina diretamente em farmácias e lojas de produtos de beleza (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

No Brasil, essa substância é comercializada sob o nome comercial de diferentes laboratórios, como Botox (Allergan), Dysport (Galderma) e Prosigne (Cristália). A

comercialização desses produtos é regulada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e só pode ser realizada mediante prescrição médica. Sendo a venda restrita a clínicas e hospitais autorizados e a sua aplicação deve ser realizada por profissionais capacitados, como médicos, biomédicos, fisioterapeutas, esteticistas e dentistas especializados em estética facial (ANVISA, 2017).

Na estética facial é aplicada em expressões e localidades da face, como em rugas na testa, nasolabiais, periorais, entre as sobrancelhas, nas linhas do pescoço, bochechas, nariz, podendo ser aplicada para paralisar, levantar e/ou modelar os aspectos da face. Tendo em vista sua ampla utilização nota-se que os procedimentos usando esse agente tem se tornado uma das principais ferramentas no combate ao envelhecimento e na melhoria da aparência facial (PAULO; OLIVEIRA, 2018).

Desta forma, é importante compreender os mecanismos de ação, indicações, contraindicações e intercorrências relacionadas à aplicação da TB na estética facial. Uma vez que apesar deste ser um procedimento relativamente seguro o uso da TB pode apresentar efeitos inesperados, como assimetrias faciais, edemas, hematomas e outras complicações (PIRES; NADER; GODOI, 2021). Assim, questiona-se quais principais efeitos colaterais ou adversos tem sido identificado pela literatura?

Baseado nessa indagação, destina-se como objetivo deste artigo identificar quais efeitos adversos ou colaterais tem sido observado por meio da aplicação da Toxina Botulínica (TB) em procedimentos estéticos faciais. Onde, para alcance deste busca-se discorrer como ocorre o mecanismo de ação da TB com ênfase em seu efeito na face; identificar os principais procedimentos realizados com essa substância na estética facial atualmente e; evidenciar efeitos adversos ou colaterais observados.

Como percurso metodológico adotou-se a pesquisa de revisão bibliográfica de abordagem qualitativa descritiva, com a finalidade de descrever o mecanismo de ação da Toxina Botulínica, sua aplicação na face, indicações, contraindicações e efeitos adversos. Nesse processo, foram utilizados os canais de busca: Portal Capes e SciELO, PubMed e LILACS. Os descritores utilizados foram: “Toxina Botulínica na aplicação da face AND estética facial”, “Toxina Botulínica AND efeitos adversos”.

Onde incluiu-se, ensaios clínicos, estudos de caso, pesquisa de campo que abordem as intercorrências relacionadas à aplicação da Toxina Botulínica na estética facial, publicados nos últimos 5 anos, aceitando publicações em todos idiomas. Dos critérios de inelegibilidade, não foram aceitos nos resultados pesquisa de revisão bibliográfica ou integrativa, textos incompletos ou indisponíveis para acesso público, excluindo-se publicações científicas com mais de 5 anos (2018 a 2023).

Efeitos adversos da aplicação da Toxina Botulínica na aplicação estética facial

A Toxina Botulínica é uma neurotoxina, produzida por uma bactéria anaeróbica Gram positiva *Clostridium botulinum* conhecida por sua potente ação paralisante sobre o sistema nervoso e paradoxalmente é uma fonte de envenenamento alimentar grave quanto um recurso terapêutico e estético (FUJITA, HURTADO, 2021).

O *Clostridium botulinum* foi identificado pela primeira vez no final do século XIX pelo médico e microbiologista belga Emile Van Ermengem inicialmente ganhou notoriedade por ser o agente causador do botulismo, uma forma grave de intoxicação alimentar que levou milhões de pessoas a óbito. Apenas na segunda metade do século XX a bactéria foi sintetizada e começou a ser estudada como um potencial agente terapêutico (FUJITA, HURTADO, 2021).

Em 1989, a *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos da América (EUA) aprovou sua utilização para o tratamento de estrabismo (desalinhamento dos olhos) e espasmos musculares. Desde então, suas aplicações médicas são vastas e tratam de muitas condições, como condições neuromusculares, como distonia e espasmos, até aplicações em gastroenterologia, urologia e pneumologia (FUJITA, HURTADO, 2021).

Mas, é no campo da estética que essa substância tem ganhado destaque exponencial, pois é utilizada para o tratamento de rugas e linhas de expressão principalmente. Na estética, a TB é mais comumente conhecida como Botox, que é, na verdade, uma das marcas comerciais da substância (PAULO; OLIVEIRA, 2018).

No Brasil, sua comercialização para utilização estética e terapêutica é regulada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2017), sendo aplicada apenas por profissionais da saúde devidamente qualificados e autorizados a realizar a aplicação da substância.

Esta toxina é classificada em várias formas antigenicamente distintas, sendo as mais comumente usadas na prática clínica o tipo A e B (TBA e TBB). Para Gouveia, Ferreira e Sobrinho Rocha (2020), a principal diferença entre os dois tipos diz respeito a sua potência, duração de ação e perfil de efeitos colaterais.

A TBA é a forma mais estudada e utilizada, pois ela tem uma afinidade mais alta para o seu sítio de ligação nos neurônios motores, o que resulta em uma duração de ação mais prolongada em comparação com o tipo B. A TBA é categorizada em cinco subtipos distintos: A1, A2, A3, A4 e A5, essa distinção é baseada nas variações nas sequências de aminoácidos que compõem cada subtipo, onde apresentam diferenças moleculares, implicações práticas, afetando as propriedades imunológicas e biológicas da toxina (BRITO; BARBOSA, 2020).

Os subtipos A1, A2 e A5 são especialmente estudados em termos de suas sequências de aminoácidos para entender suas diferenças funcionais. Uma das principais variáveis que determinam a eficácia desses subtipos é a sua afinidade pela Proteína Associada Sinaptossomal (SNAP 25). No geral a Toxina Tipo A é empregada em aplicações médicas, como: distúrbios do movimento como distonia e blefaroespasma, bem como em procedimentos estéticos (BRITO; BARBOSA, 2020).

A TBB, por outro lado tem uma duração de ação mais curta e se mostra menos potente em termos de unidades por miligrama quando comparada à tipo A., mas, é útil em pacientes que desenvolvem anticorpos contra a TBA, tornando-a uma alternativa viável (SARAIVA *et al.*, 2018) Segundo Duarte *et al.* (2021), no meio terapêutico a TBB pode ser utilizada para tratar condições como hiperidrose.

Ambas são proteínas de alto peso molecular que atuam no bloqueio da liberação de neurotransmissores na junção neuromuscular. Inicialmente, a cadeia pesada da toxina se liga aos receptores de glicoproteínas na superfície da membrana neuronal, sendo o primeiro passo para a internalização da toxina dentro da célula nervosa uma vez ligada, a toxina é endocitada, ou seja, é envolvida por uma vesícula que se desloca para o interior da célula (PARK; AHN, 2021).

Dentro da vesícula, a TB é exposta a um ambiente ácido o que leva à dissociação das cadeias pesada e leve, a cadeia leve é então liberada no citoplasma neuronal, devido a atividade enzimática da cadeia leve esta torna-se responsável pela ação da toxina, agindo como uma endopeptidase, clivando proteínas específicas necessárias para a liberação de neurotransmissores, mais notavelmente a acetilcolina (DALPIAS *et al.*, 2023).

Com isso a acetilcolina que é o neurotransmissor responsável pela transmissão do impulso nervoso para o músculo, realiza a clivagem dessas proteínas pela cadeia leve da TB que impede a fusão das vesículas contendo acetilcolina com a membrana plasmática, inibindo assim a liberação deste neurotransmissor na fenda sináptica. O resultado desta ação é uma paralisia flácida do músculo alvo, que se manifesta clinicamente na estética facial como uma redução nas linhas de expressão, ou como alívio de condições espásticas em aplicações terapêuticas (DALPIAS *et al.*, 2023).

No contexto das aplicações estéticas faciais, a administração da toxina botulínica ocorre por meio de injeções intramusculares, geralmente com o auxílio de agulhas de calibre fino, onde o procedimento em si é frequentemente realizado em menos de 30 minutos. Quando essa aplicação é realizada na face, esse procedimento é considerado minimamente invasivo e os resultados podem ser observados em um período de 24 a 48 horas, com efeitos que duram em média de 4 a 6 meses (FUJITA; HURTADO, 2021).

Para Viggiani e Pereira (2023), a relação de durabilidade da TB na aplicação facial depende de uma série de fatores que não foram totalmente elucidados, mas são fatores genéticos, qualidade da TB e cultura do paciente que podem influenciar a durabilidade da TB. Mas, o seu efeito é reversível, pois com o tempo as células nervosas formam novas terminações e restauram a liberação de acetilcolina, o que explica a necessidade de reaplicações periódicas para manter o efeito desejado.

ATB é contraindicada para mulheres no período de gestação e a lactação, dada a falta de estudos conclusivos sobre os efeitos da toxina nesses estados (UHLICK; LEITE, 2023). Outras recomendações são dadas a pacientes com infecções no local da injeção, sejam bacterianas, fúngicas ou virais, ou que tenham a presença de doenças neuromusculares e o uso concomitante de medicamentos que possam potencializar os efeitos da toxina, como aminoglicosídeos, anti-inflamatórios e anticoagulantes (FARIA; SUGUIHARA; MUKNICKA, 2023).

Para a TBA, as contraindicações podem ser ainda mais específicas e são classificadas em relativas e absolutas. As contraindicações relativas dizem respeito a suspensão da aplicação em pacientes que apresentem alergias a componentes específicos da droga, infecções no sítio de aplicação, expectativas irreais do paciente e instabilidade emocional. As contraindicações absolutas, por sua vez, são ainda mais rigorosas e não recomendam a

aplicação em doenças neuromusculares como síndrome pós-pólio (CAMPOS; MIRANDA, 2021), miastenia gravis (MA *et al.*, 2022), esclerose lateral amiotrófica, doenças autoimunes em atividade e a falta de colaboração do paciente para o procedimento global (COSTA *et al.*, 2021).

De acordo com Nascimento (2021), o uso da toxina botulínica é desaconselhado em indivíduos com condições como botulismo, miastenia gravis, síndrome da pessoa rígida, bem como em mulheres grávidas ou em período de amamentação. Conforme Ferreira (2023), os efeitos adversos associados ao uso da toxina botulínica podem incluir hipotensão, náuseas, vômitos, dificuldade para engolir, coceira, sintomas semelhantes aos da gripe, problemas na fala, descontrole na salivação e enfraquecimento muscular em áreas distantes dos pontos de aplicação da substância.

As áreas cutâneas com sinais de infecção devem ser evitadas durante a aplicação da substância. A alergia a qualquer componente da formulação também representa uma contraindicação, assim como o uso de anticoagulantes, que resultam em complicações como hematomas e sangramentos (CAMPOS; MIRANDA, 2021).

Aplicabilidade da toxina botulínica na estética facial

A TB é aplicada em diferentes áreas da face, visando atingir uma variedade de efeitos estéticos e terapêuticos. As regiões mais comuns são a testa, a região periorcular (ao redor dos olhos), entre as sobrancelhas (região glabellar) e a região perioral (ao redor da boca) (GOUVEIA; FERREIRA, ROCHA SOBRINHO, 2020).

Além dessas áreas mais tradicionais, a toxina botulínica também tem sido explorada em outras regiões da face, como o nariz (para tratar o bunny lines ou linhas de coelho), o queixo (para reduzir o queixo em casca de laranja) e até mesmo o pescoço, para tratar as bandas platismais (GOUVEIA; FERREIRA, ROCHA SOBRINHO, 2020). A Figura 1 evidencia áreas comuns da aplicação de toxina botulínica indicando a principal finalidade estética.

Figura 1 - Áreas comuns da face onde a TB é aplicada.



Fonte: Adaptado de Gouveia, Ferreira e Rocha Sobrinho (2020).

As linhas de coelho, ou *bunny lines* são rugas que aparecem ao lado do nariz e são frequentemente acentuadas quando se sorri ou se franze o nariz, a aplicação de TB promove a ação de relaxar os músculos responsáveis por essas linhas, resultando em uma aparência mais suave (BERTOSSÍ *et al.*, 2018).

Já o aspecto de “casca de laranja” no queixo ocorre devido à atividade muscular hiperativa nesta área, assim como no *bunny lines*, a aplicação de toxina botulínica relaxar os músculos, mas nesse caso atua suavizando a textura da pele do queixo (HADDAD *et al.*, 2022).

Em estudo, Pisal (2023) realiza aplicações de TBA na região frontal da testa de 8 pacientes que apresentaram uma melhora da Escala Global de Melhoria Estética (GAIS) onde os autores relataram uma pontuação média de 2.375 (muito melhorada) na região aplicada.

Na melhoria do emagrecimento facial Jeong *et al.* (2022) realizam a injeção de TBA nas glândulas parótidas o estudo mostrou que houve mudanças significativas nos grupos de alta e baixa dose em comparação ao grupo controle, indicando a eficácia da TBA na redução do volume das glândulas parótidas. Após três meses, a recuperação do volume foi de 7,6% no grupo de alta dose e de 4,8% no grupo de baixa dose. Esse resultado propõe que esse tratamento seja uma opção de tratamento eficaz para estreitar a largura da parte inferior da face e alcançar o emagrecimento facial.

Outras aplicações podem ser atribuídas a TB, como correção de assimetrias faciais, proporcionando um rosto mais harmonioso, sendo procurada por casos onde um lado da face é mais proeminente ou ativo que o outro (BORGES; KIKUCHI; DE ARAÚJO, 2019).

Menos conhecido, mas a aplicação da TB sorriso gengival também é realizada quando há uma quantidade excessiva de gengiva é exposta ao sorrir. Para Moreira *et al.* (2019), a técnica usada é o resultado da aplicação da substância injetada nos músculos que elevam o lábio superior, reduzindo sua atividade e resultando em um sorriso mais equilibrado.

Santos e Andrade (2023), reconhecem que diferentes áreas faciais necessitam de abordagens individualizadas para garantir bons resultados e minimizar possíveis efeitos, a dosagem e técnica de aplicação devem ser ajustadas para cada área facial do paciente, ao fazer isso é possível alcançar resultados estéticos mais naturais e seguros, reduzindo ao mesmo tempo o risco de complicações.

Efeitos adversos e colaterais da TB na face

Apesar dos benefícios estéticos da TBA reações adversas podem ocorrer, tais como queda da pálpebra (ptose palpebral), inchaço na região das pálpebras inferiores, uma linha de demarcação visível entre a área tratada do músculo orbicular dos olhos e a região das maçãs do rosto, além de hematomas (FERREIRA, 2023). Segundo Ferreira (2023), os efeitos colaterais mais comuns associados ao uso da toxina botulínica englobam dor, avermelhamento da pele, inchaço, manchas roxas (equimoses), dores de cabeça, náuseas, risco de infecção e assimetrias no rosto.

Souto e Souto (2021), descreveram um caso inusitado de assimetria no sorriso e um abaixamento exagerado do lado direito do lábio inferior em um paciente que foi submetido a injeções de TB na parte inferior do rosto. Para os autores o efeito aconteceu devido à dispersão da toxina no músculo que deprime o ângulo da boca do lado esquerdo, resultando na paralisia do músculo que deprime o lábio inferior esquerdo e na hiperatividade do lado direito do lábio inferior que não foi afetado. Para corrigir essa situação, os autores aplicaram uma injeção de TB no músculo hiperativo do lado direito do lábio.

Zargaran *et al.* (2022) em estudo da aplicação de TBA na face superior para identificaram que 57% dos pacientes experimentaram efeitos colaterais como dor de cabeça, reações cutâneas locais e sintomas neuromusculares faciais. Essas complicações foram frequentemente associadas ao tratamento no grupo que recebeu as injeções de TBA. A incidência geral de complicações relacionadas às injeções na área entre as sobrancelhas (região glabellar) e na testa foi de 16%. A razão de chances para o desenvolvimento de complicações nas injeções, quando comparada ao uso de placebo, foi de 1,62; e para as injeções de TBA em comparação com o placebo (razão de 1,34).

A aplicação repetida de TBA é associada a alterações negativas e irreversíveis na posição das pálpebras, como cicatrizes e atrofia dos músculos desnudados. Esse fator pode ser evidenciado por meio de exame histológico de amostras da pele e do tecido subcutâneo (KRÁSNÝ; ŠACH, 2017). Para Krásný e Šach (2017) a frequência das aplicações é um agente que influencia diretamente uma vez que o uso repetido da toxina resulta em mudanças irreversíveis tanto na pele quanto no tecido subcutâneo.

Os autores Zargaran *et al.* (2022) Kim *et al.* (2019), apontam que os efeitos colaterais frequentes da injeção de TB para o tratamento de rugas na parte superior do rosto incluem dor de cabeça passageira, hematomas e queda das sobrancelhas (ptose). Já Krásný e Šach (2017), também identificaram alterações nas pálpebras, mais especificamente inchaço, o estudo ainda mencionou um caso de rugas exageradas na região entre as sobrancelhas (glabellares) após a aplicação de toxina botulínica para tratar linhas horizontais na testa, que se resolveram espontaneamente sem necessidade de tratamento específico. No geral, os autores destacam que a saliência na região glabellar pode ser causada pela hiperatividade da parte inferior do músculo frontal quando a parte superior é enfraquecida pela toxina botulínica, visando melhorar as rugas da testa.

Alharbi *et al.* (2023) examinou as complicações de perda de visão, dor nos olhos, queda da pálpebra (ptose) e paralisia dos músculos oculares (oftalmoplegia) quando há aplicação. O risco dessas complicações é maior quando as injeções foram aplicadas em áreas anatômicas comuns, como a região entre as sobrancelhas (glabella), nariz e as dobras nasolabiais e supraorbitais.

Rassi e Santos (2012) relatam casos de visão dupla (diplopia) em pacientes do sexo feminino que receberam injeções de TBA com o objetivo de rejuvenescimento facial. Essas pacientes começaram a apresentar diplopia alguns dias após a aplicação mesmo sem sinais visíveis de estrabismo, após a realização de testes ortópticos, foi detectado um microestrabismo paralítico, por meio desse resultado metade das pacientes apresentaram déficit na função do músculo oblíquo inferior, enquanto a outra metade teve déficit na função do músculo reto lateral. A diplopia se manifestou cinco dias após a injeção e desapareceu em menos de 30 dias.

Rassi e Santos (2012) Lacordia, Januário e Pereira (2011) apresentam um caso semelhante e incomum de estrabismo e diplopia após a aplicação de TBA comercializada como Dysport®, para fins estéticos, onde tratamento visava a redução de rugas na parte superior do rosto. Após a aplicação, a paciente sentiu dor intensa e apresentou inchaço nas pálpebras no dia seguinte. Cinco dias depois, começou a sofrer de diplopia e tontura. Durante o exame ocular, foi detectada uma esotropia de 20 dioptrias prismáticas, para visão de longe e de perto. Mas, após dois meses houve uma melhora na diplopia e a esotropia diminuiu para 8 dioptrias prismáticas, resultando em uma recuperação completa em quatro meses.

Apesar dos efeitos adversos apresentados, estudos como o de Zhang *et al.* (2020), que acompanhou 246 pacientes e classificou a gravidade das rugas na frontal (testa) em três classes, sendo: leve, moderada e intensa, relataram que a gravidade das rugas na testa foi significativamente reduzida após o tratamento de TBA e nenhum evento adverso grave foi documentado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A versatilidade da aplicação de Toxina Botulínica no campo da estética facial é evidenciada pela grande variedade de tratamentos estéticos que essa pode oferecer, observou-se que ela pode ser usada no tratamento de rugas tradicionais, como as linhas de

expressões mais finas na face, como linhas mais específicas como as chamadas linhas de coelho, além dessa aplicação sua aplicação melhora o aspecto da pele, ainda se estendendo a outras aplicações para melhoria estética, a exemplo a aplicação da TB no sorriso gengival e no emagrecimento facial.

A literatura relatou efeitos estéticos positivos mas apresentou também intercorrências adversas após sua aplicação sendo elas em sua maioria temporária reversível e leve, as complicações associadas à aplicação da TB foram: aptose palpebral, dor, inchaço, edema, eritema e assimetrias.

REFERÊNCIAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Toxinas botulínicas tipo A: Anvisa esclarece questões ligadas à qualidade dos produtos registrados no Brasil, a indicações terapêuticas e à intercambiabilidade entre elas. Brasília. 2017. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Pos++Comercializacao++Pos++Uso/Farmacovigilancia/Alertas+por+Regiao+Geografica/INFORMES/Informes+de+2007/Informe+GFARM+n+6+de+20+de+julho+de+2007> Acesso em: 19 de mar de 2023.

BARBOSA, Daniela Borges Marquez; BRITO, Aline. A utilização da toxina botulínica tipo A para alcançar a estética facial. Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa, v. 36, n. 70, p. 75-86, 2020.

BERTOSSI, Dario *et al.* Italian consensus report on the aesthetic use of onabotulinum toxin A. Journal of cosmetic dermatology, v. 17, n. 5, p. 719-730, 2018.

BORGES, Taina; KIKUCHI, Aline Carolini Costa; DE ARAÚJO, Rodolfo Jose Gomes. Uso de toxina botulínica tipo A para correção de assimetria facial: Relato de caso. Journal of Research in Dentistry, v. 7, n. 3, 2019.

BRITO, Aline; BARBOSA, Daniela Borges Marquez. A utilização da toxina botulínica tipo A para alcançar a estética facial. Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa, v. 36, n. 71, p. 40-50, 2020.

CAMPOS, Eduarda Pautz; MIRANDA, Camila Vicente. Toxina Botulínica Tipo A: ações farmacológicas e uso na estética facial: pharmacological actions and use in facial Aesthetics. Revista Saúde Multidisciplinar, v. 9, n. 1, 2021.

COSTA, Amanda Marinho Chaves *et al.* Harmonização orofacial frente ao uso da toxina botulínica Orofacial harmonization in front of the use of botulinic toxin. Brazilian Journal of Health Review, v. 4, n. 3, p. 12864-12872, 2021.

DALPIAS, Thaís *et al.* Mecanismo de ação da toxina botulínica tipo A. Revista de Ciências da Saúde-REVIVA, v. 2, n. 1, 2023.

DE FARIA, Andrea Rodrigues; SUGUIHARA, Roberto Teruo; MUKNICKA, Daniella Pilon. Toxina botulínica: Intcorrências e complicações na aplicação. Research, Society and Development, v. 12, n. 7, p. e14912742697-e14912742697, 2023.

DUARTE, Letícia Coelho *et al.* Toxina botulínica e sua eficácia no tratamento da hiperidrose-única 2021/1. Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação, v. 7, n. 9, p. 325-341, 2021.

FERREIRA, Beatryz Sousa. O uso da Toxina Botulínica Tipo A por farmacêuticos em procedimentos estéticos: revisão narrativa. *Brazilian Journal of Development*, v. 9, n. 2, p. 6769-6783, 2023.

FUJITA, Rita Lilian Rodrigues; HURTADO, Carola Catalina Navarro. Aspectos relevantes do uso da toxina botulínica no tratamento estético e seus diversos mecanismos de ação. *Saber Científico* (1982-792X), v. 8, n. 1, p. 120-133, 2021.

GOUVEIA, Beatriz Nunes; FERREIRA, Luciana de Lara Pontes; SOBRINHO, Hermínio Maurício Rocha. O uso da toxina botulínica em procedimentos estéticos. *Revista brasileira militar de ciências*, v. 6, n. 16, 2020.

HADDAD, Marcela Filié *et al.* Combinação de Técnicas para Harmonização Orofacial em Paciente Jovem: Relato de Caso. *Archives of health investigation*, v. 11, n. 1, p. 186-191, 2022.

ISAPS-International Society of Aesthetic Plastic Surgery. International survey on aesthetic/cosmetic procedures performed in 2019. 2020. Disponível em: <https://www.isaps.org/wp-content/uploads/2020/12/Global-Survey-2019.pdf>. Acesso em: 19 de mar de 2023.

JEONG, Woo Shik *et al.* The Volumetric effect of Botulinum Toxin Type a Injection on Parotid Gland: A Prospective Randomized Controlled Trial. *Plastic and reconstructive surgery*. 2022.

KIM, Min Woo *et al.* Correction of glabellar protrusion after botulinum toxin injection for forehead wrinkles. *Journal of Surgical Dermatology*, v. 5, n. 1, p. 23-24, 2019.

KRÁSNÝ, Jan; ŠACH, Josef. The side effect of Botulinum Toxin A injection for position of the eyelid. 2017.

LACORDIA, Marta Halfeld Ferrari Alves; JANUÁRIO, Flávia Sotto-Maior; PEREIRA, Júlio César Costa. Estrabismo após toxina botulínica para fins estéticos. *Revista Brasileira de Oftalmologia*, v. 70, p. 179-181, 2011.

MA, Qian *et al.* Is myasthenia gravis a contraindication for botulinum toxin?. *Journal of Clinical Neuroscience*, v. 95, p. 44-47, 2022.

MOREIRA, David Costa *et al.* Aplicação da toxina botulínica tipo A em sorriso gengival: relato de caso. *RGO-Revista Gaúcha de Odontologia*, v. 67, p. e20190013, 2019.

NASCIMENTO, Crisabete Gomes. O uso de toxina botulínica no tratamento de rugas dinâmicas. *Saúde Coletiva (Barueri)*, v. 11, n. 60, p. 4714-4725, 2021.

OLIVEIRA, Camila Cristine Araújo *et al.* Toxina botulínica: contexto histórico, molecular e de aplicação prática na área da saúde. São Paulo, 2020.

PARK, Mee Young; AHN, Ki Young. Scientific review of the aesthetic uses of botulinum toxin type A. *Archives of craniofacial surgery*, v. 22, n. 1, p. 1, 2021.

PAULO, Elton Vicente; OLIVEIRA, Renata Cristina Gobbi. Avaliação e sugestão de protocolo estético para aplicação de toxina botulínica do tipo A em pacientes adultos. *Revista Uningá*, v. 55, n. 4, p. 158-167, 2018.

PIRES, André Marcelino; NADER, Jacqueline Machado Pinto; GODOI, Larissa Toledo Mamede. Rejuvenescimento facial através da toxina botulínica: revisão de literatura. (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Rio de Janeiro. 2021.

PISAL, Philippe Hamida. The Combined Effect of Botulinum Toxin Type A with a Biorevitalizing Treatment on Forehead Rejuvenation: A Case Series. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, v. 13, n. 2, p. 124-135, 2023.

RASSI, Márcia Melo de Oliveira; SANTOS, Lucas Henrique Barbosa dos. Diplopia após injeção de toxina botulínica tipo A para rejuvenescimento facial. *Revista Brasileira de Oftalmologia*, v. 71, p. 184-187, 2012.

SANTOS, Eulália Londe Rodrigues; ANDRADE, Rodrigo Soares. Toxina botulínica e suas complicações diante da aplicação. *RECIMA21-Revista Científica Multidisciplinar-ISSN 2675-6218*, v. 4, n. 8, p. e483767-e483767, 2023.

SARAIVA, Margarida *et al.* Sequenciação de estirpes de *Clostridium botulinum* tipo B isoladas em Portugal. *Boletim Epidemiológico Observações*, v. 7, n. Supl 10, p. 41-44, 2018.

SOUTO, Mariam Patricia; SOUTO, Luís Ricardo Martinhão. An unusual adverse event of botulinum toxin injection in the lower face. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 20, n. 5, p. 1381-1384, 2021.

UHLICK, Felipe; LEITE, Cleber. Análise quantitativa de intercorrências em protocolos de toxina botulínica tipo A: uma revisão bibliográfica. *Revista Científica Cleber Leite*, v. 1, n. 1, p. E0002023-1-9, 2023.

VIGGIANI, Danniele Fernanda Eliseu Borges; PEREIRA, Dayane Kelly Sabec. Efeito prolongado da toxina botulínica associada à suplementação com zinco e fitase. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*, v. 27, n. 7, p. 3733-3745, 2023.

ZHANG, Xinyu *et al.* Botulinum toxin to treat horizontal forehead lines: a refined injection pattern accommodating the lower frontalis. *Aesthetic Surgery Journal*, v. 40, n. 6, p. 668-678, 2020.

Organizadoras

Marcia de Fatima Inacio

Pós-doutora pela University of Idaho-USA em 2002, onde desenvolveu, junto com a equipe do Dr. Matthew J. Morra, bio-produtos para controle de pragas e doenças vegetais. PhD em Agronomia pelo Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em 2000, Mestre em Ciências Ambientais e Florestais pelo Instituto de Florestas da UFRRJ em 1995 e Engenheira Florestal graduada, em 1988, pela mesma Instituição. Atuou como docente da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-UFRRJ na área de Silvicultura (1996-1999), e em 2002 ingressou no Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, onde desde então vem atuando em projetos de pesquisa em Fitopatologias e Uso de Controle Alternativo de Pragas e Doenças com estreita parceria com a UFRRJ, de onde é pesquisador integrante do “Grupo de Pesquisa em Produtos Naturais”, liderado pelo Prof. Mario Geraldo de Carvalho do Departamento de Produtos Naturais do Instituto de Química. É avaliadora do INEP-MEC desde 2007, para fins de Autorização e Reconhecimento de Cursos de Graduação de Engenharia Ambiental, Florestal e outros. Atualmente também coordena e leciona em programas de capacitação na área ambiental junto a parceiros como a Fiocruz e Marinha do Brasil.

Larisse Raquel Carvalho Dias

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Piauí (2015). Especialista em Gestão Ambiental pelo Instituto Superior de Educação São Judas Tadeu (2016). Especialista em Ensino de Ciências pelo Instituto Federal do Piauí (2020). Mestra e Doutora em Agroecologia pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Campus São Luís. Desenvolve pesquisas nas áreas de controle alternativo e biológico fitossanitário com uso de óleos essenciais, fungos e bactérias como agentes controladores.

Índice Remissivo

A

agricultura 53, 54, 59
agronegócio 27, 35
alimentação humana 27
ambientais 10, 11, 15, 16
ambiental 9, 10, 11, 12, 13
animais 14, 15, 17, 21, 22, 23
anomalia 39
armazenamento 36, 52, 53, 54, 55, 56, 57
atitudes sustentáveis 10
aves 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 23, 24
aves marinhas 14, 16, 17, 23, 24

B

bacteriana 52, 53, 54, 56, 57, 58
bactérias 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59

C

cirúrgicas 61
conhecimento 9
conscientização 9
corpo 28, 29, 42, 61

D

desenvolvimento 15, 22, 27, 34, 35, 36, 38, 39, 40, 41, 43, 47
distúrbio 27
diversidade 15, 16, 38
doenças 17, 27, 33, 38, 39, 40, 41, 43, 44, 47, 48, 53, 58

E

ecologia 14, 15, 16
ecológico 15, 16
econômicas 53
ecossistema 14, 15, 17
educação ambiental 9, 10, 11, 12, 13

engenharia genética 38, 40, 41, 43, 47, 48
envelhecimento 61, 62
espécies 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23
estética 60, 61, 62, 63, 64, 65, 68, 69
estética facial 60, 61, 62, 64, 65, 68, 69
estéticos faciais 60, 62
estratégias 9, 10, 11, 15, 16
estudos 10, 15, 16
expressões 62, 69

F

face 60, 61, 62, 64, 65, 66, 67, 69, 71
ferramentas 38, 40, 42, 43, 47
fisiológicas 40, 53, 57
fisiopatologia 38, 45
fungos 27, 28, 34

G

genes 31, 33, 34, 35, 38, 39, 40, 41, 42, 49
genética 23, 34, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 50
genética humana 38, 40, 50
genoma 38, 39, 40, 41, 48
gestão 9, 11

H

habilidades 10

I

ingestão 17, 21, 23, 27, 28, 29, 32, 36
intervenções 61

M

mecanismos 27, 35, 36, 40, 42, 49, 62, 70
meio ambiente 10

microrganismos 52, 54, 56, 58

O

organismo 17, 26, 27, 32, 36

P

plantas 16, 52, 53, 56

poluentes químicos 15

práticas educacionais 9, 13

preservação 9, 10, 12, 13

processo 11, 12, 29, 30, 31, 41, 42, 53, 56, 61, 62

produção 33, 34, 40, 47, 52, 53, 54, 56, 57, 59

Q

questões ambientais 10

R

rejuvenescedores 60

reprodução 15, 16, 21, 22

rugos 60, 61, 62, 63, 66, 68, 70

S

saúde sanitária 27, 35

sistema 5

sistema digestório 27

sustentabilidade 9, 10, 12, 13

T

testes 39, 45, 53, 55, 57

toxina 27, 29, 31, 32, 33, 35

tratamentos 38, 40, 41, 45, 55, 61, 68



AYA EDITORA
2023