

ÍNDICE

SESSÃO 3Rs

[3Rs-1] A UTILIZAÇÃO DO PEIXE ZEBRA COMO MODELO ANIMAL NAS PRINCIPAIS ÁREAS MÉDICAS

PAULO ELESSON GUIMARÃES DE OLIVEIRA, JAYRTON KELVIN OLIVEIRA LESSA, DENNER SILVINO DA SILVA, JONATHAN ELIAS RODRIGUES MARTINS, STELA MIRLA DA SILVA FELIPE, VÂNIA MARILANDE CECCATTO

[3Rs-2] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DE WSMOL, UMA LECTINA LIGANTE DE QUITINA DE SEMENTES DE MORINGA OLEIFERA EM ZEBRAFISH ADULTO (DANIO RERIO)

ANTONIO EUFRÁSIO VIEIRA NETO, MARIA KUEIRISLENE AMÂNCIO FERREIRA, FRANCISCO ROGÊNIO DA SILVA MENDES, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES, ANA CRISTINA DE OLIVEIRA MONTEIRO-MOREIRA, RENATO DE AZEVEDO MOREIRA

[3Rs-3] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ACETATO DE ETILA DO QUEBRA PEDRA (PHYLLANTHUS NIRURI) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

IZABEL DE ARAUJO ABRANTE, DJANE VENTURA DE AZEVEDO, IZAMAR DE ARAÚJO ABRANTE, FRANCISCO LUCAS ALVES BATISTA, MARIA LARISSA ALVES DE OLIVEIRA, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

[3Rs-4] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ESTANÓLICO DAS FLORES DA ACÁCIA (VACHELLIA FARNESIANA) (L .) WIGHT & AM EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

DJANE VENTURA DE AZEVEDO, IZABEL DE ARAÚJO ABRANTE, JOSÉ ISMAEL FEITOSA DE ARAÚJO, IZAMAR DE ARAÚJO ABRANTE, EMANUELA DE LIMA REBOUÇAS, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

[3Rs-5] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS CASCAS DO MOFUMBO (COMBRETUM LEPROSUM MART.) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

DANIELE RODRIGUES DE LIMA, MARIA GLEIZIANE ARAÚJO FRANCA, CRISTIANE FÉLIX DE PAIVA, SANDRA MARIA BARBOSA DE ARAÚJO, GUILHERME VIEIRA FELIX, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

[3Rs-6] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DA ESPINHEIRA-SANTA (MAYTENUS ILICIFOLIA) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

JOSÉ ISMAEL FEITOSA DE ARAUJO, FRANCISCA LEIDIVÂNIA ALVES BATISTA, LUIZA MICHELLY GONÇALVES LIMA, FRANCISCO LUCAS ALVES BATISTA, FRANCIGLAUBER SILVA BEZERRA, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

[3Rs-7] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO ÓLEO ESSENCIAL DA LIPPIA ALBA (MILL.) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

IZAMAR DE ARAÚJO ABRANTE, ANTÔNIA FLÁVIA COSTA SOUTO, DANIEL YURE XAVIER DE SOUSA, ALLANA KELLEN LIMA SANTOS PEREIRA, CLÁUDIA ARAÚJO MARCO, LAURA HÉVILA INOCENCIO LEITE

[3Rs-8] AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DA RAIZ DA PETIVERIA ALLIÁCEA FRENTE A ARTEMIA SALINA

ANA LÚCIA EUFRÁZIO ROMÃO, KATIANY DO VALE ABREU, LUCAS RODRIGUES PASCOAL, CARLÚCIO ROBERTO ALVES

[3Rs-9] COMPARAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DO ACETATO DE CARVACRILA IN VIVO E IN SILICO: UMA ALTERNATIVA PARA REDUÇÃO DO USO DE ANIMAIS EM PESQUISA

WEIBSON PAZ PINHEIRO ANDRÉ, GÉSSICA SOARES CAVALCANTE, WESLEY LYEVERTON CORREIA RIBEIRO, JOSÉ VILEMAR DE ARAÚJO FILHO, VALDIR FERREIRA DE PAULA JÚNIOR, LORENA MAYANA BESERRA DE OLIVEIRA

[3Rs-10] EFEITO ANSIOLÍTICO-SÍMILE DA CHALCONA N-4'-[(2E) -3- (3-NITROFENIL) -1- (FENIL) PROP-2-EN-1-ONA] ACETAMIDA EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

MARIA KUEIRISLENE AMÂNCIO FERREIRA, ANTÔNIO WLISSES DA SILVA, PAULO NOGUEIRA BANDEIRA, HÉLCIO SILVA DOS SANTOS, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES, JANE EIRE SILVA ALENCAR DE MENEZES

[3Rs-11] EFEITO ANSIOLÍTICO-SÍMILE DA FRAÇÃO SAPONIFICÁVEL DAS CASCAS DE AZADIRACHTA INDICA A. JUSS (NEEM) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

ANTONIO WLISSES DA SILVA, MARIA KUEIRISLENE AMÂNCIO FERREIRA, CARLOS LEONE ALVES HOLANDA, JANE EIRE BEZERRA DE MENEZES, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES, SÔNIA MARIA COSTA SIQUEIRA

[3Rs-12] EFEITO ANSIOLÍTICO-SÍMILE DO CHÁ DE SETE SANGRIAS (CUPHEA SSP) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

BRENDA SILVA DO PRADO, EMANUELA DE LIMA REBOUÇAS, CHAYANE GOMES MARQUES, SANDRA MACHADO LIRA, MARIA IZABEL FLORINDO GUEDES, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

[3Rs-13] EFEITO ANSIOLÍTICO-SÍMILE DO EXTRATO ETANÓLICO DAS CASCAS DO MOFUMBO (COMBRETUM LEPROSUM MART.) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

SANDRA MARIA BARBOSA DE ARAUJO, FRANCISCO BASTO CAVALCANTE SOBRINHO, MARTA RODRIGUES LOPES, NAIARA MÁGNA SOUSA SILVA, ADRIANA ROLIM CAMPOS BARROS, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

[3Rs-14] GUIA PARA A ANÁLISE TRANSCRIPTÔMICA: UM PASSO-A-PASSO PARA A INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL TOXICOLÓGICO E MECANISMOS DE AÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM NATURAL

THIAGO SILVA DE ALMEIDA, ANA FONTENELE URANO CARVALHO

[3Rs-15] IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS ALVOS PARA ANTIVIRAIS CONTRA O VÍRUS ZIKA COMO ETAPA PRÉVIA A TESTES LABORATORIAIS IN VITRO E IN VIVO

LANA KARINE VASCONCELOS BARROSO, GABRIELY ALVES LESSA, ANTONIO EUFRÁSIO VIEIRA NETO, DANIELLE MALTA LIMA, ADRIANA ROLIM CAMPOS

[3Rs-16] PADRONIZAÇÃO DO MODELO DE NOCICEPÇÃO OROFACIAL INDUZIDA POR FORMALINA EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

GERLÂNIA DE OLIVEIRA LEITE, FRANCISCA MÁGNOLIA DIÓGENES HOLANDA BEZERRA, FRANCISCO EVILYN SENA E SILVA, ANTÔNIA DEYSE DE CASTRO RIBEIRO, JOANA UIARA MORGANA ALVES FERREIRA, ADRIANA ROLIM CAMPOS

[3Rs-17] PROPOSTA DE VÍDEO-AULA PARA O ESTUDO DE ASPECTOS FISIOLÓGICOS E FARMACOLÓGICOS DO TÔNUS VASCULAR

JUSSARA MATYELLE RODRIGUES DA SILVA, RODRIGO JOSÉ BEZERRA DE SIQUEIRA

[3Rs-18] USO DE ARTÉRIAS UMBILICAL HUMANA COMO MÉTODO ALTERNATIVO PARA USO DE ANIMAIS: AVALIAÇÃO DO EFEITO MIORRELAXANTE DO CITRAL

DÉBORA DE MENEZES DANTAS, LUÍS PEREIRA DE MORAIS, ADRESSA DE ALENCAR SILVA, ISAAC MOURA ARAÚJO, MARTA REGINA KERNTOPF, ROSELI BARBOSA

[3Rs-19] USO DO ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO PARA AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DA JUREMA-BRANCA (PIPTADENIA STIPULACEA, FABACEAE)

LUIZA MICHELLY GONÇALVES LIMA, FRANCISCO EVILYN SENA E SILVA, CASSIA OLIVEIRA DOS SANTOS, SHEILA MATIAS BARROSO, MARIA DA CONCEIÇÃO LOBO LIMA, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

[3Rs-20] USO DO ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO COMO MODELO PREDITIVO PARA O ISOLAMENTO DE COMPOSTOS ANALGÉSICOS OROFACIAIS DE MIMOSA TENUIFLORA (WILLD.) POIRET

FRANCISCO LUCAS ALVES BATISTA, JOSÉ ISMAEL FEITOSA DE ARAÚJO, IZABEL DE ARAÚJO ABRANTE, SACHA AUBREY ALVES RODRIGUES SANTOS, ADRIANA ROLIM CAMPOS BARROS, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

[3Rs-21] USO DO ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO PARA A AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DOS DIÉSTERES DO ÁCIDO P-HIDROXICINÂMICO EXTRAÍDOS DO PÓ CERÍFERO DA CARNAÚBA (COPERNICIA PRUNÍFERA MART.)

JOSE YTALO GOMES DA SILVA, MARCELO OLIVEIRA HOLANDA, JULIANNE DO NASCIMENTO SALES, JOANA TALITA GALDINO DA COSTA, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES, MARIA IZABEL FLORINDO GUEDES

[3Rs-22] USO DO ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO PARA AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FLORES DA CHANANA (TURNERA SUBULATA SM)

EMANUELA DE LIMA REBOUÇAS, BRENDA SILVA DO PRADO, MARNIELLE RODRIGUES COUTINHO, ANTÔNIA RENATA FREIRE DE FREITAS, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES, MARIA IZABEL FLORINDO GUEDES

[3Rs- 23] USO DO ZEBRAFISH (DANIO RERIO) COMO ORGANISMO MODELO NO ESTUDO DE ESCLEROSE AMINIOTRÓFICA LATERAL

RAQUEL MARTINS DE FREITAS, STELA MIRLA DA SILVA FELIPE, VÂNIA MARILANDE CECCATTO, MARIA ALICE FELIPE OLIVEIRA, RANIEL MELO LIMA

[3Rs-24] UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS DE BIOINFORMÁTICA E ESTUDOS IN VITRO COMO ETAPAS ANTERIORES A ESTUDOS EXPERIMENTAIS COM ANIMAIS

LETÍCIA ARAÚJO LINO, LETICIA LIMA DE VASCONCELOS, CLAUDIA ROBERTA DE ANDRADE

SESSÃO 3Rs

[3Rs-1] A UTILIZAÇÃO DO PEIXE ZEBRA COMO MODELO ANIMAL NAS PRINCIPAIS ÁREAS MÉDICAS

PAULO ELESSON GUIMARÃES DE OLIVEIRA (paulo.elesson@gmail.com)
JAYRTON KELVIN OLIVEIRA LESSA, DENNER SILVINO DA SILVA, JONATHAN ELIAS RODRIGUES MARTINS, STELA MIRLA DA SILVA FELIPE, VÂNIA MARILANDE CECCATTO

O peixe zebra (*Danio rerio*) é utilizado como animal modelo de diversas pesquisas científicas. Sua utilização, no ponto de vista evolutivo, é justificada pela proximidade genética com os seres humanos. O genoma do peixe zebra indica que 70% de seus genes são semelhantes aos genes humanos. Além disso, é um peixe de pequeno porte, com fácil manutenção, baixo custo econômico e alta taxa de reprodutibilidade. Assim constitui um excelente modelo experimental para desvendar o mecanismo de diversas doenças humanas bem como testar novos agentes terapêuticos. O objetivo do presente trabalho foi realizar um levantamento acerca da utilização de peixe zebra como modelo animal de pesquisa na área médica, sobretudo na busca de agentes terapêuticos para o tratamento de doenças. Para isso, foi realizada em janeiro de 2018, uma busca de trabalhos nas bases de dados *PubMed*, *SciELO* e *Scholar Google*. Os descritores utilizados foram: "zebrafish", "diseases", "treatment". Foram analisados um total de 22 artigos científicos publicados em revistas de grande impacto nos idiomas inglês e português. De acordo com os estudos avaliados, há uma predominância na busca de tratamentos para três doenças, são elas: a fibrose cística, relacionada a bactéria *Burkholderia cepacia* (BCC); a doença de Parkinson e os diferentes tipos de câncer. A partir de estudos com tipos de câncer, verificou-se que a oncologia representa a área que mais utiliza modelos vivos para ajudar na compreensão de fatores genéticos e ambientais que estão relacionados com diversos tipos de tumores. Observa-se também a utilidade em compreender vias genéticas que envolvem supressores de tumores e tumorigênese, além de serem ferramentas úteis que permitem identificar novos agentes terapêuticos. Quanto a BCC, os primeiros estudos certificaram o peixe zebra como um modelo útil de estudo para a Fibrose Cística. Algumas pesquisas apontam para o imunocomprometimento à ação das bactérias, o que contribuiu para o desenvolvimento de novas medidas anti-infecciosas. Um destaque aos estudos que relacionam a virulência da BCC com o estresse oxidativo em peixes. A BCC sobrevive e se multiplica nos embriões, há uma facilidade para realizar um mapeamento neuronal para doenças neurodegenerativas e estes modelos desenvolvem tumores em vários locais de órgãos que se assemelham a malignidades humanas, tanto histologicamente como geneticamente. Por sua vez, os estudos relacionados a Doença de Parkinson focaram nos aspectos genéticos. Além disso, alguns pesquisadores optaram por usar o peixe na sua fase embrionária e na fase adulta, buscando uma resposta curso-temporal do desenvolvimento da doença, o que seria mais complicado de realizar com outros modelos animais. Concluiu-se que o peixe zebra é um modelo animal que apresenta diversas vantagens na área médica, e é cada vez mais utilizado em pesquisas com fins terapêuticos dessas três grandes áreas médicas, que são doenças com grande relevância na saúde pública mundial.

Palavras-Chaves: ZEBRAFISH, DOENÇAS, TRATAMENTO.

[3Rs-2] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DE WSMOL, UMA LECTINA LIGANTE DE QUITINA DE SEMENTES DE MORINGA OLEIFERA EM ZEBRAFISH ADULTO (DANIO RERIO)

ANTONIO EUFRÁSIO VIEIRA NETO (antonionetoeng@alu.ufc.br)

MARIA KUEIRISLENE AMÂNCIO FERREIRA, FRANCISCO ROGÊNIO DA SILVA MENDES, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES, ANA CRISTINA DE OLIVEIRA MONTEIRO-MOREIRA, RENATO DE AZEVEDO MOREIRA

Estudos anteriores mostraram várias atividades biotecnológicas e biomédicas de lectinas providas de sementes *Moringa oleifera*. A lectina ligante de quitina solúvel em água é capaz de realizar muitas atividades biológicas, promove a afinidade por n-acetil-D-glucosaminoglicanos presentes em vários receptores celulares. Este estudo foi conduzido para avaliar a segurança não clínica de WsMol em zebrafish adulto (*Danio rerio*). A ação de Wsmol (1,0 mg / mL; 20 µL; ip) na atividade locomotora do peixe-zebra adulto (*Danio rerio*) (ZFa; n = 6 / grupo) foi avaliada no teste de campo aberto. Como controles foram utilizados um grupo sem tratamento (Naive) e outro com veículo (Saline 0,9%, 20 µL, ip). Após 24 h de tratamento, a mortalidade foi analisada e a concentração capaz de matar 50% (LC50) do Zebrafish foi calculada. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo no. 7210149/2016, da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará. Apesar de interagir com outros receptores celulares e promover outras atividades farmacológicas, a WsMol ativa no ambiente fisiológico do Zebrafish, não modificou a atividade locomotora nem se mostrou tóxica para os animais, sugerindo que sua atividade é capaz de promover atividades farmacológicas ao reconhecer glicanos de vários canais iônicos e receptores de proteínas de membrana, e não pode ser associado a toxicidade ou danos locomotores.

Palavras-Chaves: WSMOL, TOXICIDADE, ZEBRAFISH.

[3Rs-3] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ACETATO DE ETILA DO QUEBRA PEDRA (PHYLLANTHUS NIRURI) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

IZABEL DE ARAUJO ABRANTE (izabel.araujo.abrante@gmail.com)

DJANE VENTURA DE AZEVEDO, IZAMAR DE ARAÚJO ABRANTE, FRANCISCO LUCAS ALVES BATISTA, MARIA LARISSA ALVES DE OLIVEIRA, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

Phyllanthus niruri, é uma planta medicinal conhecida popularmente por quebra pedra. É largamente utilizada na medicina popular Brasileira como diurética, litolítica, em retenção urinária e como auxiliar na eliminação do ácido úrico. Porém, novos estudos farmacológicos dessa planta se torna um desafio. Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar a segurança não clínica do extrato acetato de etila do quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*) em zebrafish (*Danio rerio*) adulto (ZFa). Parte inteira da planta foi adquirida da Essencia do Ser Produtos Naturais LTDA® (Lote: A014222), no Mundo Verde, uma loja de Produtos Naturais, em Fortaleza-CE. Foi preparado o extrato acetato de etila (EtOAc-QP) e soluções do EtOAc-QP (1,0 ou 2,5 ou 5,0 mg/mL; 20 µL) ou veículo (Controle, DMSO 3 %, 20 µL) foram administrados via intraperitoneal (i.p.) em ZFa (60-90 dias; 0,4±0,1 g; n=6/grupo), machos e fêmeas, para avaliar se houve alteração na coordenação motora, seja por sedação e/ou relaxamento muscular dos animais, através do Teste de Campo Aberto. Um grupo sem tratamentos (Naive), também foi incluído. Após 30 min dos tratamentos, os animais foram adicionados em placas de Petri (10 x 15 cm), contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes e analisada a atividade locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas (CL). Usando o valor de CL do grupo Naive como linha de base (100%), foi calculada a porcentagem de cruzamentos de linha (CL%) individualmente durante 5 minutos. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. (n=6), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de p<0,05. Os mesmos animais (ZFa; n=6/grupo) após o teste de campo aberto, foram deixados em observação para análise da mortalidade. Após 96 h, foi anotado o número de animais mortos em cada grupo e determinado a concentração letal capaz de matar 50 % dos animais (CL₅₀) através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95%. O estudo foi aprovado pela CEUA-UECE (#3344801/2017). Como resultado, EtOAc-QP (1,0 ou 2,5 ou 5,0 mg/mL; 20 µL; i.p.) não foi tóxico frente ao ZFa (CL₅₀ > 5,0 mg/mL; 20 µL; i.p.). Tais soluções não alteraram comportamento locomotor dos animais (CL = 61,9%, 61,2%, 66,8%, respectivamente), pois foram significativamente (p>0,05) semelhantes entre si, em relação ao controle (DMSO 3 %, 20 µL; i.p.), CL = 91,8%, bem como em relação ao Naive (CL = 100%). Os resultados demonstram a segurança não clínica do extrato acetato de etila do quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*), pois não foi tóxico e não alterou sistema locomotor do zebrafish adulto. Desta forma, utilizaremos tal extrato para avaliar possíveis ações farmacológicas desenvolvidas no nosso laboratório, tais como os testes de nocicepção, inflamação e ansiedade empregando zebrafish adulto como modelo alternativo ao uso dos roedores.

Palavras-Chaves: PHYLLANTHUS NIRURI, SEGURANÇA NÃO CLÍNICA, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO.

[3Rs-4] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FLORES DA ACÁCIA (VACHELLIA FARNESIANA) (L.) WIGHT & AM EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

DJANE VENTURA DE AZEVEDO (djaneventura@gmail.com)

IZABEL DE ARAÚJO ABRANTE, JOSÉ ISMAEL FEITOSA DE ARAÚJO, IZAMAR DE ARAÚJO ABRANTE, EMANUELA DE LIMA REBOUÇAS, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

Vachellia farnesiana (L.) WIGHT & AM, popularmente conhecida como acácia, é rica em compostos fenólicos e flavonoides. Essa planta é amplamente utilizada na medicina popular em vários países para tratar distúrbios gastrointestinais diabetes, feridas, tosse, e febre tifoide. Em nossos estudos anteriores detectamos a toxicidade moderada do extrato etanólico das flores da acácia (EtFloAc) frente a *Artemia salina*. Porém, com o intuito de verificar novas ações farmacológicas do EtFloAc, armazenado no nosso laboratório, empregamos o zebrafish (*Danio rerio*) adulto (ZFa) para avaliar a sua segurança não clínica. Foi utilizado o Teste de Campo Aberto para avaliar se houve alteração na coordenação motora, seja por sedação e/ou relaxamento muscular dos animais. ZFa (60-90 dias; 0,4±0,1 g; n=6/grupo), machos e fêmeas, foram tratados, via intraperitoneal (*i.p.*), com soluções do EtFloAc (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 µL) ou veículo (Controle, DMSO 3 %, 20 µL). Um grupo sem tratamentos (Naive), também foi incluído. Após 30 min dos tratamentos, os animais foram adicionados em placas de Petri (10 x 15 cm), contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes e analisada a atividade locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas (CL). Usando o valor de CL do grupo Naive como linha de base (100%), foi calculada a porcentagem de cruzamentos de linha (CL%) individualmente durante 5 minutos. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. (n=6), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de p<0,05. Após 96 h, foi anotado o número de animais mortos em cada grupo e determinado a concentração letal capaz de matar 50% dos animais (CL₅₀) através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95%. O estudo foi aprovado pela CEUA-UECE (#3344801/2017). Como resultado, EtFloAc (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 µL; *i.p.*) não se mostrou tóxico frente ao ZFa (CL₅₀ > 1,0 mg/mL; 20 µL; *i.p.*) e não alterou o comportamento locomotor dos animais (CL = 67,75%; 65,93%; 83,47%), pois foram significativamente semelhantes (p>0,05) entre si, em relação ao controle (DMSO 3%; 20 µL; *i.p.*; CL = 83,47%), bem como em relação ao Naive (CL = 100%). Os resultados são considerados importantes, pois apontam para a segurança no uso do extrato etanólico das flores da acácia (EtFloAc). Assim, utilizaremos tal extrato para investigar novos estudos farmacológicos empregados no nosso grupo de pesquisa, tais como testes de nocicepção, inflamação e ansiedade em zebrafish adulto.

Palavras-Chaves: ACÁCIA (VACHELLIA FARNESIANA), SEGURANÇA NÃO CLÍNICA, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO.

[3Rs-5] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS CASCAS DO MOFUMBO (COMBRETUM LEPROSUM MART.) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

DANIELE RODRIGUES DE LIMA (dany_rodri@hotmail.com)

MARIA GLEIZIANE ARAÚJO FRANÇA, CRISTIANE FÉLIX DE PAIVA, SANDRA MARIA BARBOSA DE ARAÚJO, GUILHERME VIEIRA FELIX, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

Combretum leprosum Mart. é uma planta arbustiva nativa da região Nordeste do Brasil, conhecida popularmente por mofumbo. Estudos farmacológicos realizados com extrato etanólico de *C. leprosum*, demonstraram atividades antinociceptiva, anti-hemorragica, anti-inflamatória, bem como atividades antimicrobiana e antibiofilme sobre bactérias Gram-positivas. Este trabalho reporta à avaliação da segurança não clínica do extrato etanólico das cascas do mofumbo (EtCMof), coletado em Tauá-CE, frente ao zebrafish (*Danio rerio*) adulto (ZFa). Inicialmente, o EtCMof (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL), armazenado no nosso laboratório, foi submetido ao teste de letalidade frente aos náuplios de *Artemia salina* (3 x n=10/grupo). Como controle foi usado o DMSO 1%. Após 24 h, foi calculada a concentração letal para matar 50 % (CL₅₀) dos náuplios. Em seguida, EtCMof foi submetido ao teste de campo aberto para avaliar se houve alteração na coordenação motora dos ZFa, seja por sedação e/ou relaxamento muscular. ZFa (60-90 dias; 0,4±0,1 g; n=6/grupo), machos e fêmeas, foram tratados, via intraperitoneal (*i.p.*), com soluções do EtCMof (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 µL) ou veículo (Controle, DMSO 3 %, 20 µL). Um grupo sem tratamentos (Naive), também foi incluído. Após 30 min dos tratamentos, os animais foram adicionados em placas de Petri (10 x 15 cm), contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes e analisada a atividade locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas (CL). Usando o valor de CL do grupo Naive como linha de base (100%), foi calculada a porcentagem de cruzamentos de linha (CL%) individualmente durante 5 minutos. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. (n=6), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de p<0,05. O estudo *in vivo* foi aprovado pela CEUA-UECE (#3344801/2017). Os mesmos animais (ZFa; n=6/grupo) após o teste de campo aberto, foram deixados em observação para análise da mortalidade. Após 96 h, foi anotado o número de animais mortos em cada grupo e determinado a concentração letal capaz de matar 50 % dos animais (LC₅₀) através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95%. Como resultado dos testes de toxicidade, EtCMof não se mostrou tóxico frente aos náuplios de *A. salina* e ZFa (CL₅₀ > 1,0 mg/mL). No teste de campo aberto, EtCMof (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 µL; *i.p.*) não alterou o comportamento locomotor dos animais, pois apresentou CL variando de 87,8% a 95,7%, significativamente semelhante (p>0,05) ao controle (DMSO 3 %, 20 µL; *i.p.*), CL = 96,7%. Os resultados são considerados importantes, pois apontam para a segurança no uso do extrato etanólico das cascas do mofumbo (*Combretum leprosum* Mart.).

Palavras-Chaves: MOFUMBO (COMBRETUM LEPROSUM), SEGURANÇA NÃO CLÍNICA, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO.

[3Rs-6] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DA ESPINHEIRA-SANTA (MAYTENUS ILICIFOLIA) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

JOSÉ ISMAEL FEITOSA DE ARAUJO (joseismael.feitosa@gmail.com)

FRANCISCA LEIDIVÂNIA ALVES BATISTA, LUIZA MICHELLY GONÇALVES LIMA, FRANCISCO LUCAS ALVES BATISTA, FRANCIGLAUBER SILVA BEZERRA, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

Maytenus ilicifolia Mart. ex Reissek (Celastraceae), é um fitoterápico comercializado (Vovó Nize®, GTIN/EAN: 7898557171037) no Mundo Verde, uma loja de Produtos Naturais, em Fortaleza-CE. Conhecida popularmente por espinheira-santa, é nativa e cultivada, principalmente, no sul do Brasil. Esse espécime é largamente utilizado na medicina popular para combater gastrites e dispepsias. Possui ações tônicas, analgésicas, anti-sépticas, cicatrizantes, diuréticas e laxativas. O estudo teve como objetivo avaliar a segurança não clínica do extrato hidroalcoólico das folhas da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) em zebrafish (*Danio rerio*) adulto (ZFa). O extrato hidroalcoólico das folhas da espinheira-santa (EHidFES), armazenado no nosso laboratório, não tóxico frente a ZFa, foi submetido ao teste de campo aberto para avaliar se houve alteração na coordenação motora, seja por sedação e/ou relaxamento muscular. ZFa (60-90 dias; $0,4 \pm 0,1$ g; $n=6$ /grupo), machos e fêmeas, foram tratados, via intraperitoneal (*i.p.*), com soluções do EHidFES (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 μ L) ou veículo (Controle, DMSO 3 %, 20 μ L). Um grupo sem tratamentos (Naive), também foi incluído. Após 30 min dos tratamentos, os animais foram adicionados em placas de Petri (10 x 15 cm), contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes e analisada a atividade locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas (CL). Usando o valor de CL do grupo Naive como linha de base (100%), foi calculada a porcentagem de cruzamentos de linha (CL%) individualmente durante 5 minutos. Os resultados foram expressos como média \pm E.P.M. ($n=6$), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de $p < 0,05$. O estudo foi aprovado pela CEUA-UECE (#3344801/2017). Como resultado, EHidFES (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 μ L; *i.p.*) não alterou o comportamento locomotor dos animais (CL = 60,1-97,6%), significativamente semelhante ($p > 0,05$) ao controle (DMSO 3 %, 20 μ L; *i.p.*), CL = 82,4%. Os resultados são considerados importantes, pois apontam para a segurança no uso do extrato hidroalcoólico das folhas da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*).

Palavras-Chave: MAYTENUS ILICIFOLIA, SEGURANÇA NÃO CLÍNICA, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO.

[3Rs-7] AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO ÓLEO ESSENCIAL DA LIPPIA ALBA (MILL.) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

IZAMAR DE ARAÚJO ABRANTE (izamar.a.a@hotmail.com)

ANTÔNIA FLÁVIA COSTA SOUTO, DANIEL YURE XAVIER DE SOUSA, ALLANA KELLEN LIMA SANTOS PEREIRA, CLÁUDIA ARAÚJO MARCO, LAURA HÉVILA INOCENCIO LEITE

Métodos alternativos em modelos experimentais estão sendo cada vez mais válidos. O *Danio rerio* é um pequeno teleosteo que vem sendo usado mundialmente como modelo experimental em diversas áreas de pesquisa, como exemplo a toxicologia. Espécie amplamente distribuída em todo o território brasileiro, *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown é conhecida popularmente como erva cidreira. Na medicina popular é utilizada como analgésica, para dores abdominais, hemorroidas, dor de dente, febrifuga, em resfriados e nas afecções hepáticas. Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivo usar o zebrafish adulto (ZFa) como método alternativo ao uso de roedores para verificar a segurança não clínica do óleo essencial de *Lippia alba* (OELA), coletada no Crato-CE. O OELA, armazenado no nosso laboratório, foi submetido ao teste de campo aberto para avaliar se houve alteração na coordenação motora dos ZFa, seja por sedação e/ou relaxamento muscular. ZFa (60-90 dias; $0,4 \pm 0,1$ g; $n=6$ /grupo), machos e fêmeas, foram tratados, via oral (v.o.), com soluções do OELA (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 μ L) ou veículo (Controle, salina 0,9% suplementada com Tween 80 a 1%; 20 μ L). Um grupo sem tratamentos (Naive), também foi incluído. Após 1 hora dos tratamentos, os animais foram adicionados em placas de Petri (10 x 15 cm), contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes e analisada a atividade locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas (CL). Usando o valor de CL do grupo Naive como linha de base (100%), foi calculada a porcentagem de cruzamentos de linha (CL%) individualmente durante 5 minutos. Os resultados foram expressos como média \pm E.P.M. ($n=6$), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de $p < 0,05$. Os mesmos animais (ZFa; $n=6$ /grupo) após o teste de campo aberto, foram deixados em observação para análise da mortalidade, durante 96 h. Foi anotado o número de animais mortos em cada grupo e determinado a concentração letal capaz de matar 50 % dos animais (LC50) através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95%. O estudo foi aprovado pela CEUA-UECE (#3344801/2017). Como resultado, OELA (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 μ L; v.o.) não alterou o comportamento locomotor dos animais, pois apresentou CL variando de 52,4% a 72,2%, significativamente semelhante ($p > 0,05$) ao controle (veículo; CL = 74,5%). Em relação à toxicidade, OELA não causou mortalidade dos ZFa (CL50-96h $> 1,0$ mg/mL). Os resultados são considerados importantes, pois apontam para a segurança no uso do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown.

Palavras-Chaves: ÓLEO ESSENCIAL DE LIPPIA ALBA, TOXICIDADE, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO.

[3Rs-8] AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DA RAIZ DA PETIVERIA ALLIACEA FRENTE A ARTEMIA SALINA

ANA LÚCIA EUFRÁZIO ROMÃO (anaeufrazio@yahoo.com.br)

KATIANY DO VALE ABREU, LUCAS RODRIGUES PASCOAL, CARLÚCIO ROBERTO ALVES

Ainda hoje, testes toxicológicos pré-clínicos são rotineiramente realizados em camundongos. Contudo, há um forte movimento incentivando o estudo e desenvolvimento de métodos alternativos que visem a redução, o refinamento dos testes em animais ou mesmo substituição por outros modelos não somente devido ao alto custo das cobaias como também por questões éticas relacionadas ao uso de animais. Entre os métodos alternativos, está o teste com *Artemia salina* L. (Artemiidae), um microcrustáceo marinho utilizado em ensaios laboratoriais para a avaliação da toxicidade de substâncias químicas. Os ensaios com *A. salina*, são confiáveis e eficazes na predição da toxicidade das substâncias avaliadas. Dentre os usos deste modelo está a predição da toxicidade de plantas e seus extratos. A intoxicação por plantas medicinais é um sério problema de saúde pública e normalmente ocorre em razão do consumo excessivo ou ingestão em concentrações elevadas de determinadas plantas e extratos vegetais, do preparo e do uso inadequados e, principalmente, em virtude do uso de plantas com efeitos tóxicos. Estima-se que atualmente 65% da população incorpora o uso de plantas da medicina tradicional aos cuidados médicos. As estimativas revelam que do total de aproximadamente 250.000 de espécies de plantas existentes no globo terrestre, apenas 10% foram testadas em ensaios biológicos. A prescrição dessas espécies para fins terapêuticos ocorre de forma indiscriminada, sem que os constituintes de grande parte delas tenham sido estudados e a bioatividade comprovada. A *Petiveria alliacea*, é uma planta medicinal conhecida popularmente no país por amansa-senhor devido ao seu potencial tóxico. Para a realização do presente ensaio as folhas do tipo foram coletadas na Universidade Estadual do Ceará, no Núcleo de Estudos e Práticas Permaculturais do Semiárido (NEPPSA). Na realização do bioensaio com *Artemia salina* utilizou-se a metodologia adaptada de Meyer et al., (1982). Utilizou-se de 10 larvas do micro crustáceo por ensaio e extrato diluído em solução salina nas concentrações de 1000, 500, 250 e 125 ppm. A eclosão dos ovos de *Artemia salina* foi realizada em solução salina, sob iluminação constante e no decorrer de 48 horas. Os testes foram feitos em triplicata. A contagem dos animais mortos e vivos foi realizada após 24 h. Utilizou-se o método Probitos de análise para obtenção da Concentração Letal Média (CL50). Os extratos são considerados tóxicos quando $CL50 < 1000$ ppm. O extrato testado apresentou baixa toxicidade frente a *Artemia salina*, uma vez que a concentração responsável pela morte de 50% da Artemias, foi superior a 1000 ppm. Dados da literatura preconizam que são consideradas tóxicas substâncias que apresentam valores de CL50 abaixo de 1000 ppm da solução analisada (Meyer et al.,1982). O CL50 foi determinado em aproximadamente 1015,52 ppm com um desvio padrão de 66,6.

Palavras-Chaves: TOXICIDADE, ARTEMIA, PETIVERIA.

[3Rs-9] COMPARAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DO ACETATO DE CARVACRILA IN VIVO E IN SILICO: UMA ALTERNATIVA PARA REDUÇÃO DO USO DE ANIMAIS EM PESQUISA

WEIBSON PAZ PINHEIRO ANDRÉ (weibsonpaz@hotmail.com)

GÉSSICA SOARES CAVALCANTE, WESLEY LYEVERTON CORREIA RIBEIRO, JOSÉ VILEMAR DE ARAÚJO FILHO, VALDIR FERREIRA DE PAULA JÚNIOR, LORENA MAYANA BESERRA DE OLIVEIRA

O acetato de carvacrila é um derivado acetilado do carvacrol que apresenta diversas atividades biológicas. Esse biocomposto tem sido proposto como uma alternativa para o controle das helmintíases de animais e humanos, entretanto, deve-se avaliar a sua segurança toxicológica. Métodos alternativos têm sido propostos para avaliar a toxicidade de compostos bioativos, como a avaliação *in silico* (abordagem computacional), visando reduzir o número de animais utilizados em pesquisa. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi comparar a toxicidade aguda do acetato de carvacrila *in silico* e *in vivo* em camundongos. O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética para uso em animais da Universidade Estadual do Ceará (Protocolo: 6511846/2016). Para avaliação da toxicidade aguda do acetato de carvacrila *in silico* foi utilizado o programa QSAR (Quantitative structure-activity relationship models), utilizando o servidor GUSAR (<http://www.way2drug.com/gusar/acutoxpredict.html>) que combina os valores dos descritores QNA (Quantitative Neighborhoods of Atoms), PASS (previsão de espectros de atividade para substâncias), perfis de atividades biológicas previstas e regressão auto-consistente. No teste de toxicidade aguda clássica foram utilizados 50 camundongos albinos (*Mus musculus*) fêmeas, com peso médio de 25 g, mantidos em caixas de polipropileno e alimento com ração comercial e água *ad libitum*. Os animais foram divididos aleatoriamente em grupos (n = 10) com base no tratamento: G1 a G4: 500, 1000, 2000 e 4000 mg/kg de acetato de carvacrila e G5: solução de Tween 80 a 1%, administrados por via oral. Os animais foram observados durante 15 dias para verificar a mortalidade. Foi verificado o número total de animais mortos, e as doses letais para 10% (DL₁₀) e 50% (DL₅₀) dos animais foram calculadas por análise probit com o programa SPSS 17.0. No teste de toxicidade aguda *in silico* a DL₅₀ por via oral em ratos foi 1.525 mg/kg. No teste de toxicidade aguda em camundongos a DL₁₀ e DL₅₀ do acetato de carvacrila foram 566,7 (176,3-930,9) mg/kg e 1,544.5 (943.6-2,475.8) mg/kg, respectivamente. O cálculo da DL₅₀ é fundamental para definir as doses a serem utilizadas nos ensaios *in vivo*. Apesar de terem sido utilizados diferentes espécies de roedores no teste *in silico* e *in vivo*, verificamos que a DL₅₀ do acetato de carvacrila apresentou valores semelhantes, comprovando que a utilização de modelos computacionais pode ser uma alternativa para estimar a DL₅₀ de compostos bioativos que apresentam aplicação biotecnológica, reduzindo a utilização de animais em pesquisa.

Palavras-Chave: COMPOSTOS BIOATIVOS, TOXICIDADE, BIOINFORMÁTICA.

[3Rs-10] EFEITO ANSIOLÍTICO-SÍMILE DA CHALCONA N-4'-[(2E) -3- (3-NITROFENIL) -1- (FENIL) PROP-2-EN-1-ONA] ACETAMIDA EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

MARIA KUEIRISLENE AMÂNCIO FERREIRA (kueirislene@hotmail.com)
ANTÔNIO WLISSES DA SILVA, PAULO NOGUEIRA BANDEIRA, HÉLCIO SILVA DOS SANTOS, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES, JANE EIRE SILVA ALENCAR DE MENEZES

Ansiedade é um estado emocional que afeta aspectos psicológicos e fisiológicos, e está associada com uma resposta a situações de perigo, ou ameaças reais, assim como estresses e desafios do cotidiano. Os medicamentos mais prescritos para transtornos de ansiedade são os benzodiazepínicos (BZDs). O uso clínico de BZDs são limitados por causa de seus efeitos colaterais que causam no organismo, tais como dano psicomotor e cognitivo, tolerância e dependência. Por isso, o desenvolvimento de novos medicamentos, que possuem efeito ansiolítico sem as complicações dos BZDs, são importantes no tratamento de distúrbios relacionados à ansiedade. Uma nova chalcona N-4'-[(2E) -3- (3-nitrofenil) -1- (fenil) prop-2-en-1-ona] acetamida (PAAPMNBA) foi sintetizada e caracterizada pelo uso das técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C , Infra-vermelho e Espectrometria de Massas. Nesse trabalho foi realizado o teste de atividade ansiolítica da PAAPMNBA em zebrafish (*Danio rerio*) adulto. Foi empregado o Teste do Claro & Escuro, em aquário de vidro (30 x 15 x 20 cm) com uma zona clara e uma escura. O aquário foi cheio com 3 cm de água da torneira, pré-tratada com anticloro e livre de drogas, pois sendo raso restringe do aquário habitacional, que é um comportamento de ansiedade bem estabelecida num novo ambiente. ZFa (60-90 dias; $0,4 \pm 0,1$ g; $n=6/\text{grupo}$), machos e fêmeas, foram tratados, via intraperitoneal (*i.p.*), com soluções da PAAPMNBA (0,1 ou 0,3 ou 1,0 mg/mL; 20 μL) ou veículo (Controle, DMSO 3 %, 20 μL ; *i.p.*) ou Diazepam (2,5 mg/mL; 20 μL ; *i.p.*). Um grupo sem tratamentos (Naive), também foi incluído. Após 30 min dos tratamentos, os animais foram, individualmente, adicionados na zona clara do aquário e o efeito ansiolítico-símile foi quantificado como porcentagem de permanência na zona clara (%PZC), durante 5 min de análise. Os resultados foram expressos como média \pm E.P.M. ($n=6$), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de $p < 0,05$. O estudo foi aprovado pela CEUA-UECE (#7210149/2016). Como resultado, PAAPMNBA apresentou efeito ansiolítico-símile, pois os ZFa tratados com PAAPMNBA (0,1 ou 0,3 ou 1,0 mg/mL; 20 μL ; *i.p.*) permaneceram maior parte do tempo de análise na zona clara ($\text{PZC}_{\text{PAAPMNBA}} = 48,8-78,6\%$), significativamente ($p > 0,05$) semelhante ao diazepam (2,5 mg/mL; 20 μL ; *i.p.*), controle ansiolítico ($\text{PZC}_{\text{DZP}} = 81,5\%$). Os resultados apontam para o efeito ansiolítico-símile de PAAPMNBA. Novos estudos devem ser realizados para investigar possíveis mecanismos de ação.

Palavras-Chave: CHALCONAS SINTETIZADAS, ATIVIDADE ANSIOLÍTICA, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO.

[3Rs-11] EFEITO ANSIOLÍTICO-SÍMILE DA FRAÇÃO SAPONIFICÁVEL DAS CASCAS DE AZADIRACHTA INDICA A. JUSS (NEEM) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

ANTONIO WLISSSES DA SILVA (wlissessedasilva@hotmail.com)

MARIA KUEIRISLENE AMÂNCIO FERREIRA, CARLOS LEONE ALVES HOLANDA, JANE EIRE BEZERRA DE MENEZES, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES, SÔNIA MARIA COSTA SIQUEIRA

A ansiedade é uma sensação subjetiva de inquietude e apreensão, sendo sua finalidade preparar o organismo para uma situação de conflito e fuga. Dentre as classes de medicamentos ansiolíticos, as que mais se destacam são os benzodiazepínicos (BDZs) e barbitúricos, sendo os BDZs medicamento de escolha para o tratamento dos estados de ansiedade e insônia por possuírem baixo índice de intoxicação. Porém, quando esses medicamentos são usados abusivamente por um período maior que o necessário para o tratamento, gera problemas de tolerância, dependência e crises de abstinência durante a retirada desses medicamentos. Com isso, modelo animal tal como o zebrafish está sendo utilizado para mensurar a ansiedade a partir do rastreamento de drogas para avaliação da eficácia de substâncias em desenvolvimento. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito ansiolítico-símile da fração saponificável do extrato etanólico das cascas de *Azadirachta indica* (Neem) (FSapCNim) frente ao zebrafish (*Danio rerio*) adulto (ZFa). Nesse trabalho, foi empregado o Teste do Claro & Escuro, em aquário de vidro (30 x 15 x 20 cm) com uma zona clara e uma escura. O aquário foi cheio com 3 cm de água da torneira, pré-tratada com anticloro e livre de drogas, pois sendo raso restringe do aquário habitacional, que é um comportamento de ansiedade bem estabelecida num novo ambiente. ZFa (60-90 dias; 0,4±0,1 g; n=6/grupo), machos e fêmeas, foram tratados via intraperitoneal (*i.p.*), com soluções da FSapCNim (1,0 ou 2,5 ou 5,0 mg/mL; 20 µL) ou veículo (Controle, DMSO 3%, 20 µL; *i.p.*) ou Diazepam (2,5 mg/mL; 20 µL; *i.p.*). Após 30 min dos tratamentos, os animais foram, individualmente, adicionados na zona clara do aquário e o efeito ansiolítico-símile foi quantificado como porcentagem de permanência na zona clara (%PZC), durante 5 min de análise. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. (n=6), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de p<0,05. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para o Uso de Animais - CEUA/UECE (#7210149/2016). Como resultado, FSapCNim apresentou efeito ansiolítico-símile, pois os ZFa tratados com FSapCNim (1,0 ou 2,5 ou 5,0 mg/mL; 20 µL; *i.p.*) permaneceram maior parte do tempo de análise na zona clara (PZC_{FSapCNim} = 69,4-73,2%), significativamente (p>0,05) semelhante ao diazepam (2,5 mg/mL; 20 µL; *i.p.*), controle ansiolítico (PZC_{DZP} = 58,7%). Os resultados apontam efeito ansiolítico-símile da fração saponificável do extrato etanólico das cascas de *A. indica*. Porém, novos estudos devem ser realizados para investigar possíveis mecanismos de ação.

Palavras-Chaves: AZADIRACHTA INDICA (NEEM), ATIVIDADE ANSIOLÍTICA, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO.

[3Rs-12] EFEITO ANSIOLÍTICO-SÍMILE DO CHÁ DE SETE SANGRIAS (*CUPHEA SSP*) EM ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) ADULTO

BRENDA SILVA DO PRADO (brenda.prado@aluno.uece.br)
EMANUELA DE LIMA REBOUÇAS, CHAYANE GOMES MARQUES, SANDRA MACHADO LIRA, MARIA IZABEL FLORINDO GUEDES, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

Sete Sangrias (*Cuphea* spp) é uma planta medicinal comercializada no Brasil contra distúrbios circulatórios e doenças cardíacas. Recentemente, avaliamos, frente a zebrafish (*Danio rerio*) adulto, a segurança não clínica do extrato aquoso (chá) das flores de sete sangrias (C7S), adquirida como planta medicinal (Essência do Ser, Lote: A014187), no Mundo Verde, uma loja de produtos naturais, em Fortaleza-CE. C7S não foi tóxico, porém diminuiu atividade locomotora dos animais, indicando-se, assim, possível ação sedativa/ansiolítica. Desta forma, para dar continuidade aos nossos estudos, investigamos o efeito ansiolítico-símile de tal chá empregando-se o zebrafish adulto como modelo animal. Foi realizado o Teste do Claro & Escuro, em aquário de vidro (30 x 15 x 20 cm) com uma zona clara e uma escura. O aquário foi cheio com 3 cm de água da torneira, pré-tratada com anticloro e livre de drogas, pois sendo raso restringe do aquário habitacional, que é um comportamento de ansiedade bem estabelecida num novo ambiente. ZFa (60-90 dias; 0,4±0,1 g; n=6/grupo), machos e fêmeas, foram tratados, via oral (v.o.), com soluções do C7S (12,5 ou 25 ou 50 mg/Kg) ou veículo (Água destilada, 20 µL) ou Diazepam (2,0 mg/Kg). Um grupo sem tratamentos (Naive) também foi incluído. Após 1 hora dos tratamentos, os animais foram, individualmente, adicionados na zona clara do aquário e o efeito ansiolítico-símile foi quantificado como porcentagem de permanência na zona clara (%PZC), durante 5 min de análise. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. (n=6), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de p<0,05. O estudo foi aprovado pela CEUA-UECE (#7210149/2016). Como resultado, C7S apresentou efeito ansiolítico-símile, pois os ZFa tratados com C7S (12,5 ou 25 ou 50 mg/Kg; v.o.) permaneceram maior parte do tempo de análise na zona clara (PZC_{C7S} = 42,7%, 74,3%, 44,9%, respectivamente), significativamente (p<0,001) diferente do Naive (PZC_{Naive} = 1,8%) ou controle (PZC_{Naive} = 2,3%). Vale salientar que C7S (25 mg/Kg; v.o.) apresentou efeito ansiolítico-símile significativamente (p>0,05) semelhante ao diazepam (2,0 mg/Kg; v.o.), controle ansiolítico (PZC_{DZP} = 95,1%). Os resultados são considerados importantes, pois apontam para o uso do chá de sete sangrias (*Cuphea* spp) como planta medicinal com ação ansiolítica. Novos estudos serão realizados para investigar possíveis mecanismos de ação.

Palavras-Chaves: SETE SANGRIAS (*CUPHEA SPP*), ATIVIDADE ANSIOLÍTICA, ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) ADULTO.

[3Rs-13] EFEITO ANSIOLÍTICO-SÍMILE DO EXTRATO ETANÓLICO DAS CASCAS DO MOFUMBO (COMBRETUM LEPROSUM MART.) EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

SANDRA MARIA BARBOSA DE ARAUJO (sandra.taua@hotmail.com)
FRANCISCO BASTO CAVALCANTE SOBRINHO, MARTA RODRIGUES LOPES, NAIARA MÁGNA SOUSA SILVA, ADRIANA ROLIM CAMPOS BARROS, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

A ansiedade, um transtorno comportamental complexo e multidimensional, vem sendo estudada na neurociência a fim de compreender como os circuitos neuronais e outros mecanismos potencialmente modulam estas reações. Por compartilhar das mesmas vias e mecanismos relacionados a ansiedade em humanos, o peixe-zebra (*Danio rerio*) tornou-se um popular organismo experimental no estudo da ansiedade ao demonstrar fortes respostas a este comportamento. Os fármacos utilizados para o tratamento são os ansiolíticos (benzodiazepínicos e não-benzodiazepínicos), os antidepressivos (inibidores seletivos da recaptção de serotonina (5-HT) (ISRS) e os inibidores da recaptção de 5-HT e noradrenalina (NOR). Todavia, esses fármacos causam diversos efeitos colaterais, incluindo sonolência, sedação e diminuição da coordenação motora no caso dos benzodiazepínicos (BZP), disfunções sexuais, gastrointestinais e de sono (antidepressivos). Por conseguinte, o uso crônico dos BZP pode provocar tolerância e/ou dependência, além de síndrome de abstinência e altas doses podem ser fatais, principalmente se utilizadas com outros depressores do Sistema Nervoso Central. Assim, a busca por novos agentes terapêuticos com propriedades ansiolíticas e sem efeitos colaterais se torna um desafio. Este trabalho reporta o efeito ansiolítico-símile do extrato etanólico das cascas do mofumbo (EtCMof), coletado em Tauá-CE, frente ao zebrafish adulto (ZFa). Foi realizado o Teste do Claro-Escuro, em aquário de vidro (30 x 15 x 20 cm) com uma zona clara e uma escura, com 3 cm de água da torneira, tratada com anticloro e livre de drogas, pois sendo raso restringe do aquário habitacional, que é um comportamento de ansiedade bem estabelecida num novo ambiente. ZFa (60-90 dias; 0,4±0,1 g; n=6/grupo), machos e fêmeas, foram tratados, via intraperitoneal (*i.p.*), com soluções do EtCMof (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 µL) ou veículo (Controle, DMSO 3 %, 20 µL; *i.p.*) ou Diazepam (1,0 mg/mL; 20 µL; *i.p.*). Um grupo sem tratamentos (Naive) também foi incluído. Após 30 min, os animais foram, individualmente, adicionados na zona clara do aquário e o efeito ansiolítico-símile foi quantificado como porcentagem de permanência na zona clara (%PZC), durante 5 min de análise. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. (n=6), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de $p < 0,05$. O estudo foi aprovado pela CEUA-UECE (#7210149/2016). Como resultado, EtCMof apresentou efeito ansiolítico-símile, pois os ZFa tratados com EtCMof (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 µL; *i.p.*) permaneceram maior parte do tempo de análise na zona clara ($PZC_{EtCMof} = 58,6\%, 65,4\%, 60,7\%$, respectivamente), significativamente ($p > 0,05$) semelhante ao diazepam (1,0 mg/mL; 20 µL; *i.p.*), controle ansiolítico ($PZC_{DZP} = 70,7\%$). Os resultados são considerados promissores, pois apontam para o uso do EtCMof como fitoterápico com ação ansiolítica. Novos estudos serão realizados para investigar possíveis mecanismos de ação.

Palavras-Chave: MOFUMBO (C. LEPROSUM MART.), ATIVIDADE ANSIOLÍTICA, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO.

[3Rs-14] GUIA PARA A ANÁLISE TRANSCRIPTÔMICA: UM PASSO-A-PASSO PARA A INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL TOXICOLÓGICO E MECANISMOS DE AÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM NATURAL

THIAGO SILVA DE ALMEIDA (thiago.urca@gmail.com)
ANA FONTENELE URANO CARVALHO

Os testes toxicológicos de compostos bioativos são realizados em etapas, iniciando com ensaios preliminares *in vitro*, seguidos de ensaios *in vivo* com animais e avaliação clínica para que seja provada a segurança de uso. Nas últimas décadas houve um grande avanço nos ensaios *in vitro*, na tentativa de se aproximar cada vez mais de respostas que prevejam resultados de tratamentos *in vivo* e, com isso, reduzir a utilização de animais de laboratório. O advento das tecnologias ômicas, como a genômica, proteômica e transcriptômica, proporcionaram grande progresso na compreensão dos mecanismos moleculares de toxicidade. A toxicogenômica, que é a integração entre a toxicologia, a bioinformática e as tecnologias ômicas, tem recebido a atenção e os investimentos da indústria farmacêutica por estar se mostrando preditiva no quesito de mecanismos de ação e toxicidade, além de vislumbrar a possibilidade de identificar medicamentos em potencial. A utilização da toxicogenômica possibilita a investigação da expressão de dezenas de milhares de genes, simultaneamente, permitindo a visualização de diferentes perfis de alteração e de assinatura gênica. Extratos e outras formulações de origem vegetal, por se tratar de misturas quimicamente complexas são capazes de modular múltiplos genes. Assim, a utilização da toxicogenômica se torna adequada para melhorar a compreensão sobre os mecanismos genéticos de resposta de organismos expostos a este tipo de amostra. Baseando-se na experiência do grupo com esta ferramenta alternativa à experimentação animal, este trabalho objetivou destacar os pontos críticos das etapas que devem ser seguidas para se realizar, apropriadamente, uma análise toxicogenômica. Dentre essas etapas estão a análise das características desejáveis para cada tipo de composto (e.g., solubilidade e capacidade de acidificar o meio reacional), a escolha apropriada das linhagens celulares para realizar a exposição cuja decisão irá depender de múltiplos fatores (e.g., objetivo da pesquisa e atividades biológicas previamente identificadas), a seleção das concentrações das amostras a serem testadas e dos controles que devem ser utilizados nos ensaios biológicos, a escolha do tipo de princípio a ser utilizado para o ensaio de viabilidade celular, do processo de hibridização dos genes, a seleção dos procedimentos para tratar os dados gerados e avaliação dos resultados encontrados. As sugestões apresentadas têm a intenção de divulgar a técnica de toxicogenômica, bem como, estimular e facilitar o desenvolvimento de um estudo que utilize a análise toxicogenômica como ferramenta alternativa na investigação da toxicidade e de mecanismos/modo de ação de produtos de origem natural.

Palavras-Chaves: EXPRESSÃO GÊNICA, TÉCNICA ALTERNATIVA, TECNOLOGIAS ÔMICAS.

[3Rs-15] IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS ALVOS PARA ANTIVIRAIS CONTRA O VÍRUS ZIKA COMO ETAPA PRÉVIA A TESTES LABORATORIAIS IN VITRO E IN VIVO

LANA KARINE VASCONCELOS BARROSO (lanakvasconcelosb@gmail.com)
GABRIELY ALVES LESSA, ANTONIO EUFRÁSIO VIEIRA NET, DANIELLE MALTA LIMA,
ADRIANA ROLIM CAMPOS

A infecção causada pelo vírus Zika (ZIKAV) apresentou-se de caráter pandêmico nas regiões das Américas, preocupando autoridades por suas complicações, como comprometimento neurológico, microcefalia e síndrome de Guillain-Barré. Esse quadro tem influenciado inúmeras pesquisas para identificação de um antiviral específico e efetivo. O ZIKAV é um vírus de RNA, que pertence ao gênero flavivírus, composto por três proteínas estruturais e sete não estruturais, indispensáveis para a adosorção e replicação do vírus na célula hospedeira, respectivamente. Fármacos antivirais efetivos contra o ZIKAV devem interagir com alvos virais que impeçam sua entrada na célula, replicação ou manutenção intracelular de partículas virais. Uma etapa importante nas pesquisas em antivirais é a triagem de compostos ativos pelo estudo do docking molecular, pois trata-se de uma ferramenta rápida e de custos reduzidos que permite a redução de experimentos laboratoriais *in vivo* para estes testes iniciais. O presente estudo objetivou a identificação de proteínas-alvo para aplicação de técnicas de docagem molecular como predição da conformação bioativa de candidatos a fármacos antivirais. Buscou-se no Protein Databank o depósito de proteínas estruturais e não estruturais do ZIKAV, buscando na literatura evidências científicas de sua potencialidade como alvo para fármacos antivirais. Para a busca na literatura, foi utilizada como base de dados o Pubmed, buscando estudos dos últimos cinco anos, com as seguintes palavras-chave: "Zika Virus and Antiviral Activity and Structural Protein". Portanto, foram analisadas as estruturas tridimensionais de cinco proteínas do ZIKAV: proteínas estruturais (proteína C e Glicoproteína E), assim como as proteínas não estruturais (NS1, NS3 e NS5). Nesta pesquisa, foram identificados 12 estudos sobre a pesquisa de proteínas estruturais e não estruturais com influência na entrada do vírus na célula hospedeira ou no processo replicativo viral. A maioria dos artigos (41,67%) apresentou as proteases NS2B-NS3 como potenciais alvos celulares ligantes para fármacos antivirais, pois são imprescindíveis no ciclo replicativo ao realizar as clivagens citoplasmáticas. Em pesquisa utilizando o vírus dengue, outro flavivírus, a protease NS2B-NS3 também suprime a resposta imune clivando o estimulador dos genes interferon. Outras proteínas identificadas como importantes alvos para antivirais foram isoladamente as proteínas NS5 (25%), NS3 (16,7%) e a proteína E (16,7%). A NS5 e NS3 influenciando no ciclo replicativo viral e a proteína E na entrada do vírus na célula hospedeira. O presente estudo permitiu identificar importantes alvos para a ação de fármacos antivirais, como as proteínas NS2, NS3, NS5 e Proteína E. Estes achados permitem a realização de uma triagem inicial compostos candidatos a fármacos antivirais antes da realização de testes laboratoriais *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-Chave: ZIKAV, ATIVIDADE ANTIVIRAL, DOCKING MOLECULAR.

[3Rs-16] PADRONIZAÇÃO DO MODELO DE NOCICEPÇÃO OROFACIAL INDUZIDA POR FORMALINA EM ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO

GERLÂNIA DE OLIVEIRA LEITE (gerlanialeite@yahoo.com.br)

FRANCISCA MÁGNOLIA DIÓGENES HOLANDA BEZERRA, FRANCISCO EVILYN SENA E SILVA, ANTÔNIA DEYSE DE CASTRO RIBEIRO, JOANA UIARA MORGANA ALVES FERREIRA, ADRIANA ROLIM CAMPOS

O teste da formalina para induzir nocicepção em roedores é um dos modelos experimentais mais bem estabelecidos e amplamente empregados para o estudo de mecanismos nociceptivos. Neste modelo, a injeção intraplantar de formalina na pata traseira gera um padrão bifásico de comportamentos relacionados a nocicepção: uma fase neurogênica precoce de curta duração, seguida por uma segunda e fase inflamatória mais sustentada. O teste foi adaptado para avaliar a nocicepção na região orofacial de camundongos e ratos. Recentemente, nosso grupo adaptou o teste de nocicepção induzida por formalina (0,1 % aplicada na cauda) em zebrafish (*Danio rerio*) adulto (ZFa). Este estudo teve como objetivo padronizar o teste de nocicepção orofacial induzida por formalina zebrafish adulto. ZFa (60 - 90 dias; $0,4 \pm 0,1$ g; $n = 6/\text{grupo}$), machos e fêmeas, foram tratados, via intraperitoneal (i.p.), com o veículo (Controle, Solução Salina, 20 μL ; i.p.) ou morfina (8,0 mg/mL, 20 μL i.p), 30 min antes da injeção de formalina (0,1; 0,2 ou 0,3 %; 5,0 μL) nos lábios dos animais. Grupos sem tratamentos (Naive) também foram incluídos. Após a aplicação da formalina, os animais foram colocados individualmente em placas de Petri de vidro (10 x 15 cm), divididas em quadrantes, e a resposta nociceptiva foi quantificada em termos de atividade locomotora (cruzamentos de linhas) tanto na fase neurogênica (0 - 5 min) quanto na fase inflamatória (15 - 30 min). Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará, sob protocolo nº 7210149/2016. Os resultados estão expressos como média \pm E.P.M. do número de cruzamentos, analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de $p < 0,05$. Formalina a 0,1 % aplicada nos lábios dos animais não induziu o comportamento nociceptivo nos animais testados. Quando a solução de formalina a 0,2 % foi injetada nos lábios dos ZFa, houve redução significativa da atividade locomotora dos animais nos tempos 0 - 5 min (** $p < 0,001$) e 15 - 30 min (** $p < 0,001$) em comparação ao grupo Naive. A solução de formalina a 0,3 % também reduziu a atividade locomotora dos ZFa, porém em menor intensidade nas duas fases do teste (* $p < 0,05$ e ** $p < 0,001$, respectivamente). O efeito nociceptivo da formalina (0,2 %) foi prevenido pela morfina (** $p < 0,01$ - primeira fase e * $p < 0,05$ - segunda fase). Os resultados sugerem que o zebrafish adulto também pode ser usado como um modelo comportamental de nocicepção orofacial induzida por formalina, com as vantagens de homologia significativa com o genoma humano e baixo custo.

Palavras-Chaves: ATIVIDADE NOCICEPTIVA, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO, FORMALINA.

[3Rs-17] PROPOSTA DE VÍDEO-AULA PARA O ESTUDO DE ASPECTOS FISIOLÓGICOS E FARMACOLÓGICOS DO TÔNUS VASCULAR

JUSSARA MATYELLE RODRIGUES DA SILVA (jussara.mathyelle@hotmail.com)
RODRIGO JOSÉ BEZERRA DE SIQUEIRA.

A compreensão de temas de Fisiologia e Farmacologia Cardiovascular pode se mostrar complexa para estudantes de graduação. A utilização de aulas práticas complementares às aulas teóricas expositivas é uma ferramenta educacional de grande valor. Foi então elaborada uma proposta de vídeo-aula para alunos de graduação em Ciências da Saúde e Ciências Biológicas com o objetivo de estudar os aspectos fisiológicos e farmacológicos da regulação do tônus vascular: (1) aplicação de um questionário impresso com questões básicas sobre a regulação do tônus vascular antes e depois da realização da atividade prática; (2) a utilização de anéis de aorta de um único rato Wistar destinado a sacrifício, após a realização de protocolos experimentais aprovados previamente pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA); e (3) a gravação e posterior edição de todos os protocolos experimentais, para utilização didática posterior da vídeo-aula. Serão utilizados quatro anéis de aorta de um rato Wistar, dois com endotélio íntegro e outros dois com retirada mecânica do endotélio, serão acondicionados em banhos para órgãos para registro da atividade contrátil. Para a gravação da vídeo-aula será utilizada uma câmera digital Sony Cyber Shot® DSC-HX 400V; o programa para edição de vídeo será o Wondershare Filmora®; as séries experimentais serão registradas utilizando o programa de registro e aquisição de dados Power Lab®. Na primeira série experimental os anéis de aorta serão estimulados a contrair com fenilefrina (0,1 μ M) e em seguida será adicionada acetilcolina (1 μ M). Na segunda série experimental dois anéis de aorta serão estimulados com KCl (60 mM) em meio sem cálcio e em seguida o cálcio será adicionado de forma cumulativa (0,1-20 mM). Na terceira série experimental, dois anéis de aorta em meio sem cálcio serão estimulados com fenilefrina (10 μ M) em presença de verapamil (1 μ M). A primeira série experimental permitirá a discussão do acoplamento farmacomecânico e da integridade do endotélio. Na segunda série experimental será possível discutir o influxo de cálcio no acoplamento eletromecânico. A terceira série experimental permitirá abordar os aspectos da mobilização de cálcio dos estoques intracelulares. O desenvolvimento da vídeo-aula proposta poderá conferir aos alunos de graduação: (1) melhor compreensão da fisiologia e da farmacologia relacionadas com a regulação do tônus vascular; (2) demonstração de ganho de conhecimento após a comparação entre os testes aplicados antes e depois da atividade prática; (3) aprendizagem de cálculos de diluições e de molaridade; (4) a repetição da atividade prática proposta pela vídeo-aula em cada semestre específico da disciplina do ciclo básico. É possível prever que a aula prática complementar poderá constituir um importante recurso metodológico facilitador do processo de ensino-aprendizagem. A presente proposta também permitirá a otimização de recursos laboratoriais com a substituição de animais de laboratório pela vídeo-aula.

Palavras-Chaves: METODOLOGIAS ATIVAS. FISILOGIA, EDUCAÇÃO.

[3Rs-18] USO DE ARTÉRIAS UMBILICAL HUMANA COMO MÉTODO ALTERNATIVO PARA USO DE ANIMAIS: AVALIAÇÃO DO EFEITO MIORRELAXANTE DO CITRAL

DÉBORA DE MENEZES DANTAS (debora_fdj@hotmail.com)

LUÍS PEREIRA DE MORAIS, ADRESSA DE ALENCAR SILVA, ISAAC MOURA ARAÚJO, MARTA REGINA KERNTOPF, ROSELI BARBOSA

Cada vez mais vem se procurando por métodos alternativos que substituam o uso de animais em instituições de ensino, tanto para aulas práticas como no âmbito da pesquisa científica. Após ser sancionada a Lei federal Arouca, nº 11.794, em 8 de outubro de 2008, pelo até então presidente Luiz Inácio Lula da Silva, as instituições de ensino superior vêm tentando se adaptar as normas desta lei. Na região do Cariri encontra-se inúmeras instituições de ensino que ainda dependem de animais para pesquisa, em especial a Universidade Regional do Cariri-URCA conta com programas de pós-graduação onde algumas linhas de pesquisa dependem unicamente desse método. Visando substituir o uso de animais laboratoriais, obedecendo assim a regra dos 3 Rs (reduces, refine, replace), o Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis, coordenado pela professora Dra. Roseli Barbosa, vem implementando métodos alternativos utilizando cordão umbilical humanos que seriam descartados, os experimentos estão sendo desenvolvidos com a técnica de banho de órgãos, verificando o efeito vasorrelaxante do citral, uma vez que, já se sabe que essa substância promove tal efeito em artéria aorta de rato. Inicialmente o projeto foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da URCA, com parecer: 1.962.667, onde visa substituir a utilização de artéria aorta de ratos por artéria umbilical de humanos, uma vez que este tecido é descartado pelo próprio hospital. Várias porções do cordão umbilical, de 10 a 12 cm, foram obtidos de partos normais no bloco de obstetrícia do Hospital e Maternidade São Francisco de Assis que está localizado no município de Crato-CE, os tecidos somente são coletados com o consentimento prévio das doadoras. Os cordões foram colhidos foram colocados em uma solução salina fisiológica, Tyrode modificado. As artérias foram isoladas a partir dos segmentos de cordão umbilical, após a remoção da geleia de Warton. Em seguida deu-se a montagem dos anéis de artéria, de 3 à 4 mm de comprimentos, em um banho para órgãos. A estabilização do tecido se deu no decorrer de 2 h sob tensão de aproximadamente 1,5 g. Após a estabilização, duas curvas consecutivas e do tipo concentração-resposta similares ao KCl (60 mM), com intervalos de lavagem entre eles, e foram observados a vasodilatação induzida pelo Citral (1-1000 µg/mL). O citral relaxou de forma dependente da concentração as preparações de artérias pré-contraídas por KCl (60 mM) (IC_{50} : $391,73 \pm 9,48$ µg/mL). Dessa forma observou-se que o citral apresentou efeito miorrelaxante em artéria umbilical humana, o que vem confirmar uma alternativa para uma nova linha de pesquisa em substituição ao uso de animais na URCA, facilitando assim as pesquisas clínicas, uma vez que, o tecido utilizado é humano.

Palavras-Chaves: ARTÉRIA UMBILICAL, MÉTODO ALTERNATIVO, CITRAL.

[3Rs-19] USO DO ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO PARA AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DA JUREMA-BRANCA (PIPTADENIA STIPULACEA, FABACEAE)

LUIZA MICHELLY GONÇALVES LIMA (michelly.lima@aluno.uece.br)

FRANCISCO EVILYN SENA E SILVA, CASSIA OLIVEIRA DOS SANTOS, SHEILA MATIAS BARROSO, MARIA DA CONCEIÇÃO LOBO LIMA, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

O zebrafish é uma espécie de peixe no qual suas informações hereditárias encontram-se decodificadas, apresentando um elevado grau de homologia (aproximadamente 70%) aos genes do ser humano. *Danio rerio* é um organismo modelo consolidado em estudos científicos, principalmente em toxicologia, devido à sua fácil acomodação a diferentes condições ambientais, tanto naturais quanto artificiais. É facilmente mantido em aquário de água doce sob condições controladas de temperatura, pH e fotoperíodo, sendo bastante indicado para estudos experimentais. Assim, empregamos o Zebrafish (*Danio rerio*) adulto como modelo animal para avaliar a segurança não clínica do extrato etanólico das folhas da jurema-branca (EtFoJB). Inicialmente, o EtFoJB, armazenado no nosso laboratório, foi submetido ao teste de campo aberto para avaliar se houve alteração na coordenação motora dos ZFa, seja por sedação e/ou relaxamento muscular. ZFa (60-90 dias; 0,4±0,1 g; n=6/grupo), machos e fêmeas, foram tratados, via intraperitoneal (i.p.), com soluções do EtFoJB (1,0 ou 2,5 ou 5,0 mg/mL; 20 µL) ou veículo (Controle, DMSO 3 %, 20 µL) ou Diazepam (1,0 mg/mL; 20 µL). Um grupo sem tratamentos (Naive) também foi incluído. Após 30 min dos tratamentos, os animais foram adicionados em placas de Petri (10 x 15 cm), contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes e analisada a atividade locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas (CL). Usando o valor de CL do grupo Naive como linha de base (100%), foi calculada a porcentagem de cruzamentos de linha (CL%) individualmente durante 5 minutos. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. (n=6), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de p<0,05. Os mesmos animais (ZFa; n=6/grupo) após o teste de campo aberto, foram deixados em observação para análise da mortalidade. Após 96 h, foi anotado o número de animais mortos em cada grupo e determinado a concentração letal capaz de matar 50 % dos animais (CL₅₀) através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95%. O estudo foi aprovado pela CEUA-UECE (#3344801/2017). Como resultado dos testes de toxicidade, EtFoJB não se mostrou tóxico frente ao ZFa (CL₅₀> 5,0 mg/mL). No teste de campo aberto, EtFoJB (1,0 ou 2,5 ou 5,0 mg/mL; 20 µL; i.p.) diminuiu atividade locomotor dos animais, pois apresentou CL variando de 29% a 56,9%, significativamente (p<0,01; p<0,001) diferente do Naive, CL = 100%. Porém, somente EtFoJB (2,5 mg/mL; 20 µL; i.p.) foi significativamente semelhante (p>0,05) ao DZP (1,0 mg/mL; 20 µL; i.p.), controle sedativo/ansiolítico (CL = 9,4%). Os resultados são considerados importantes, pois apontam para a segurança e possível efeito sedativo e/ou relaxante muscular e/ou ansiolítico do extrato etanólico das folhas da jurema-branca (*Piptadenia stipulacea*, Fabaceae). Novos estudos farmacológicos serão realizados para investigar possíveis efeitos de tal extrato.

Palavras-Chaves: PIPTADENIA STIPULACEA, SEGURANÇA NÃO CLÍNICA, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO.

[3Rs-20] USO DO ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO COMO MODELO PREDITIVO PARA O ISOLAMENTO DE COMPOSTOS ANALGÉSICOS OROFACIAIS DE MIMOSA TENUIFLORA (WILLD.) POIRET

FRANCISCO LUCAS ALVES BATISTA (flucasbatista@outlook.com)

JOSÉ ISMAEL FEITOSA DE ARAÚJO, IZABEL DE ARAÚJO ABRANTE, SACHA AUBREY ALVES RODRIGUES SANTOS, ADRIANA ROLIM CAMPOS BARROS, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES

Nos últimos anos, o zebrafish (*Danio rerio*) tem ganhado destaque mundial como um organismo modelo em ensaios bioguiados de produtos naturais para descoberta de novas drogas. Em nossos trabalhos anteriores, empregamos o zebrafish adulto (ZFa) como modelo complementar ao uso de roedores em testes de nocicepção. Recentemente, selecionamos uma fração enriquecida do extrato etanólico das cascas da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) rica em compostos fenólicos com potencial antinociceptivo orofacial (FATEM), empregando-se os roedores como modelo animal. Assim, com o intuito de se aplicar o princípio dos 3Rs - *Replacement*, *Reduction* e *Refinement* - substituição de animais, redução do número de animais e refinamento dos procedimentos envolvendo animais, investigamos o possível uso do zebrafish (*Danio rerio*) adulto como modelo preditivo para o isolamento de compostos analgésicos orofaciais de *Mimosa tenuiflora*. Nesse trabalho, empregamos o modelo do cinamaldeído, usado anteriormente em roedores, bem como as mesmas concentrações de soluções da FATEM. ZFa (60-90 dias; 0,4±0,1 g; n=6/grupo), machos e fêmeas, foram tratados, via intraperitoneal (*i.p.*), com soluções da FATEM (1,25 ou 2,5 ou 5,0 mg/mL; 20 µL) ou veículo (Controle, DMSO 3 %, 20 µL) ou Morfina (5,0 mg/mL; 20 µL). Um grupo sem tratamentos (Naive) também foi incluído. Após 30 min, receberam injeção de cinamaldeído (0,33 µM; 5 µL; agonista TRPA1) nos lábios. Em seguida, os animais foram posicionados em placa de Petri (10 x 15 cm), dividida em quadrantes, e a resposta antinociceptiva foi caracterizada pelo número de cruzamentos realizados durante 0-5 min. Em experimento subsequente, ZFa (n=6/grupo) foram tratados como descrito anteriormente e submetidos ao teste do campo aberto para avaliar se houve alteração na coordenação motora, seja por sedação e/ou relaxamento muscular dos animais. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. (n=6), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de p<0,05. O estudo foi aprovado pela CEUA-UECE (#7210149/2016). Como resultado, FATEM (1,25 ou 2,5 ou 5,0 mg/mL; 20 µL; *i.p.*) e Morfina (5,0 mg/mL; 20 µL; *i.p.*) inibiram significamente (p<0,001; p<0,01 vs. Controle) a nocicepção orofacial em ZFa induzida pelo cinamaldeído. Não houve diferença entre os grupos tratados com FATEM ou morfina e o grupo naive em nenhum dos testes. No nosso estudo com roedores, somente FATEM (12,5 mg/Kg; *i.p.*) não inibiu significamente (p>0,05 vs Controle) a nocicepção orofacial em camundongos induzida pelo cinamaldeído. No presente trabalho foi possível observar também que o efeito antinociceptivo da FATEM pode ser mediado pelos canais TRPA1, sugerindo o uso do zebrafish adulto como modelo preditivo para o isolamento de compostos analgésicos orofaciais.

Palavras-Chaves: MIMOSA TENUIFLORA, MODELO DO CINAMALDEÍDO, ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO.

[3Rs-21] USO DO ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO PARA A AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DOS DIÉSTERES DO ÁCIDO P-HIDROXICINÂMICO EXTRAÍDOS DO PÓ CERÍFERO DA CARNAÚBA (COPERNICIA PRUNÍFERA MART.)

JOSE YTALOGOMES DA SILVA (ytagomes@hotmail.com.br)

MARCELO OLIVEIRA HOLANDA, JULIANNE DO NASCIMENTO SALES, JOANA TALITA GALDINO DA COSTA, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES, MARIA IZABEL FLORINDO GUEDES

A carnaúba (*Copernicia prunifera* Mart.) destaca-se na região Nordeste do Brasil por sua grande exploração comercial, rentabilidade e aplicabilidades terapêuticas. O uso de compostos extraídos de plantas para o tratamento de doenças tem sido uma prática utilizada em diversas partes do mundo, sendo um método alternativo aos tratamentos convencionais. Alguns relatos na literatura destacam o efeito analgésico e antiinflamatório dos derivados do ácido cinâmico, entre eles, o p-hidroxicinâmico (HCA). Entretanto, existem poucos trabalhos que destacam a toxicidade desses compostos *in vivo*. Portanto, esse trabalho objetivou avaliar a segurança não clínica do HCA presente no pó da carnaúba frente ao zebrafish (*Danio rerio*) adulto (ZFa). Para o teste de campo aberto, ZFa (60-90 dias; $0,4 \pm 0,1$ g; n=10/grupo), machos e fêmeas (n=10/grupo) foram tratados, via oral (v.o.) com o HCA (5,0 ou 25,0 ou 50,0 mg/mL; 20 μ L) ou veículo (Controle; água destilada; 20 μ L). Um grupo de animais (n=10/grupo) sem tratamentos foi incluído (Naive). Após 1 hora dos tratamentos, os animais foram adicionados em placas de Petri (10 x 15 cm), contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes e analisada a atividade locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas (CL). Usando o valor de CL do grupo Naive como linha de base (100%), foi calculada a porcentagem de cruzamentos de linha (CL%) individualmente durante 5 minutos. Os resultados foram expressos como média \pm E.P.M. (n=10), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de $p < 0,05$. Os mesmos animais (ZFa; n=10/grupo) após o teste de campo aberto, foram deixados em observação para análise da mortalidade. Os animais (n=10/grupo) do grupo veículo (água destilada; 20 μ L; v.o.) foram utilizados como controle. Após 96 horas de análise, foi verificado o número de ZFa mortos em cada grupo e determinado a concentração letal capaz de matar 50% dos animais (CL₅₀) através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95%. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (CEUA-UECE) e possui o seguinte número de protocolo: #3344801/2017. Os resultados obtidos no campo aberto demonstram que o HCA (25,0 ou 50,0 mg/mL; 20 μ L; v.o.) apresentou CL variando de 65,6% a 69,1%. Entretanto, HCA (5,0 mg/mL; 20 μ L; v.o.) causou alteração no sistema locomotor dos animais, com CL igual a 54,1%, significativamente ($p < 0,05$) diferente do Naive (CL = 100%). Os resultados toxicológicos do HCA (5,0 ou 25,0 ou 50,0 mg/mL; 20 μ L; v.o.) não foi caracterizada como tóxica (CL₅₀ > 50,0 mg/mL). Logo, conclui-se que os ácidos hidroxicinâmicos não apresentaram toxicidade nas doses administradas, sendo, assim, segura no seu uso terapêutico. Porém, mais estudos são necessários para investigar a forma de atuação do HCA e seus efeitos em ZFa.

Palavras-Chaves: CARNAÚBA, P-HIDROXICINÂMICOS, ZEBRAFISH.

[3Rs-22] USO DO ZEBRAFISH (DANIO RERIO) ADULTO PARA AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FLORES DA CHANANA (TURNERA SUBULATA SM)

EMANUELA DE LIMA REBOUÇAS (emanuelareboucas@gmail.com)

BRENDA SILVA DO PRADO, MARNIELLE RODRIGUES COUTINHO, ANTÔNIA RENATA FREIRE DE FREITAS, FRANCISCO ERNANI ALVES MAGALHÃES, MARIA IZABEL FLORINDO GUEDES

A atividade locomotora é um dos parâmetros de análise comportamental que vem sendo utilizado para avaliar ação de drogas que podem atuar sob o sistema nervoso central do zebrafish (*Danio rerio*) adulto e causar comprometimento locomotor ou não.^{1,2} *Turnera subulata* Sm conhecida popularmente como chanana é uma planta ruderal encontrada no nordeste. A população utiliza a chanana como medicamento para o tratamento de diabetes, hipertensão, dor crônica e inflamação^{3,4}. Este trabalho reporta a avaliação da segurança não clínica do extrato etanólico das flores de chanana (EtFloChan), coletado em Tauá-CE, frente ao zebrafish (*Danio rerio*) adulto (ZFa). A planta foi coletada com autorização do SISBIO sob o nº 29145-4, identificada e depositada no Herbário Prisco Bezerra - UFC, com exsicata de nº 61046. O extrato foi preparado com etanol comercial (96°GL) como solvente orgânico^{5,6}. Para o teste de campo aberto⁷, ZFa (60-90 dias; 0,4±0,1 g; n=6/grupo), machos e fêmeas (n=6/grupo) foram tratados, via intraperitoneal (i.p.) com o EtFloChan (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 µL) ou veículo (Controle, DMSO 3%, 20 µL). Um grupo de animais (n=6/grupo) sem tratamentos foi incluído (Naive). Após 30 min dos tratamentos, os animais foram adicionados em placas de Petri (10 x 15 cm), contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes e analisada a atividade locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas (CL). Usando o valor de CL do grupo Naive como linha de base (100%), foi calculada a porcentagem de cruzamentos de linha (CL%) individualmente durante 5 minutos. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. (n=6), analisados por ANOVA seguindo do teste de Tukey e considerados significantes valores de p<0,05. Para o teste de toxicidade, outros animais (n=8/grupo) foram tratados como descrito anteriormente. Os animais (n=8/grupo) do grupo veículo (DMSO 3%; 20 µL) foram utilizados como controle. Após 96 horas de análise, foi anotado o número de ZFa mortos em cada grupo e determinado a concentração letal capaz de matar 50% dos animais (LC50) através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95%⁹. O estudo foi aprovado pela CEUA-UECE (#3344801/2017). Como resultado do campo aberto, os animais tratados com EtFloChan (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 µL; i.p.) apresentaram CL variando de 47,9% a 84,54%. Somente a maior dose de EtFloChan (1,0 mg/mL; 20 µL; i.p.) causou alteração no sistema locomotor dos animais, com CL igual a 47,59%, significativamente (p<0,01) diferente do Naive (CL =100%), controle. Em relação à toxicidade, EtFloChan (0,1 ou 0,5 ou 1,0 mg/mL; 20 µL) não foi tóxica (CL50 >1,0 mg/mL). Os resultados apontam para a segurança e possível efeito sedativo/relaxante muscular do extrato etanólico das flores de chanana (*Turnera subulata* Sm). Porém, mais estudos são necessários para investigar as atuações desse extrato no sistema nervoso dos zebrafish adulto.

Palavras-Chaves: CHANANA (*TURNERA SUBULATA* SM, SEGURANÇA NÃO CLÍNICA, ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) ADULTO.

[3Rs- 23] USO DO ZEBRAFISH (DANIO RERIO) COMO ORGANISMO MODELO NO ESTUDO DE ESCLEROSE AMINIOTRÓFICA LATERAL

RAQUEL MARTINS DE FREITAS (raquel.martins.rf@gmail.com)

STELA MIRLA DA SILVA FELIPE, VÂNIA MARILANDE CECCATTO, MARIA ALICE FELIPE OLIVEIRA, RANIEL MELO LIMA

A esclerose amiotrófica lateral (ELA) é uma doença neurodegenerativa grave que acomete cerca de 80% dos pacientes portadores, caracterizada pela perda progressiva de neurônios motores na medula espinhal e cérebro. A ELA pode levar à paralisia e à morte, a estimativa de vida após o início do aparecimento da doença é de 2 a 5 anos. Acredita-se que 10% dos casos são gerados por mutações em genes específicos, os demais são de causa ainda desconhecida. Para entender os processos fisiopatológicos e procurar formas de tratamento dessa doença, organismos modelos são utilizados. Nesse enfoque, o uso de *zebrafish* (*Danio rerio*) como modelo da doença traz novas perspectivas ao estudo de ELA, por ser um organismo com sistema nervoso conservado e passível de manipulações genéticas (transgenia e *knockout*). O objetivo desse trabalho foi realizar um levantamento acerca da utilização de *zebrafish* como modelo animal em estudos da doença ELA. Foi realizada, no mês de fevereiro de 2018, a busca de artigos na base de dados online *Pubmed* com os seguintes descritores: *zebrafish*, *amyotrophic lateral sclerosis*. Foram selecionados 11 artigos na língua inglesa publicados em revistas de grande impacto científico. Os estudos demonstraram a expressão de mutações de determinados genes nos mecanismos da doença. As mutações G93R no gene SOD1 mostraram influência no aparecimento dos sintomas da doença em animais adultos e idosos, já a super expressão de mutações da ciclina F (CCNF) podem atuar prejudicando os mecanismos de processos celulares. Além disso, os estudos mais recentes buscam identificar a relação entre o aparecimento da doença e a exposição a elementos tóxicos no ambiente, mostrando que *zebrafish* transgênico com o gene SOD1 selvagem são resistentes a mudanças fenotípicas; outro tópico relevante é como a toxicidade do RNA atua influenciando o mecanismo patogênico de ELA. O *zebrafish* tem sido um organismo modelo promissor em estudos de doenças neurodegenerativas, sendo vantajoso frente ao camundongo em determinadas abordagens genéticas. As pesquisas mostraram que o uso de *zebrafish* como organismo modelo em ELA é bastante relevante e apresenta características promissoras para a mensuração da fisiopatologia da doença e para o desenvolvimento de futuros agentes terapêuticos.

Palavras-Chaves: ESCLEROSE AMINIOTRÓFICA L, ZEBRAFISH, ORGANISMO MODELO.

[3Rs-24] UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS DE BIOINFORMÁTICA E ESTUDOS IN VITRO COMO ETAPAS ANTERIORES A ESTUDOS EXPERIMENTAIS COM ANIMAIS

LETÍCIA ARAÚJO LINO (leticiaaraujolino@outlook.com)

LETICIA LIMA DE VASCONCELOS, CLAUDIA ROBERTA DE ANDRADE

O uso de produtos naturais no tratamento de doenças permite diferentes possibilidades terapêuticas, a partir dos conhecimentos empíricos e medicina popular. Uma das áreas estudadas é a cicatrização de feridas, pela medicina alternativa. Existem várias plantas que são utilizadas com indutoras de restauração celular, uma delas é o Mofumbo (*Combretum leprosum* Mart). Estudos com extratos dessa planta revelaram atividade antiinflamatória, antinociceptiva e antiulcerogênica. Porém, muitos mecanismos responsáveis pela indução da cura tecidual são desconhecidos. Diversas pesquisas sobre as propriedades terapêuticas de partes do *Combretum leprosum* Mart (casca do caule, sementes) utilizam animais de experimentação, onde são induzidas lesões ou processos patogênicos (úlceras, dermatite cutânea), para avaliação da eficácia dos componentes químicos da planta. Em animais utilizados para o estudo da propriedade ulcerogênica, em geral é induzido uma úlcera por administração de ácido acético e as substâncias para o tratamento são aplicadas. Ao final do tratamento, os animais são eutanasiados para as análises. Em pesquisas sobre a ação cicatrizante, são induzidas feridas na pele do animal, e acompanhado a evolução pela aplicação do tratamento ou induzido dermatite cutânea e administrado os extratos do Mofumbo. Em todas as pesquisas sobre os efeitos do *Combretum leprosum* tem sido utilizados animais. Entretanto, já existem abordagens que permitem se desenvolver etapas anteriores a essas experimentações, que permitem sugerir possíveis efeitos terapêuticos de compostos naturais, sem a utilização ou indução de sofrimento aos animais. Uma delas, é a determinação dos constituintes dos compostos, e a partir desses constituintes, pode-se estabelecer os possíveis efeitos, mas principalmente, nos últimos anos, tem sido utilizadas ferramentas de bioinformática, onde se tem estabelecido, primeiro as possíveis interações fisiofarmacológicas dos constituintes. Essa ferramenta tem permitido o uso cada vez menor e mais pontual de animais de experimentação, pois já permitem uma varredura inicial de quais compostos podem não ter efeito medicinal, sendo já descartados antes de se testar em animais *in vivo*. Além disso, experimentos *in vitro*, como cultura de células, tem permitido também essas análises iniciais e mesmo determinação dos efeitos, sem o uso de animais. Tendo em vista a determinação desses compostos como potencial terapêutico no tratamento de problemas de lesão, espera-se que esses resultados de simulação e *in vitro* sejam etapas iniciais para validação desse e de outros compostos como medicamentos fitoterápicos para melhoria da Saúde Humana e Animal.

Palavras-Chaves: COMBRETUM LEPROSUM, CICATRIZAÇÃO, REPARO TECIDUAL.