Título: A dimensão ética do conceito de erōs em *Banquete* 199c-212b[1].

Autores: Gabriela Carvalho Carneiro (orientando), FAFIL, e-mail: gabrielacarneiro14@hotmail.com;
Anderson de Paula Borges (orientador), FAFIL, e-mail: ander.borg@gmail.com

Resumo

Este estudo faz uma análise filosófica do conceito de *erōs*, no *Banquete*, a fim de tratar a dimensão ética desse conceito. A análise foi delimitada a partir do objeto de pesquisa: textos selecionados referentes ao tema, especialmente o diálogo o *Banquete*, observando como se desenvolve a relação entre *erōs* e ética no texto de Platão. O estudo mostra que a obra pesquisada apresenta na definição de *erōs* uma relação próxima com a ética.

Palavras-chave: Platão, ética, desejo, *erōs*, bem, Formas

1. Introdução

O objetivo principal deste trabalho é estudar a estrutura do discurso de Sócrates e Diotima sobre *erōs* para retirar daí o aspecto ético da descrição platônica do desejo. Um passo importante dessa meta é apresentar o contraste entre os discursos anteriores a Sócrates e o discurso de Sócrates-Diotima. O objetivo secundário é desenvolver uma pesquisa científica que permita compreender a estrutura conceitual de um texto filosófico e, com isso, preparar-se para o domínio de certas técnicas de análise e pesquisa em filosofia.

Para tanto, o foco desta pesquisa é a leitura do *Banquete* e de alguns textos interpretativos bem específicos. Num primeiro momento, a pesquisa se deteve na leitura e no fichamento do *Banquete*. Num segundo momento, na leitura de textos da literatura secundária relacionados ao tema da pesquisa e reconhecidos academicamente. Importa

[1] revisado pelo orientador

destacar aí que a bibliografia pesquisada é relativamente pequena porque o método de pesquisa exigia que nos concentrássemos fundamentalmente na estrutura do texto de Platão. Os estudos selecionados nos pareceram suficientes para dar conta desse objetivo, embora, obviamente, não cheguem nem perto de uma lista representativa de estudos acerca do *Banquete.*

Durante as etapas da pesquisa elaboramos um texto, em formato definido pelo orientador, que mescla características de um artigo científico com um relatório de pesquisa. Esse texto foi submetido ao orientador em pelo menos quatro ocasiões no curso da pesquisa. As correções foram feitas individualmente, via e-mail e encontros periódicos.

Por "dimensão ética", segundo o diálogo referido, entendemos ser o desejo de se alcançar o bem, como explica Ferrari: "(...) o amor em qualquer de suas manifestações é direcionado para o bem." (FERRARI, 2013, p. 297). Todos querem o bem, pois este é causa da felicidade e todos querem ser felizes, nesse sentido, sendo o amor o desejo pelo que ainda não se tem, ou seja, a busca por algo ausente, e a felicidade o desejo de todos, pode-se dizer que todos têm *erōs* como um impulso em direção ao bem:

> Todo mundo quer o bem – Diotima leva Sócrates a concordar – porque as coisas boas trazem felicidade, e todo mundo quer felicidade. Nesse sentido, de todo mundo se pode dizer ter 'amor' (*erōs*) pelo bem (205a). Na verdade, o bem é o único objeto de amor, à medida que amamos somente o que consideramos bom; pois não faz sentido dizer que poderíamos amar o que consideramos mau – isto é, nocivo – para nós [...] Uma vez que, no entanto, diferimos em nossas concepções do que nos traz felicidade, os amantes do bem assomam em muitas variedades, e a fala comum geralmente reserva as palavras 'amor' e 'amante' (*erōs, eran, erastes*) para aqueles que buscam aquela espécie particular de bem que é amor sexual entre as pessoas (205d1-8). (FERRARI, 2013, p. 302)

Assim, pode-se afirmar que o *Banquete* apresenta uma dimensão ética na medida em que tem como tema a relação entre *erōs e* vida completa por meio da noção de *erōs* filosófico. O diálogo segue uma inspiração socrática: *erōs* é a busca ou o desejo do bem. Esta busca se dá em graus ou etapas que se iniciam mediante o amor físico e alcançam o topo com a contemplação da beleza no mundo das *Formas*.

Desse modo, o *Banquete* contribui para esclarecer a ética de Platão, pois trata da forma de organizar o desejo por coisas boas. Frisbee C. C. Sheffield, em seu estudo do *Banquete*

(SHEFFIELD, 2006, p. 7), argumenta que "in both its form and its content (…) the *Symposium* is intimately related to Plato's larger ethical concerns with the nature of the good life." Da mesma forma, Charles Kahn enfatiza que o *Banquete* "is structured by the notion of Eros presented as a universal desires for the good." (KAHN, 1987, p. 91).

2. A estrutura do diálogo e a discussão do conceito de *erōs*

O diálogo está constituído pela fala de sete personagens, incluindo Sócrates. São eles: Erixímaco, Fedro, Pausânias, Aristófanes, Agatão, Sócrates e Alcibíades. Apolodoro é quem descreve os discursos feitos após o banquete dos convivas.

Erixímaco inicia sua fala destacando uma informação que lhe foi repassada por Fedro: há hinos e louvores a tantos deuses, mas não os há para *erōs*. Erixímaco propõe, então, que Fedro inicie os discursos e louvores. Desta forma, o primeiro discurso sobre *erōs* é pronunciado por Fedro. Segundo ele, "[...] o Amor é dos deuses o mais antigo, o mais honrado e o mais poderoso para a aquisição da virtude e da felicidade entre os homens, tanto em sua vida como após sua morte." (PLATÃO, 1972, p. 20). Esta fala é marcada por intenso louvor ao amor e também por ter um relevante aspecto ético, pois para este personagem *erōs* é um estimulador para a aquisição da virtude. Segundo Fedro, *erōs* é a causa de bens para os homens, pois um amante tenta sempre fazer o que há de melhor, especialmente se perto do amado. Assim, este personagem afirma que para um amante é preferível morrer a ser visto pelo seu amado num ato de covardia, e, por isso, se sacrificar por amor, diferentemente da definição socrática, - em que *erōs* é uma força natural que impulsiona o individuo não só ao conhecimento, mas também à própria vida, é mais louvável para um amante, do que ser flagrado por seu amado em ato de covardia, por exemplo.

Pausânias é o segundo a discursar. Ele afirma que o discurso que antecedeu o seu não foi adequado à complexidade de *erōs*. Segundo Pausânias, existem dois tipos de *erōs*: o *Celestial*, que leva os homens a amarem belamente. Este deve ser louvado. O outro é o *Popular*, caracterizado especialmente pelos impulsos ligados à materialidade ou ao desejo físico. Assim, Pausânias afirma que "(...) o amar e o Amor não é todo ele belo e digno de ser louvado, mas apenas o que leva a amar belamente." (PLATÃO, 1972, p. 21*)*. Nesta afirmação, assim como também no destaque que Pausânias dá ao contraste entre o amor físico e o amor que toma o caráter do outro como objeto, percebemos um aspecto ético, pois diz-se que nenhuma ação é bela ou feia em si mesma, mas depende de como é desempenhada.

Erixímaco retoma a fala e decide iniciar formalmente seu discurso. Sendo este personagem um médico, seu louvor se baseia na comparação entre *erōs* e a arte da medicina. *Erōs* está, segundo Erixímaco, "[...] em todos os seres é o que creio ter constatado pela pratica da medicina, a nossa arte; [...]" (PLATÃO, 1972, p. 25). De acordo com o contexto, o mórbido ama o mórbido, assim como o sadio ama o sadio. Segundo este posicionamento, *erōs* é a atração dos contrários no organismo e tem por objetivo a harmonia. Para Erixímaco, *erōs* não é exclusivo da alma, pois é também uma força que penetra nos seres em geral que visa à harmonia. Ou seja, *erōs* é um estado de harmonia entre as partes de um corpo ou organismo.

Assim, percebemos a transformação deste discurso. A princípio, para Erixímaco, *erōs* é dos iguais, no entanto, posteriormente, afirma que *erōs* é um fenômeno dos contrários.

Após o término do discurso de Erixímaco, Aristófanes inicia seu desenvolvimento do conceito de *erōs*. Este discurso é caracterizado por um tom de ironia e de comédia. Ele não explica as virtudes de *erōs*, como seus precedentes, mas tenta o acesso direto à sua natureza quando discursa sobre os três gêneros, a saber: o masculino, o feminino e o andrógino. Aristófanes afirma que é necessário compreender a origem de *erōs*. "[...] é preciso aprender a natureza humana e suas vicissitudes [...] três eram os gêneros da humanidade, não dois como agora [...]" (PLATÃO, 1972, p. 28*)*. A noção de *erōs*, segundo Aristófanes, pode ser resumida como a busca pelo todo. Depois que os ancestrais foram partidos ao meio, cada um de nós, sendo a metade de um, anseia por encontrar sua outra metade, o seu todo. Este orador ressalta ainda que o sentimento amoroso não é exclusivamente sexual.

Após a conclusão desta fala, há um breve diálogo com duplo efeito: primeiro o de intervalo entre os discursos e, depois, o fato de ser um prelúdio ao discurso de Sócrates, pois tanto o discurso de Aristófanes como o de Sócrates falam de *erōs* como uma carência. Aristófanes define *erōs* como uma busca pelo que perfaz o todo do indivíduo, um desejo pelo todo.

Agatão é o próximo a discursar. Ele propõe um método diferente de explanação que, embora não apresente de modo correto a definição de *erōs*, recebe elogios de Sócrates. De acordo com Agatão, antes de fazer elogios à *erōs*, deve-se primeiro identificar a sua origem, ou seja, dizer qual a sua natureza para posteriormente falar sobre as qualidades:

> Eu então quero primeiro dizer como devo falar, e depois falar. Parece-me com efeito que todos os que antes falaram, não era o deus que elogiavam, mas os homens que felicitavam pelos bens de que o deus lhes é causador, qual porém é a sua natureza, em virtude da qual ele

> faz tais dons, ninguém o disse. Ora, a única maneira correta de qualquer elogio a qualquer um é, no discurso, explicar em virtude de que natureza vem a ser a causa de tais efeitos aquele de quem se estiver falando." *(*PLATÃO, 1972, p. 33*)*

Segundo este orador, o amor possui certas qualidades, tais como: (i) é o mais jovem dos deuses, (ii) o mais delicado, (iii) o mais feliz, pois é o mais belo e tem constituição úmida, isto é, ele tem a capacidade de se moldar, de se ajustar as necessidades e pressões. A natureza de *erōs* não é, segundo Agatão, unitária, mas múltipla – jovem, delicado e feliz. Além dessas qualidades, *erōs* possui algumas virtudes, como a justiça, a temperança, a coragem e a sabedoria.

Após o discurso de Agatão, Sócrates inicia sua explicação sobre a natureza de *erōs*. Diferentemente dos outros, o discurso de Sócrates tem um aspecto filosófico mais acentuado. Assim se inicia o discurso socrático: "Não vou mais elogiar desse modo, que não poderia, é certo, mas a verdade sim, se voz apraz, quero dizer à minha maneira, e não em competição com vossos discursos, para não me prestar ao riso." (PLATÃO, 1972, p. 37*)*.Este filósofo afirma que não discursará como os demais, pois não elogiará *erōs* sob a forma de uma discurso literário, mas tentará buscar uma definição filosófica. Esta, por sua vez, se baseia no esforço cognitivo para se descobrir as razões pelas quais determinados fatos são como são. Em filosofia as definições tratam não apenas de descrição de objetos, mas de conceituações a fim de se conhecer as origens dos objetos de estudo e é isso que Sócrates irá fazer. Além do mais, Sócrates afirma que não fará como os outros participantes para não se prestar ao riso, pois estes fizeram exarcebados elogios literários: usaram uma linguagem rebuscada e muito exagero, como mencionado, para elogiar *erōs*. Após esta fala, o caráter filosófico do texto se evidencia, pois Sócrates fala em "verdade" para levar o exame para o campo de filosofia em oposição à retórica da poesia, que acrescenta qualidades ao objeto. Ao dizer que tratará da verdade, Sócrates opta pela explicação da ideia central de *erōs*, enquanto que os discursos anteriores procuraram impressionar seus ouvintes, cada um a seu modo.

Dito isto, Sócrates critica os elogios anteriores por se preocuparem excessivamente com a aparência. A primeira parte do discurso socrático é marcada por questionamentos a Agatão. Ao fim destes questionamentos, Sócrates e Agatão afirmam que *erōs* é o desejo do que não se tem, ou o desejo de ter no futuro o que se tem no presente. Um exemplo é o sadio que não quer ser mais sadio, nem o forte mais forte, nem o rico mais rico, o que querem é ter saúde, força e fortuna no futuro: "Não é isso então amar o que ainda não está à mão nem se

tem, o querer que, para o futuro, seja isso que se tem conservado consigo e presente?" (PLATÃO, 1972, p. 38).

Erōs é *erōs* de algo que se deseja, assim como um pai é pai de um filho ou filha. Ou seja, *erōs* é *erōs* de algo que não se possui. Sendo então *erōs* da beleza, ele é carente do que é belo. Considerando que na cultura grega há sempre uma conexão entre o bom e o belo e, sendo *erōs* carente do que é belo, logo ele também é carente do que é bom. Conclui-se, com base nessa conexão, que *erōs* é carente de beleza e do que é bom. "Se portanto o Amor é carente do que é belo, e o que é bom é belo, também do que é bom seria ele carente [...]" *(*PLATÃO, 1972, p. 39). Após estes comentários, fica claro ao leitor que o discurso de Sócrates, como mencionado, será de cunho filosófico e se diferenciará definicionalmente dos demais, pois, dentre outros fatores, causará uma ruptura na tradição de elogiar o objeto do discurso, como faz a cultura dos encômios. Este diálogo constitui a primeira parte da definição de Sócrates sobre *erōs* e é crucial para a compreensão da leitura. Sócrates tenciona convencer Agatão de que não há identidade entre *erōs* e o belo, como este defendeu, mas uma relação de outro tipo: *erōs* é carência do belo.

Feito isto, Sócrates inicia seu discurso relembrando uma conversa que diz ter tido com uma mulher, Diotima. Esta foi uma sacerdotisa que iniciou Sócrates na filosofia. A primeira parte do discurso de Diotima se refere à noção de equilíbrio. Trata-se, segunda esta, de defender que o que não é belo não é necessariamente feio, assim como o que não é sábio não é necessariamente ignorante:

> Não fiques, portanto, forçando o que não é belo a ser feio, nem o que não é bom a ser mau. Assim também o Amor, porque tu mesmo admites que não é bom nem belo, nem por isso vás imaginar que ele deve ser feio e mau, mas sim algo que está, dizia ela, entre esses dois extremos." *(*PLATÃO, 1972, p. 40*)*.

Desta forma, a narradora afirma que *erōs* é algo entre o mortal e o imortal, ou seja, um grande gênio, nem humano e nem deus. Não pode ele ser um deus, pois não é feliz, visto que não é belo. Ele, portanto, é um mediador, ou, em outras palavras, um transmissor dos anseios e sacrifícios humanos aos deuses e transmissor das recompensas e ordens dos deuses aos homens. Esta é a natureza de *erōs*, não é belo, como Agatão afirmou, e nem por isso é feio, não é sábio e nem ignorante, é um mediador o intermediário.

Dito isto, Diotima descreve a origem de *erōs*. Segundo ela, ele é filho de "Recurso" e de "Pobreza" e foi concebido no dia do nascimento de Afrodite, por isso é seu companheiro e servo. Por ser filho de quem é,

> Primeiramente ele é sempre pobre, e longe está de ser delicado e belo, como a maioria imagina, mas é duro, seco, descalço e sem lar, sempre por terra e sem forro, deitando-se ao desabrigo, às portas e nos caminhos, porque tem a natureza da mãe, sempre convivendo com a precisão. Segundo o pai, porém, ele é insidioso com o que é belo e bom, e corajoso, decidido e enérgico, caçador terrível, sempre a tecer maquinações, ávido de sabedoria e cheio de recursos, a filosofar por toda a vida, terrível mago, feiticeiro, sofista [...]" *(*PLATÃO, 1972, p. 41*)*.

Para Diotima *erōs* é um grande gênio que sempre busca a sabedoria. Em razão de sua relação adversa com os extremos é ele um filósofo, pois não possui sabedoria, mas tenta buscá-la. "Com efeito, uma das coisas mais belas é a sabedoria, e o Amor é Amor pelo belo, de modo que é forçoso a Amor ser filósofo e, sendo filósofo, estar entre o sábio e o ignorante." *(*PLATÃO, 1972, p. 42*)*.

No decorrer do diálogo, Diotima afirma que *erōs* é um desejo que se constitui como anseio pela posse do que é bom. No exame das diversas formas de atividade que envolvem *erōs*, tais como proscrição, poesia e legislação, conclui-se que da imortalidade que *erōs* se efetiva. Assim, as diversas formas da atividade amorosa são consideradas estágios preliminares do supremo ato de *erōs*, que é a conquista da ciência do belo em si.

A ciência do belo em si não diz respeito às partes e sim ao todo, "[...] aparecer-lhe-á ele mesmo, por si mesmo, consigo mesmo, sendo sempre uniforme, enquanto tudo o mais que é belo dele participa, de um modo tal que, enquanto nasce e perece tudo mais que é belo, em nada ele fica maior ou menor, nem nada sofre." *(*PLATÃO, 1972, p. 48*)*. Após esta descrição do belo em si, Platão direciona os caminhos que devem ser corretamente seguidos em vista deste:

> [...] em começar do que aqui é belo e, em vista daquele belo, subir sempre, como que servindo-se de degraus, de um só para dois e de dois para todos os belos corpos, e dos belos corpos para os belos

> ofícios, e dos ofícios para as belas ciências até que das ciências acabe naquela ciência , que de nada mais é senão daquele próprio belo, e conheça enfim o que em si é belo. Nesse ponto da vida, meu caro Sócrates, continuou a estrangeira de Mantinéia, se é que em outro mais, poderia o homem viver, a contemplar o próprio belo." (PLATÃO, 1972, p. 48)

Como mencionado, *erōs* é o desejo do que ainda não se tem, ou o desejo de ter no futuro o que já se tem no presente. Esta definição pode ser relacionada ao conceito de "Belo" que Diotima nos apresenta. Este conceito é abstrato e trata da contemplação, do exercício do pensamento, tem o objetivo de enxergar o belo abstratamente, não se trata mais de belos corpos, por exemplo, mas da ideia de belo. Esta definição de belo também se conecta com a ideia de Forma em Platão, pois tudo que tem valor é uma forma abstrata. Desse modo, o aspecto ético da fala de Diotima está no fato de que quem está tomado por *erōs* está num movimento de amor em escalas, em degraus, e o nível de amor físico ou de amor abstrato presente na alma depende do objeto amado (o corpo, a alma, o ofício, o conceito, etc). O último degrau coincide com o nível mais intelectual. O nível mais intelectual é o nível em que está uma pessoa que compreende a ideia do belo.

Estes são alguns dos principais aspectos filosóficos da fala de Sócrates. Após esta fala, alguns foliões chegam e entre eles estava Alcebíades, aparentemente bêbado. Este tratou de falar e relatar algumas vivências com Sócrates. O *Banquete* termina, portanto, com a chegada destes foliões, a saída de alguns convidados e com outros pegando no sono.

A partir dos estudos e observações feitos até aqui, podemos afirmar que no *Banquete* a definição de *erōs* apresenta importante aspecto ético, uma vez que tem estreita relação com a busca do bem através de ações cognitivas praticadas com intuito de se encontrar a felicidade.

A relação entre *erōs* e ética é enfatizada através da fala de Sócrates. Este evidencia a busca dos homens em direção à felicidade. Esta, por sua vez, é sempre boa e, como *erōs,* é a busca pelo que é bom. Trata-se da busca que todos os homens e mulheres têm em direção ao que consideram felicidade. Sendo assim, *erōs* é o que impulsiona todos em direção à felicidade.

Nosso estudo constatou também que o diálogo mescla características literárias e filosóficas, como costuma ser comum nos textos de Platão. No *Banquete* essa mistura pode ser observada no contraste entre os discursos anteriores e a exposição de Sócrates-Diotima.

Talvez a intenção do autor do *Banquete* seja mostrar que, embora os discursos literários sejam capazes de se deter em propriedades pertinentes de um conceito, tais como origem, efeitos, o que as pessoas pensam sobre o conceito, etc., esse discurso falha em caracterizar a essência. No caso de *erōs,* Platão indica que a essência é uma propriedade de carência da beleza e do que é bom. Nesse sentido, o *Banquete* defende a tese de que todas as atividades humanas são perpassadas por *erōs* e o fato não de não conhecermos sua essência pode ser um empecilho para que possamos direcionar essa força para objetos relevantes, como a ética e o conhecimento.

3. Referências

FERRARI, G. R. F. Amor platônico. Em: KRAUT, Richard. *Platão*. São Paulo, Ideias e Letras, 2013.

KAHN, C. H., Plato's theory of desire. *Review of Metaphysics*, vol. 41, 1987.

PLATÃO, *O Banquete*. Coleção Os Pensadores. São Paulo, Abril Cultural, 1972.

SHEFIELD, F. *Plato's Theory of Desire.* Oxfod, OUP, 2006.

Estudo da estabilidade e do comportamento dinâmico linear de placas retangulares

Gabriela Cristina Ribeiro Pacheco[1], Renata Machado Soares[2].
Universidade Federal de Goiás, 74605-220, Brasil.
gabi_ribeiro28@hotmail.com; msrenata@gmail.com

Resumo: Placas esbeltas são elementos bastante usados na engenharia civil e, portanto, há uma crescente necessidade de conhecer seu comportamento. Este trabalho faz uma análise do comportamento estático e dinâmico de placas retangulares com material homogêneo e isotrópico, comparando soluções analíticas e numéricas. A partir do critério da energia potencial obtêm-se as equações não lineares de movimento e, com o método de Galerkin discretizam-se essas equações. As cargas críticas e caminhos pós-críticos são calculados analiticamente e comparados com os obtidos numericamente pelo programa de elementos finitos Abaqus. Usando este mesmo programa são verificados os modos críticos e a frequência natural para uma placa. Esta última é comparada com a definida analiticamente. E, finalmente são calculadas respostas no tempo para as vibrações de placas a fim de ajudar na compreensão do comportamento dinâmico das mesmas.

Palavras-chave: placa retangular, carga crítica, caminho pós-crítico, frequência natural.

[1] Orientando
[2] Orientador

Revisado pelo Orientador

1 INTRODUÇÃO

A construção de elementos esbeltos e vãos cada vez maiores torna necessário aperfeiçoar os procedimentos de dimensionamento das estruturas. Assim há uma crescente necessidade de conhecer o comportamento de elementos como placas esbeltas.

Com o aumento da esbeltez o mecanismo de colapso de um elemento estrutural tem alterações, e pode decorrer da perda de estabilidade antes mesmo de se atingir o limite de resistência do material. As estruturas devem ser projetadas para terem um equilíbrio estável, garantindo assim, que pequenas perturbações não provoquem mudanças em seu comportamento estrutural.

Dentre os estudos sobre estabilidade e placas destaca-se o trabalho de Cunha (2005) que realiza um estudo paramétrico do comportamento crítico e pós crítico de placas dobradas sujeitas a compressão axial, além de uma verificação do comportamento não linear das mesmas sob flexão, através do programa de elementos finitos Abaqus. Damas, Isoldi e Real (2012) analisaram numericamente as alterações na flambagem elástica (linear) e elastoplástica (não linear) provocadas pela presença de furos com diferentes diâmetros em placas metálicas por meio do software Ansys 12.1. Já Silva (2011) estudou o comportamento estático e dinâmico linear de membranas retangulares com espessura variável comparando resultados analíticos com numéricos, obtidos pelo método dos elementos finitos. Esta análise realizou-se a partir do cálculo tanto do deslocamento e da deformação no plano médio como de um estudo paramétrico da vibração livre.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é analisar o comportamento estático e dinâmico de placas retangulares de material homogêneo e isotrópico comparando soluções analíticas com numéricas. Estas soluções compreendem a determinação das cargas críticas e caminhos pós-críticos para vários materiais a partir do critério da energia potencial, usando o método de Galerkin, e também numericamente através do programa de elementos finitos Abaqus. Além disso, um estudo do comportamento dinâmico, realizado através do cálculo das frequências naturais e respostas no tempo para uma placa de aço usando este mesmo programa.

3 METODOLOGIA - FORMULAÇÃO MATEMÁTICA DOS PROBLEMAS

3.1 Método analítico

Considerando uma placa de comprimento *a*, largura *b* e espessura *h*. Com os eixos *x* e *y* passando pela superfície média, *h* medido a partir deste plano e os deslocamentos u, v e w nas direções *x*, *y* e *z*, respectivamente, como representado na Figura 1.

Figura 1 - Placa retangular.

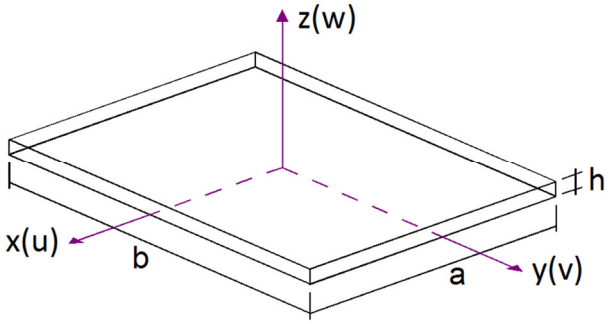
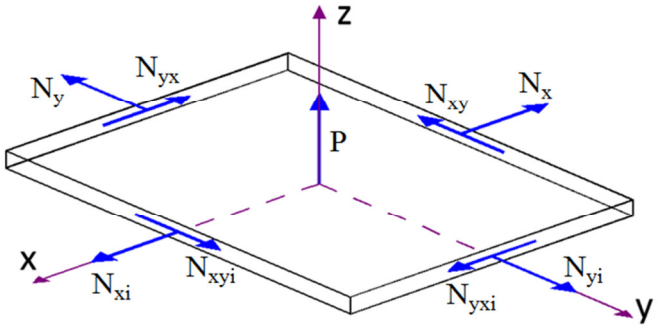


Figura 2 - Forças internas atuantes em um elemento de placa.



As forças e momentos estão representados pela Figura 2, na qual N_x e N_y são as forças normais; N_{xy} e N_{yx} são as cisalhantes (BRUSH e ALMROTH, 1975).

Fazendo as simplificações de Kirchoff chega-se nas relações cinemáticas de uma placa que formam o seguinte sistema de equações (BRUSH e ALMROTH, 1975):

$$\begin{aligned} \varepsilon_x &= u_{,x} + \tfrac{1}{2}\,\beta_x{}^2 & \beta_x &= -w_{,x} & k_x &= \beta_{x,x} \\ \varepsilon_y &= v_{,y} + \tfrac{1}{2}\,\beta_y{}^2 & \beta_x &= -w_{,x} & k_x &= \beta_{x,x} \\ \gamma_{xy} &= (u_{,y} + v_{,x}) + \beta_x\,\beta_y & & & k_{xy} &= \tfrac{1}{2}\,(\beta_{x,y} + \beta_{y,x}) \end{aligned} \qquad (1)$$

As três primeiras equações representam as deformações em função dos deslocamentos, β_x e β_y são as rotações relativas aos eixos x e y, respectivamente, e k_x, k_y e k_{xy} representam as mudanças de curvatura.

Usando o critério da energia potencial estacionária para uma placa simplesmente apoiada, sujeita a pressão lateral P_x, a energia potencial total é a soma da energia de deformação com a energia potencial das cargas aplicadas (GONÇALVES, 1993). A partir dos componentes da energia potencial chega-se no funcional de energia e, introduzindo as equações de Euler, têm-se as três equações não lineares de equilíbrio, apresentadas nas equações (2)-(4).

$$N_{x,x} + N_{xy,y} = 0 \tag{2}$$

$$N_{xy,x} + N_{y,y} = 0 \tag{3}$$

$$D\,\nabla^4 w - (N_x\, w_{,xx} + 2\, N_{xy}\, w_{,xy} + N_y\, w_{,yy}) = 0 \tag{4}$$

onde D é o coeficiente de rigidez a flexão e ∇ o operador diferencial apresentados nas equações (5) e (6)

$$D = \frac{E\, h^3}{12\,(1-\nu^2)} \tag{5}$$

$$\nabla^4 w = w_{,xxxx} + 2\, w_{,xxyy} + w_{,yyyy} \tag{6}$$

Com a introdução das funções de tensão de Airy tem-se as equações de compatibilidade geométrica e de equilíbrio, que formam um sistema não linear conhecido como equações de Vón Karman (BRUSH e ALMROTH, 1975).

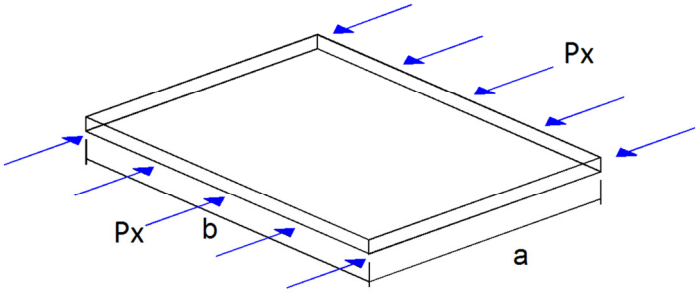
$$\varepsilon_{x,yy} + \varepsilon_{y,xx} - \gamma_{xy,xy} = {w_{,xy}}^2 - w_{,xx}\, w_{yy} \tag{7}$$

$$\mathrm{D}\,\nabla^4 w - (f_{,yy}\, w_{,xx} - 2 f_{,xy}\, w_{,xy} + f_{,xx}\, w_{,yy}) = 0 \tag{8}$$

Para uma placa simplesmente apoiada, submetida ao carregamento N_x=P_x/b, N_y=0 e N_{xx}=0 como ilustrado na Figura 3, a Eq. (4) linearizada apresentada na Eq. (9)

$$\mathrm{D}\,\nabla^4 w + \frac{P_x}{b}\, w_{,xx} = 0 \tag{9}$$

Figura 3 - Placa retangular simplesmente apoiada submetida a um carregamento P_x.



Utilizando as condições de contorno tem-se a seguinte solução para a equação (9)

$$w(x,y) = C_1 \cos\left(\frac{m\,\pi\,x}{a}\right) \cos\left(\frac{n\,\pi\,y}{b}\right) \tag{10}$$

onde C_1 é a amplitude do deslocamento, m e n são os números de semi-ondas nas direções x e y respectivamente. A carga crítica ocorre para n=1 e é definida pela equação:

$$P_x = k_c \frac{\pi^2 D}{b} \tag{11}$$

onde:

$$k_c = \left(\frac{m\,b}{a} + \frac{a}{m\,b}\right)^2 \tag{12}$$

Para determinar as equações do comportamento pós crítico substitui-se a solução do sistema linear na equação não linear de compatibilidade, Eq. 7. Chegando assim na função de tensão de Airy que é substituída na equação não linear de equilíbrio, Eq. 8, e com o método de Galerkin tem-se a equação algébrica de P_x em função de C_1.

$$P_x = \frac{24\,D\,m^4\,\pi^2\,b^4 + 48\,D\,m^2\,\pi^2\,n^2\,a^2\,b^2 + 24\,D\,n^4\,\pi^2\,a^4 + 2\,m^4\,b^4\,{C_1}^2\,\pi^2\,E\,h\,\cos(n\,\pi)^2 + 2\,{C_1}^2\,\pi^2\,a^4\,E\,h\,n^4\cos(m\,\pi)^2 + m^4\,b^4\,{C_1}^2\,\pi^2\,E\,h + \pi^2\,{C_1}^2\,E\,h\,n^4\,a^4}{24\,m^2\,b^3\,a^2} \tag{13}$$

Para o calculo da frequência natural deve-se considerar as forças normais, assim como as externas nulas (ROEHL, 2005). E, acrescentando o termo da densidade na Eq. 9 tem-se a equação de movimento linear da placa, apresentada na Eq. (14).

$$\mathrm{D}\,\nabla^4 w + h\,\rho\,w_{,tt} = 0 \tag{14}$$

Solucionando a Eq. (14) tem-se a expressão do deslocamento transversal $w\ (x,\ y\ ,t)$

dado na Eq. (15).

$$w(x,y,t) = C_1 \cos\left(\frac{m\,\pi\,x}{a}\right)\cos\left(\frac{n\,\pi\,y}{b}\right)e^{-I\,\omega\,t} \tag{15}$$

onde C_1 é a amplitude do deslocamento, ω a frequência natural, m e n são os números de semi-ondas. Substituindo a Eq. 15 na Eq. 14 a frequência natural fica determinada por:

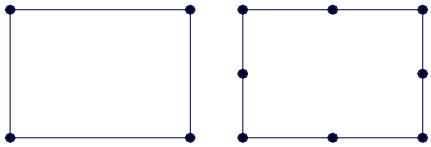
$$\omega_{m\,n} = \frac{\pi^2}{b^2}\sqrt{\frac{D}{\rho\,h}}\left(\frac{m^2\,b^2}{a^2} + n^2\right) \tag{16}$$

3.2 Método numérico

O método dos elementos finitos é um caminho alternativo aos procedimentos analíticos. Pode ser aplicado em caráter geral, independente da forma da estrutura e das condições de carregamento com uma precisão aceitável. Dentre os programas comerciais de elementos finitos foi escolhido o Abaqus para a modelagem computacional do comportamento de placas.

Para o cálculo usando o Método dos Elementos Finitos inicialmente definiu-se a geometria, o elemento e a malha da estrutura. O programa apresenta uma biblioteca com vários tipos de elementos: casca, viga, membrana e elementos sólidos. Para a escolha do elemento a ser utilizado foram feitos testes com o elemento de casca S4R (4 nós por elementos) e o elemento de casca S8R5 (8 nós por elemento), ilustrados na Figura 4.

Figura 4 - Elementos S4R e S8R5.

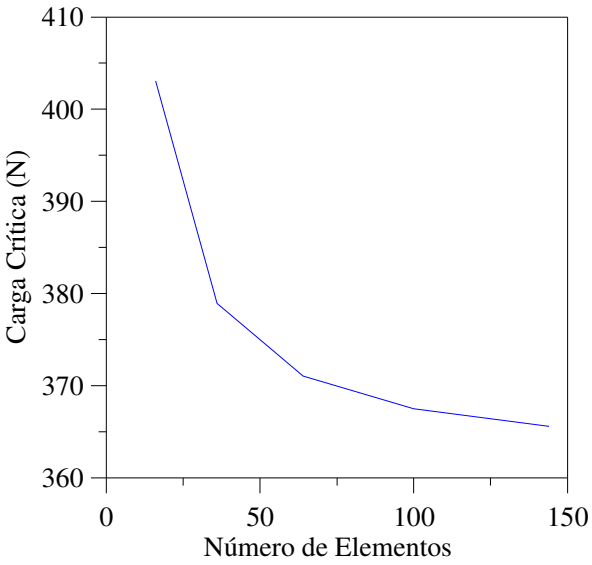


Foram criadas 4 malhas com esses dois elementos. A partir da análise dos deslocamentos destes modelos foi escolhido o S4R. Este é um elemento de casca fina, portanto seu menor vão é maior que 15 vezes a espessura, são desconsiderados os efeitos do cisalhamento transversal e ele satisfaz a teoria de Kirchoff.

Para determinar a quantidade de elementos foi feito um estudo da convergência, considerando diferentes malhas. A Figura 5 mostra a variação da carga crítica com a quantidade

de elementos para diferentes malhas e a partir deste foi definida uma malha com 100 elementos para uma placa quadrada de 1m. Logo o comprimento equivalente deve ser 0,1.

Figura 5 - Teste de convergência para a carga crítica.



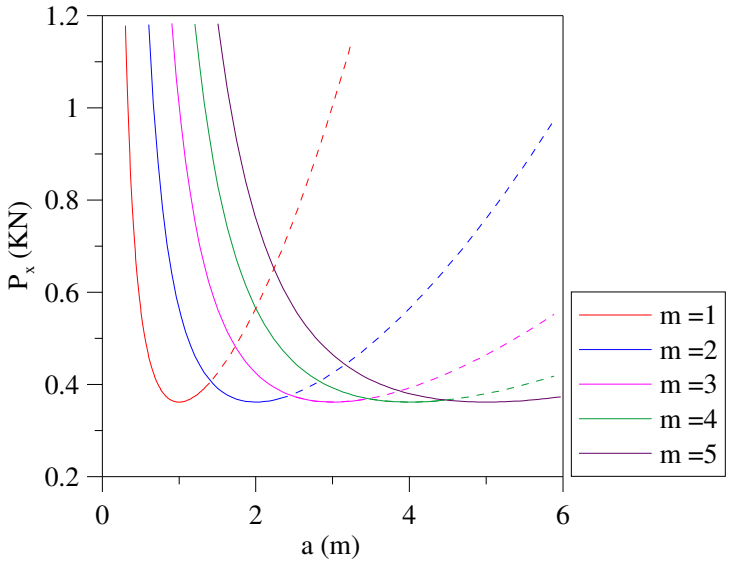
São definidos no programa o material, a partir do módulo de elasticidade e do coeficiente de Poisson, a geometria, as condições de contorno e o carregamento externo. Como o Abaqus não permite cargas distribuídas na superfície média do elemento finito, as cargas de compressão foram transformadas em forças nodais equivalentes. Na análise da carga crítica e da frequência natural é utilizada uma solução modal.

Para obter o caminho pós crítico foi aplicada uma imperfeição de 1% da espessura da placa. E, a partir disso, foi calculada a carga crítica para um material qualquer, madeira, concreto, ferro e aço. Os valores encontrados pelo método dos elementos finitos foram comparados com os obtidos pelo método analítico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Considerando um material qualquer com E=100MPa, v=0,3, h=10mm, b=1m e n=1 (CUNHA,2005) através da Eq. 13 tem-se o seguinte gráfico que relaciona a carga em função da largura a da placa para m variando de 1 a 5, ilustrado na Figura 6.

Figura 6 - Carga crítica em função da largura da placa.



O menor valor de carga crítica encontrado foi 362N e ocorre quando a=m. Para certas geometrias, representadas pelos pontos de interseção das curvas, existem dois modos distintos com uma mesma carga crítica. Tais pontos correspondem à máximos locais e são verificados quando $a = \sqrt{m\,(m+1)}$. Observa-se também que a medida que a dimensão a aumenta, a carga crítica tende ao seu valor mínimo.

A análise do comportamento pós crítico pelo método analítico é apresentada na Figura 7, indicada abaixo. Nos dois gráficos é considerado o mesmo material qualquer, no primeiro varia-se a e m e no segundo a espessura h. Verifica-se através da Figura 7-a que placas com os valores de a iguais ao de m apresentam o mesmo comportamento pós crítico e quanto maior a mais aberta é a curva. A partir da Figura 7-b nota-se que a geometria do material influencia na sensibilidade do mesmo às imperfeições e as placas são mais sensíveis para valores menores de h. Observa-se que o aumento da carga crítica com a espessura é não linear, como ilustrado na Figura 8.

Figura 7 - Comportamento pós crítico de placas.

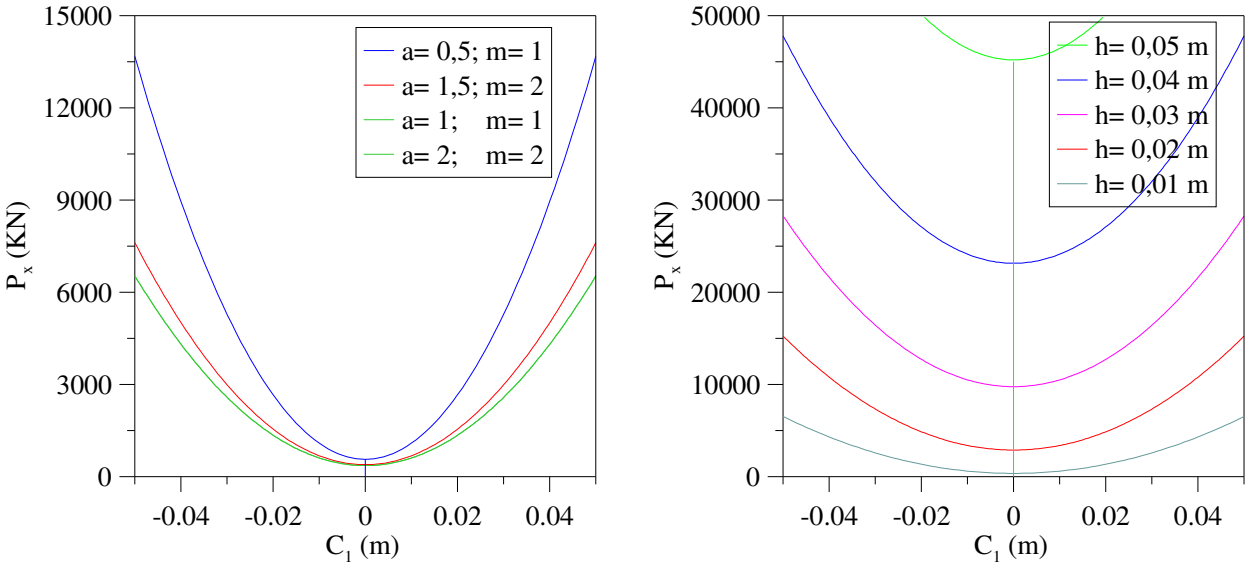
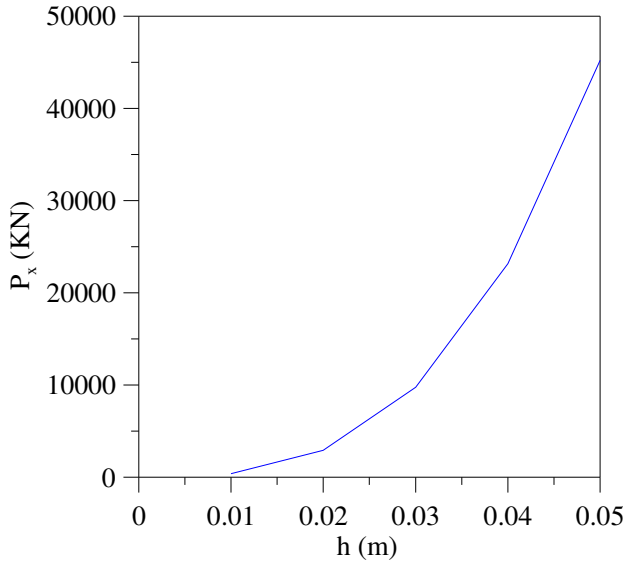


Figura 8 - Variação da carga crítica com a espessura.

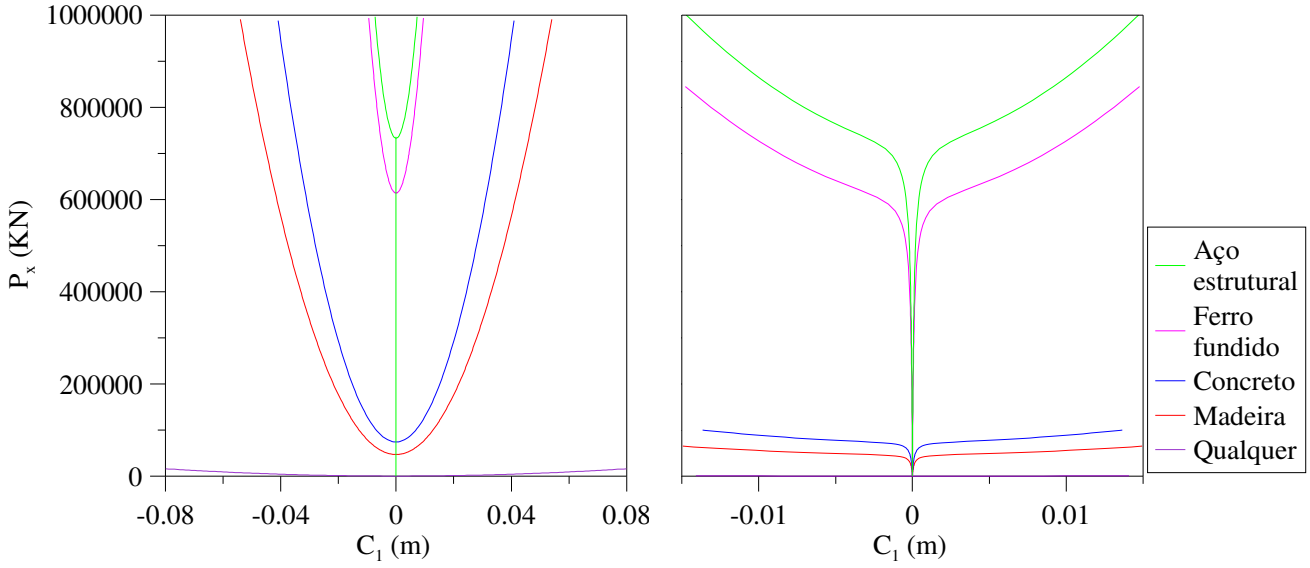


A Figura 9 mostra o comportamento pós crítico considerando a mesma geometria e os materiais indicados na Tabela 1. Observa-se uma bifurcação simétrica estável para todos os materiais. Com o mesmo incremento de carga após a crítica os deslocamentos da madeira e do aço foram maiores o que já esperava-se por serem materiais mais frágeis. O primeiro gráfico foi construído a partir dos valores teóricos e o segundo dos numéricos.

Tabela 1 - Características dos materiais.

Material	Módulo de Elasticidade (Mpa)	Coeficiente de Poisson
Qualquer	100	0,3
Madeira	13100	0,29
Concreto	22100	0,15
Ferro	172000	0,28
Aço	200000	0,32

Figura 9 - Comportamento pós crítico de placas.



Como mostra a Tabela 2, a diferença entre os resultados obtidos através do método analítico e do Abaqus foi pequena, mostrando a qualidade da modelagem computacional.

Tabela 2 - Comparação dos resultados da carga crítica para os métodos analítico e numérico.

Material	Método Elementos Finitos	Método Analítico	Diferença
Qualquer	367,49	361,52	**1,60%**
Madeira	47832	47054,56	**1,60%**
Concreto	75621	74379,63	**1,60%**
Ferro	624140	613994,49	**1,60%**
Aço	745110	733036,57	**1,60%**

Na Tabela 3 tem-se diferentes modos críticos, calculados pelo método analítico a partir da definição dos valores da largura *a* e dos números de semi-ondas *m* e *n*. Já na Figura 10 são apresentados modos críticos calculados pelo Abaqus considerando *a*=1m e variando *m* e *n*.

Tabela 3 - Cargas e modos críticos para diferentes combinações de semi-ondas.

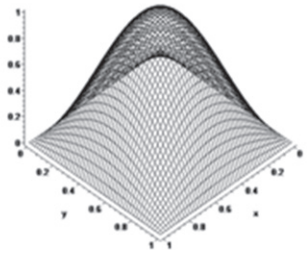
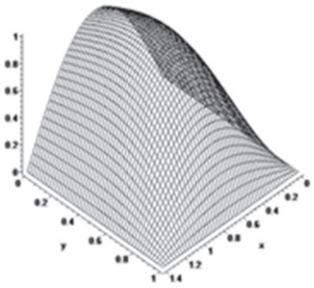
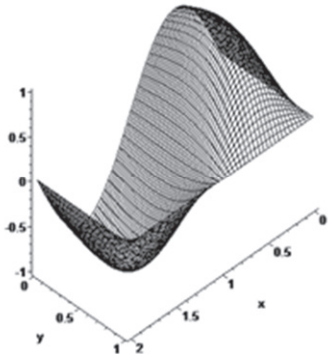
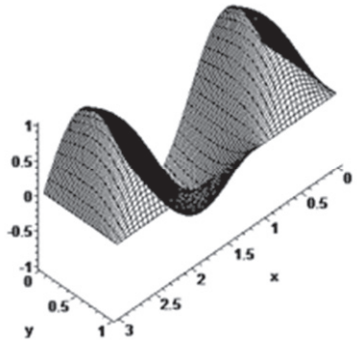
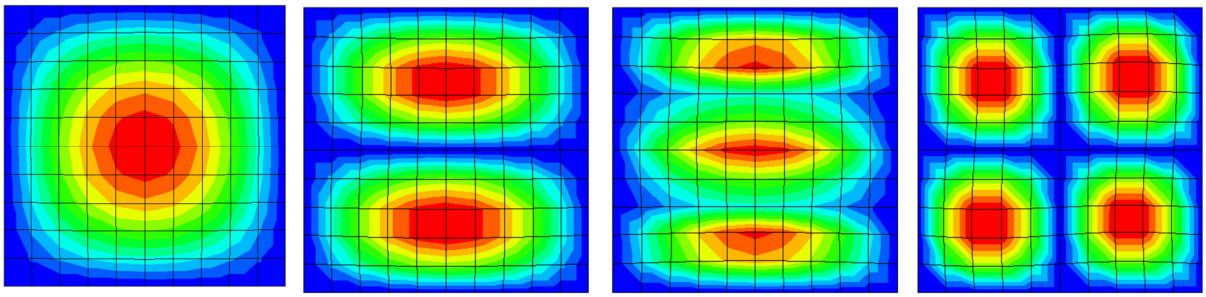
A	(m,n)	Carga Crítica (KN)	Modo Crítico
1	(1, 1)	0,362	
1,4	(1, 1)	0,404	
2	(2, 1)	0,362	
3	(3, 1)	0,362	

Figura 10 - Modos críticos para diferentes combinações de semi-ondas (*m, n*).

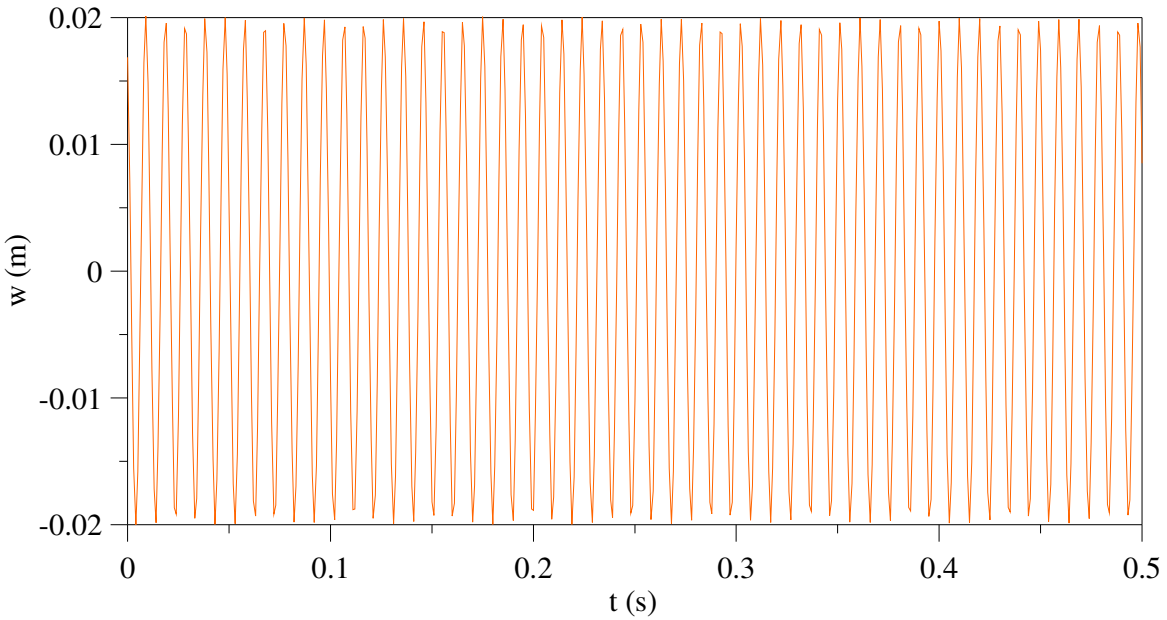


a = (1,1) b = (2,1) c = (3,1) d = (2,2)

Nota-se pela eq. 16 que a frequência natural será menor para *m* e *n* iguais a 1. Assim, substituindo nesta equação E=200000MPa, ν=0,32, ρ=7850kg/m³, h=10mm, b=1m, a=1m, m=1 e n=1 tem-se que a frequência para uma placa de aço será 303,58 rad/s. Já pelo cálculo numérico, usando o Abaqus, o valor encontrado foi 306,03 rad/s o que representa uma diferença entre os valores da frequência natural de apenas 0,8%. O modo crítico para tal valor de frequência é o que já está ilustrado pela Figura 10-a.

Para a análise das vibrações foi inicialmente dada uma perturbação na placa através de um pulso de força na direção transversal. A Figura 11 apresenta as respostas no tempo em uma configuração sem amortecimento e observa-se que não há decaimento da amplitude do deslocamento com o aumento de tempo, comportamento que já era esperado.

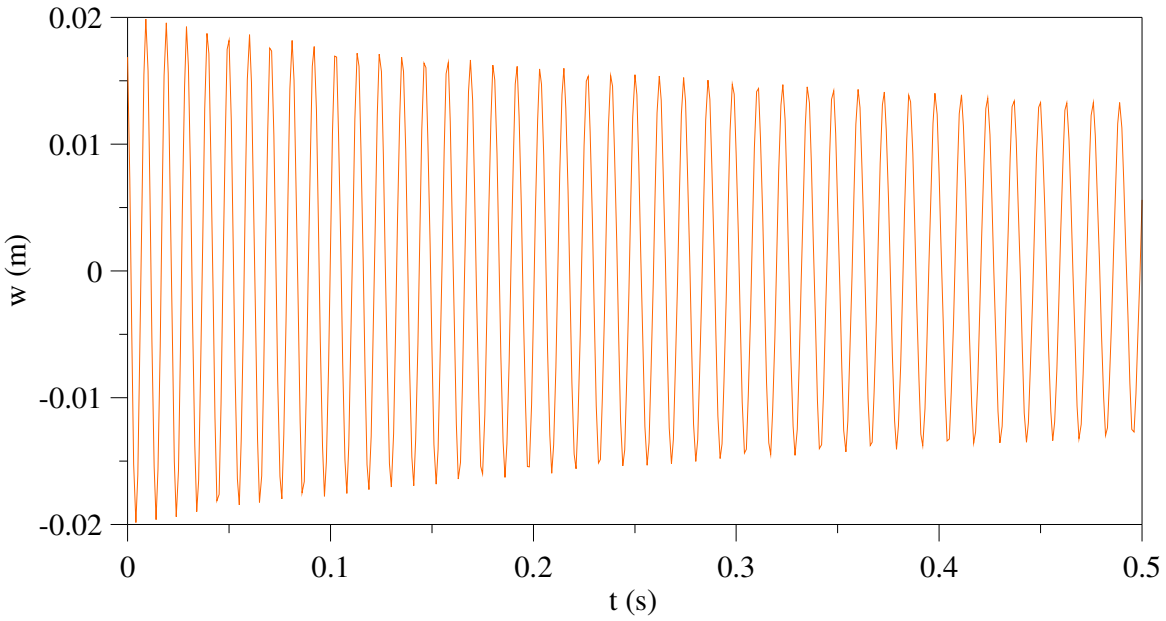
Figura 11 - Modo de vibração de uma placa de aço sem amortecimento.



O comportamento de uma placa considerando um amortecimento pequeno é ilustrado

pela Figura 12. Devido à dissipação de energia durante a oscilação a amplitude da vibração reduz com o tempo.

Figura 12 - Modo de vibração de uma placa de aço com amortecimento.



5 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho analisou-se o comportamento de placas através do cálculo de cargas críticas, caminhos pós críticos, frequências naturais e respostas no tempo. Comparando soluções obtidas pelo método analítico com resultados definidos numericamente pelo programa de elementos finitos Abaqus.

Todos os caminhos pós críticos apresentaram uma bifurcação simétrica estável, que é um comportamento típico de placas esbeltas, tais elementos assumem uma posição diferente da original quando submetidos à cargas maiores que a crítica. Verificou-se que em alguns pontos, para uma mesma carga crítica pode haver mais de um modo crítico distinto e que a sensibilidade da placa varia com a altura da mesma, sendo maior para espessuras menores. Nos materiais mais frágeis observou-se um deslocamento superior para um mesmo incremento de carga após a crítica. O modo de vibração da placa já era esperado, apresentando uma redução da amplitude quando considerado o amortecimento.

REFERÊNCIAS

BRUSH, D. O.; ALMROTH, B.O. *Buckling of bars, plates and shells.* New York: McGraw-Hill, 1975.

CUNHA, P. C. *Comportamento crítico e pós-crítico de placas dobradas*. Rio de Janeiro, 2005. Dissertação de Mestrado, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

DAMAS, A. P.; ISOLDI, L. A.; REAL, M. V. *Análise da flambagem linear e não linear de placas de aço perfuradas*. Rio Grande do Sul, 2012. 11ª Mostra de Produção Universitária, Universidade Federal do Rio Grande.

GONÇALVES, P. B. *Uma introdução à instabilidade das estruturas*. Goiânia, 1993. Curso de Especialização em Engenharia Civil, Universidade Federal de Goiás.

ROEHL, J. P. *Dinâmica das estruturas*. Rio de Janeiro, 2005. Notas de aula, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

SILVA, R. S. *Study of natural frequencies of rectangular hyperelastic membranes with variable thickness. Ouro Preto,* 2011. In: XXXII CILAMCE - Iberian Latin American Congress on Computational Methods in Engineering.

Estudo da reatividade de Benzenocalcogenolatos de Zinco em Meio aquoso

Gabriela Ferreira Matos (IC), Olga Soares do Rêgo Barros (PQ)

LabSiM - Laboratório de Síntese Molecular, Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, CP 131 CEP 74001-970 - Goiânia - Goiás

gabmatoss@hotmail.com, olgabarrros@gmail.com

1. RESUMO

Neste trabalho é apresentado um estudo metodológico de reações de hidrocalcogenação de alquinóis promovida por benzenocalcogenolatos de zinco em meio aquoso e em meio orgânico. Os resultados apresentados neste relatório demonstram que o meio reacional influencia na diastereosseletividade dos calcogenetos vinílicos obtidos e na reatividade destas reações, em ambas as metodologias os produtos são obtidos em rendimentos satisfatórios e de forma químio e régiosseletiva.

Palavra chaves: benzenocalcogenolatos de zinco, síntese de calcogenetos Vinílicos.

2. INTRODUÇÃO

Atualmente, a química dos elementos selênio e telúrio, vêm mantendo-se na fronteira do desenvolvimento da química orgânica sintética. Muitas metodologias constam em importantes compêndios de química orgânica sintética [1]. Moléculas orgânicas contendo átomos de enxofre, selênio ou telúrio são consideradas importantes intermediários sintéticos, pois apresentam a vantagem de introduzir um heteroátomo que pode ser facilmente removido da molécula ou substituído por outra função orgânica.

Aliado a isto, atualmente uma larga quantidade de selenetos orgânicos são utilizados como antibióticos, agentes anti-inflamatórios, antioxidantes e agentes antivirais [2]. Os métodos mais utilizados para introduzir calcogênios em moléculas orgânicas consistem na preparação do ânion calcogenolato através da clivagem redutiva da ligação calcogêno-calcogênio, utilizando agentes redutores como borohidreto de sódio [3], sódio metálico [4], hidreto de alumínio e lítio [5] entre outros. Observa-se nestas metodologias o uso de agentes redutores instáveis, extremantes tóxicos ou

Revisado pelo Orientador

fortemente ácidos ou básicos. Nesta última década, os calcogenolatos de metais de transição estão sendo largamente utilizadas na síntese de calcogenetos orgânicos, muitas destas reações são conduzidas em meio aquoso seguindo os caminhos da química verde [6].

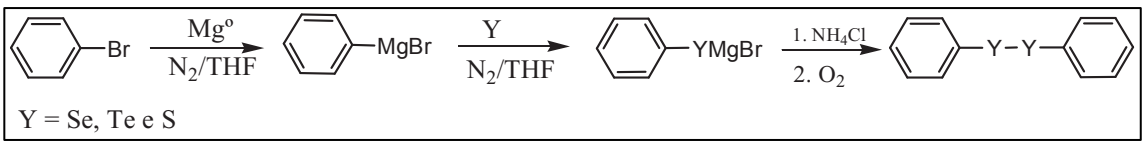
A preparação régio e estereosseletiva de selenetos e sulfetos vinílicos são de grande importância para formação de ligação carbono-carbono, visto que podemos utiliza esta classe de compostos em reações de acoplamento tipo Heck, Sonogashira entre outros, observando total retenção de configuração da ligação dupla, é importante também observar que, olefinas altamente substituídas estão presentes em muitos produtos naturais e produtos farmacêuticos [7,8,9,10].

3. OBJETIVO

Estudar as propriedades e reatividade de benzenocalcogenolatos de zinco gerados através da reação entre o sistema Zn/NH_4OH e dicalcogenetos arílicos em meio aquoso. É importante ressaltar que propomos uma metodologia de baixo custo e que segue os princípios da química verde. Utilizando zinco, um metal barato, abundante e que apresenta baixa toxicidade, condições reacionais brandas e meio aquoso.

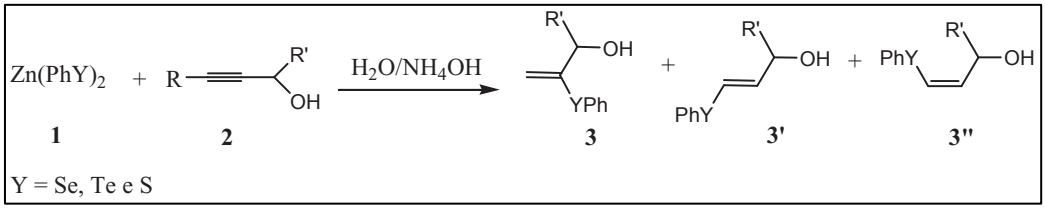
4. METODOLOGIA

Os materiais de partida disseleneto, dissulfeto e ditelureto de difenila foram sintetizados conforme metodologia já descrita na literatura, através da reação entre o reagente de Grignard gerado "*in situ*" seguindo da adição do calcogênio pretendido (selênio, telúrio ou enxofre elementar), levando à formação da espécie PhYMgBr que é posteriormente oxidada ao respectivo dicalcogeneto de arila (Esquema 1).



Esquema 1: Síntese de dicalcogenetos de arila.

Os calcogenetos Vinílicos foram preparados através da reação de hidrocalcogenação entre o benzenocalcogenolato de zinco gerado *in situ* e adicionados aos respectivos alquinóis em meio aquoso e atmosfera inerte (Esquema 2).



Esquema 2: Reações de Hidrocalcogenação de Alquinóis.

4.1 SÍNTESES

4.1.1 MATERIAL DE PARTIDA

Preparação do disseleneto de difenila

Em um balão de duas bocas de 100 mL, munido de agitação magnética, sob atmosfera de nitrogênio, equipado com condensador de refluxo e funil de adição, contendo magnésio elementar (2,673 g; 0,110 mol), alguns cristais de iodo, e THF seco (10 mL), adicionou-se lentamente uma solução de bromobenzeno (15,7 g; 0,1 mol em 50 mL de THF) por meio de um funil de adição de líquidos. Após o consumo total de magnésio, adicionou-se em intervalos regulares e em pequenas porções, selênio elementar (7,9 g; 0,1 mol), por aproximadamente uma hora. O sistema ficou sob agitação por mais duas horas. Posteriormente, o balão foi envolvido por um banho de gelo e a mistura reacional neutralizada com cloreto de amônio. O sistema foi mantido sob agitação e oxidado ao ar por uma noite. Extraiu-se com diclorometano (3 x 100 mL), e lavou-se com solução saturada de NH_4Cl (3 x 100 mL). Secou-se com sulfato de sódio e evaporou-se o solvente. O resíduo foi recristalizado em hexano e o sólido amarelo obtido foi seco sob vácuo [11]. Rendimento: 68%, ponto de fusão: 68 °C.

Preparação do dissulfeto de difenila

Em um balão de uma boca de 5 mL, munido de agitação magnética, sob atmosfera de nitrogênio, adicionou-se solução saturada de $NaHCO_3$ (1 mL), tiofenol (1 mmol) e cloreto de benzenosulfonila (0,5 mmol). A mistura foi então agitada por 10 minutos a temperatura ambiente. Extraiu-se com acetato de etila (3 x 5 mL) e lavou-se com água. Secou-se com sulfato de sódio e evaporou-se o solvente. O resíduo foi recristalizado em etanol e o sólido branco obtido foi seco sob vácuo [12]. Rendimento: 96 %, ponto de fusão: 67 ºC.

Preparação do ditelureto de difenila

Em um balão de duas bocas de 100 mL, munido de agitação magnética, sob atmosfera de nitrogênio, equipado com condensador de refluxo e funil de adição, contendo magnésio elementar (2,673 g; 0,110 mol), alguns cristais de iodo, e THF seco (10 mL), adicionou-se lentamente uma solução de bromobenzeno (15,7 g; 0,1 mol em 50 mL de THF) por meio de um funil de adição de líquidos. Após o consumo total de magnésio, adicionou-se em intervalos regulares e em pequenas porções, telúrio elementar (7,9 g; 0,1 mol), por aproximadamente uma hora. O sistema ficou sob agitação por mais duas horas. Posteriormente, o balão foi envolvido por um banho de gelo e a mistura reacional neutralizada com cloreto de amônio. O sistema foi mantido sob agitação e oxidado ao ar por uma noite. Extraiu-se com diclorometano (3 x 100 mL), e lavou-se com solução saturada de NH_4Cl (3 x 100 mL). Secou-se com sulfato de sódio e evaporou-se o solvente. O resíduo foi recristalizado em hexano e o sólido vermelho obtido foi seco sob vácuo. Rendimento: 68%, ponto de fusão: 68 °C.

4.1.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA REAÇÕES DE HIDROCALCOGENAÇÃO DE ALQUINÓIS PROMOVIDAS POR BENZENOCALCOGENOLATOS DE ZINCO EM 1,4 DIOXANO

Em um tudo schlenk munido de agitação magnética, sob atmosfera de N_2, foram adicionados zinco metálico ativado (1 mmol), a base NH_4OH (0,2 mL), o solvente 1,4 dioxano (2,0 mL), PhYYPh (0,5 mml), o respectivo alquinol (0,5 mmL) e refluxo de 90ºC durante 24 h. Após esse tempo reacional adicionou-se solução saturada de NH_4Cl e extraiu-se com diclorometano (3 x 5 mL). Secou-se com sulfato de sódio anidro, o solvente foi retirado à pressão reduzida e o produto obtido fui purificado por cromatografia em coluna, tendo como faze estacionaria sílica gel e utilizando como sistema eluente hexano / acetato de etila (3:1). A caracterização foi feita por ressonância magnética nuclear de ^{1}H e ^{13}C. Os produtos foram obtidos em rendimentos entre 5-100% Tabela 1.

4.1.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA REAÇÕES DE HIDROCALCOGENAÇÃO DE ALQUINÓIS PROMOVIDAS POR BENZENOCALCOGENOLATOS DE ZINCO EM MEIO AQUOSO

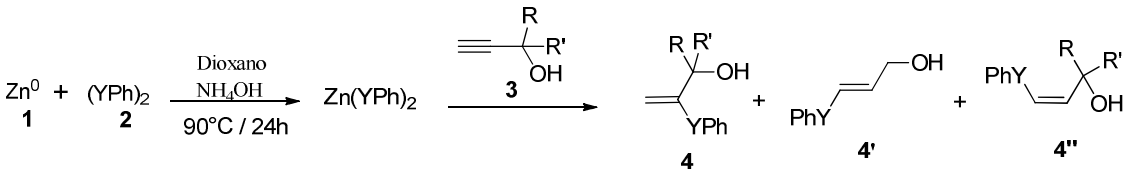
Em um tudo schlenk munido de agitação magnética, sob atmosfera de N_2, foram adicionados zinco metálico ativado (1 mmol), a base NH_4OH (0,2 mL), o solvente H_2O

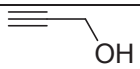
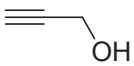
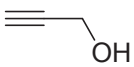
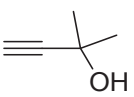
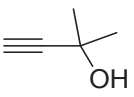
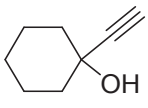
(2,0 mL), PhYYPh (0,5 mml), o respectivo alquinol (0,5 mmL) e refluxo de 90ºC durante uma hora. Após esse tempo reacional adicionou-se soluçao saturada de NaCl e extraiu-se com diclorometano (3 x 5 mL). Secou-se com sulfato de sódio anidro, o solvente foi retirado à pressão reduzida e o produto obtido fui purificado por cromatografia em coluna, tendo como faze estacionaria sílica gel e utilizando como sistema eluente hexano / acetato de etila (3:1). A caracterização foi feita por ressonância magnética nuclear de ^{1}H e ^{13}C. Os produtos foram obtidos em rendimentos entre 5-100% Tabela 2.

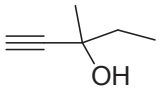
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para estabelecer a melhor metodologia, quanto aos melhores rendimentos reacionais e diastereoseletividade dos calcogenetos vinílicos, estudou-se a influência do solvente e do tempo reacional. Nas Tabelas 1 e 2 apresentamos o escopo reacional das metodologias desenvolvidas em nosso laboratório.

Tabela 1: Reações de Hidrocalcogenação Promovidas por Calcogenolatos de Zinco utilizando 1,4 dioxano com solvente.



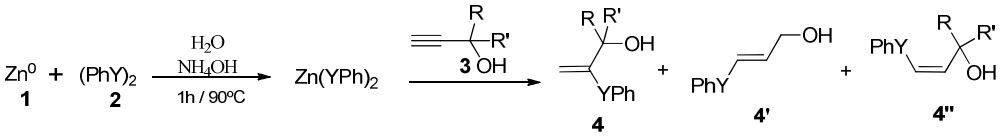
Entradas	3	(YPh)2	4 : 4' : 4"	Rendimento(%)
R-1		$(SePh)_2$	10 : 1 : 5	99
R-2		$(SPh)_2$	10 : 1 : 0,4	80[b]
R-3		$(TePh)_2$	3 : 0 : 2	38,23[a]
R-4		$(SPh)_2$	1,5 : 1 : 0	99,3
R-5		$(TePh)_2$	3 : 0 : 1	Traços
R-6		$(TePh)_2$	-	Traços

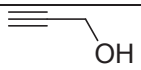
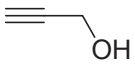
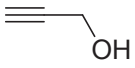
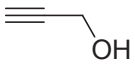
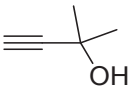
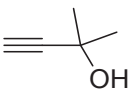
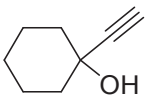
R-7		$(TePh)_2$	0,7 : 0 : 1	Traços

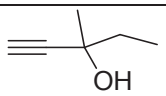
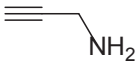
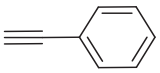
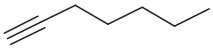
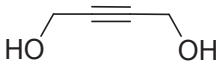
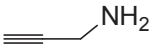
[a]Proporção álcool: $(SePh)_2$ (0,5mmol:0,5mmol), [b]Rendimento calculado pela quantidade do álcool

A adição do álcool Propagílico, a uma solução previamente preparada de $Zn(SePh)_2$ (R-1) ou $Zn(SPh)_2$ (R-2) gerado *in situ* a partir de Zn° e PhSeSePh em 1,4-dioxano produz o correspondente produto de hidrocalcogenação em rendimentos ótimos, porém, observa-se que para $Zn(TePh)_2$ (R-3) rendimentos inferiores comparados com os resultados obtidos nas entradas R-1 e R-2. Para outros alquinóis observa-se que a reatividade do $Zn(TePh)_2$ diminui obtendo-se apenas traços dos respectivos teluretos vinílicos. Os produtos foram caracterizados por RMN ^1H. Na metodologia desenvolvida é importante ressaltar que a diasterosseletividade depende da natureza dos substituintes (grupos R e R') na posição alilíca dos respectivos alquinóis e também do dicalcogenolato de diarila.

Tabela 2: Reações de Hidrocalcogenação Promovidas por Calcogenolatos de Zinco em Meio Aquoso.



Reações	3	(YPh)2	4:4':4"	Rendimento
R-8		$(SePh)_2$	16,5 : 1 : 3	100%[a]
R-9		$(TePh)_2$	X	X
R-10		$(SPh)_2$	1 : 0,3 : 0,1 1,4(tioacetal)	99, 88%[a]
R-11		$(SPh)_2$	14,3 : 2,3 : 1	93,5%[b]
R-12		$(SPh)_2$	0 : 0,6 : 0,4: 1(tioacetal)	40,4%[b]
R-13		$(SePh)_2$	1 : 0,8 : 0,6	34,4%[a,c]
R-14		$(SePh)_2$	1 : 2 : 2	64,4%[b]

R-15		$(SePh)_2$	10 : 5 : 1	38,82%[b]
R-16		$(SePh)_2$	1 : 0 : 0	44,43%[b]
R-17		$(SePh)_2$	8 : 1 : 19	82%[b]
R-18		$(SePh)_2$	4 : 0 : 1	5,14%[b]
R-19		$(SePh)_2$	1 : 0 : 0	18%[b]
R-20		$(SePh)_2$	1:0:0	44%[b]

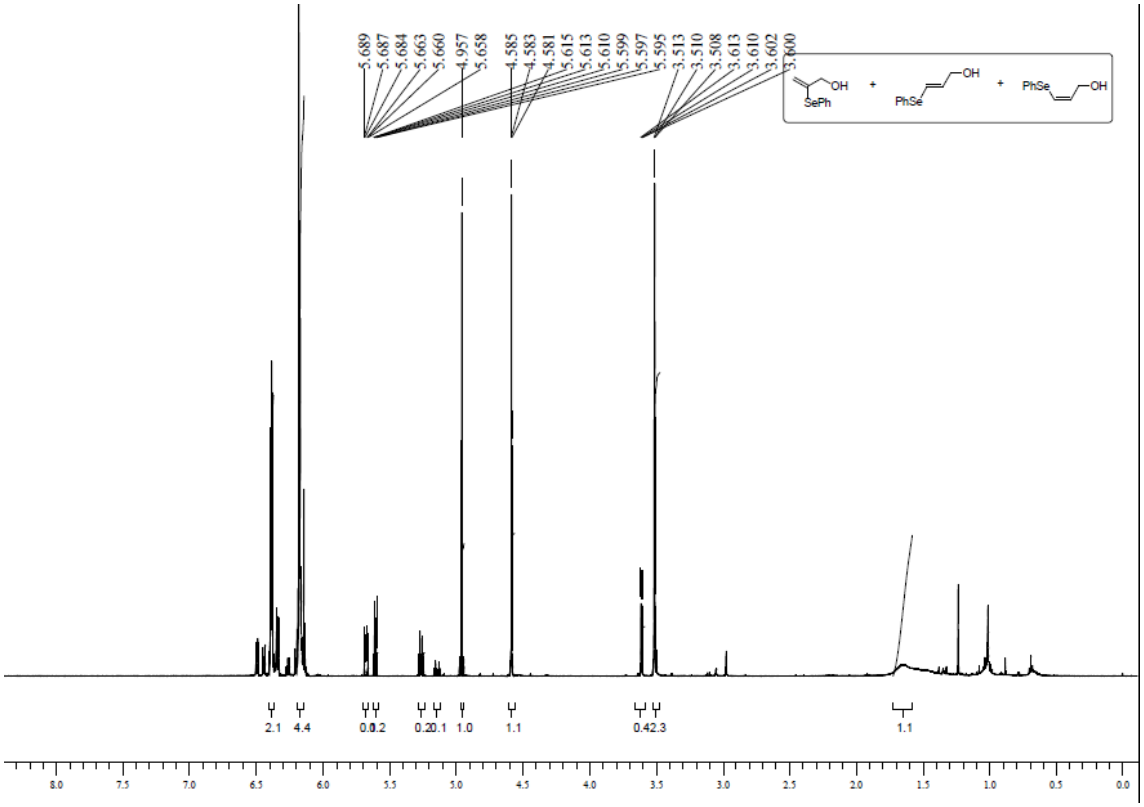
[a]Proporção álcool: $(YPh)_2$ (0,5mmol: 0,5mmol), [b]Proporção álcool: $(YPh)_2$ (1,0mmol:0,5mmol), [c] 3h de reação.

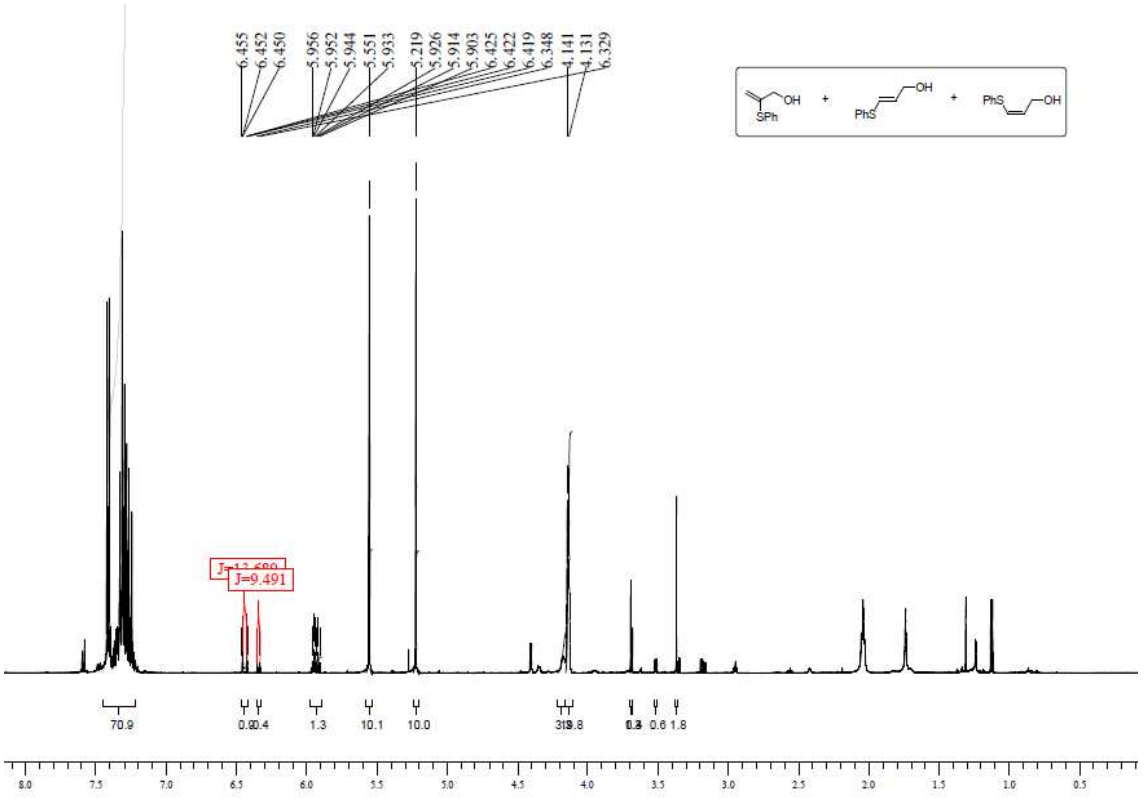
Analisando a Tabela 2 podemos concluir que:

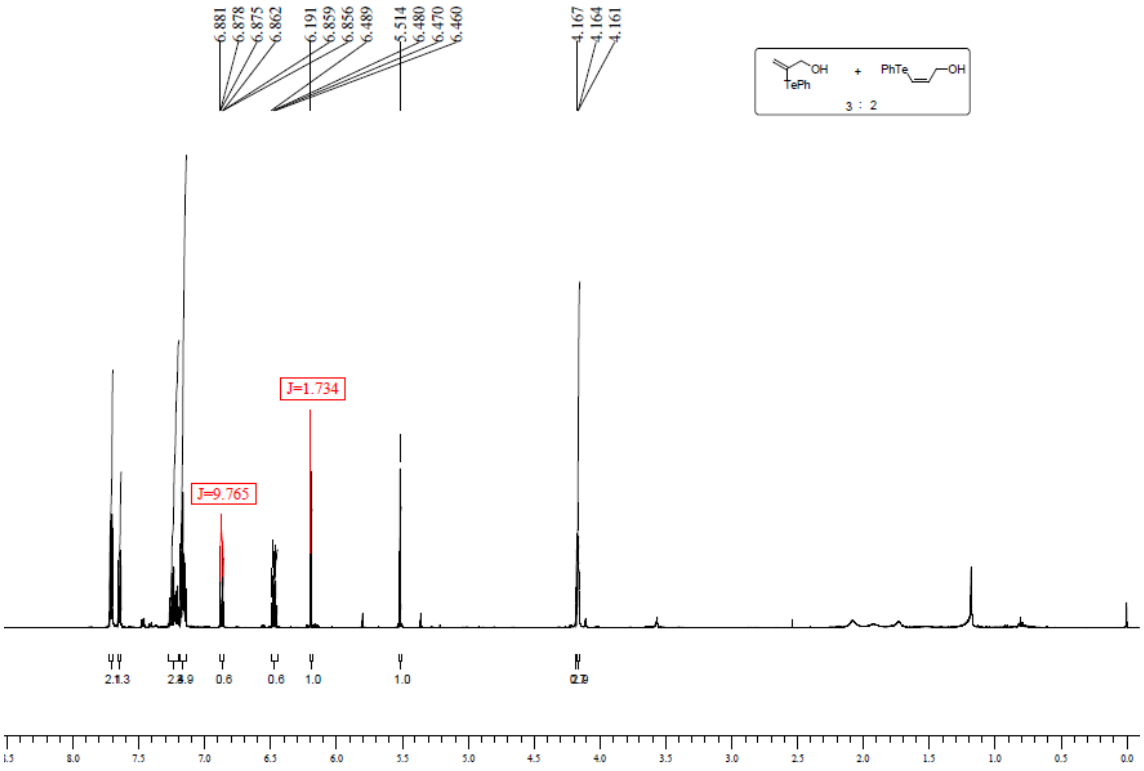
Os produtos selenetos vinílicos e sulfetos vinílicos foram obtidos com químio, regio, e diastereosseletividade, porém, esta metodologia não é efetiva para a produção de teluretos vinilicos. Comparando com as reações feitas com solvente orgânico observamos que a metodologia apresenta maior reatividade, uma vez que obtivemos os produtos em apenas uma hora de reação.

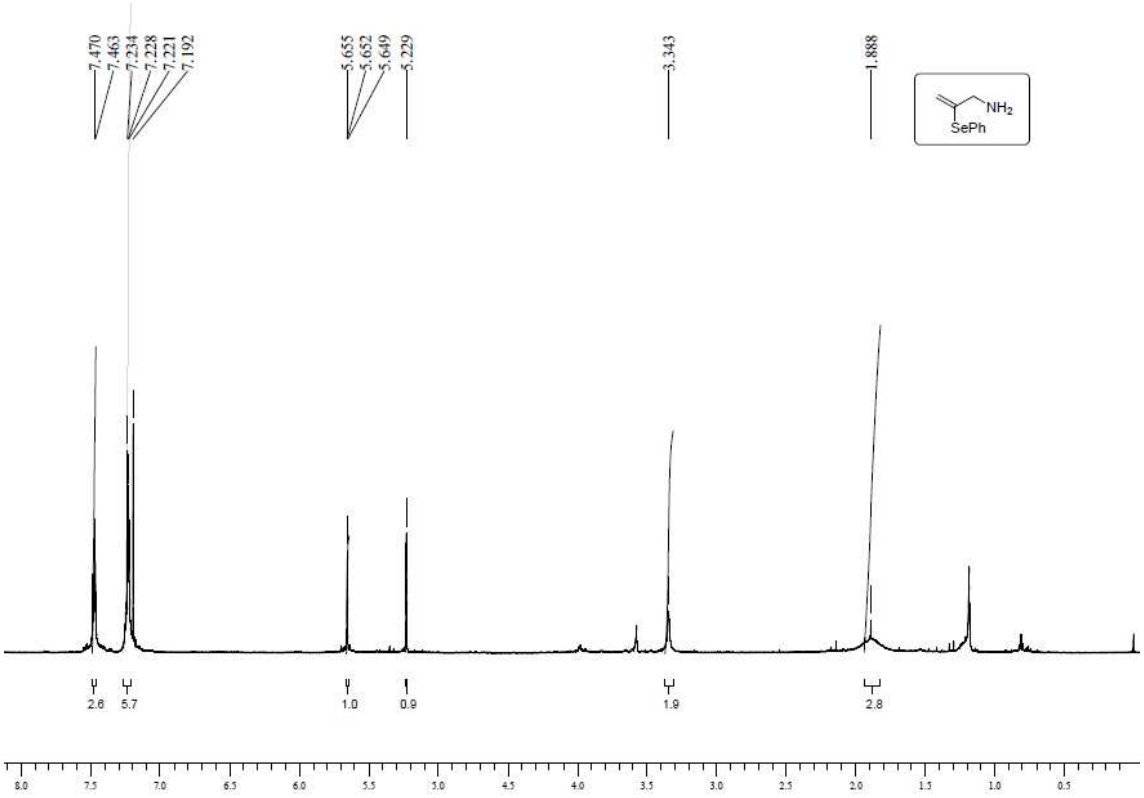
E válido ressaltar que os benzenotiolatos de zinco apresentam menor diastereosseletividade quando comparado a benzenoselenolato de zinco, tanto em reações com solventes orgânicos quanto em reações livres de solventes orgânicos. Quando a reatividade observou que benzenotiolatos e benzenoselenolatos apresentam a uma reatividade semelhante.

5.1 ESPECTROS SELECIONADOS


5.689
5.687
5.684
5.663
5.660
4.957
5.658
4.585
4.583
4.581
5.615
5.613
5.610
5.599
5.597
5.595
3.513
3.510
3.508
3.613
3.610
3.602
3.600
OH
SePh
PhSe
PhSe
OH
2.1
4.4
1.0
1.1
1.1


6.455
6.452
6.450
5.956
5.952
5.944
5.551
5.933
5.219
5.926
5.914
5.903
6.425
6.422
6.419
6.348
4.141
4.131
6.329
OH
SPh
PhS
PhS
OH
J=9.491
70.9
1.3
10.1
10.0


6.881
6.878
6.875
6.862
6.191
6.859
6.856
6.489
5.514
6.480
6.470
6.460
4.167
4.164
4.161
OH
TePh
+
PhTe
OH
3 : 2
J=1.734
J=9.765
2.1
1.3
0.6
0.6
1.0
1.0


7.470
7.463
7.234
7.228
7.221
7.192
5.655
5.652
5.649
5.229
3.343
1.888
NH2
SePh
2.6
5.7
1.0
0.9
1.9
2.8

6.CONCLUSÃO

Os calcogenolatos de zinco promovem as reações de hidrocalcogenação com controle régio e estereosseletivo. A metodologia proposta em meio aquoso e meio orgânico são efetivas, constituindo assim, uma rota alternativa para a preparação de calcogenetos vinílicos de fácil manuseio e baixo custo. Porém, observamos duas importantes limitações em ambas as metodologias (1) alquinóis que possuem substituintes alquilicos na posição alilíca observa-se rendimentos mais baixos, (2) a reação não é efetiva para a hidroteluração de alquinóis.

[1]REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Sobre compostos orgânicos de Selênio ver: (a) Wirth. T. Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 2000, 39, 3740-3749. (b) Wirth, T. Organoselenium Chemistry –Modern Developments in Organic Synthesis, Top. Curr. Chem. 208, Spring-Verlang: Heidelberg, 2000. (c) Mugesh, G.; Singh, H. B. Acc. Chem. Res. 2002, 35, 226-236. Sobre compostos orgânicos de Enxofre ver: (a) Juanes, O.; Rodriguez-Ubis, J. C.; Brune, E.; Pennemann, H.; Kossenjans, M.; Martens, J. Eur. J. Org. Chem. 1999,3323-3333. Sobre compostos orgânicos de Telúrio ver:(a) Comasseto, J. V.; Ling, L. W.; Petragnani. N.; Stefani, H. A. Synthesis 1997, 373-403. (b) Petragnani, N. Tellurium inOrganic Synthesis; Academic Press: London, 1994. (c) Zeni, G.; Braga, A. L.; Stefani,H. A. Acc. Chem. Res. **2003**, 10, 731-738. 6

[2] Lucas, M.A; Ngugen, OTK; Schiesser, C.H; Zheng, S.L *Tetrahedron*, **2000**, 56, 3995

[3] Sharpless, K.B;. Laura, R.F *J Am Chem Soc*., **1973**, 95, 2697.

[4] Aynsle, E.E; Greenwood, N.N; Leach, J.B, *Chem Ind (London)*, **1966**, 379 (b) Zhang, Y; Yu, Y; Lin R, *Synth Commun*., **1993**, 23,189.

[5] Suzuki, H; Yoshinaga, M; Takaoka K; Hiroi Y, *Synthesis*, **1985**,497.

[6] (a) Lubineau, A; Auge, J; Queneau, Y, *Synthesis*, **1994**, 741; (b) Li, C.J, *Chem Rev*., **1993**, 93, 2023.

[7] McGarrigle E.M; Myers,E> Shaw, M.A;. Aggarwal. V.K *Chem. Rev*. **2007**, 107, 5841-5883.

[8] Noguira, C. W.; Zeni, G.; Rocha, J.B.T . *Chem Rev*. **2004**, 104, 6255-6286: (b) Mugeshi, G. ; du Mont, W-W .; Sies, H. *Chem. Rev*. **2001**, 101, 2125-2179.

[9 Cai, M.; Xia, Jun.; Hao, Wenyan. Heteroatom. *Chem*. **2005**, 16, 330027.

[10] Menezes, P. H.; Zeni, G. in Vinilyc Selenides, in Patai's *Chemistry of Funcional Groups; Ed. Z. Rapport, John Wilwy & Sons: New Yrk*, **2012**, Vol. 3, Chapter 12

[11] Betagel, O.; Seibert, H. *Chem. Ber*. v. 65, p. 815, **1932**.

[12] Xiao, H.; Chen, J.; Liu, M.; Wu, H.; Ding J. An Approach to Disulfide Synthesis Promoted by Sulfonyl Chloride in Sodium Bicarbonate Aqueous Media, Phosphorus, Sulfur, and Silicon, v. 184, p. 2553-2559, **2009**.

Avaliação da expressão da proteína β-catenina no carcinoma mucoepidermóide do complexo bucomaxilofacial

Gabriela Mota do Carmo[1], Flávia Aparecida de Oliveira, Eliza Carla Barroso Duarte Veríssimo[2]

Setor de Patologia Geral do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás

Universidade Federal de Goiás, 74605050, Brasil

gabrielamcarmo@hotmail.com, elizaduarteverissimo@gmail.com

Resumo: Carcinomas mucoepidermóides são tumores malignos originados de ductos excretores de estruturas glandulares. A invasão tumoral e formação de metástases envolvem uma série de etapas incluindo alterações na adesão das células. Alterações na expressão de β-catenina têm sido associadas com perda de diferenciação e aquisição de fenótipo invasivo em várias neoplasias. O objetivo do trabalho foi avaliar a expressão imunoistoquímica da β-catenina em carcinoma mucoepidermóide do complexo bucomaxilofacial. Os dados clínicos das amostras foram obtidos nos arquivos de prontuários clínicos. A avaliação da expressão da β-catenina foi realizada por imunoistoquímica em amostras de blocos em parafina. Foram analisados 29 casos de carcinoma mucoepidermóide. A intensidade de expressão da β-catenina foi graduada em fraca (1), moderada (2) e intensa (3). Dos 29 casos analisados, 44,83% foram graduados como 1, e 51,72% foram graduados como 2. A alteração da β-catenina e os seus genes alvo têm sido mostrados como desencadeadores da proliferação de células epiteliais da glândula salivar. Acredita-se que a expressão aberrante β-catenina possa ser associada com a proliferação de células de tumores de glândulas salivares. A expressão de β-catenina nos casos foi menor ou igual ao tecido normal correspondente.

PALAVRAS-CHAVE: Carcinoma mucoepidermóide, β-catenina, Complexo Bucomaxilofacial.

Revisado pela orientadora.
1 – Orientanda.
2 – Orientadora.

1 Introdução

Carcinomas mucoepidermóides são tumores malignos originados de ductos excretores de estruturas glandulares, que acometem as glândulas salivares maiores e menores intra-orais em mais de 90% dos casos (ELLIS; AUCLAIR; GNEPP, 1991; ELLIS; AUCLAIR, 1996). O carcinoma mucoepidermóide é mais comum na glândula parótida, mas também há elevada incidência nas glândulas salivares menores, especialmente no palato. Usualmente apresenta-se como uma tumefação (NEVILLE et al., 2004).

Todas as variáveis do carcinoma mucoepidermóide são potenciais geradoras de metástases, indiferentemente de sua classificação microscópica (SEIFERT; SOBIN, 1992). A neoplasia é capaz de se infiltrar nos tecidos vizinhos ou de desenvolver metástases distantes em linfonodos, pulmões, ossos e cérebro (GIOVANINI et al., 2007).

A invasão tumoral e formação de metástases envolvem uma série de etapas incluindo a degradação proteolítica da membrana basal e da matriz extracelular, alterações na adesão das células e migração das células tumorais no tecido (CURRAN; MURRAY, 2000). Mecanismos moleculares de adesão celular tem sido campo de muitos estudos devido ao aumento das evidências significantes de que alterações nas propriedades adesivas das células neoplásicas podem resultar em desenvolvimento e progressão de fenótipo maligno em uma gama de tumores (CHANDRASHEKAR; ANGADI; KRISHNAPILLAI, 2011).

Muitos estudos têm mostrado que alterações do complexo caderina-catenina, além da expressão reduzida de β-catenina, estão presentes em muitos tipos de neoplasias malignas, especialmente aquelas de natureza mais agressiva e maior potencial metastático (KURTZ et al., 2006; BEAVON, 2000).

A β-catenina é uma proteína de adesão multifuncional, da família das cateninas, que participa da adesão celular e da sinalização nuclear. Essa proteína liga-se às caderinas, auxiliando na união dos seus domínios citoplasmáticos ao citoesqueleto de actina. Além do seu papel crucial na adesão celular, a β-catenina tem funções na cascata de sinalização Wnt (KUDO et al., 2004). Alterações na expressão de β-catenina têm sido associadas com perda de diferenciação e aquisição de fenótipo invasivo em uma gama de neoplasias (LOWY et al., 2003; KARAYIANNAKIS et al., 2001; WONG; PIGNATELLI, 2002; FALEIRO-RODRIGUES et al., 2004).

Análises imunoistoquímicas da expressão da β-catenina já foram realizadas em diversos tumores incluindo carcinomas de pele, (BRASANAC et al., 2005) mama, (GEBESHUBER; SLADECEK; GRUNERT, 2007) pâncreas, (HEISER et al., 2008) esôfago, (LIN et al., 2004) colo de útero, (RODRÍGUEZ-SASTRE et al., 2005). Trabalhos científicos têm demonstrado uma relação entre a expressão de caderinas e cateninas, mais especificamente a β-catenina, e inúmeras desordens bucais como neoplasias de glândulas salivares (FURUSE et al., 2006); tumores e cistos odontogênicos (MIYAKE et al., 2006); líquen plano (EBRAHIMI et al., 2008); pênfigo vulgar (MIGNOGNA et al., 2001); eritroplasia e leucoplasia bucais, sendo que, dentre todas as alterações bucais, o carcinoma espinocelular (BÁNKFALVI et al., 2002) é a lesão mais pesquisada em relação ao papel das cateninas.

Alguns estudos relataram que a expressão anormal de β-catenina foi comum em neoplasia oral e esta modificação é correlacionada com o índice de malignidade e pior prognóstico do paciente (LEE et al., 2010; ODAJIMA et al., 2005; SHIEH et al., 2003).

A baixa expressão de β-catenina foi observada em células de carcinomas epidermoides metastáticos quando comparada com células de tumores não metastáticos (KUDO et al., 2004). Além disso, alterações na função da β-catenina podem prover capacidade invasiva, metastática e proliferativa aos tumores malignos (BRASANAC et al.,2005).

Considerando a relevância do carcinoma mucoepidermóide e os crescentes estudos sobre a expressão de moléculas de adesão relacionadas à malignidade e ao potencial metastático, é importante a avaliação da expressão de possíveis marcadores diagnósticos e prognósticos em carcinomas mucoepidermóide do complexo mucomaxilofacial.

O objetivo do trabalho foi avaliar a expressão imunoistoquímica da β-catenina em carcinoma mucoepidermóide do complexo bucomaxilofacial.

2 Metodologia

Este estudo foi desenvolvido em acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (CEP/UFG), já aprovado sob o número 056/11. Após aprovação pelo CEP/UFG foi realizado um levantamento de todos os casos de carcinoma mucoepidermóide do complexo bucomaxilofacial de pacientes diagnosticados, tratados e acompanhados no Serviço de Cabeça e Pescoço do HAJ/ACCG, no período de 1996 a 2011. Os casos de carcinoma mucoepidermóide

foram confirmados através da técnica de hematoxilina e eosina (HE). Os dados clínicos das amostras utilizadas neste estudo foram obtidos nos arquivos de prontuários clínicos. A avaliação da expressão da β-catenina foi realizada por imunoistoquímica em amostras de blocos em parafina.

O material selecionado, incluído em parafina, foi seccionado em micrótomo (Leica RM2165), obtendo-se de cada bloco cortes consecutivos de 5µm, que foram colocados sobre lâminas. Os cortes histológicos foram corados pelo método da hematoxilina-eosina (HE).

Para técnica imunoistoquímica foi utilizado o Polymer Detection Kit, da Biocare Medical. Após o recorte dos blocos em parafina e processamento de rotina, foi feita a incubação com o Background Sniper (proteína bloqueadora) por 15 minutos. Posteriormente foi realizada a incubação com anticorpo primário anti β-catenina, na diluição 1:200 overnight. Após 18 horas os cortes foram incubados com o Mach 4 Probe, e depois com HRP Polymer, 20 minutos de incubação para cada. A revelação da reação foi realizada com a utilização do diaminobenzidine por 3 minutos. Após a contra-coloração com hematoxilina, a lâmina foi montada em lamínula com resina.

A avaliação da expressão da β-catenina nos cortes de carcinoma mucoepidermóide e das glândulas salivares normais adjacentes à neoplasia foi realizada com o auxílio de um microscópico binocular AXIOLAB-ZEISS associado à ocular com retículo de integração quadrado em forma de rede. Todas as amostras foram examinadas sob o aumento de 40x (objetiva).

No estudo glândulas salivares normais adjacentes à neoplasia foram usadas como controles positivos. A intensidade de expressão da β-catenina foi graduada em fraca (1), moderada (2) e intensa (3) a saber (PRABHU; KAVERI; REKHA, 2009). Fraco (1) significa expressão de β-catenina menos intensa que a glândula salivar normal, moderado (2) significa expressão de β-catenina igual a glândula salivar normal, e intenso (3) significa expressão de β-catenina maior que na glândula salivar normal.

3 Resultados

Foram analisados vinte e nove casos de carcinoma mucoepidermóide, confirmados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). A análise da expressão da β-catenina foi realizada qualitativamente, comparando-se a intensidade da expressão de β catenina da região tumoral com a intensidade da expressão de β-catenina das glândulas salivares normais adjacentes ao tumor.

Houve expressão de β-catenina em todos os casos analisados. Dos 29 casos analisados, 44,83% foram graduados como 1, 51,72% foram graduados como 2. Não houve nenhum caso graduado como 3.

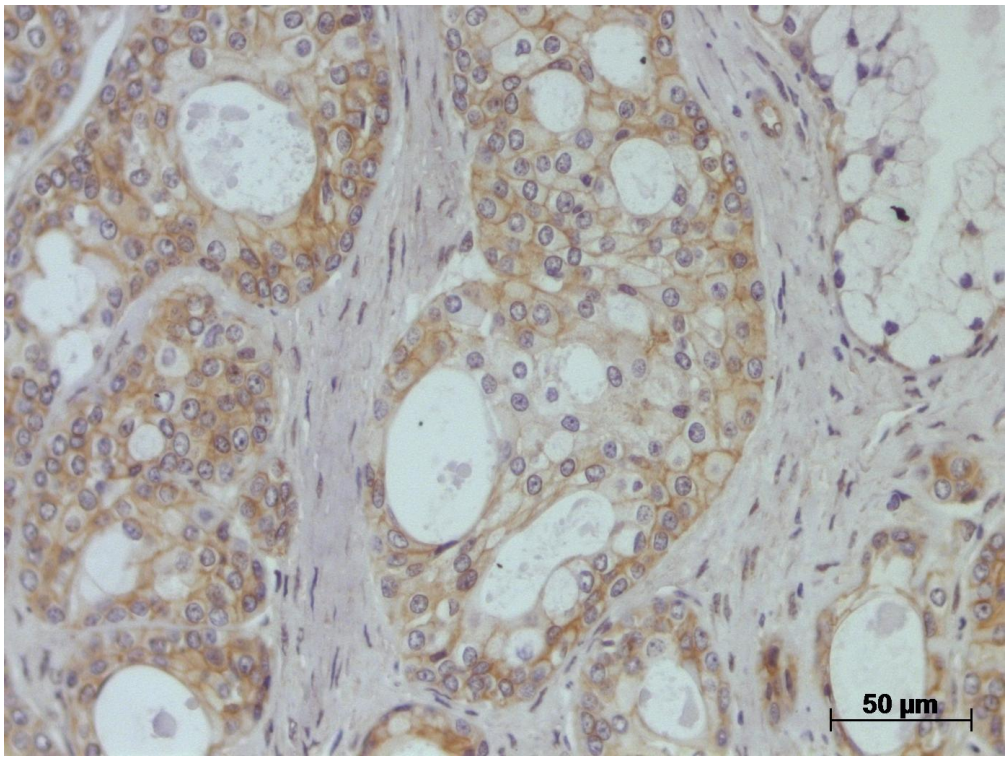


Figura 1 – Intensidade de expressão fraca (1) da β-catenina no Carcinoma Mucoepidermóide.

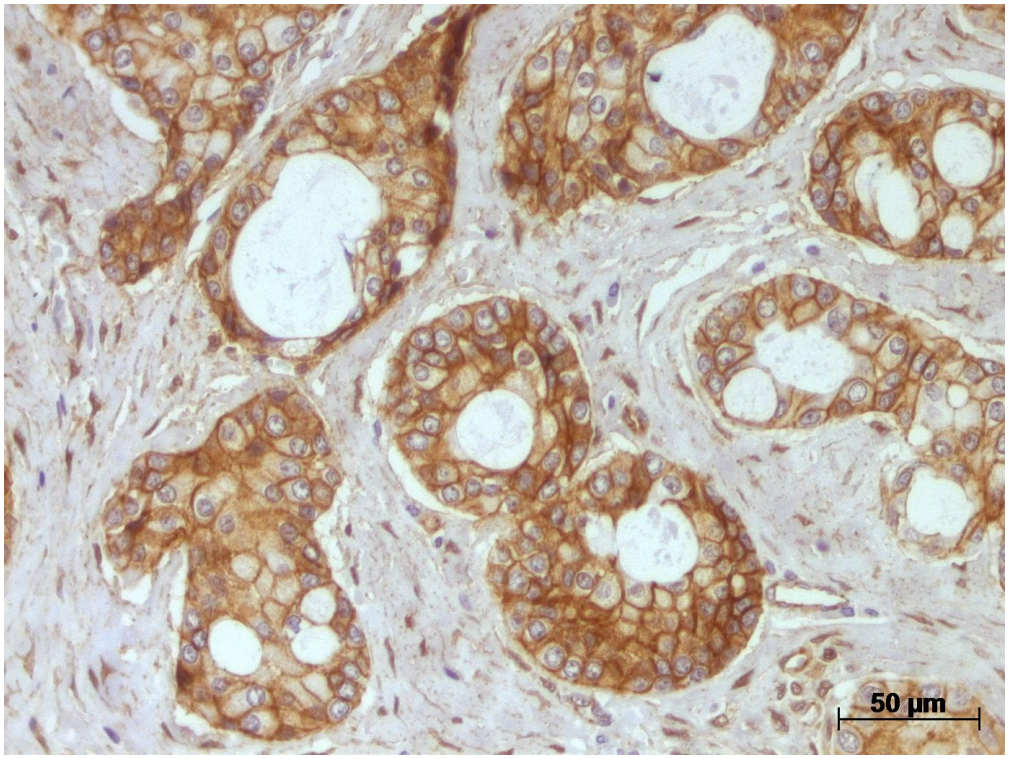


Figura 2 – Intensidade de expressão moderada (2) da β-catenina no Carcinoma Mucoepidermóide.

4 Discussão

A fisiopatologia dos tumores de glândulas salivares não é bem entendida devido a variedade dos fenótipos histopatológicos e a escassez de estudos moleculares prévios (HAKATA et al., 2010). Curiosamente, poucos estudos imunoistoquímicos revelaram expressão aberrante de β-catenina no citoplasma e / ou núcleo de células de tumor de glândula salivar (PRADO; CONSOLARO; TAVEIRA , 2006; FURUSE et al., , 2006; GENELHU et al., 2007; FERRAZZO et al., 2009). Apesar da importância biológica da expressão aberrante de β-catenina permanecer incerta, a alteração da β-catenina e os seus genes alvo têm sido mostrados como desencadeadores da proliferação de células epiteliais da glândula salivar em modelos de rato (TSUKAMOTO et al., 1988; ROOSE et al., 1999; STEPANOVA et al., 2000). Portanto, acredita-se que a expressão aberrante β-catenina pode ser associada com a proliferação de células de tumores de glândulas salivares (HAKATA et al., 2010).

É necessário um complexo E-caderina-catenia intacto para manutenção da adesão intercelular normal. Estudos imunoistoquímicos em neoplasias humanas têm mostrado que uma proporção de carcinomas invasivos e carcinomas *in situ* mostram níveis de expressão aberrantes e E-caderina e/ou catenina (DE LEEUW et al., 1997;

VALIZADEH et al., 1997; BAILEY et al., 1998) em comparação ao tecido normal correspondente. Em geral, a marcação de E-caderina e catenina é mais forte em neoplasias bem diferenciadas que mantém a adesividade celular e são menos invasivas, mas a marcação é reduzida em neoplasias pouco diferenciadas que perdem sua adesividade célula-célula e mostram comportamento mais invasivo (WIJNHOVEN; DINJENS; PIGNATELLI, 2000).

Em estudo realizado por Chandrashekar, Angadi e Krishnapillai (2005), foi analisada a expressão de β-catenina em 45 casos de tumores de glândulas salivares, entre eles 13 casos eram neoplasias benignas e 32 eram neoplasias malignas. Dentre as neoplasias malignas havia 10 casos de carcinoma mucoepidermóide. Neste estudo 92,3% dos casos de neoplasia benigna apresentaram positividade de expressão de β-catenina, e 62,5% dos casos de neoplasia maligna apresentaram expressão positiva de β-catenina. Dentre os 10 casos de carcinoma mucoepidermóide 8 apresentaram expressão de β-catenina, sendo que 6 casos apresentaram expressão de fraca a moderada. Este estudo corrobora o presente trabalho e também a hipótese de que nas neoplasias malignas há maior alteração da expressão de β-catenina.

Em estudo realizado por Shieh et al., (2003) foi avaliada a expressão de caderinas e cateninas em carcinoma mucepidermóide. A expressão de β-catenina em carcinoma mucoepidermóide foi significativamente correlacionada com estágio do tumor e grau histológico neste estudo. Neste estudo os autores também observaram que pacientes com tumores em estágio I e II, de baixo grau, com expressão normal de proteínas de adesão, dentre elas a β-catenina, tiveram maior expectativa de vida. Ao passo que pacientes com tumores invasivos e mestastáticos, de alto grau e com expressão anormal de proteínas de adesão, inclusive β-catenina, tiveram menor sobrevida. A análise de sobrevivência mostrou que o estágio da doença, o grau do tumor, e a expressão de β-catenina são significativamente correlacionados com uma pior sobrevida.

5 Conclusão

Nos casos analisados não houve expressão de β-catenina maior que na glândula salivar normal. A expressão de β-catenina nos casos foi menor ou igual ao tecido normal correspondente.

6 Considerações finais

O projeto sobre expressão de marcadores diagnósticos e prognósticos de glândulas salivares está sendo finalizado. Estão em andamento as reações imunoistoquímicas em casos de adenoma pleomórfico que servirão como controle devido ao fato de ser uma neoplasia benigna. Posterior análise estatística será feita comparando a expressão de beta-catenina tanto no adenoma pleomórfico quanto no carcinoma mucoepidermóide. Da mesma maneira será feita também uma análise estatística comparando a expressão da molécula de adesão E-caderina, abordada no Plano de Trabalho PIBIC 2012/2013.

Referências Bibliográficas

BÁNKFALVI, A.; KRASSORT, M.; BUCHWALOW, B.; VÉGH, A.; FELSZEGHY, E.; PIFFKÓ, J.; Gains and losses of adhesion molecules (CD44, E-cadherin, and beta-catenin) during oral carcinogenesis and tumour progression. *The Journal of Pathology,* v.198, n.3, p.343-51, 2002.

BAILEY, T.; BIDDLESTONE, L.; SHEPERD, N.; BARR, H.; WARNER, P.; JANKOWSKI, J. Altered cadherin and catenin complexes in the Barrett's esophagus-dysplasia-adenocarcinoma sequence: correlation with disease progression and dedifferentiation. *The American Journal of Pathology,* v. 152, n.1, p.135-44, 1998.

BEAVON, G. The E-cadherin-catenin complex in tumour metastasis:estruture, function and regulation. *European Journal of Cancer*, v.36, p.1607-20, 2000.

BRASANAC, D.; BORICIC, I.; TODOROVIC, V.; TOMANOVIC, N.; RADOJEVIC,S. Cyclin A and beta-catenin expression in actinic keratosis, Bowen's disease and invasive squamous cell carcinoma of the skin. *British Journal of Dermatology*, v.153, n.6, p.1166-75, 2005.

CHANDRASHEKAR, C.; ANGADI, P.; KRISHNAPILLAI, R. β-Catenin Expression in Benign and Malignant Salivary Gland Tumors. *International Journal of Surgical Pathology*, v.19, n.4, p. 433–440, 2011.

CURRAN, S.; MURRAY, I. Matrix metalloproteinases: mollecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis. *European Journal of Cancer*, v. 36, n.13, p.1621-30, 2000.

DELEEUW, W.; BERX, G.; VOS, C.; PETERSE, J.; VAN DE VIJVER M. Simulataneous loss of E-cadherin and catenins in invasive lobular breast câncer and lobular carcinoma in situ. *The Journal of Pathology,* v.183, n. 04, p.404-11, 1997.

EBRAHIMI, M.; BOLDRUP, L.; WAHLIN, Y.; COATES, P.; NYLANDER, K. Decreased expression of the p63 related proteins b-catenin, E-cadherin and EGFR in oral lichen planus. *Oral Oncology,* v.44, n.7, p.634-8, 2008.

ELLIS, G.L.; AUCLAIR, P.L.; GNEPP, D. R. *Surgical Pathology of the salivary glands*. Major Problems in Pathology Series. v. 25. Philadelphia: WB Saunders Company; 1991

ELLIS, G.L.; AUCLAIR, P.L. *Tumors of the Salivary Glands*. In: Armed Forces Institute of Pathology. Atlas of Tumor Pathology. 3rd Series, Fascicle 17. Washington: 1996.

FALEIRO-RODRIGUES, C.; MASEDO-PINTO, I.; PERIERA, D.; FERRIERA, V.M.; LOPES, C.S. Association of E-cadherin and b-catenin immunoexpression with clinicopathologic features in primary ovarian carcinomas. *Human Pathology,* v. 35, n.06, p. 663-669, 2004.

FERRAZZO, K.; NETO, M.; SANTOS, P. Differential expression of galectin-3, β-catenin and cyclin D1 in adenoid cystic carcinoma and polymorphous low-grade adenocarcinoma of salivary glands. *Journal of Oral Pathology & Medicine,* v. 38, n.09, p. 701-707, 2009.

FURUSE, C.; CURY, P.; ALTEMANI, A.; PINTO JÚNIOR, D.; ARAÚJO, N.; ARAÚJO, V. b-catenin and E-cadherin expression in salivary gland tumors. *International Journal of Surgical Patholology*, v.14, n.03, p.212-7, 2006.

GEBESHUBER, C.A.; SLADECEK, S.; GRUNERT, S. Beta-catenin/ LEF-1 signalling in breast cancer--central players activated by a plethora of inputs. *Cells Tissues Organs*, v.85, n 1-3, p. 51-60, 2007.

GENELHU, M.; GOBBI, H.; ARANTES, D.C.; CARDOSO, S.; CASSALI, G. Immunolocalization of β-catenin in pleomorphic adenomas and carcinomas ex-pleomorphic adenomas of salivary glands. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology,* v.15, n.03, p.273-278, 2007.

GIOVANINI, E. G.; SIMONATO, L. E.; CASTRO, E. V.; SOUBHIA, A. M.; CASTRO A. L. Carcinoma mucoepidermóide de palato – descrição de um caso clínico. *Revista da Faculdade de Odontologia*, Araçatuba, v. 12, n. 1, p. 61-64, janeiro/abril 2007.

HAKATA,Y.; FUKUI,H.; SEKIKAWA,A.; YAMAGISHI,H.; ICHIKAWA,K.; TOMITA, S.; IMURA, J.; KAWAMATA, H.; IMAI, Y.; FUJIMORI, T. Expression of β-catenin and REG Iα in relation to cell proliferative ability in salivary gland tumors**.** *Experimental and Therapeutic Medicine*, v.1, n.03, p. 437-443, 2010.

HEISER, P.W.; CANO, D. A.; LANDSMAN, L.; KIM, G.E.; KENCH, J.G.; KLIMSTRA, D.S.; TAKETO, M. M.; BIANKIN, A. V.; HEBROK, M. Stabilization of beta catenin induces pancreas tumor formation. *Gastroenterology*, v.135, n.04, p.1288-300, 2008.

KARAYIANNAKIS, A.J.; NAKOPOULOU, L.; GAKIOPOULOU, H.; KERAMOPOULOS, A.; DAVARIS, P.S.; PIGNATELLI, M. Expression patterns of b-catenin in in-situ and invasive breast cancer. *European Journal of Surgical Oncology*, v.27, n.01, p.31-36, 2001.

KUDO,Y.; KITAJIMA,S.; OGAWA,I.; HIRAOKA,M.; SARGOLZAEI,S.; KEIKHAE, M. R.; SATO, S.; MIYAUCHI, M.; TAKATA, T. Invasion and metastasis of oral cancer cells require methylation of E-cadherin and/ or degradation of membranous β-catenin. *Clinical Cancer Research*, v.10, n.16, p.5455-63, 2004.

KURTZ, K.A.; HOFFMAN, H.T.; ZIMMERMAN, M.B.; ROBINSON, R.A. Decreased E-cadherin but not ß-catenin expression is associated with vascular invasion and decreased suvival in head and neck squamous carcinomas. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery,* v. 134, n.01, p.142-146, 2006.

LEE, C.H.; HUNG, H. W.; HUNG, P.H.; SHIEH, Y. Epidermal growth factor receptor regulates b-catenin location, stability, and transcriptional activity in oral cancer. *Molecular Cancer*, v.9, n.64, p 1-12, 2010.

LIN, Y.C.; WU, M.Y.; LI D.R; WU, X.Y.; ZHENG, R.M. Prognostic and clinicopathological features of E-cadherin, a-catenin, b-catenin, g-catenin and cyclin D1 expression in human esophageal squamous cell carcinoma. *World of Journal Gastroenterology*, v.10, p. 3225-39, 2004.

LOWY, A.M. FENOGLIO-PREISER, C.; KIM, O. J.; KORDICH, J.; GOMEZ, A.; KNIGHT, J.; JAMES, L.; GRODEN, J. Dysregulation of b-catenin expression correlates with tumour differentiation in pancreatic duct adenocarcinoma. *Annals of Surgical Oncology*, v.10, n.03, p.284-290, 2003.

MIGNOGNA, M.D.; PANNONE, G.; LO MUZIO, L.; STAIBANO, S.; BUCCI, E. Catenin dislocation in oral pemphigus vulgaris. *Journal of Oral Pathology & Medicine,* v. 30, n.5, p.268-74, 2001.

MIYAKE, T. TANAKA, Y.; KATO, K.; TANAKA, M.; SATO, Y.; IJIRI, R.; INAYAMA, Y.; ITO, Y.; AOKI, S.; KAWABE, R.; TOHNAI, I. Gene mutation analysis and immunohistochemical study of b-catenin in odontogenic tumors. *Pathology International,* v.56, n.12, p.732-737, 2006.

NEVILLE, Brad. *Patologia Oral & Maxilofacial*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

ODAJIMA, T.; SASAKI, Y.; TANAKA, N.; KATO-MORI, Y.; ASANUMA, H.; IKEDA, T.; SATOH, M.; HIRATSUKA, H.; TOKINO, T.; SAWADA, N. Abnormal beta-catenin expression in oral cancer with no gene mutation: correlation with

expression of cyclin D1 and epidermal growth factor receptor, Ki-67 labeling index, and clinicopathological features. *Human Pathology,* v.36, n.03, p. 234-241, 2005.

PRABHU, S.; KAVERI, H.; REKHA, K. Benign, malignant salivary gland tumors: comparison of immunohistochemical expression of e-cadherin**.** *Oral Oncology,* v.45, n.7, p. 594-599, 2009.

PRADO, R.F.; CONSOLARO, A.; TAVEIRA, L. Expression of β-catenin in carcinoma in pleomorphic adenoma, pleomorphic adenoma and normal salivary gland: immunohistochemical study. *Oral Medicine and Pathology,* v.11, p.E247-E251, 2006.

RODRÍGUEZ-SASTRE, M. A.; GONZÁLEZ-MAYA, L.; DELGADO, R.; LIZANO, M.; TSUBAKI, G.; MOHAR, A.; GARCÍA-CARRANCÁ, A. Abnormal distribution of E-cadherin and beta-catenin in different histologic types of cancer of the uterine cervix. *Gynecologic Oncology*, v. 97, p 330-336, 2005.

ROOSE, J.; HULS, G.; BEEST, M., MOERER, P.; VAN DER HORN, K.; GOLDSCHMEDING, R.; LOGTENBERG, T.; CLEVERS, H. Synergy between tumor suppressor APC and the beta-catenin-Tcf4 target Tcf1. *Science,* v. 285, p. 1923-1926, 1999.

SEIFERT, G.; SOBIN, L.H. The World Health Organization's histological classification of salivary gland tumors. A commentary on the second edition. *Cancer*, v.70, n.2, p. 379-385, 1992.

SHIEH, Y.S.; CHANG, L.C.; CHIU, K.C; WU, C.W.; LEE, H.S. Cadherin and catenin expression in mucoepidermoid carcinoma: correlation with histopathologic grade, clinical stage, and patient outcome. *Journal of Oral Pathology & Medicine,* v. 32, p. 297-304, 2003.

STEPANOVA, L.; FINEGOLD, M.; DEMAYO, F.; SCHMIDT, J.W. The oncoprotein kinase chaperone CDC37 functions as an oncogene in mice and collaborates with both c-myc and cyclin D1 in transformation of multiple tissues. *Molecular and Cellular Biology,* v. 20, p. 4462-4473, 2000.

TSUKAMOTO, A.S.; GROSSCHEDL, R.; GUZMAN, R.C.; PARSLOW, T.; VARMUS, H.E. Expression of the int-1 gene in transgenic mice is associated with mammary gland hyperplasia and adenocarcinoma in male and female mice. *Cell*, v. 55, p. 619-625, 1988.

VALIZADEH, A.; KARAYIANNAKIS, A.J.; EL-HARIRY, I.; KMIOT, W.; PIGNATELLI, M. Expression of E-cadherin-associated molecules (alpha-, beta-, and gamma-catenins and p120) in colorectal polyps. *The American Journal of Pathology,* v.150, n.06, p.1977-84, 1997.

WIJNHOVEN, B.;, DINJENS, W.; PIGNATELLI, M. E-cadherin–catenin cell-cell adhesion complex and human cancer. The *British Journal of Surgery*, v. 87, n.08, p.992-1005, 2000.

WONG, N.A.C.S.; PIGNATELLI, M. b-Catenin: a linchpin in colorectal carcinogenesis? *American Journal of Pathology,* v.160, p. 389-401, 2002.

FREQUÊNCIA DO SNP -420 (G>C) NO GENE DA RESISTINA EM INDIVÍDUOS COM DIABETES MELLITUS TIPO 2*

Yamamoto, G.Y.Y.[1]; Cabral, E. R.; Santos, E.A; Pinto, J.F.N.; Dos Santos, W.G[2].

gabriela.yumi.y@gmail.com, elianeje@hotmail.com, jeffernando@hotmail.com, wagbrpt@hotmail.com

1.Orientanda 2. Orientador

Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Goiás Campus Jataí.

RESUMO

Em formas raras de diabetes, mutação em um único gene pode resultar na doença. Entretanto no caso de diabetes tipo 2 vários genes parecem estar envolvidos. Estes genes podem apresentar apenas uma única variação em suas sequências e estas variações podem ser extremamente comuns. A dificuldade está em encontrar uma ligação entre essas variações únicas comuns denominadas polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) com o risco aumentado para desenvolvimento de diabetes. Pesquisas têm identificado alguns destes genes incluindo o gene *RETN* supostamente envolvidos na indução de resistência tecidual à insulina. Vários SNPs foram identificados neste gene cujo produto, resistina, é um polipetídeo de 12,5 kDa rico em cisteína. Entretanto SNPs funcionais ainda permanecem por serem elucidados. Neste trabalho, estudamos o SNP -420 (G>C) localizado na região promotora do gene *RETN* para avaliar a sua frequência em indivíduos diabéticos e não diabéticos. A detecção do SNP foi realizada pela técnica de PCR-RFLP utilizando iniciadores específicos. Dos 200 indivíduos analisados 99(49,5%) eram diabéticos e 101(50,5%) não diabéticos. Entre a população total analisada 161 (80,5%) apresentaram o polimorfismo. Do grupo de indivíduos diabéticos, 76 (76,8%) apresentaram o polimorfismo enquanto no grupo de indivíduos não diabéticos foram 85 (84,2%). A diferença nas frequências observadas entre os dois grupos não foi significativa utilizando o teste estatístico do $\chi 2$ sugerindo que não há associação entre o SNP -420 (G>C) e o risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2.

Palavras-chave: diabetes, resistina, polimorfismos, snps.

Revisado pelo orientador

*Trabalho de projeto original alterado devido a problemas operacionais

Introdução

O Diabetes Mellitus (DM) é um importante problema de saúde pública e vem recebendo cada vez mais atenção em todo o mundo. Sua incidência e prevalência estão aumentando, alcançando proporções epidêmicas. A evolução do DM2 está associada a complicações que comprometem a produtividade, a qualidade de vida e a sobrevida dos indivíduos (SBD, 2002)

Dados estatísticos mostram uma previsão de aumento de 150 para 300 milhões de pessoas afetadas entre os anos de 2000 e 2025 (McCARTHY, 2004). Este prospecto o posiciona entre uma das principais doenças crônicas da atualidade, necessitando da implementação de medidas preventivas e controle que incluem a caracterização das bases genéticas e moleculares desta patologia.

Entre os tipos de diabetes, o diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), compõe cerca de 90% dos casos da doença documentados no mundo. As patologias provocadas por ele resultam de uma interação entre a predisposição genética e influência do meio ambiente como alimentação desequilibrada e obesidade. DM2 é definida como uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina de exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica, freqüentemente acompanhada de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial.

Vários Recentemente, alguns genes foram identificados como possíveis marcadores relacionados ao desenvolvimento de DM2. Entre estes, podemos citar o gene da resistina, um hormônio do grupo das adipocinas (peptídeos sinalizadores secretados pelos adipócitos), identificado em 2001 e cuja expressão se mostrou inibida pelo tratamento com drogas anti-diabéticas tiazolidinedionas (TZDs) (QATANANI, 2007).

Pode-se afirmar que, a hipersecreção da resistina em animais está diretamente relacionada à ação ineficaz da insulina, enquanto que o tratamento com TZDs, assim como a neutralização da proteína resistina mostram efeito hipoglicêmico e aumento na sensibilidade à insulina. A correlação entre elas e a observação de sinais clínicos referentes à DM2 levaram os pesquisadores à se interessarem e estudarem as mutações genéticas relacionadas a esse quadro.

Os constantes estudos e pesquisas levaram a identificação de alguns polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) no gene da resistina, tais como na região

promotora, o SNP -420 (C>G) o qual está sendo associado com a prevalência de diabetes.

Com base nas novas ferramentas moleculares, o estudo de SNPs podem fornecer informações indispensáveis que promovam a elucidação da genética molecular desta doença que abrange pessoas em todo o mundo, gerando subsídios para orientação de medidas de prevenção, diagnóstico e profilaxia.

Objetivos

Diante da crescente importância do gene da resistina no processo de resistência à insulina, este trabalho teve como objetivo identificar a presença do polimorfismo SNP-420 (C>G) no gene da resistina em pacientes diabéticos e não diabéticos (controle) residentes na cidade de Jataí-GO, determinar a frequência deste polimorfismo nos diferentes grupos de indivíduos e verificar a existência de associação entre a presença de polimorfismos no gene da resistina e a prevalência de DM2.

Metodologia

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (UFG), protocolo 060/2009 e pelo Conselho Nacional de Saúde/Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), parecer 006/10.

O material utilizado neste estudo foi o sangue, obtido por punção venosa de veias periféricas do paciente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e esclarecido. O sangue foi coletado e transferido para tubos contendo solução comercial de anticoagulante EDTA K3 (ácido etilenodiamino tetracético K3) em proporção para 4ml de sangue. O DNA genômico foi extraído da fração leucocitária do sangue utilizando protocolo experimental (BARLETT, 2002) ou, alternativamente, utilizando-se um kit comercial de extração (AxyPrep™ Blood Genomic DNA Miniprep Kit).

A concentração e pureza do DNA nas amostras foram determinadas por espectrofotometria de luz UV com espectrofotômetro Biochrom Libra S21, utilizando-se cubetas de Quartzo com capacidade de 600µL. Uma pequena amostra da solução de DNA extraído de cada indivíduo foi diluída 100 vezes em tampão TE para esta análise. A pureza do DNA extraído foi ainda confirmada através de eletroforese em gel de agarose e análise das bandas de DNA.

A análise do SNP -420 foi feita por PCR-RFLP, utilizando-se os primers descritos por (Kunnari *et al* (2005) (Tabela 1), capazes de gerar um fragmento de 533 pb correspondendo ao gene da resistina.

Os produtos amplificados foram digeridos por 5 horas com a enzima de restrição *Bbs* I (isosquizômero de Bpi I) e em seguida analisados em gel de agarose 2%, corados com brometo de etídeo para visualização e fotodocumentação sob luz UV.

Tabela 1. Iniciadores utilizados para a amplificação.

Referência	Seq 5' – 3'	Tamanho (pb)	Tm
SNP -420 Forward	TGTCATTCTCACCCAGAGACA	21	60,6
SNP+-420 Reverse	TGGGCTCAGCTAACCAAATC	20	60,4

Para a análise de probabilidade de independência ou associação da presença do SNP-420 e o risco de desenvolvimento de diabetes melittus tipo 2 foi utilizado o Teste $\chi 2$ considerando um nível de significância $p < 0,05$.

Resultados

A presença do SNP -420 (C>G) é caracterizada pela alteração de um nucleotídeo G por C na posição -420 contada a partir do sítio de início da tradução ATG, alterando assim um sítio de restrição para enzima *Bbs* I existente normalmente. No gene normal, não alterado, a digestão do fragmento amplificado com esta enzima gera dois fragmentos de 330 pb e 203 pb. No gene mutado, devido a inativação do sítio de restrição, não é gerado nenhum fragmento de digestão. Resultado representativo de um gel de agarose contendo amostras de DNA obtidas de alguns indivíduos diabéticos está mostrado na Figura 1. Indivíduos homozigotos para o gene não mutado (C/C) deveriam apresentar apenas duas bandas de 330 pb e 203 pb. Indivíduos heterozigotos (C/G) como mostrado na ultima canaleta do gel apresentam além das bandas digeridas, uma banda adicional de 533 pb correspodente ao alelo alterado. Por outro lado, indivíduos homozigotos para o gene alterado apresentam apenas uma banda de 533 pb como mostrado nas canaletas 3 e 5 do gel de agarose já que os sítios de restrição foram abolidos pelo polimorfismo (Figura 1).

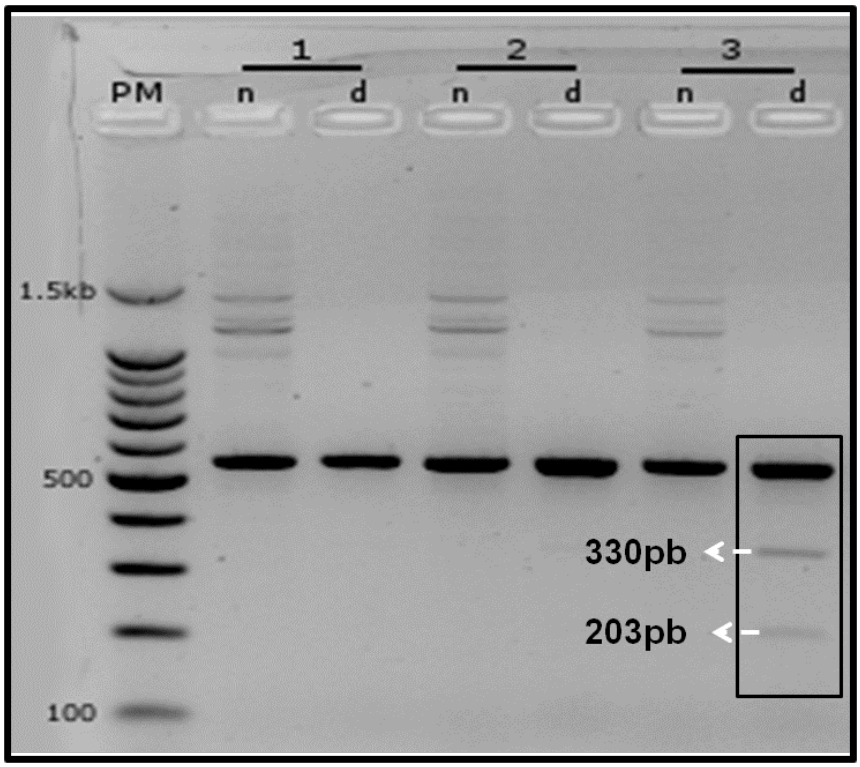


Figura 1: Perfil de bandas obtido após digestão dos produtos de PCR SNP-420 (C>G) com a enzima de restrição *Bbs* I. Amostras digeridas (d) e não-digeridas (n).

Dos 200 indivíduos analisados para o polimorfismo SNP -420 (G>C), 101 (50,5%) eram não diabéticos e 99 (49,5%) diabéticos. Dos indivíduos não diabéticos 85 (84,2%) apresentaram o polimorfismo SNP -420 (G>C), dos quais 31 (36,5%) eram homozigotos mutado (G/G) e 54 (63,5%) eram heterozigotos (G/C). Dezesseis indivíduos não diabéticos (15,8%) não apresentaram este polimorfismo, sendo, portanto homozigotos (C/C). Entre os 99 indivíduos diabéticos analisados 76 (76,8%) apresentaram este polimorfismo no gene da resistina dos quais 26 (34,2%) eram homozigotos (G/G) e 50 (65,8%) eram heterozigotos (G/C) (Tabela 2). Vinte e três indivíduos diabéticos (23,2%) não apresentaram o polimorfismo sendo portanto homozigotos (C/C). Na população total investigada neste estudo a frequência do polimorfismo SNP -420 (G>C) foi de (80,5%). As frequências genotípicas dos genes mutados e selvagens na população de indivíduos diabéticos e não-diabéticos estão mostradas na tabela 3.

Tabela 2. Frequência do polimorfismo SNP -420 (G>C) em indivíduos diabéticos e não-diabéticos

Grupo de Indivíduos	Presença do SNP-420 (%)		TOTAL
	SIM	NÃO	
Diabéticos	76 (76,8 %)	23 (23,2 %)	99 (49,5%)
Não Diabéticos	85 (84,2 %)	16(15,8 %)	101(50,5 %)
TOTAL parcial	161 (80,5%)	39(19,5%)	200 (100%)

$\chi 2$ calculado =1.3007<$\chi 2$ tabelado para $p<0.05$ diferença não significativa pelo teste do Qui quadrado

Tabela 3: Frequências Genotípicas do gene da resistina com ou sem o SNP-420 (G>C) nos indivíduos diabéticos e não-diabéticos.

Diabetes	Frequências genotípicas (%)			Total
	SNP-420(G>C)		selvagem	
	Heterozigoto	Homozigoto	homozigoto	
	GC	GG	CC	
SIM	50(0,505)	26(0,263)	23(0,232)	99(1)
NÃO	54(0,535)	31(0,307)	16(0,158)	101(1)
Total	104	57	39	200

Análise estatística pelo teste do Qui-quadrado para verificar a existência de uma associação entre a presença do SNP-420 e o risco de desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 mostrou não haver nenhuma associação para um nível de significância <0,05.

Discussão

Estudos de associação genética envolvendo o gene *Retn* e a DM2 têm gerado resultados discordantes e por vezes inconsistentes quando diferentes tipos de polimorfismos neste gene têm sido analisados. Na população japonesa o SNP-420 parece apresentar uma associação com os níveis plasmáticos de resistina de acordo com Onuma et al. (2010). Em nossos estudos a frequência deste SNP em indivíduos diabéticos e não diabéticos não apresentou diferença e apesar de não temos realizado uma medida dos níveis plasmáticos de resistina é possível que em populações diferentes este polimorfismo possa atuar de maneira diferente e em associação com outros fatores

na patogênese do diabetes. O efeito interativo entre o genótipo e obesidade também tem sido reportado. É possível que em indivíduos obesos a presença desse polimorfismo possa atuar como um fator de risco para diabetes. Essa observação nos estimula a desenvolver estudos adicionais separando grupos de diabéticos obesos e não obesos e compará-lo com não diabéticos.

Contrariamente aos resultados obtidos aqui a presença do SNP -420 foi reportada com frequência significativamente maior entre diabéticos do tipo 2 do que entre indivíduos saudáveis em uma população Tailandesa (SURIAYAPROM *et al.*, 2009). Efeito interativo entre o genótipo com esse SNP e obesidade também tem sido reportado. Adicionalmente os níveis séricos de resistina se mostraram mais altos entre os diabéticos que apresentavam o polimorfismo SNP -420 em homo ou heterozigose.

Vale ressaltar que o gene da resistina não é certamente o único gene ou fator que pode estar relacionado com a doença. O possível envolvimento de outros genes no desenvolvimento desta doença já foi descrita, como por exemplo o gene *TCF7L2*, no qual polimorfismos foram associados à susceptibilidade genética para DM2 em Islandeses, Dinamarqueses, populações Euro-Americanas e Chineses (REN *et al.*, 2008). Outro lócus de interesse é o *HHEX,* no qual uma variação na região flanqueadora 3' (SNPrs7923837) foi associada com uma liberação alterada de insulina estimulada por glicose, representando desta forma um alelo de risco para a disfunção das células β e potencialmente conferindo suscetibilidade aumentada destas células a fatores ambientais adversos. (STAIGER *et al*., 2008).

Além destes, diversos outros fatores podem ter relação com desenvolvimento de DM2 como: ABCC8 (receptor de sulfoniuréias); CAPN10 (Enzima Calpaína 10); GCGR (recepto de glucagon); GCK (glicoquinase); GLUT2 (transportador de glicose); HNF4A (fator de transcrição); INS (insulina); INSR (receptor de insulina); KCNJ11 (canal de potássio); LPL (lípase lipoproteica); entre outros (DEAN & McENTYRE, 2004).

A técnica de PCR-RFLP demonstrou ser bastante eficaz e relativamente de fácil execução para identificação e genotipagem deste polimorfismo na população.

Considerações finais

A patogênese da Diabetes Mellitus tipo 2, como a de outras doenças crônicas não transmissíveis, é complexa e de difícil caracterização. Na DM2 especificamente, diversas adipocinas integram o conjunto de fatores de risco já conhecidos como tabagismo, obesidade, dieta habitual e sedentarismo, tornando a análise de um fator isolado pouco robusto para determinar a etiologia desta síndrome.

Após realização do presente estudo, conclui-se que o polimorfismo analisado não apresenta uma associação com a DM2 na população analisada. Apesar das limitações da análise de associação genética de SNPs, estudos neste sentido são pertinentes e somam conhecimento valioso na compreensão dos fatores genéticos associados a DM2. Atualmente técnicas mais avançadas de análise de associação genômica global (GWA) estão sendo utilizadas para avaliar mais polimorfismos SNPs simultaneamente em vários genes, fornecendo uma alternativa às limitações da PCR-RFLP.

Nos últimos dez anos a nossa compreensão sobre a resistina em seus diversos aspectos tem aumentado e revelado a sua relevância fisiológica e clínica. A resistina não aparenta ser um gene estritamente necessário para o desenvolvimento da DM2. Entretanto, em vista dos resultados obtidos por outros pesquisadores há indícios de que outros SNPs neste lócus interaja com a obesidade de modo a determinar um risco aumentado para resistência à insulina e DM2. Caso esta informação seja consolidada e os resultados reproduzidos em diversas outras populações, estes dados podem estabelecer a base para a identificação de indivíduos com risco aumentado, orientando-os assim a redução de peso e alimentação adequada a seu "status genético".

Referências

BARLETT, J. M. S.; WHITE, A. **Methods in Molecular Biology: PCR Protocols**. 2.ed. Totowa – NJ: Humana Press, 2002. p.29-31.

DEAN, L. & McENTYRE, J. **The Genetic Landscape of Diabetes.** Bethesda: NCBI, 2004.

MA, X. *et al*. Genetic Variants at the Resistin Locus and Risk of Type 2 Diabetes in Caucasians. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Philadelphia, v.87, n.9, p.4407-4410, 2002.

McCARTHY, M. I. Progress in defining the molecular basis of type 2 diabetes mellitus through susceptibility-gene identification. **Hum. Mol. Genet.**, Oxford, v.13, p.33-41, Jan. 2004.

OSAWA, H. *et al*. The G/G Genotype of a Resistin Single-Nucleotide Polymorfism at -420 Increases Type 2 Diabetes Mellitus Susceptibility by Inducing Promoter Activity through Specific Binding of Sp1/3. **Am. J. Hum. Genet.**, Chicago, v.75, p.678-686, 2004.

QATANANI, M.; LAZAR, M. L. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. **Genes dev.**, Cold Spring Harbor, v.21, p.1443-1455, 2007.

REN, Q.; Han, X. Y.; Wang, F. *et al.* Exon sequencing and association analysis of polymorphism in TCF7L2 whit type 2 diabetes in Chinese population. **Diabetologia.,** Berlin, v.51, p.1146-52, 2008.

SENTINELLI, F. Human *Resistin* Gene, Obesity, and Type 2 Diabetes: Mutation Analysis and Population Study. **Diabetes**, New York, v.51, p.860-862, Mar. 2002.

STAIGER, H.; STANČAKOVÁ, A.; ZIlINSKAITE, J. et al. A Candidate Type 2 Diabetes polymorphism Near the HHEX Locus Affects Acute Glucose-Stimulated Insulin Release in European Populations. **Diabetes.**, New York, v.57, p. 514-517, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, Consenso brasileiro sobre diabetes 2002: diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito do tipo 2. – Rio de Janeiro: Diagraphic, 2003.

SURIYAPROM, K.; PHONRAT, B.; NANJUNTRA, P. *et al.* The +299 (G>A) Resistin Gene Polymorphism and Susceptibility to Type 2 Diabetes in Thais. **J. Clin. Bichem. Nutr.**, Mitake-cho, v.44, p.104-110, 2009.

TUOMILEHTO, J. *et al*. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.344, n.18, p.1343-1350, May 2001.

WINNICK, J. J. *et al*. Short-Term Aerobic Exercise Training in Obese Humans with Type 2 Diabetes Mellitus Improves Whole-Body Insulin Sensitivity through Gains in Peripheral, not Hepatic Insulin Sensitivity. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Philadelphia, v.93, n.3, p.771-778, Mar. 2008.

A MULHER RURAL NO MUNICÍPIO DE JATAÍ-GO[1]

Gabriella Ferreira Alves – Orientanda - EF/CAJ/UFG - gabriellaufg@hotmail.com
Rodrigo Rezende Assis – Orientando – EF/CAJ/UFG – rezende_jti@hotmail.com
Cátia Regina A. A. Leal – Orientadora – EF/CAJ/UFG - catiaassisleal@gmail.com

RESUMO: Este trabalho é proveniente do projeto de pesquisa intitulado "A Mulher Rural no Cenário de Desenvolvimento Agrícola no Munícipio de Jataí-GO" e tem como objetivos elucidar a situação da mulher rural nos assentamentos de reforma agrária no cenário de desenvolvimento rural no município de Jataí – GO no que se refere: ao desequilíbrio demográfico da população desse município; a identificação da relação e/ ou desequilíbrio demográfico dessa população; ao levantamento da atividade realizada pela população, especialmente feminina e os papéis familiares assumidos por elas. A pesquisa foi desenvolvida com apoio do Programa Institucional de Iniciação Cientifica aprovada pelo edital PIBIC (2012-2013). Os procedimentos metodológicos adotados foram pesquisa bibliográfica e pesquisa documental. Com a pesquisa conseguimos chegar aos objetivos propostos, constatamos que não há desequilíbrio demográfico da população assentada no município de Jataí – GO. A população feminina assentada desenvolve atividades relacionadas ao lar e o cuidado com quintal e animais de pequeno porte, os homens trabalham com serviços braçais e com a lavoura e pecuária.

Palavras – Chave: Desenvolvimento rural; Reforma agrária; Mulher rural.

[1] Revisado pela orientadora.

INTRODUÇÃO

Este trabalho é oriundo da pesquisa intitulada "A Mulher Rural no Cenário de Desenvolvimento Agrícola no Munícipio de Jataí-GO", desenvolvida pelo Programa Institucional de Iniciação Cientifica aprovada pelo edital PIBIC (2012-2013).

Os objetivos deste trabalho são: Compreender a situação da mulher nos assentamentos de reforma agrária no cenário de desenvolvimento rural no município de Jataí - GO no que se refere ao desequilíbrio demográfico da população desse município; identificar a relação e/ ou desequilíbrio demográfico dessa população; levantar qual a atividade realizada pela população, especialmente feminina e os papéis familiares.

Para auxiliar na busca por esses objetivos utilizamos referenciais teóricos diversos que estão relacionados à temática de gênero e desenvolvimento rural. Utilizamos também a pesquisa documental, levando em consideração indicadores disponibilizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), pelo Observatório de Gênero, pela Secretaria de Políticas para as Mulheres, pelo Núcleo de Estudos, Pesquisa, e Extensão em Agricultura Familiar (NEAF) da Universidade Federal de Goiás, e, predominantemente, documentos e dados gerados do projeto financiado pelo edital MCT/CNPq/SPM-PR/MDA Nº 020/2010.

Nessa pesquisa as mulheres tiveram papel de destaque, procuramos identificar como está a situação da mulher hoje na reforma agrária. As mulheres ao longo das últimas décadas vêm lutando por melhorias em suas condições de vida e tem conquistado gradativamente seu espaço na sociedade.

No final do ano de 1970 surgem os movimentos feministas no Brasil. Segundo Schaaf (2001), com as reivindicações feministas no campo rio-grandense nesta década, a estrutura agrícola foi transformada profundamente, ocasionando a expulsão dos pequenos agricultores e formando empresários rurais, e possibilitando a diminuição da supremacia masculina e um fortalecimento feminino na região. Esses movimentos feministas no campo rio-grandense eram independentes de sindicatos e da igreja, e eram norteados por princípios de direitos sociais e cidadania das trabalhadoras rurais.

Na década de 1980 a Comissão Nacional da Mulher Trabalhadora da Central Única dos Trabalhadores – CUT, como primeira associação sindical livre nacionalmente, funcionou como a porta voz das mulheres. Quanto aos benefícios dessa categoria, elas obtiveram o direito de serem titulares da terra concedida em conjunto com seus maridos ou companheiros como beneficiárias da reforma agrária.

Com o crescimento dos movimentos feministas no Brasil, ocorreram transformações profundas no sistema político do país, como nas formas de gênero, na divisão sexual de trabalho e na saúde. Também tivemos avanços no número de mulheres na universidade, na reestruturação agrícola, nas relações produtivas e reprodutivas de gênero, como novos acessos de linhas de crédito direcionados às mulheres.

> Os movimentos sociais foram conexões importantes entre as arenas domésticas e política e parecem juntar as mulheres com base em suas próprias necessidades e interesses. Ademais, nos movimentos, as mulheres aprendem sobre política e desenvolvem sua própria identidade política. Várias autoras informam sobre o processo de empowerment, ocorre a partir da participação nos movimentos de mulheres. (SCHAAF, 2001, p. 47)

O termo gênero se refere aos papéis atribuídos a homens e mulheres, as formas que cada um desempenha no trabalho e na sociedade. Ainda hoje existem preconceitos em relação às funções que cada um desenvolve, pois, as mulheres são vistas como incapazes de trabalhar da mesma forma ou de forma superior aos homens. As mulheres são vistas como donas do lar, submissas a família e o salário destas, quando trabalham fora de casa, são inferiores aos dos homens. Diante disso, Scott citado por Schaaf (2001) diz:

> O gênero é um elemento constitutivo de relações sociais baseadas em diferenças percebidas entre os sexos e é uma maneira primária de atribuir significado às relações de poder. (p. 55)

O conceito de gênero é bastante amplo em termos teóricos e em diferentes níveis considerado como estruturador nas condições de reprodução e produção cultural e ideológica construída socialmente. Portanto as mulheres têm enfrentado de diferentes formas essas desigualdades, se organizando politicamente para reelaboração dos campos de atuação e dos papéis sociais atribuídos para ambos os sexos.

Os movimentos sociais mobilizaram as Mulheres Rurais do Rio Grande do Sul em 1989 com objetivo de obter conquistas e autonomia para seus espaços, Schaaf (2001, p. 166) afirma que:

> A mulher teria direito a uma vida digna com respeito e prazer como pessoa plena. É uma resposta à mulher trabalhadora rural na realidade: esposa, mãe a serviço de todos, anulando seu próprio ser. Para garantir essa recuperação da inserção social das agricultoras de forma adequada, é necessária sua participação política, uma vez que o governo somente cederia com pressão, defendendo sempre os interesses do neoliberalismo.

Posto isso, e a par da realidade pesquisada, certificamos que a microrregião do Sudoeste de Goiás é composta por 18 municípios e cerca de 70 assentamentos de reforma agrária com um número aproximado de 2.902 famílias assentadas (DATALUTA, 2009). O município objeto dessa pesquisa, Jataí-GO, totaliza cinco assentamentos, com 241 famílias, 556 habitantes dentre eles 259 mulheres e 297 homens. Esse é o cenário do município pesquisado. Achamos importante analisar a realidade dos assentamentos de reforma agrária desse município e identificar a situação das mulheres nesse cenário de desenvolvimento agrícola da região. Desenvolvimento marcado pela contradição entre o empoderamento das grandes propriedades e o crescimento/consolidação da reforma agrária.

METODOLOGIA

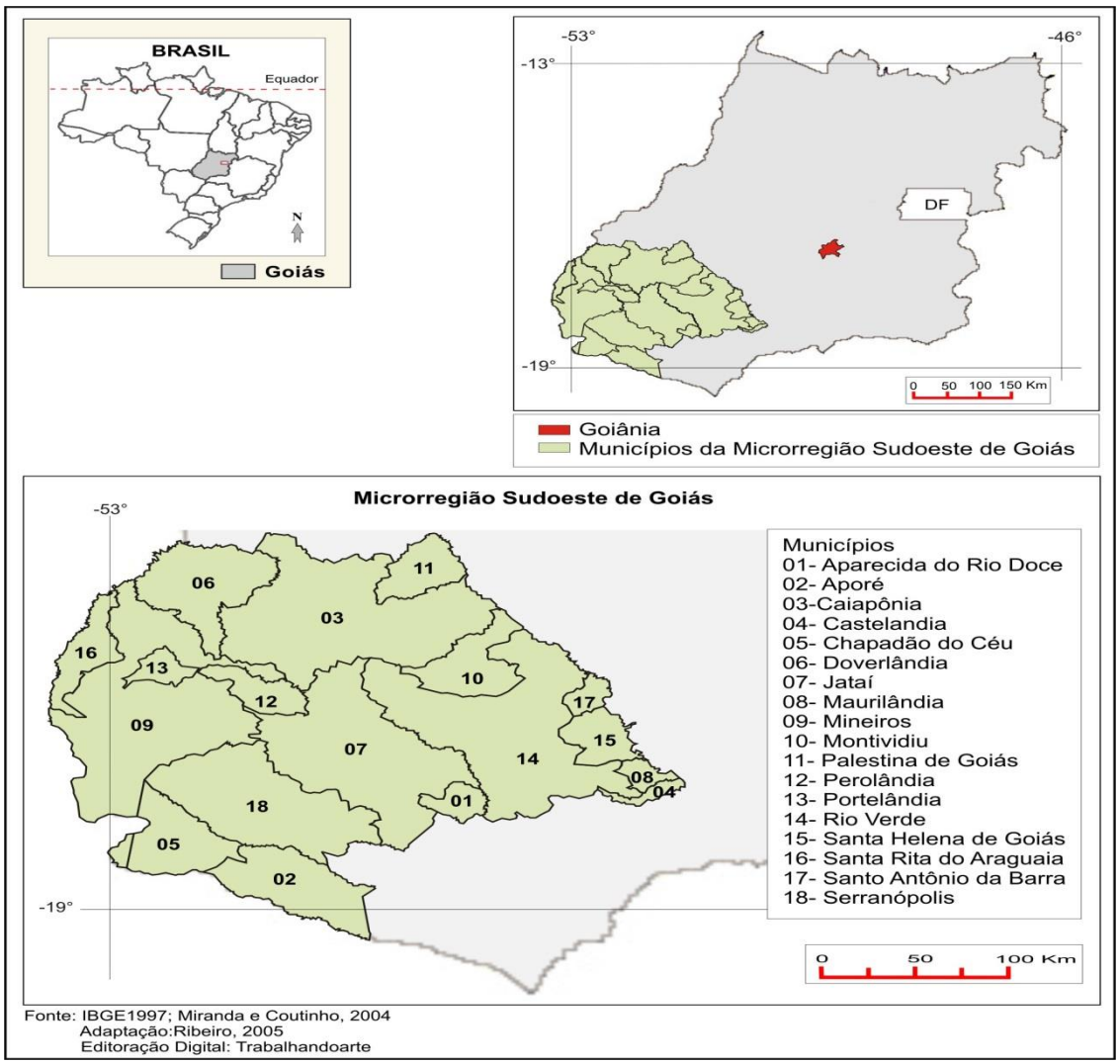
Para auxiliar na busca dos objetivos propostos utilizamos referenciais teóricos diversos que estão relacionados à temática de gênero e desenvolvimento rural. Utilizamos também a pesquisa documental, levando em consideração indicadores disponibilizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), pelo Observatório de Gênero, pela Secretaria de Políticas para as Mulheres, pelo Núcleo de Estudos, Pesquisa, e Extensão em Agricultura Familiar (NEAF) da Universidade Federal de Goiás, documentos e dados gerados do projeto de pesquisa financiado pelo edital MCT/CNPq/SPM-PR/MDA Nº 020/2010.

Utilizamos o referencial teórico para melhor compreensão do papel da mulher rural especialmente nas relações estabelecidas no trabalho desempenhado no lote, o cuidado com a família e as perspectivas da agricultura familiar. Com o recurso dos documentos e dados gerados pela pesquisa financiada pelo edital N° 020/2010 podemos analisar e compreender as questões estabelecidas como objetivos da pesquisa.

RESULTADOS/ DISCUSSÃO

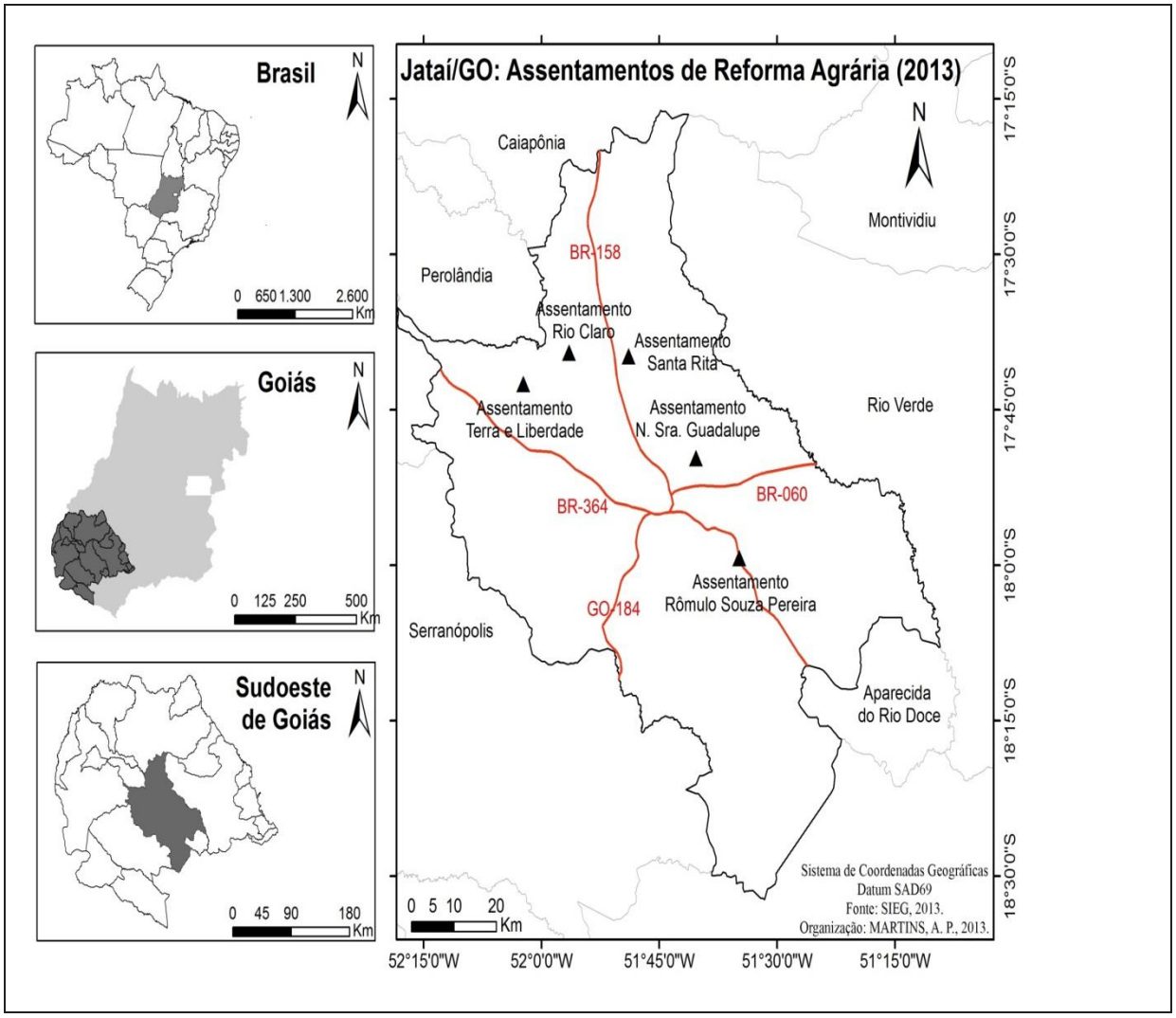
A microrregião Sudoeste de Goiás é composta por 18 municípios e cerca de 70 assentamentos de reforma agrária com um total de 2.902 famílias assentadas (DATALUTA, 2009). Para fins dessa pesquisa fez-se um recorte de um município a ser investigado: Jataí. Nesse município soma-se 6 assentamentos de reforma agrária, porém um deles não foi pesquisado por não ser considerado como um assentamento com características de assentamento de reforma agrária.

Figura 01: Localização da Microrregião Sudoeste de Goiás



Nos cinco assentamentos de reforma agrária do município Jataí-GO, *locus* da pesquisa, possui 241 famílias e 553 habitantes. Dessa população 189 famílias, 78,42%, foram visitadas. Alguns dados gerados por essa pesquisa serão apresentados a seguir.

Figura 2 – Localização dos Assentamentos de reforma agrária do município de Jataí-GO.



Fonte: Relatório de pesquisa do edital MCT/CNPq/ SPM – MDA. N.020/2010.

O processo de implantação da reforma agrária no município de Jataí-GO foi importante para minimizar o êxodo rural e motivar as pessoas a retornarem ao campo, principalmente as mulheres o que podemos visualizar na tabela 1. Na tabela 2 visualizamos a quantidade de famílias existentes em cada assentamento que possuem no total, 241 famílias, 556 habitantes sendo 297 homens e 259 mulheres.

TABELA 1 - Indicadores demográficos de Jataí

ANO	2010		2012	
Região	**Urbana**	**Rural**	**Assentamento Rural**	**Urbano**
Homens	40.108	3.853	297	3.556
Mulheres	40.902	3.143	259	2.884
Total	81.010	6.996	556	6.440

Fonte: Relatório de pesquisa do edital MCT/CNPq/ SPM – MDA. N.020/2010.

TABELA 2 - Número de famílias por assentamento

Assentamento	Número de famílias
Três T	85
Guadalupe	53
Gurita	63
Rio Claro	17
Santa Rita	23
Total	241

Fonte: Relatório de pesquisa do edital MCT/CNPq/ SPM – MDA. N.020/2010.

Realizando um comparativo entre a população rural fora do assentamento e a população assentada, percebemos que a maneira de organização dos assentamentos de reforma agrária possibilita a diminuição da saída da população feminina da zona rural, isso se deve pela distribuição mais igualitária de tarefas, a mulher passa a ser parte integrante do que é produzido dentro dos assentamentos.

A tabela 3 demonstra a população dos assentamentos por faixa etária.

TABELA 3 - População dos assentamentos por faixa etária

Faixa Etária	0 a 12 anos	13 a 21 anos	22 a 35 anos	36 a 59 anos	60 anos ou mais
Homens	44	39	43	128	43
Mulheres	39	33	34	113	40
Total	83	72	77	241	83

Fonte: Relatório de pesquisa do edital MCT/CNPq/ SPM – MDA. N.020/2010.

A população feminina é maior entre 36 e 59 anos de idade, ou seja, são mulheres que já não estão mais na fase de reprodução. Essa mesma população é responsável pelos cuidados da família, crianças e idosos assentados. Também identificamos que as mulheres jovens são minoria nos assentamentos.

Na tabela 4 percebemos que as mulheres assentadas desenvolvem atividades predominantemente com animais de pequeno porte, horticultura (quintal) e trabalho doméstico. Os homens ficam com trabalho considerado pesado como, por exemplo, a lavoura e pecuária.

TABELA 4 - Atividades que desenvolvem no sítio

Atividades	Mulher	Homem
Lavoura	68	130
Pecuária	66	112
Aves e pequenos animais	123	67
Horticultura/floricultura	76	39
Apicultura/ sericultura	4	1
Atividade não especificada	2	1

Pesca/aquicultura	1	1
Total	340	351

Fonte: Relatório de pesquisa do edital MCT/CNPq/ SPM – MDA. N.020/2010.

Um dado significativo, que ao confrontado com os elementos apontados acima nós leva a algumas reflexões, é o relacionado a renda das famílias assentadas.

Tabela 5 – Renda em salários mínimos por lote

	No lote	**Fora do lote**
Menos de um salário mínimo	73	26
De um a dois salários mínimos	74	35
De dois a quatro salários mínimos	8	3
Mais de cinco salários	1	1
Nenhuma renda	33	124
Total	189	189

Fonte: Relatório de pesquisa do edital MCT/CNPq/ SPM – MDA. N.020/2010.

Percebe-se então, observando as tabelas 4 e 5 que o trabalho das mulheres está relacionado com as lidas domésticas, tarefas quase sempre, ou nunca, remuneradas. Além disso, identifica-se a pouca ou inexistência de renda por parte das famílias assentadas. Percebe-se acima que das 189 famílias questionadas, a maior parte delas não possui nenhuma tipo de renda ou está entre os que obtêm renda menos que um salário mínimo. (LEAL, 2013)

Esse dado revela que, embora os assentamentos venham se constituindo como forma de minimizar ou reverter o êxodo rural feminino, esses últimos dados mostram que a dificuldade de acesso ou a ausência de políticas públicas direcionada para as famílias, especialmente as mulheres assentadas pode fazer com que, em curto prazo, essa situação se reverta e ela abandone novamente o campo por falta de trabalho, renda e condições dignas de (re)produção.

As tabelas a seguir, demonstram, respectivamente, sobre as condições de moradia no que se refere: material de construção das casas, acesso a energia elétrica, quantidade de aparelhos eletrodomésticos, origem da água utilizada no domicílio e escoação dos dejetos sanitários. Esses elementos são muito importantes por serem elucidativos das condições de vida dessa população, e assim podem ser utilizados para entender e avaliar essa realidade.

Tabela 6 – Condições de moradia dos domicílios

Material predominante na construção das casas	
Alvenaria com revestimento	78
Alvenaria sem revestimento	50
Madeira aproveitada	44
Madeira para construção	1
Taipa	3
Vazias	13[2]
Total	189

Fonte: Relatório de pesquisa do edital MCT/CNPq/ SPM – MDA. N.020/2010.

Desses domicílios, apenas 50 possui acesso ou instalação em seu lote de energia elétrica, 137 assetados não possuem energia elétrica ou outra fonte de geração de energia em seus lotes. Quanto ao acesso a água a realidade é a seguinte: 115 famílias tem acesso a água por meio de nascentes em seus lotes ou se outros; 28 possuem poços artesianos; 23 declararam outras formas de acesso a água e 23 não responderam a questão.

Tabela 7 – Itens existentes no domicílio

TEM NO DOMICÍLIO:	**SIM**	**NÃO**	**VAZIAS**	**Total**
RÁDIO	153	26	10	189
TELEVISÃO	96	84	9	189
MÁQ. DE LAVAR ROUPA/ TANQ.	91	89	9	189
GELADEIRA	84	96	9	189
TELEFONE CELULAR	175	5	9	189
TELEFONE FIXO	2	178	9	189
MICROCOMPUTADOR	6	174	9	189
MICROCOMPUTADOR C/ ACES. À INTERNET	0	178	11	189
FREESER	59	121	9	189

Fonte: Relatório de pesquisa do edital MCT/CNPq/ SPM – MDA. N.020/2010.

Os dados da tabela 6 e 7 revelam que 189 dos domicílios visitados, apenas 78 apresentam moradias mais confortáveis feitas com alvenaria com revestimento, aproximadamente 42%. As demais moradias (52% retirando-se a porcentagem vazia) estão divididas nos grupos: alvenaria sem revestimento 50, madeira aproveitada 44, madeira de construção 1 e Taipa 3 domicílio. As porcentagens citadas acima mostram que grande parte

[2] Sempre que aparecer nas tabelas o termo "vazias", estaremos nos referindo às questões que foram deixadas em branco.

dessa população reside em casas feitas com materiais inapropriados, que levam a concluir que as condições de moradia são precárias para muitas das famílias.

Essa precariedade também pode ser observada também em outros indicadores, como por exemplo: os números demonstram que, assustadoramente, 67,5% dos domicílios não têm acesso a energia elétrica. Em comparação com a realidade citadina, onde o acesso a esse serviço está praticamente universalizado[3], nessa realidade uma pequena parcela dos moradores usufruem da energia elétrica e dos benefícios advindos da sua existência na região. Isso pode explicar o fato demonstrado na tabela 7, em que grande parte das residências não possuírem eletrodomésticos que são imprescindíveis para facilitar a vida das pessoas como: geladeira, freezer, máquina de lavar e tanquinho, entre outros. Pois, o funcionamento desses equipamentos necessita de energia elétrica. (LEAL, 2013)

Uma análise de gênero pode ser feita sobre os dados do parágrafo anterior. É notório que na lógica patriarcal de organização do trabalho em nossa sociedade, e de forma mais evidenciada no meio rural, o trabalho doméstico é realizado somente pelas mulheres. O trabalho de lavar roupas, por exemplo, faz parte do rol dessas atividades femininas, e a impossibilidade de presença de aparelhos eletrodomésticos pela falta de eletricidade, faz com que esse afazer seja mais penoso e demorado, assim como muitos outros.

Segundo Schaaf (2001), foi na região sul do país em que surgiram os movimentos percussores na luta pelos direitos das mulheres camponesas no país. E um dos elementos que favoreceram esse ganho de visibilidade feminina na região, foi à chegada da eletricidade no meio rural. Pois, com a energia elétrica as famílias puderam adquirir eletrodomésticos que passaram a auxiliar elas nos afazeres domésticos. Sendo assim, apesar do trabalho doméstico continuar sendo uma atribuição feminina, a introdução das tecnologias proporcionou para as mulheres uma maior disponibilidade de tempo. E esse tempo pode ser utilizado para a realização de outras atividades de mais visibilidade social.

No entanto, a realidade dos assentamentos Jataiense é muito diferente, pois, a não existência da eletricidade na grande maioria dos lotes, inviabiliza a aquisição de tecnologias. E isso faz com que o labor feminino torne-se muito mais demorado, não possibilitando uma grande disponibilidade de tempo.

Outros dados corroboram com a afirmação de precariedade de condições de vida desses assentados. Os dados sobre acesso a água apontam que, aproximadamente 61% dos domicílios utilizam água de nascente, 14% de poço artesiano, 12% outras fontes e 11% vazia.

[3] Ver Melo e Di Sabatto (2006).

Ou seja, grande parte dessa população usa água oriunda de nascente, e esse é um fato muito preocupante por dois aspectos. Primeiramente, as nascentes estão muito suscetíveis aos períodos de seca, e basta uma estiagem mais rigorosa para que o abastecimento seja comprometido. O segundo aspecto está relacionada ao destino do esgoto das residências. Nota-se, pelos dados, que pouco mais de 34% das residências possuem fossas sépticas, e na grande maioria dos lares os dejetos são jogados em locais improvisados ou até mesmo nos leitos pluviais, e isso pode ocasionar a contaminação das nascentes que fornecem água para a própria residência ou dos vizinhos.

Em síntese, os dados levam a crer que as condições de moradia são muito precárias em vários aspectos para essa população. E as mulheres que ali habitam estão envoltas a toda essa realidade de condição de vida precária.

No que se refere à temática ocupação e renda das mulheres assentadas, Melo e Di Sabatto (2006) afirmam que "A invisibilidade do trabalho feminino no campo pode se visualizada, inicialmente, pela proporção de mulheres sem remuneração, que é significativamente mais elevada na agropecuária em comparação com outros setores da economia". (p. 52)

Na tentativa de compreender se a situação da mulher nos assentamentos jatienses condiz com essa invisibilidade apontada pelos autores acima, temos os dados apontados pela tabela 5 e os dados da tabela 8 e 9, abaixo:

Tabela 8 – Renda em salários mínimos entre homens e mulheres

Renda em salários mínimos					
	Menos de 1	de 1 a 2	de 2 a 4	mais de 5	S/ renda
Homens	34	51	7	1	204
Mulheres	39	22	1	0	197
Total	73	73	8	1	401

Fonte: Relatório de pesquisa do edital MCT/CNPq/ SPM – MDA. N.020/2010.

Tabela 9 – Atividades desenvolvidas no lote

Atividades desenvolvidas no lote	Homem	Mulher
Lavoura	130	68
Pecuária	112	66
Aves e pequenos animais	67	123
Horticultura/ floricultura	39	76
Silvicultura/ exploração florestal	1	4
Apicultura/ sericultura	1	2
Atividade não especificada	1	1

Total	351[4]	340

Fonte: Relatório de pesquisa do edital MCT/CNPq/ SPM – MDA. N.020/2010.

Na tabela 8 o primeiro dado que é demonstrado é o fato de 70% da população dos assentamentos não possuírem alguma forma de renda, sendo um porcentual de 51% de homens e 49% de mulheres aproximadamente. Percebe-se que a parcela da população que não possui renda, está relativamente equiparada entre homens e mulheres. E acredita-se que o percentual maior de homens deve estar ligado ao maior número de homens presentes nos assentamentos.

Já nos outros 30% que possuem alguma renda podemos ver muitas diferenças entre os sexos. O número de mulheres que recebem alguma renda é de 59, enquanto os homens somam 93. Outro elemento observado é que quanto maior é a renda, proporcionalmente menor é o número de mulheres. Ou seja, além do número de homens com renda ser muito maior que de mulheres, quando olhamos para o valor dessa remuneração, nota-se que as mulheres estão concentradas nos menores valores.

Na tabela 9, podemos visualizar os dados referentes às atividades desenvolvidas nos lotes por homens e mulheres. Observamos que o número de homens ocupados em atividades de agricultura e pecuária é quase duas vezes maior do que o de mulheres envolvidas nessas atividades. Da mesma forma, que é predominantemente maior a quantidade de mulheres que realizam as demais atividades apontadas.

Podemos concluir que as mulheres nos assentamentos estão mais envolvidas nas atividades que estão ligadas ao autoconsumo familiar como: cuidados de aves e pequenos animais e horticultura. Ao passo que os homens realizam atividades ligadas a reprodução econômica do lote: pecuária e lavoura. (LEAL, 2013)

É imprescindível para a sobrevivência dos camponeses, que além de atividades de autoconsumo, realizem ainda, atividades que propiciem o retorno financeiro. Essas atividades normalmente estão ligadas a pecuária e agricultura. Como os dados das tabelas demonstram, esses afazeres são labores predominantemente masculinos, e assim, a renda vai prioritariamente para as mãos dos homens.

Assim sendo, nessa realidade predomina a lógica patriarcal de divisão de trabalho, em que são atribuídas as mulheres a realização de atividades (não remuneradas) que estão ligadas a manutenção do lar. Demonstrando assim, que a situação da mulher nos assentamentos é de

[4] Nessa questão os assentados poderiam escolher mais de uma resposta, e isso, explica os números.

grande invisibilidade, que a jornada de trabalho é longa e com baixa remuneração. Pois, o trabalho feminino é visto apenas com "uma ajuda" para reprodução familiar.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se, a partir dos dados explorados nessa etapa da pesquisa, que não há desequilíbrio demográfico nos assentamentos de reforma agrária do município de Jataí-GO, além disso, os dados apontam que os assentamentos tem funcionado como elemento definidor da diminuição do êxodo rural, principalmente o feminino. Ressalta-se ainda que na população rural que está fora do assentamento há um maior distanciamento entre o número de mulheres e homens no campo. Os números não apontam para um desequilíbrio demográfico, mas é elucidativo da afirmação anterior.

No que se refere às atividades realizadas há predominância para a realização de atividades domésticas e cuidados com quintal e animais de pequenos porte entre as mulheres, e entre os homens trabalhos como agricultura e pecuária. Esse aspecto revela a organização social das famílias nos assentamento e também determina quem tem maior ou menos renda entre homens e mulheres, e o que se identifica é que quem gera a renda e provê os lares com alimentos são predominantemente os homens, e isso faz com que haja uma perpetuação dos modelos patriarcais de família.

Conclui-se, finalmente, que as condições de vida, no que se refere a moradia e a eletrodomésticos como facilitador do trabalho feminino ainda é bastante precária nos assentamentos. Ainda as condições de trabalho e renda entre as mulheres apresenta-se de forma muito precária. Teme-se que uma não reversão desse quadro possa promover novo movimento de êxodo rural feminino na realidade pesquisada

REFERÊNCIAS

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios,** IBGE - Brasil, Instituto, 199*1, 2000 e 2010.* Disponível em: <www.ibge.gov.br>.

———. **Censo Agropecuário**. Brasília: IBGE, 2006.

LEAL, Cátia Regina Assis Almeida. **A mulher rural no cenário de desenvolvimento agrícola no município de Jataí-GO.** Relatório de Pesquisa financiada pelo edital MCT/CNPq/SPM-PR/MDA Nº 020/2010, 2013.

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO AGRÁRIO (MDA)/Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural (Nead). **Cirandas do Pronaf para Mulheres**. Brasília: MDA/Nead, 2005.

Schaaf, Alie Van Der. **Jeito de mulher rural:** a busca de direitos sociais e da igualdade de gênero no Rio Grande do Sul. Passo Fundo: UPF, 2001.

Empresas goianas: determinantes da internacionalização[1]

Gercione Dionizio Silva[2], Andréa Freire de Lucena (orientadora)
Faculdade de Administração, Ciências Contábeis e Ciências Econômicas (FACE)
gercige@gmail.com; aflucena@terra.com.br

Resumo: Este artigo estuda o padrão e os determinantes da internacionalização das empresas goianas. Basicamente, as discussões deste artigo são divididas em duas partes, a primeira analisa o padrão da internacionalização e a segunda preocupa-se com os determinantes. A análise do padrão de internacionalização procurou abranger tanto a internacionalização produtiva quanto a comercial. Concluiu-se, com relação ao padrão, que os principais produtos exportados são soja, cobre e carne bovina. A principal via de exportação dos produtos é a marítima, sendo responsável por mais de 90% do valor exportado. No padrão produtivo da internacionalização, percebeu-se que as principais formas utilizadas pelas empresas para acessar o mercado externo foram via abertura de escritório de venda no exterior, filial de produção e licenciamento. Por fim, na análise dos determinantes da internacionalização produtiva, concluiu-se, que a maior parte dos determinantes apontados pelos gestores entrevistados é externo à empresa.

Palavras-chave: Internacionalização de empresas; Goiás; determinantes da internacionalização; padrão de internacionalização.

1. Introdução

O mercado brasileiro foi marcado, até a década de 1990, por um forte protecionismo, e as empresas, neste contexto, se desenvolveram comodamente com a competitividade local e com sua fatia no mercado doméstico devido à baixa competitividade (KOVACS, *et al.,* 2006). Segundo Kovacs *et al*. (2006), essa postura influenciou as decisões das empresas de não buscarem novas alternativas para o seus negócios no mercado internacional. Contudo, a partir da década 1990, com a abertura do mercado brasileiro, muitas empresas foram "forçadas" a buscarem novos mercados (SOUZA; FLORIANI; LOPES, 2011).

Para Kovacs *et al.* (2006), a alternativa, para muitas empresas, foi a busca por mercados além das fronteiras nacionais. A postura estratégica adotada pela empresa que deseja sobreviver em mercados com elevada competitividade e que consiste em buscar mercados externos é conhecida como o processo internacionalização de empresa (SOUZA; FLORIANI; LOPES, 2011). Silva e Lucena (2012) afirmam que o processo de

[1] Revisado pela orientadora.
[2] Gercione Dionizio Silva é aluno da Universidade Federal de Goiás, está no 7º período do curso de Ciências Econômicas da Faculdade de Administração, Ciências Contábeis e Ciências Econômicas (FACE) e é bolsista de iniciação cientifica do CNPq, desde 2011, no projeto "Internacionalização das empresas goianas: processos, estratégias e dificuldades", sob a orientação da Profa. Drª Andréa Freire de Lucena.

internacionalização ocorre quando uma empresa, seja de forma gradual ou não, interage com o mercado internacional.

Alem e Cavalcanti (2005) afirmam que os negócios internacionais não só no Brasil, mas em todo o mundo, têm sido estimulados por ações governamentais ou iniciativas do setor privado. No Brasil, afirmam os autores, esses estímulos ocorreram, notadamente, a partir da década de 1990. Consequentemente, é possível considerar a década de 1990 como o marco histórico do processo de internacionalização das empresas brasileiras.

O processo de internacionalização pode ocorrer de diversas formas, por investimento direto no estrangeiro, exportação, importação, empréstimos, transferências, licenciamento e outros (GROSSE; KUJAWA, 1992). Segundo Root (1994), as empresas têm priorizado a internacionalização comercial e produtiva para ter acesso aos mercados externos. A primeira forma de internacionalização consiste na prática mais comum às empresas que é a exportação de bens e serviços. A internacionalização produtiva ocorre via instalação de subsidiárias, fusões, aquisições e *joint ventures* fora do mercado nacional.

Existem vários estudos que buscam compreender o padrão de internacionalização das empresas e de seus determinantes. Dentre as teorias que estudam o processo de internacionalização, os autores Dib e Carneiro (2006) destacam a teoria do poder de mercado, a teoria da internacionalização, o paradigma eclético, o modelo de Uppsala, a teoria de *networks* e o empreendedorismo internacional.

O processo de internacionalização está presente na rotina de muitas empresas brasileiras desde 1990. No estado de Goiás, essa realidade não é diferente. Todavia, o processo de internacionalização goiano é incipiente, pois conta com um número reduzido de empresas em estágios mais elevados do processo de internacionalização (SILVA; LUCENA, 2012). Todavia é necessário compreender os detalhes do processo de internacionalização, mesmo que incipiente. Para compreender como tal ocorreu, seja em níveis mais baixos ou mais altos do processo de internacionalização, é preciso definir o padrão e os determinantes da internacionalização das empresas goianas.

2. Metodologia

Inicialmente, fez-se um levantamento bibliográfico no Portal Capes de periódicos. A leitura dos artigos foi acompanhada de um fichamento que auxiliou na elaboração desse trabalho. Depois, criou-se um banco de dados, com dados primários e secundários. A base de dados secundária foi elaborada a partir das informações disponibilizadas pelo Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC) sobre as empresas goianas que

exportaram no período 2007-2011 e, também, os dados do Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior (AliceWeb) no período de 2008 a 2012. A base de dados primária foi elaborada a partir de entrevistas estruturadas realizadas por telefone e *in loco*.

3. Resultados e Discussões

Está sessão está subdividida em duas partes principais. A primeira parte analisa o padrão de internacionalização das empresas goianas, sendo esta parte dividida em duas outras partes: o padrão comercial e a outra o produtivo. A segunda parte foi destinada para o estudo dos determinantes da internacionalização produtiva.

3.1. O padrão de internacionalização das empresas goianas

O processo de internacionalização das empresas pode ocorrer de diversas formas. No entanto, ao se observar um conjunto de empresas, algumas características são comuns em seus processos. As teorias de internacionalização buscam analisar o processo de internacionalização observando os motivos e fatores que o influenciam. Segundo Dib e Carneiro (2006), as abordagens teóricas buscam responder a cinco perguntas básicas inerentes ao processo.

A primeira pergunta busca averiguar quais são os motivos, qual é a justificativa e as condições da empresa, ou seja, *por quê* internacionalizar. A segunda pergunta preocupa-se com *o quê* será comercializado no mercado externo, logo quais serão os produtos ou os serviços vendidos. A Terceira pergunta trata-se de *quando* o processo de internacionalização irá começar. O local para *onde* internacionalizar é o tema da quarta questão. Por fim, a última pergunta se preocupa em *como* as empresas locais entram no mercado estrangeiro (DIB; CARNEIRO, 2006). A quinta pergunta pode ser considerada como a pergunta de maior relevância nesse processo, pois a definição do que vem a ser o processo de internacionalização centra-se, basicamente, em sua resposta.

As respostas dadas pelas seis teorias, a cada uma destas perguntas, foram elaboradas de acordo com a ideia central de cada teoria. Silva e Lucena (2012) dividem as teorias segundo o foco econômico ou comportamental. Os autores destacam, ainda, qual é a variável central de cada teoria. Segundo eles, a teoria do poder de mercado tem como variável central o controle de mercado, a de internacionalização, o custo de transação, o paradigma eclético, a competitividade, o modelo de Uppsala, o aprendizado/conhecimento, a teoria de *networks*, as redes de relacionamento das empresas, e o empreendedorismo internacional, o comportamento empreendedor dos gestores de topo.

Desta forma, o padrão de internacionalização pode ser analisado de maneiras distintas, mas basicamente ele deverá ser visto sobre a ótica comportamental ou econômica. O padrão de internacionalização das empresas goianas será estudado sobre a ótica comportamental. Entre as três teorias com foco comportamental – modelo de Uppsala, teoria de *networks* e empreendedorismo internacional –, o modelo de Uppsala, desenvolvido nos trabalhos de Johanson e Wiedersheim-Paul (1975) e Johanson e Vahlne (1977), destaca-se em dois pontos, ao compreender o processo de internacionalização como um processo contínuo e ao inserir a "distância psíquica" como um fator essencial para a internacionalização.

Para Johanson e Wiedersheim-Paul (1975), o processo de internacionalização segue uma ordem que foi chamada pelos autores de *establishment chain*. No primeiro estágio, da cadeia de estabelecimento, as empresas apenas exportam de maneira irregular, já no segundo, essa exportação passa a ocorrer de forma regular via um representante de venda. No terceiro e quarto estágio, o nível de investimento e comprometimento da empresa é maior. Primeiramente há a abertura de uma subsidiária de vendas e, posteriormente, a de produção.

Contudo, vale ressaltar que o processo de internacionalização, ou seja, a escolha de onde iniciar suas atividades é definido pela distância psíquica. Johanson e Wiedersheim-Paul (1975) entendem que a distância psíquica trata-se da diferença entre fatores como: a língua, a cultura, o sistema político, o nível educacional, o nível de desenvolvimento da indústria etc. Logo, o processo de internacionalização de uma empresa começará na região onde esses fatores são parecidos ao país de sua origem.

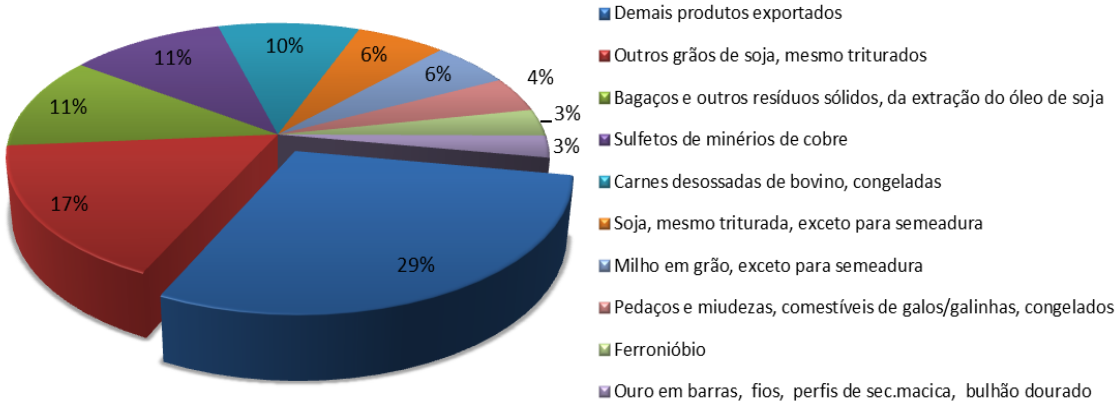
Todavia, para o padrão de internacionalização do conjunto de empresas goianas, alguns fatores serão focados, mas, para essa análise, o estudo foi dividido em dois. Primeiramente, foi observado o padrão de internacionalização das empresas que estão no processo de internacionalização comercial – estágios 1 e 2 da cadeia de estabelecimento – e, posteriormente, das empresas que praticam a internacionalização produtiva – estágios 3 e 4 da cadeia de estabelecimento.

No caso da internacionalização comercial será entendido como padrão de internacionalização goiano os bens e serviços mais comercializados no mercado externo, o local escolhido para a exportação e qual o meio de utilizado. Para a internacionalização produtiva, a análise se centrará em qual a forma de inserção no mercado - instalação de subsidiárias, fusões, aquisições, *joint ventures* etc. – e no país escolhido.

3.1.1. O padrão de internacionalização comercial das empresas goianas

No período de 2008 a 2012, segundo dados do MDIC (2013), foram exportados pelo estado de Goiás um total de 1.717 bens e serviços diferentes, que somam US$ 24.490.241.464,00. Esse valor foi exportado para 177 países do mundo, tendo como meio de transporte um total de oito vias: a marítima, a aérea, a rodoviária, tubo-conduto, a ferroviária, a postal e as linhas de transmissão. Entre os 1.717 bens e serviços diferentes exportados pelo estado de Goiás, nove deles representam 71% de todo o valor exportado nos cinco anos de análise, conforme mostra o gráfico 1.

Gráfico 1 - Principais produtos exportados por Goiás no período de 2008 a 2012



Fonte: Elaboração própria com dados disponibilizados pelo MDIC (2013).

Logo, é possível observar que, no período de 2008 a 2012, os principais produtos exportados foram[3]: outros grãos de soja, mesmo triturados; bagaços e outros resíduos sólidos, da extração do óleo de soja; sulfetos de minérios de cobre; carnes desossadas de bovino, congeladas; soja, mesmo triturada, exceto para semeadura; milho em grão, exceto para semeadura; pedaços e miudezas, comestíveis de galos/galinhas, congelados; ferronióbio e ouro em barras, fios, perfis de sec. macica, bulhão dourado.

O quadro 1 mostra em valores como se dá essa distribuição no período em análise. Vale ressaltar, conforme apresentado no quadro, que, no caso da soja mesmo triturada, exceto para semeadura, sua posição como um dos principais produtos e serviços não é mantida quando a análise se faz ano a ano.

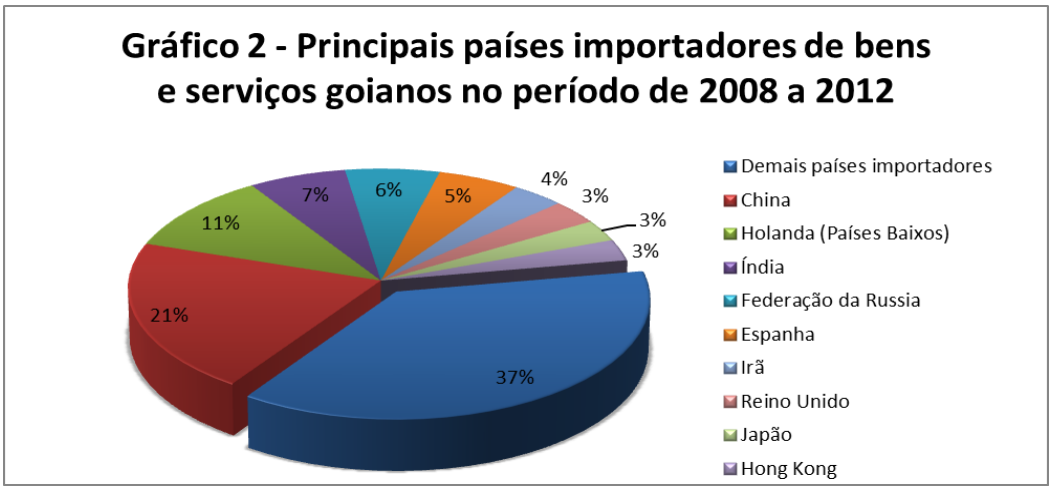
[3] As mercadorias são classificadas segundo a Nomenclatura Comum do Mercosul (NCM) utilizada pelos demais países participantes do bloco, sendo que o critério utilizado é baseado no Sistema Harmonizado de Designação e de Codificação de mercadorias, de forma simplificada Sistema de Harmonização (SH). Neste estudo foi utilizado o NCM de 8 dígitos.

Quadro 1 – Principais produtos exportados por Goiás no período de 2008 a 2012

Bens e Serviços	Total do Período (US$ - FOB)	Soma de US$ (FOB) Ano 2012	Soma de US$ (FOB) Ano 2011	Soma de US$ (FOB) Ano 2010	Soma de US$ (FOB) Ano 2009	Soma de US$ (FOB) Ano 2008
Demais produtos exportados	7.167.649.811,0	2.437.677.831,0	1.852.845.498,0	1.102.377.360,0	867.818.833,0	906.930.289,0
Outros grãos de soja, mesmo triturados	4.072.050.269,0	9.756.623,0	1.192.000.178,0	829.645.139,0	944.385.161,0	1.096.263.168,0
Bagaços e outros resíduos sólidos, da extração do óleo de soja	2.772.454.503,0	645.894.276,0	538.993.461,0	530.437.044,0	545.855.563,0	511.274.159,0
Sulfetos de minérios de cobre	2.655.643.354,0	607.522.441,0	708.517.773,0	516.784.478,0	331.840.049,0	490.978.613,0
Carnes desossadas de bovino, congeladas	2.423.941.865,0	563.147.696,0	458.573.178,0	421.829.529,0	398.430.577,0	581.960.885,0
Soja, mesmo triturada, exceto para semeadura	1.530.268.727,0	1.530.268.727,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Milho em grão, exceto para semeadura	1.365.528.224,0	840.878.713,0	276.524.555,0	108.942.081,0	35.024.937,0	104.157.938,0
Pedaços e miudezas, comestíveis de galos/galinhas, congelados	1.051.888.977,0	298.924.360,0	224.787.191,0	192.031.913,0	154.580.986,0	181.564.527,0
Ferronióbio	801.188.156,0	168.232.536,0	152.886.134,0	150.978.152,0	188.374.725,0	140.716.609,0
Ouro em barras, fios, perfis de sec.macica, bulhão dourado	649.627.578,0	33.278.167,0	199.929.116,0	191.489.652,0	148.534.858,0	76.395.785,0

Fonte: Elaboração própria com dados disponibilizados pelo MDIC (2013).

Quanto aos principais países importadores de bens e serviços goianos, nove podem ser destacados como os principais importadores, já que, em valores, juntos, representam 63% de tudo que foi exportado por Goiás no período. O gráfico 2 mostra como se dá a distribuição, em porcentagem, das exportações.



Fonte: Elaboração própria com dados disponibilizados pelo MDIC (2013).

Os países China, Holanda (Países Baixos), Índia, Federação da Rússia, Espanha, Irã, Reino Unido, Japão e Hong Kong importaram juntos US$ 15.367.956.101,0. O quadro 2 mostra como se deu a distribuição desse valor entre os principais países e, também, quais foram os dois principais produtos importados por eles.

Quadro 2 – Relação dos bens e serviços importados pelos principais países importadores de produtos goianos no período de 2008 a 2012

Países	Principais produtos importados por cada país	Total do período	Total de produtos
China		5.059.336.335,0	51
	Outros grãos de soja, mesmo triturados.	2.750.580.768,0	
	Soja, mesmo triturada, exceto para semeadura.	1.286.972.518,0	
Holanda (Países Baixos)		2.651.606.881,0	84
	Bagaços e outros resíduos sólidos, da extração do óleo de soja.	1.520.893.311,0	
	Outros grãos de soja, mesmo triturados.	259.192.453,0	
Índia		1.622.898.277,0	37
	Sulfetos de minérios de cobre.	1.314.269.550,0	
	Outras formas de amianto (asbesto).	182.070.806,0	
Federação da Rússia		1.566.010.794,0	22
	Carnes desossadas de bovino, congeladas.	924.931.311,0	
	Outras carnes de suíno, congeladas.	279.071.631,0	

Espanha		1.363.264.862,0	106
	Sulfetos de minérios de cobre.	921.033.271,0	
	Outros grãos de soja, mesmo triturados.	253.289.633,0	
Irã		874.000.283,0	17
	Carnes desossadas de bovino, congeladas.	493.312.875,0	
	Milho em grão, exceto para semeadura.	226.940.647,0	
Reino Unido		808.965.186,0	82
	Ouro em barras, fios, perfis de sec.macica, bulhão dourado.	403.968.974,0	
	Bagaços e outros resíduos sólidos, da extração do óleo de soja	257.771.244,0	
Japão		712.168.724,0	168
	Pedaços e miudezas, comestíveis de galos/galinhas, congelados.	194.079.087,0	
	Outros grãos de soja, mesmo triturados.	171.675.472,0	
Hong Kong		709.704.759,0	46
	Pedaços e miudezas, comestíveis de galos/galinhas, congelados.	154.829.588,0	
	Carnes desossadas de bovino, congeladas.	148.969.714,0	

Fonte: Elaboração própria, com dados disponibilizados pelo MDIC (2013).

A classificação dos países, contudo, seria alterada caso esta fosse feita pela quantidade de bens e serviços importados por cada país. A nova classificação seria dada com o Japão em primeiro, Espanha em segundo, Holanda (Países Baixos) em terceiro, Reino Unido em quarto, China em quinto, Hong Kong em sexto, Índia em sétimo, Federação da Rússia em oitavo e Irã em nono, sendo que foram exportados, respectivamente, 168, 106, 84, 82, 51, 46, 37, 22 e 17 bens e serviços diferentes por cada país.

Das oito vias utilizadas para a exportação dos produtos goianos, a marítima representa sozinha mais de 94% do total exportado no período de 2008 a 2012. As principais vias utilizadas para a exportação dos produtos goianos são descriminadas no quadro 3 abaixo.

Quadro 3 – Via/transportes

	Total do período (US$ - FOB)	Percentual
Marítima	23.150.921.653,0	94,5312
Aérea	722.083.123,0	2,9485
Rodoviária	402.222.007,0	1,6424
Tubo-Conduto	169.902.997,0	0,6938
Meios próprios	28.918.790,0	0,1181
Ferroviária	11.028.092,0	0,0450
Linha de Transmissão	5.064.532,0	0,0207
Postal	100.270,0	0,0004

Fonte: Elaboração própria, com dados disponibilizados pelo MDIC (2013).

De todos os meios utilizados, o postal é o que menos participa, em valor, do total de bens e serviços exportados pelo estado de Goiás, pois representa menos de 0,1% do total exportado. A via postal e o tubo-conduto foram os meios menos utilizados, apenas dois anos, sendo o primeiro utilizado para exportar produtos apenas para Hong Kong e Austrália e o segundo para Argentina. O quadro 4 mostra quais foram os principais produtos exportados de acordo com cada via.

Quadro 4 – Principais bens e serviços goianos exportados por via no período de 2008 a 2012

Vias	Produtos	Total do Período (US$ - FOB)	Total de produtos
Marítima		23.150.921.653,0	891
	Outros grãos de soja, mesmo triturados	4.072.048.988,0	
	Bagaços e outros resíduos sólidos, da extração do óleo de soja	2.772.454.503,0	
	Sulfetos de minérios de cobre	2.655.643.354,0	
	Carnes desossadas de bovino, congeladas	2.415.701.313,0	
Aérea		722.083.123,0	1.025
	Ouro em barras, fios, perfis de sec.macica, bulhão dourado	649.627.578,0	
	Carnes desossadas de bovino, frescas ou refrigeradas	8.812.527,0	
	Outs.couros/peles, int.bovinos, prepars.etc.	8.576.383,0	
	Milho para semeadura	4.910.300,0	
Rodoviária		402.222.007,0	575
	Carnes desossadas de bovino, frescas ou refrigeradas	153.400.557,0	
	Adubos ou fertilizantes c/nitrogênio, fósforo e potássio	32.175.313,0	
	Outros veículos automóveis c/motor diesel, p/carga<=5t	29.849.955,0	
	Adubos ou fertilizantes c/fósforo e potássio	28.442.594,0	
Tubo- Conduto		169.902.997,0	1
	Energia elétrica	169.902.997,0	
Meios Próprios		28.918.790,0	411
	Carnes de galos/galinhas, n/cortadas em pedaços, congel.	6.129.945,0	
	Algodão simplesmente debulhado, não cardado nem penteado	3.353.815,0	
	Partes de turborreatores ou de turbopropulsores	2.272.429,0	
	Fraldas de papel	1.718.938,0	
Ferroviária		11.028.092,0	16
	Adubos ou fertilizantes c/nitrogênio, fósforo e potássio	3.852.500,0	
	Outras formas de amianto (asbesto)	3.666.448,0	
	Milho para semeadura	2.362.065,0	
	Superfosfato, teor de pentóxido de fósforo (p2o5)<=22%	425.000,0	

Linha de Transmissão		5.064.532,0	2
	Outros inseticidas, apresentados de outro modo	3.644.926,0	
	Algodão simplesmente debulhado, não cardado nem penteado	1.419.606,0	
POSTAL		100.270,0	3
	Outras substâncias de animais, p/prepar.prods.farmaceut.	100.000,0	
	Outras sondas, catéteres e cânulas	200,0	
	Implantes expansíveis (stents), mesmo montados sobre catéter de balão	70,0	

Fonte: Elaboração própria, com dados disponibilizados pelo MDIC (2013).

Entre as oito vias utilizadas para a exportação de bens e serviços goianos no período em análise, as principais, tanto em valores quanto em quantidade, são a marítima, a aérea e a ferroviária. Contudo, apesar de a via marítima ser responsável por quase a totalidade dos valores exportado no período de 2008 a 2012, aproximadamente 94%, com relação à quantidade de bens e serviços exportados no período pelo estado de Goiás, 1.717, 51,89% são exportados pela via marítima, ou seja, 891 bens e serviços distintos, já os produtos exportados pela via aérea são 1.025 bens e serviços distintos, ou seja, aproximadamente 59,69%. No entanto, vale ressaltar que nem todos os produtos são exportados por apenas uma via.

Na determinação do padrão do processo de internacionalização comercial, conclui-se que os cinco principais produtos das exportações goianas, no período de 2008 a 2012, foram outros grãos de soja, mesmo triturados; bagaços e outros resíduos sólidos, da extração de óleo de soja; sulfetos de minérios de cobre; carnes desossadas de bovino, congeladas; soja, mesmo triturada, exceto para semeadura. Os cinco principais países de destino foram a China, a Holanda (Países Baixos), a Índia, a Federação da Rússia e a Espanha. Por fim, as três principais vias de transporte foram à marítima, a aérea e a rodoviária.

3.1.2. O padrão de internacionalização produtiva das empresas goianas

Como mencionado, o padrão da internacionalização produtiva foi definido nesse trabalho como sendo a forma de inserção no mercado - instalação de subsidiárias, fusões, aquisições, *joint ventures* etc. – e o local e o país escolhido.

De acordo com a cadeia de estabelecimento do modelo de Uppsala (JOHANSON; WIEDERSHEIM-PAUL, 1975), o processo de internacionalização das empresas possui quatro etapas. As duas primeiras etapas – exportações irregulares e regulares com representante de venda – estão relacionadas com a internacionalização comercial, já a terceira

e a quarta etapa – instalação de uma subsidiária de vendas e subsidiária de produção – relacionam-se com a internacionalização produtiva.

Com base nessa visão, as empresas que realizaram a internacionalização comercial são aquelas que possuem uma subsidiária de vendas ou de produção instalada num país estrangeiro. Para levantar tais empresas foram utilizados os dados, do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC), referentes ao período de 2007 a 2011.

De acordo com os dados do MDIC (2013), o estado de Goiás, em 2007, tinha 286 empresas exportadoras, já em 2011, esse valor caiu para 267. A média de empresas exportadoras no período de 2007 a 2011 foi de 263. Todavia, dessa média, apenas 31,55% exportaram de maneira continuada, ou seja, 83 empresas. 26 não possuíam a matriz em Goiás e, por isso, foram retiradas da análise, restando 57 empresas. Foi aplicado um questionário nestas empresas para determinar quais delas encontravam-se nos dois últimos estágios da cadeia de estabelecimento.

Das 57 empresas entrevistadas, apenas 24 já realizam a internacionalização produtiva. Das 24 empresas, 13 estão no terceiro estágio da cadeia de estabelecimento, ou seja, possuem escritório de vendas fora. As 12 empresas restantes, além dos escritórios de venda, atuam no mercado externo por licenciamento ou por meio de subsidiária de produção, por isso podem ser inseridas no quarto estágio da cadeia de estabelecimento.

As empresas goianas atuam via licenciamento em 11 países, sendo eles Uruguai, Cuba, Índia, Estados Unidos, Paraguai, Chile, Angola, Cabo Verde, Portugal, África do Sul e Moçambique. Para o caso da atuação no mercado externo por intermédio de uma fábrica, elas atuam em 5 países – Índia, Chile, Argentina, México e Suíça. Logo, verifica-se que, no padrão de internacionalização produtiva, os principais meios de acesso ocorrem por meio de escritório de vendas no país estrangeiro, por meio de licenciamento e por meio de filiais de produção no país externo. Os principais locais são, basicamente, dois: Índia e Chile.

Por mais que se tenha feito uma análise mais comportamental do processo de internacionalização, não foi possível verificar com precisão os dois aspectos importantes levantados no Modelo de Uppsala.

No caso do primeiro aspecto – o processo de internacionalização ser gradual - é possível afirmar que o processo de internacionalização ocorre de forma gradual. No primeiro estágio da cadeia de estabelecimento – exportação irregular – existem, na média, 263 empresas e, no último estágio, 25 empresas. O segundo aspecto, distância psíquica, refere-se com os fatores que podem interferir no fluxo de informações entre a firma e o mercado.

Tais fatores podem ser compreendidos, por exemplo, como as diferenças entre as línguas, cultura, sistema político, educação, desenvolvimento da indústria etc. (JOHANSON; WIEDERSHEIM-PAUL, 1975). Quando analisados em relação à Goiás e aos países com quem ele manteve relações comerciais no período em análise, nem todos os fatores, citados como exemplos, podem ser considerados como realmente próximos. Dos citados, o mais próximo é o desenvolvimento da indústria, no entanto, nem todos os países estão no mesmo nível, porém, a sua maioria está.

3.2. Determinantes da Internacionalização de empresas

A pluralidade na base teórica dos modelos de internacionalização gera uma gama de possíveis fatores que determinam o processo de internacionalização, comercial ou produtivo. Logo, são várias as motivações que a firma tem para iniciar o processo de internacionalização. Se existe alguma convergência ideológica entre as teorias de internacionalização quanto ao *que* é internacionalizado, *quando* o processo ocorre, *onde* e *como* ele ocorre, esta convergência não é evidente quando se procura responder o *por quê* da internacionalização.

Dib e Carneiro (2006), ao analisar as seis teorias de internacionalização, destacaram a divergência entre as teorias ao definirem, de acordo com cada teoria, *por quê* as firmas se internacionalizam. Essa diferença de ideias ocorre nas teorias com foco econômico – Teoria do Poder de Mercado, da Internacionalização e Paradigma Eclético – e, também, nas que estão voltadas para o lado comportamental do processo de internacionalização – Modelo de Uppsala, Teoria de *Networks* e Empreendedorismo Internacional.

Na teoria do Poder de Mercado, a empresa, ao se internacionalizar, está buscando otimizar seus recursos e, também, busca explorar as imperfeições do mercado que lhe garante ter poder sobre o mercado como, por exemplo, o conluio[4] e monopólio. Na teoria da Internacionalização, a principal motivação é a maximização da eficiência produtiva e comercial via redução de custos ou riscos. Para o Paradigma Eclético, as firmas buscam explorar ou desenvolver suas vantagens de propriedade via internacionalização, ou seja, busca aumentar suas receitas por meio do controle de ativos estratégicos e capacitações e pela redução custos, atuando em lugares de baixos custos para produção (DIB; CARNEIRO, 2006).

[4] Conluio é definido como a combinação de fatores entre empresas concorrentes e independentes que possibilite a elas exercerem controle sobre o mercado. Os fatores mais comuns são os preços e as quantidades (NASCIMENTO; VIEIRA; BRAGA, 2011).

Além dessas teorias, Soares (2008) levanta outro determinante para iniciar a internacionalização, baseando-se na Teoria do Ciclo de Vida do Produto. Segundo o autor, o outro determinante seria o ciclo de vida do produto, pois o produto, ao se tornar obsoleto no mercado doméstico, é comercializado em outro mercado (externo) e, assim, "recomeça" seu ciclo de vida.

De acordo com os autores Dib e Carneiro (2006), o Modelo de Uppsala tem como resposta, ao *por quê* se internacionalizar, a busca por novos mercados por parte da firma. A teoria de *Networks* tem como principal fator, que serve de motivação para uma firma iniciar seu processo de internacionalização, a sua relação com a rede de negócios à qual está inserida ou, também, o processo pode ser motivado por um desejo da firma de se relacionar com novas redes. Por fim, a teoria Empreendedorismo Internacional se aproxima um pouco, neste quesito, ao Modelo de Uppsala, porém ela ainda acrescenta como fatores determinantes o atendimento a solicitações e a reestruturação da indústria (DIB; CARNEIRO, 2006).

Dentro, ainda, de uma visão mais abrangente dos determinantes da internacionalização, Zou e Stan (1998) distingue-os de duas maneiras de acordo com sua relação com a firma. A primeira forma de diferencia-los se dá pelo seu controle – fatores controláveis e não controláveis – e a segunda quanto à sua origem – fatores internos e externos. O quadro 5 resume a ideia dos autores.

Quadro 5 – Classificação dos determinantes de Zou e Stan

	Internos	**Externos**
Controláveis	Estratégia de marketing para a exportação; Atitudes e percepções da gerencia.	-
Não controláveis	Características gerenciais; Competências e características da firma.	Característica da indústria; Características do mercado externo; Características do mercado doméstico.

Fonte: Adaptação do trabalho de Zou e Stan (1998).

De acordo com Dalmoro (2009, *apud* DOUGLAS; GRAIG, 1989), dentro dos fatores internos, tem-se as características internas da empresa, objetivos e desejos da administração, recursos internos e outros. Nos determinantes externos, têm-se os pedidos vindos do exterior, o apoio governamental do país de origem ou estrangeiro etc.

Cassano *et al*. (2009) destacam, também, mas, com outra ótica, os estímulos (determinantes) da internacionalização. Segundo sua visão, os determinantes podem ser

proativos – determinados pelos objetivos estratégicos da empresa – e reativos – determinados por mudanças no mercado.

Ietto-Gillie (1998), buscando entender os determinantes do grau de internacionalização das empresas, bem como seus impactos, destaca alguns fatores que podem ser determinantes para o processo de internacionalização de uma empresa. Em seu estudo, a autora destaca que, com a atuação em vários países, as firmas dispersam os seus riscos. Além disso, com a internacionalização, uma empresa pode adquirir vantagens competitivas em relação à concorrente, tais como as vantagens locacionais - proximidade do mercado consumidor ou/e aos mercados de matérias prima –, e, também, elevar seu poder de barganha sobre os governos.

Outro fator importante para o processo de internacionalização é o apoio do setor público, sendo que esse pode ocorrer via liberalização das restrições aos investimentos diretos no exterior, pela criação de instrumentos que protejam e facilitem os investimentos no exterior, e, também, por meio de incentivos ficais e financeiros (ALEM; CAVALCANTI, 2005).

Dal-Soto (2006), em meio ao seu estudo, levanta outros fatores determinantes do processo de internacionalização. Os determinantes citados no trabalho são: tamanho do mercado doméstico, acordos com outras empresas (cooperação internacional); vantagens competitivas, capacidade de financiar o processo de expansão; liderança no mercado interno; experiência internacional da diretoria.

Para verificar quais são os determinantes da internacionalização comercial das empresas goianas foi elaborado, a partir dos das vários fatores encontrados levantados nos artigos, um questionário. O quadro 6 exibe quais foram os determinantes utilizados para esse estudo. Os determinantes foram separados de acordo com a ideia dos Zou e Stan (1998) e, também, de acordo com três perguntas contidas no questionário. Todavia, o questionário contempla outras questões que vão além das dispostas no quadro.

Quadro 6 - Determinantes controláveis da internacionalização de empresas

	Questões	Internos	Externos
Controláveis	Fatores que motivaram a empresa a iniciar as atividades no mercado externo.	Preço do produto competitivo internacionalmente (taxa de câmbio atrativa)*; A internacionalização já era uma estratégia pré-definida pela empresa; Redução de custos (mão de obra, energia); Aquisição de novas tecnologias/conhecimento disponível no mercado externo; Processo de downsizing; Falta de conhecimento do administrador sobre mercados internacionais, práticas e políticas.	Acesso a novos mercados e crescimento potencial do mercado (explorar novas oportunidades); Características do país emissor e receptor do investimento.
	Fatores que dificultaram o início das atividades externas.		Acesso e qualidade dos serviços de apoio à promoção das exportações; Custo da armazenagem, transporte interno (fábrica-porto) e frete internacional**; Informações sobre o mercado externo.
	Fatores que influenciaram na escolha do primeiro país.	Relacionamento pessoal ou comercial pré-existente; Contato do importador.	Mesma origem de parte do Capital Social da Empresa.
Não Controláveis	Fatores que motivaram a empresa iniciar as atividades no mercado externo.	Cultura, visão ou experiência internacional do fundador; Necessidade de estar onde o cliente está; Maturação do produto; Acesso à mão de obra qualificada/específica; Aproveitar o conhecimento implícito da empresa (impossível de vender ou licenciar).	Disponibilidade de recursos; Aumento da competitividade doméstica / declínio da demanda no mercado doméstico; Leis, impostos e regulamentações domésticas; Contato de empresas estrangeiras em busca de negócios; Incentivos de órgãos governamentais ou de associações setoriais Brasileiras; Criação do MERCOSUL; Nível de proteção dos direitos de propriedade (explorar as patentes); Característica similar da estrutura de mercado interna e externa; Expansão da Rede a qual a empresa está inserida; Mercado doméstico saturado.
	Fatores que dificultaram o início das atividades externas.	Dificuldade de conformidade aos padrões exigidos no exterior (qualidade).	Burocracia tributária; Burocracia alfandegária; Dificuldade de encontrar compradores e estabelecer relacionamento comercial; Dificuldade de acesso ao financiamento da produção e das exportações; Dificuldade de contratação do seguro de crédito; Cultura e língua diferentes do país estrangeiro; Política local.
	Fatores que influenciaram na escolha do primeiro país.	Localização geográfica estratégica.	Proximidade da língua e cultura; Proximidade geográfica; Faz parte do MERCOSUL; Tamanho e estado de desenvolvimento do país de destino; Oportunidade de mercado; A rede (networks) ao qual a empresa está inserida já atuava no país; Mercado externo incipiente; Mercado externo maduro; Reação à estratégia da concorrente.

Fonte: Elaboração própria com base nos artigos utilizados na pesquisa.
(*) O determinante preço do produto competitivo internacionalmente (taxa de câmbio atrativa) pode ser considerado interno e externo devido à taxa de câmbio que é um fator externo a empresa.
(**) O determinante custo da armazenagem, transporte interno (fábrica-porto) e frete internacional pode ser externo ou interno, pois a empresa pode ser ou não responsável pelo transporte.

Das 25 empresas selecionadas na primeira entrevista, quatro delas responderam ao questionário elaborado para levantar os determinantes da internacionalização produtiva. Quanto aos fatores que motivaram a empresa iniciar as atividades no mercado externo, dos 23 possíveis determinantes, as empresas apontaram 17 como resposta. Todavia, apenas 6 foram determinados como fundamental para iniciar as atividades no mercado externo, sendo eles: acesso a novos mercados e crescimento potencial do mercado; preço do produto competitivo internacionalmente; aumento da competividade doméstica ou declínio da demanda no mercado doméstico; contato de empresas estrangeiras em busca de negócio; incentivos de órgãos governamentais brasileiros; aquisição de novas tecnologias ou conhecimento disponível no mercado externo.

Como principais dificuldades encontradas foram mencionadas burocracia alfandegária, dificuldade de encontrar compradores e estabelecer relacionamento comercial e custos de armazenagem, transporte interno e frete internacional. Quando questionadas sobre qual foi o critério mais importante para a escolha do primeiro país, as empresas apontaram como principais fatores que definiram tal escolha a proximidade da língua e cultura, o fato de o Brasil fazer parte do MERCOSUL, o desenvolvimento do país de destino, as oportunidades de mercado e o desenvolvimento do mercado estrangeiro.

Partindo desses dados, verificou-se que a maioria dos determinantes da internacionalização comercial é externo à empresa e não é controlável por ela, ou seja, 10 dos 14 determinantes. Os demais são controláveis por ela, sendo dois internos a ela e dois externos a ela. Como resultado tem-se que o processo de internacionalização comercial das empresas goianas é determinado, principalmente, por fatores que estão fora do controle das empresas e, também, são externo a ela. Em outras palavras, as empresas goianas tem seu processo de internacionalização ditado pelos mercados e não por estratégias pré-concebidas.

4. Considerações finais

O processo de internacionalização das empresas consiste no processo em que uma empresa busca mercados alternativos fora do seu país de origem, sendo que o processo de internacionalização de empresas brasileiras só iniciou-se a partir da década de 1990 com a abertura do mercado brasileiro. As estratégias adotadas para iniciar o processo de internacionalização, bem como os produtos, o momento e os locais, são diversas, mas o processo em si pode ser dividido em internacionalização comercial e produtivo. Algumas teorias e pesquisas buscam estudar o processo de internacionalização, comercial ou produtivo, tendo com base seus padrões e determinantes.

Analisando o padrão da internacionalização comercial e produtiva de Goiás, foi possível verificar que, no caso do primeiro, ele é dependente de um número muito reduzido de bens, do total de 1.717 bens e serviços exportados 5 são responsáveis por, aproximadamente, 55% do valor total exportado no período de 2008 a 2012. Além disso, o número de países responsáveis por importar a maioria dos produtos goianos, em valores US$ FOB, é também reduzido. A China sozinha importou no período 21% de todo o valor.

No padrão de internacionalização produtivo não é diferente. Apenas dois países foram considerados como alvos principais da internacionalização produtiva goiana, sendo as principais formas de acesso ao mercado de outros países, o licenciamento e abertura de escritório de vendas e filial de produção. Cabe destacar que essa ultima é a menos utilizada.

Diferente do padrão, os problemas dos determinantes da internacionalização comercial são que esses determinantes são externos a empresa e não estão sob o controle dela. Contudo, alguns podem ser influenciados por ações do setor público. Logo, o papel do setor público é fundamental nesse processo, pois, além de ser um processo incipiente, as empresas goianas são, ainda, empresas com pouca experiência no mercado externo, principalmente, quando se trata da atuação via produção.

O objetivo deste trabalho não foi explorar a fundo todos os aspectos relacionados aos determinantes e aos padrões. No entanto, esta é uma área que carece de maiores estudos. Pode-se concluir, baseando-se nos resultados, que é necessário buscar formas de reduzir a dependência que as exportações goianas têm de alguns produtos e de alguns países, verificar formas alternativas de inserção produtiva nos mercados externos e, também, elaborar formas de trazer os determinantes da internacionalização comercial para dentro da empresa, deixando-os sob o seu controle.

5. Referências

ALEM, A. C.; CAVALCANTI, C. E. O BNDES e o Apoio à Internacionalização das Empresas Brasileiras: Algumas Reflexões. **Revista do BNDES**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 24, p. 43-76, dez. 2005.

CASSANO, F. A.; RUSSO, B. Z.; DEUS, C. B.; MARQUES, S. C. A.; SILVA, I. A. Busca de oportunidades nos mercados globalizados: um estudo nas empresas brasileiras de consultoria em tecnologia da informação. In: SEMINÁRIO EM ADMINISTRAÇÃO (SEMEAD), 12., 2009, São Paulo. **Anais Eletrônicos**... São Paulo, FEA-USP, 2009 Disponível em: <http://www.ead.fea.usp.br/semead/12semead/resultado/trabalhosPDF/469.pdf>. Acesso em: 02 ago. 2013.

DALMORO, M. **Internacionalização de Empresas em Rede Horizontais: uma análise a partir do Projeto Setorial Integrado Wines From Brazil**. 2009. 187 f. Dissertação (Mestrado em Administração) – Centro de Ciências Sociais e Humanas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2009.

DIB, L. A.; CARNEIRO, J. Avaliação Comparativa do Escopo Descritivo e Explanatório dos Principais modelos de Internacionalização de Empresas. In: ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA EM ADMINISTRAÇÃO (EnANPAD), 30., 2006, Salvador. **Anais**… Salvador: ANPAD, 2006. p. 1-16.

DAL-SOTO, Fábio. O Processo de internacionalização de empresas brasileiras do setor de componentes para couro, calçados e artefatos. In: **Workshop sobre internacionalização de Empresas**, 2006. Disponível em: <http://www.unicruz.edu.br/site/cursos/administracao/downloads/28-05-2008/artigo_fabio.pdf>. Acesso em: 16 jun. 2013.

GROSSE, R.; KUJAWA, D. **Internacional business**: theory and managerial applications. Boston: Irwin, 1992.

IETTO-GILLIES, G. **Different conceptual frameworks for the assessment of the degree of internationalization: an empirical analysis of the various indices for the top 100 transnational corporations**. Disponível em: < http://bus.lsbu.ac.uk/cibs/sites/bus.lsbu.ac.uk.bus.cibs/files/1998aAAJ%20Indices%20TNCJ.pdf>. Acesso em: 02 ago. 2013.

JOHANSON, Jan; VAHLNE, Jan-Erik. The internationalization process of the firm – a model of knowledge development and increasing foreign market commitments. **Journal of International Business Studies**, v. 8, p. 23-32, spring-summer 1977.

JOHANSON, J.; WIEDERSHEIM-PAUL, F. The internationalization of the firm: four Swedish cases. **Journal of Management Studies**, v. 12, n. 3, p 305-323, oct. 1975.

KOVACS, Érica P.; OLIVEIRA, Brigitte R. B.; MORAES, Walter F. A.; LIMA, Marcello B. B. O processo de internacionalização de empresas pernambucanas à luz do Modelo de Uppsala: indícios de um modelo exógeno de internacionalização. In SIMPÓSIO DE EXCELÊNCIA EM GESTÃO E TECNOLOGIA, 3., 2006, Resende. **Anais eletrônicos**... Resende: AEDB, 2006

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR (MDIC). **Aliceweb**. Disponível em: < http://aliceweb2.mdic.gov.br/>. Acesso em: 20 jul. 2013.

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR (MDIC). **Comércio Exterior**. Disponível em: < http://www.desenvolvimento.gov.br//sitio/interna/index.php?area=5>. Acesso em: 20 jul. 2013.

NASCIMENTO, A. C. C.; VIEIRA, W. C.; BRAGA, M. J. Determinantes de guerra de preços e conluio no transporte aéreo brasileiro. **Revista de Economia Contemporânea**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 3, p. 441-460, set-dez 2011.

ROOT, F. **Entry strategies for foreign markets**. Lexington: Lexington Books, 1994.

SILVA, G. D.; LUCENA, A. F. Internacionalização de empresas goianas – uma abordagem teórica. In: Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão, 9., 2012, Goiânia. **Anais eletrônicos**... Goiânia: UFG, 2012. p. 1652-1663.

SOUZA, I. R.; FLORIANI, D. E.; LOPES, G. S. C. Incentivos Financeiros para a Exportação: Um Estudo Acerca das PMEs Catarinenses. **Internext – Revista Eletrônica de Negócios Internacionais da ESPM**, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 99-124, jan./jun. 2011.

SOARES, Cláudio C. **Estratégias de Internacionalização**. São Paulo: Editora Export Manager, 2008. Disponível em: <http://www.exportmanager.com.br/pages/titulos/pdf/estrategias_de_internacionalizacao.pdf>. Acesso em: 18 jul. 2013.

ZOU, S.; STAN, S. The determinants of export performance: a review of the empirical literature between 1987 and 1997. **International Marketing Review**, v. 15, n. 5, p. 333-356, jun. 1998.

BALANÇO HÍDRICO PARA A CULTURA DA SOJA NO MUNICÍPIO DE GOIÂNIA–GO*

COSTA NETO, G. M. F[1]; CASAROLI, D[2]; PEREIRA, G.W.M[3]; MACHADO, A.L.P[3]; ALVES JÚNIOR, J.[4]; EVANGELISTA, A. W. P. [4]

[1]Orientando PIBIC, Graduando em Agronomia, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás (EA/UFG), Goiânia-GO. E-mail: agro.gn@gmail.com. [2]Orientador, Prof. Adjunto, EA/UFG, Goiânia-GO, E-mail: casaroli@agro.ufg.br. [3]Graduando em Agronomia, EA/UFG, Goiânia-GO. [4]Prof. Adjunto, EA/UFG.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi caracterizar o consumo hídrico da cultura da soja (*Glycine max* L. [Merril]) para duas épocas de plantio no município de Goiânia, Goiás. Para isso, foram implantadas duas lavouras de soja utilizando a mesma cultivar, AS7303 RR, das quais foram acompanhadas do plantio à colheita, e juntamente com os dados climatológicos, determinou-se a eficiência do uso da água através dos seguintes índices: a deficiência hídrica relativa, o fator excedente hídrico, o consumo hídrico máximo e o consumo hídrico real da cultura da soja para o período de plantio compreendido entre Janeiro e Fevereiro. A interação dos fatores climáticos no desenvolvimento da soja, em especial o fotoperíodo e o excedente hídrico, foi demonstrada através de medidas biométricas e avaliações de produtividade da cultura da soja nas duas áreas de plantio adotadas. O período de plantio entre janeiro e fevereiro não foi favorável para a soja expressar seu potencial máximo produtivo, onde para o plantio realizado em janeiro teve o rendimento foi igual a 897 kg ha^{-1} e para o fevereiro 488 kg ha^{-1}, abaixo da média municipal , de 2600 kg ha^{-1}. Um somatório de fatores contribuiu para a queda brusca na produtividade, entre eles a alta pressão de pragas remanescentes da safra de verão, a precocidade no florescimento e o regime pluviométrico irregular.

PALAVRAS-CHAVE: Evapotranspiração real de cultura; balanço de água no solo; demanda hídrica.

*Revisado pelo orientador.

INTRODUÇÃO

A quantificação do consumo de água nos diferentes estádios de desenvolvimento das culturas permite a adequação da época de semeadura, em função da disponibilidade hídrica, tornando os sistemas agrícolas mais eficientes quanto ao uso da água (FERNANDES; TURCO, 2003).

A evapotranspiração potencial de cultura ou máxima de cultura (*ETm*), é uma das principais informações necessárias para o planejamento de uso da água, para o dimensionamento de sistemas de irrigação e para o manejo racional da irrigação. Esta variável representa a perda de água máxima que uma dada área e cultura pode atingir em condições adequadas de densidade de plantio, fertilidade do solo e suprimento de água, para o crescimento das plantas (DOORENBOS; KASSAN, 1979).

A relação entre *ETm* e a evapotranspiração de referência (ET_0) é denominada coeficiente de cultura (*Kc*), pois quantifica a demanda atmosférica a ser atendida para uma dada cultura em cada fase de seu desenvolvimento. Entretanto, a evapotranspiração real da cultura (*ETr*) representa o que realmente a planta consegue extrair do solo, conforme o conteúdo de água disponível a plena absorção radicular. No sistema solo-planta-atmosfera, a contabilização das entradas de água no solo e suas saídas representam o balanço hídrico da cultura, que pode ser determinado através da variação do armazenamento de água no volume de solo considerado (ΔARM), por intervalo de tempo. Para calculo do armazenamento, com fins práticos, considera-se a expressão representada pela equação 1, dada em milímetros (mm):

$$\Delta ARM = P - ETR - EXC \quad [1]$$

em que ΔARM é a variação de armazenamento, P a precipitação pluviométrica, ETR a evapotranspiração real da cultura, e EXC excedente hídrico, que sintetiza a drenagem profunda e o escorrimento superficial.

Para a cultura da soja (*Glycine max* L. [Merril]), os períodos de déficit hídrico durante seu ciclo constituem 71% de perdas nas lavouras (GÖPFERT et al., 1993 apud EMBRAPA, 2004). A intensidade é dependente do estádio em que a lavoura for atingida, sendo mais acentuada em dois períodos: da germinação à emergência (Fase I) , e da floração ao enchimento de grãos (Fase III) (QUEIROZ et al., 1996; GÖPFERT et al., 1993 apud EMBRAPA, 2004). Pode-se quantificar a deficiência hídrica, em termos percentuais, através da relação entre a evapotranspiração máxima da cultura (*ETm*), sem restrições hídricas, e a evapotranspotranspiração real da cultura (*ETr*), conforme o conteúdo de água no solo.

O período de maior demanda hídrica corresponde ao enchimento de grãos, em que, o coeficiente de cultura (K_c) pode variar de 0,9 à 1,50 (REICHARDT, 1990; FARIAS et al., 2001), e sua evapotranspiração corresponde, em média, de 7 a 8 mm dia^{-1} (EMBRAPA, 2004). Ainda, a demanda hídrica total por ciclo pode variar de 450 a 800 mm, dependendo das condições climáticas prevalecentes no período (DOORENBOS; KASSAM, 1979; EMBRAPA, 2004).

O excedente hídrico atua negativamente no período de germinação (EMBRAPA, 2004), pois reduz a quantidade de volume de ar no solo, impossibilitando as trocas gasosas essenciais à respiração celular da plântula (TAIZ; ZEIGER, 2004; BERNARDO et al., 2006). Após a maturação dos grãos, precipitações em dias consecutivos podem quebrar a dormência das sementes ainda na vagem, antes da colheita, acarretando em perdas para a produção (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O objetivo deste trabalho foi identificar a disponibilidade hídrica para a cultura da soja em condições edafoclimáticas de Goiânia-GO, a partir do balanço hídrico de cultura em duas épocas de plantio.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na área experimental da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (UFG), localizada no Campus-II, Samambaia, Goiânia, GO. O local representa as seguintes coordenadas geográficas: 16°35' S (latitude Sul), 49°16 W (longitude Oeste) e 728 m de altitude para a área de textura argilosa e 16°36'S, 49°16' W e 717 m de altitude para a área de textura arenosa. O clima da região é Aw, segundo a classificação de Köppen, apresentando duas estações bem definidas, com verão quente e chuvoso e inferno frio e seco.

Foram conduzidos dois ensaios com a cultura da soja (*Glycine max* L. [Merril]), variedade AS7303 RR (Monsoy), cultivada em condições de sequeiro, com espaçamento de 0,45 m, entre linhas, e 0,08 m entre plantas, totalizando uma população de 340.000 plantas ha^{-1}, em solo arenoso (AR) e solo argiloso (AG). Cada ensaio consistiu de 6 repetições. O preparo do solo foi realizado seguindo as recomendações para o sistema de cultivo convencional, que consistiu em duas gradagens e uma aração. Para as duas áreas, o calcário foi incorporado ao solo 30 dias antes do plantio, nas doses de 0,607 t ha^{-1} para o solo argiloso e 0,750 t ha^{-1} para o solo arenoso, conforme a saturação de bases esperada de 60%. A

adubação foi fundamentada na análise de solo, na expectativa de rendimento de grãos igual a 3000 kg ha^{-1}, empregando a formulação 00-18-20 (N-P-K), e a inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum*. O plantio em solo argiloso foi realizado no dia 6 de janeiro de 2013, com 118 dias de ciclo, e o de solo arenoso no dia 9 de fevereiro de 2013, com 92 dias de ciclo.

Observou-se em ambas as áreas a alta incidência de *Bemisia tabaci*, *Diabrotica speciosa*, e *Pseudoplusia includens* na fase vegetativa e durante o florescimento e enchimento de grãos o ataque dos percevejos *Piezodorus guildinii* e *Euschistus heros*. O controle químico utilizado consistiu em 2 aplicações de Imunit (alfa-cipermetrin + teflubenzurom) na dose de 250 L ha^{-1} em V4 e R1 para o plantio em janeiro (AG) e em V3 e R2 para o plantio realizado em fevereiro (AR), além de duas aplicações de Engeo Pleno (lambda-cialotrina + tiametoxam) na dose de 200 L ha^{-1} durante o a fase R3 e outra durante a fase R5 para ambas as áreas. Foi realizado o controle químico de plantas daninhas, utilizando três aplicações do herbicida Gliphosate na dose de 200 L ha^{-1}.

Evapotranspiração Máxima da cultura (*ETm*)

Os dados climáticos utilizados para cálculo da evapotranspiração de referencia foram obtidos de duas estações meteorológicas localizadas no campus II da UFG: a estação evaporimétrica da Escola de Agronomia e uma estação automática, ambas localizadas a 120 m da área de solo argiloso e a 300 m da área de solo arenoso. A partir da estação evaporimétrica, obteve-se os dados de evaporação de tanque classe A (ECA) e do evaporimetro de piche a fins de comparar esses valores ao método parametrizado pela Food and Agriculture Organization (FAO), o método de Penman-Monteith, proposto em Allen *et al.* (1998) [2].

$$ET_0 = \frac{0{,}408\, s(Rn-G)+\frac{\gamma\, 900\, U_2(es-ea)}{T+273}}{s+\gamma(1+0{,}34U_2)} \qquad [2]$$

Onde:

Rn é a radiação líquida total diária (MJ $m^{-2}d^{-1}$); *G* é o fluxo de calor no solo (MJ $m^{-2}d^{-1}$); γ = 0,063 kPa $°C^{-1}$ é a constante psicrométrica; *T* é a temperatura média do ar (°C); U_2 é a velocidade do vento a 2m de altura (ms^{-1}); e_s é a pressão parcial de vapor (kPa); e *s* é a declividade da curva de pressão de vapor na temperatura do ar, em kPa $°C^{-1}$. Conforme DOORENBOS & KASSAN (1979), determinou-se a evapotranspiração máxima da cultura (*ETm*) através do produto da ET_0 [2] e o coeficiente de cultivo (*Kc*), conforme a equação 3.

$$ETm = ET0 \,.\, Kc \quad [3]$$

Onde os valores de Kc adotados foram os sugeridos por FARIAS et al. (2001), nos quais são: Fase I - da emergência ao 4 trifólio, 0,56; Fase II – período completo vegetativo, 1,21 ; Fase III – Florescimento ao enchimento de grãos, 1,50; Fase IV: maturação à colheita, 0,9. A duração de cada fase variou conforme a época de plantio, portanto, o acompanhamento e registro dessa mudança foi indispensável, embora a literatura padronize a duração de cada fase conforme o tipo de ciclo e de cultivar a ser plantada.

Balanço de água no solo e Evapotranspiração Real da cultura (*ETr*)

Para o cálculo do armazenamento de água no solo no dia em questão (*ARMi*) foi utilizada a planilha de balanço hídrico simplificada de THORNTHWAITE e MATHER (1955) proposta em PEREIRA (2005) e em escala quinquidial (5 dias). O balanço hídrico de cultura foi calculado conforme exposto em PEREIRA et al. (2002), através da diferença entre a precipitação ocorrida e a evapotranspiração máxima da cultura (*P-ETm*). A capacidade de água disponível (CAD) foi determinada conforme a equação 5.

$$\mathrm{CAD} = \mathrm{CADmédia\ x\ Z} \quad [5]$$

em que, CADmédia é a capacidade de água disponível média (mm), sendo utilizado o valor de 100 mm.m^{-1}, conforme proposto por DOORENBOS & KASSAN (1979) para solos de textura argilosa e 60 mm.m^{-1} para o solo de textura arenosa; Zr é a profundidade efetiva do sistema radicular da cultura (m), adotada como 0,4 m (COSTA, 1996). A evapotranspiração real (*ETr*) foi determinada conforme exposto em DOORENBOS & KASSAN (1979) [6] e baseada no índice de estresse hídrico (*Ks*) proposto por BENARDO et al. (2005) [7], que integra o efeito conteúdo volumétrico atual de água no solo na evapotranspiração real da cultura.

$$ETr = ETm.Ks \quad [6]$$

$$Ks = \left[\frac{ln(ARMi+1)}{ln(CAD+1)}\right] \quad [7]$$

O déficit de evapotranspiração relativa (DE) e Fator de excedente hídrico (FE)

O déficit de evapotranspiração relativa (DE), que caracteriza a deficiência hídrica da cultura por período de crescimento foi determinada através da expressão [8]:

$$\mathrm{DE} = \left(1 - \frac{\mathrm{ETr}}{\mathrm{ETm}}\right).100 \quad [8]$$

em que, DE é deficiência hídrica relativa (%) por fase de desenvolvimento; *ETr* (mm.dia^{-1}), é

a evapotranspiração real da cultura em condições de esgotamento de água no solo; *ETm* (mm.dia^{-1}), é a evapotranspiração máxima da cultura sob condições ótimas de suprimento de água no solo.

Além disso, adotou-se a utilização de um fator excedente (Fe) que penaliza a produção quando da ocorrência de excedente hídrico (*Exc*) em termos percentuais (CAMARGO et. al, 1986). Este fator relaciona o excedente do balanço hídrico (*Exc*) e a evapotranspiração máxima da cultura (*ETm*) por meio da equação 9.

$$Fe = \left[1 - \left(\frac{Exc - ETm}{Exc}\right)\right] . 100 \quad [9]$$

Indicadores de produtividade e avaliações biométricas

Adotou-se como indicadores de produtividade os seguintes itens: avaliação de emergência de plantas (4, 7 e 10 dias após a semeadura), número de vagens contendo até 1 grão (V1), número de vagens contendo até 2 grãos (V2), número de vagens contendo até 3 grãos (V3), número total de grãos viáveis, quantidade de vagens por planta,número de grãos por vagem de soja e rendimento por hectare.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A produtividade de ambos as lavouras ficou abaixo da média municipal, que segundo o IBGE (2013), para a safra 2012/2013, teve produtividade igual a 2600 kg ha^{-1}. O rendimento das parcelas encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Produtividade por parcela e rendimento por hectare (kg ha^{-1}) das duas lavouras de soja plantadas na área experimental da Escola de Agronomia, UFG, em Goiânia, Goiás.

Repetições	Janeiro (ARG)		Fevereiro (AR)	
	Rendimento (kg parcela^{-1})	Rendimento (kg ha^{-1})	Rendimento (kg parcela^{-1})	Rendimento (kg ha^{-1})
1	0,60	416,67	0,71	493,06
2	1,78	1232,64	0,81	562,50
3	1,91	1326,39	1,15	798,61
4	1,19	822,92	0,49	340,28
5	1,12	774,31	0,58	402,78
6	1,17	809,03	0,48	333,33
Média	1,29	896,99	0,70	488,43
CV (%)	-	37,18	-	36,06

O coeficiente de variabilidade (CV) demonstra que houve grande discrepância no rendimento das parcelas, o que possivelmente aconteceu em função do ataque das pragas em diferentes parcelas, Não foi possível quantificar o dano provocado pelo ataque das pragas, porém observou-se a redução do rendimento e da qualidade da semente (grãos enrugados, pequenos, chochos e escuros) e retenção das folhas,

Condições meteorológicas e balanço hídrico

A queda no fotoperíodo comprometeu a fase vegetativa, onde o florescimento ocorreu com 35 dias após a semeadura (quinquídio 7) para a soja plantada em janeiro e aos 25 dias após a semeadura (5 quinquídio) para a soja plantada em fevereiro, Houve pouco desenvolvimento vegetativo, o que acarretou na baixa eficiência na produção de fotoassimilados para a produção de grãos, A temperatura média do período foi 25,6°C, porém as máximas atingiram até 34 °C, o que compromete a produção de fotoassimilados dado o efeito de fotorrespiração para as plantas de metabolismo C3 quando submetidas a altas temperaturas (TAIZ; ZEIGER, 2004), As figuras 1 expõe as componentes energéticas do ambiente atmosférico nas duas áreas experimentais. O fotoperiodo crítico para esta cultivar esteve próximo de 13 horas, Conforme as épocas de plantio, esperou-se elevados valores de radiação solar, onde a média foi de 19,7 MJ m^{-2} dia^{-1}.

A velocidade dos ventos não ultrapassou os 2 m s^{-1}, considerado ventos de intensidade leve (DOORENBOS; KASSAN, 1979) ideais para manter o gradiente ideal de cases (CO_2, O_2, vapor de água) e de temperatura entre a atmosfera e a superfície vegetal (FARIAS et al., 2009), A umidade relativa do ar (UR%) esteve em média aos 65%, considerada como média (DOORENBOS; KASSAN, 1979), contribuindo para o aumento da evapotranspiração de referencia (Figura 2).

A média de evapotranspiração quinquidial do evaporimetro de piche mostrou-se o mais elevado valor para a determinação da evapotranspiração de referencia, Tendo em vista que o método parametrizado pela FAO, o Penman-Monteith, é o mais preciso, conclui-se que para o período adotado a evaporação do tanque classe (ECA) subestimou a lâmina evapotranspirada, enquanto o evaporímetro de Piché a superestimou, Durante o cálculo da evapotranspiração máxima da cultura, como também de todo o balanço hídrico da cultura, a adoção de um método impreciso poderia levar a resultados errôneos no momento de estimar a deficiencia hídrica relativa e o fator de excedente hídrico.

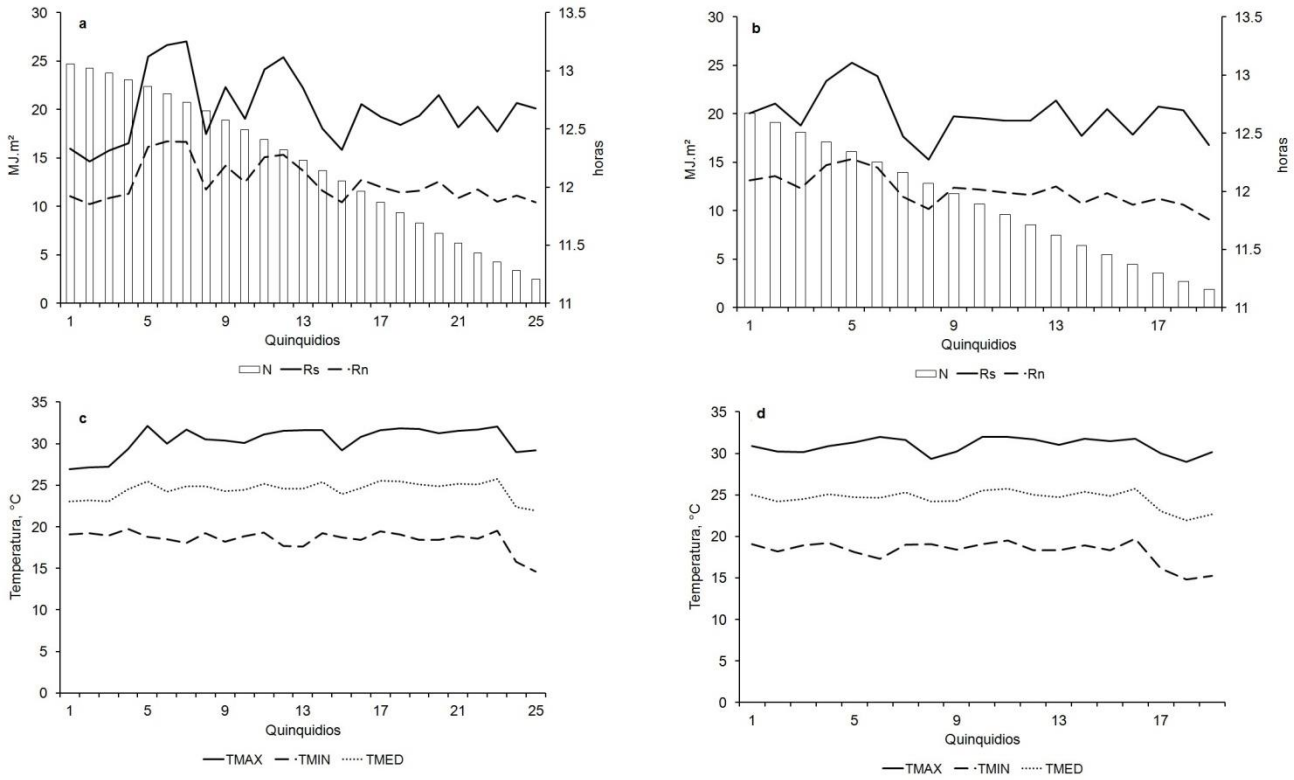


Figura 1. Média quinquidial dos valores medidos das componentes energéticas do ambiente atmosférico: Fotoperiodo (*N*), radiação solar global (*Rs*) e saldo de radiação (Rn) para o plantio em janeiro (a) e para o plantio em fevereiro (b); Temperatura máxima, temperatura mínima e temperatura média para o período o plantio em janeiro (c) e para o plantio em fevereiro (d).

O Penman-Monteith é determinado através de uma equação, com diversas variáveis que compõe o balanço energético e aerodinâmico na atmosfera e em especial, em uma área de cultura, Porém, o evaporimetro de piche e o tanque classe A podem possuir diversas falhas, como em períodos em que há elevada precipitação pluviométrica e, por consequência, influencia direta nas leituras de evaporação,

Considerando os dois plantios avaliados, os valores de evapotranpiração de referencia, conforme Penman-Monteith, variaram de 2,6 mm,dia^{-1} (20 de maio) a 5,35 mm,dia^{-1} (6 de fevereiro),

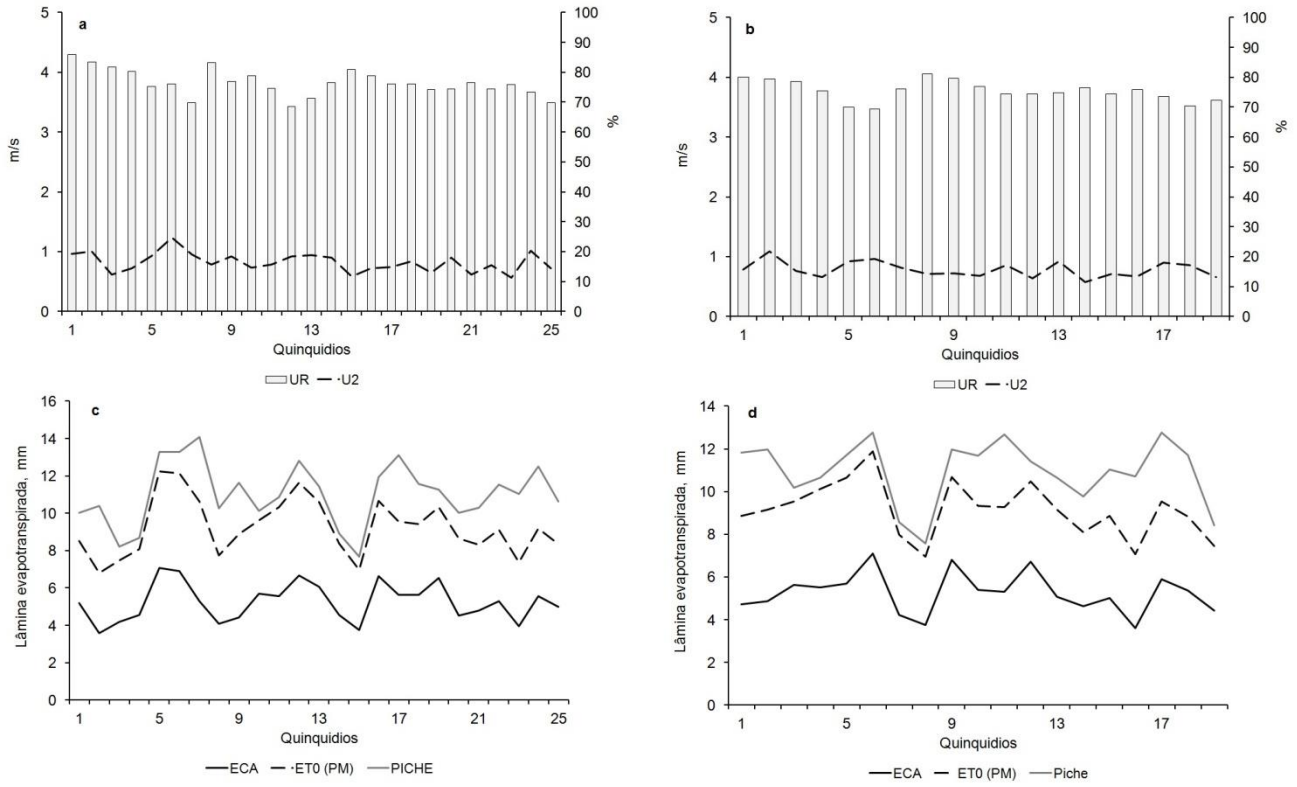


Figura 2. Média quinquidial dos valores medidos das componentes aerodinâmicas do ambiente atmosférico: Velocidade do vento a 2 metros de altura (U_2), em metros por segundo e Umidade relativa do ar (*UR*), em %, para o plantio em janeiro (a) e para o plantio em fevereiro (b); Evapotranspiração de referencia pelos métodos de: evaporação tanque Classe A (*ECA*), evaporimetro de Piche (Piche) e por Penman-Monteith (ET_0) para o plantio em janeiro (c) e para o plantio em fevereiro (d).

Para o plantio realizado em janeiro, a precipitação total foi igual a 915,7 mm, distribuídos de forma regular (31,1 % para a fase I; 30,95% para a fase II; 32,95 para a fase III e 5,0 % para a fase IV),Entretanto, para o plantio realizado em fevereiro, a precipitação total foi de apenas 665,0 mm, concentrados na fase inicial de cultivo (42,10% para a fase I; 10, 53% para a fase II; 26,31 para a fase III e 21,06% para a fase IV) ,De acordo com Raper & Kramer (1987) a faixa de uso da água pela cultura da soja varia de 450 a 825 mm de água, durante o ciclo, dependendo do número de dias necessários para a finalização deste e das condições climáticas, Para o plantio em janeiro e em solo argiloso, a evapotranspiração real total do ciclo correspondeu a 455,66 mm e a evapotranspiração máxima a 500,73 mm (4,25 mm,dia^{-1}), Para o plantio realizado em fevereiro e em solo arenoso, a evapotranspiração real total do ciclo correspondeu a 320,25 mm e a evapotranspiração máxima a 392,82 mm

(3,48 mm dia^{-1}), Estes valores de entrada e saída de água no solo para a soja estão expostos nas figuras 3a e 4a,

Conforme a fisiologia da planta da soja, em cada fase de desenvolvimento há uma sensibilidade ao excedente e ao déficit hídrico, Nas figuras 3b e 4b, observa-se que houve elevada influencia desses fatores na produtividade final da soja, Para o plantio em janeiro, houveram períodos de veranico seguidos de períodos de elevadas precipitações pluviométricas concentradas em poucos dias durante todas as fases de desenvolvimento, chegando a até 26% de deficiência hídrica, O efeito do encharcamento do solo restringiu o desenvolvimento da cultura, aumentando sua sensibilidade ao déficit hídrico, Para o plantio em fevereiro, houve uma sequencia de deficiência e altos volumes de precipitação pluviométrica concentrados especialmente nas fases I, II e III, causando até 100% de danos possíveis por encharcamento, Esse encharcamento comprometeu o desenvolvimento da área foliar, crescimento de radicular e a produtividade final, Durante a emergência das plântulas, a temperatura média foi praticamente a mesma para ambos os plantios, entretanto, verifica-se a ocorrência de elevadas precpitações, o que pode ter comprometido a aeração do solo, fundamental para a uniforme taxa de germinação e emergência das plântulas, As tabelas 2 e 3 demonstram o percentual de emergência de plântulas de soja, avaliadas 4 dias após a semeadura (DAS), 7 DAS e 10 DAS onde foi verificada a uniformidade do stand,

Tabela 2. Percentual de emergência de plântulas de soja 4 dias após a semeadura (4DAS), 7 dias após a semeadura (7DAS) e 10 dias após a semeadura (10DAS) para o plantio realizado em janeiro em solo argiloso (AG) na área experimental da Escola de Agronomia, UFG, em Goiânia, Goiás.

Repetições	E - 4 DAS %	E - 7 DAS %	E - 10 DAS %
1	0,00	16,00	20,00
2	0,00	32,00	36,00
3	0,00	68,00	72,00
4	0,00	36,00	48,00
5	0,00	40,00	60,00
6	0,00	28,00	32,00
Média	0,00	36,67	44,67
CV (%)	0,00	47,51	42,92

Tabela 3. Avaliação de emergência de plântulas de soja 4 dias após a semeadura (4DAS), 7 dias após a semeadura (7DAS) e 10 dias após a semeadura (10DAS) para o plantio realizado em fevereiro em solo arenoso (AR) na área experimental da Escola de Agronomia, UFG, em Goiânia, Goiás.

Repetições	E - 4 DAS %	E - 7 DAS %	E - 10 DAS %
1	0,00	24,00	32,00
2	0,00	20,00	28,00
3	0,00	24,00	28,00
4	0,00	20,00	60,00
5	0,00	16,00	20,00
6	0,00	24,00	28,00
Média	0,00	21,33	32,67
CV (%)	-	15,31	42,71

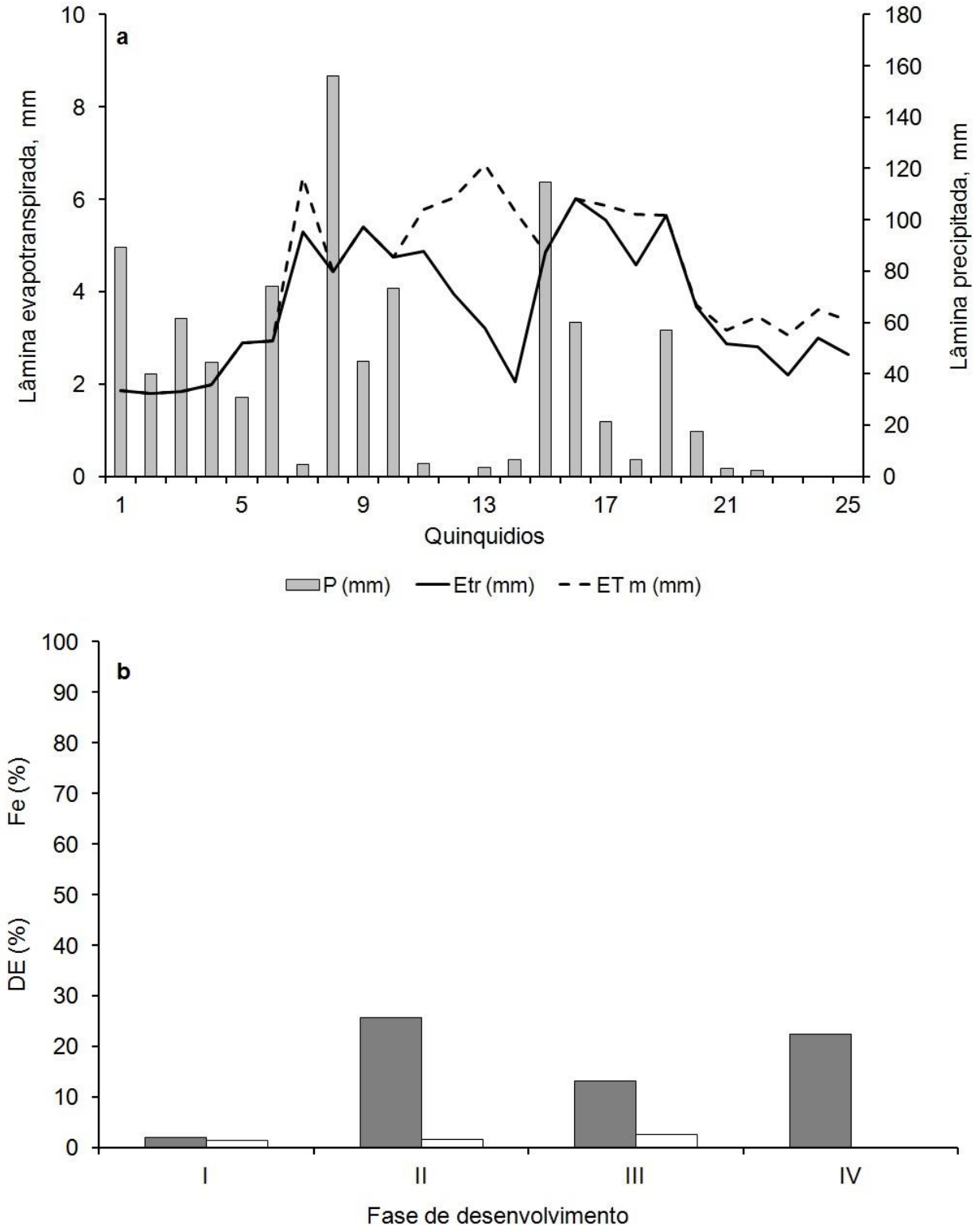


Figura 3. Síntese do balanço hídrico da cultura da soja em solo argiloso (AG) plantada em janeiro: a) evapotranspiração máxima da cultura (*ETm*), evapotranspiração real da cultura (*ETr*) e precipitação (*P*) em escala quinquidial b) Deficiência hídrica relativa (DE %) e Fator de excedente hídrico (Fe %) em cada fase de desenvolvimento para a época de plantio

avaliada, que corresponde a Fase I - da emergência ao 4 trifólio; Fase II – período completo vegetativo; Fase III – Florescimento ao enchimento de grãos; Fase IV: maturação à colheita.

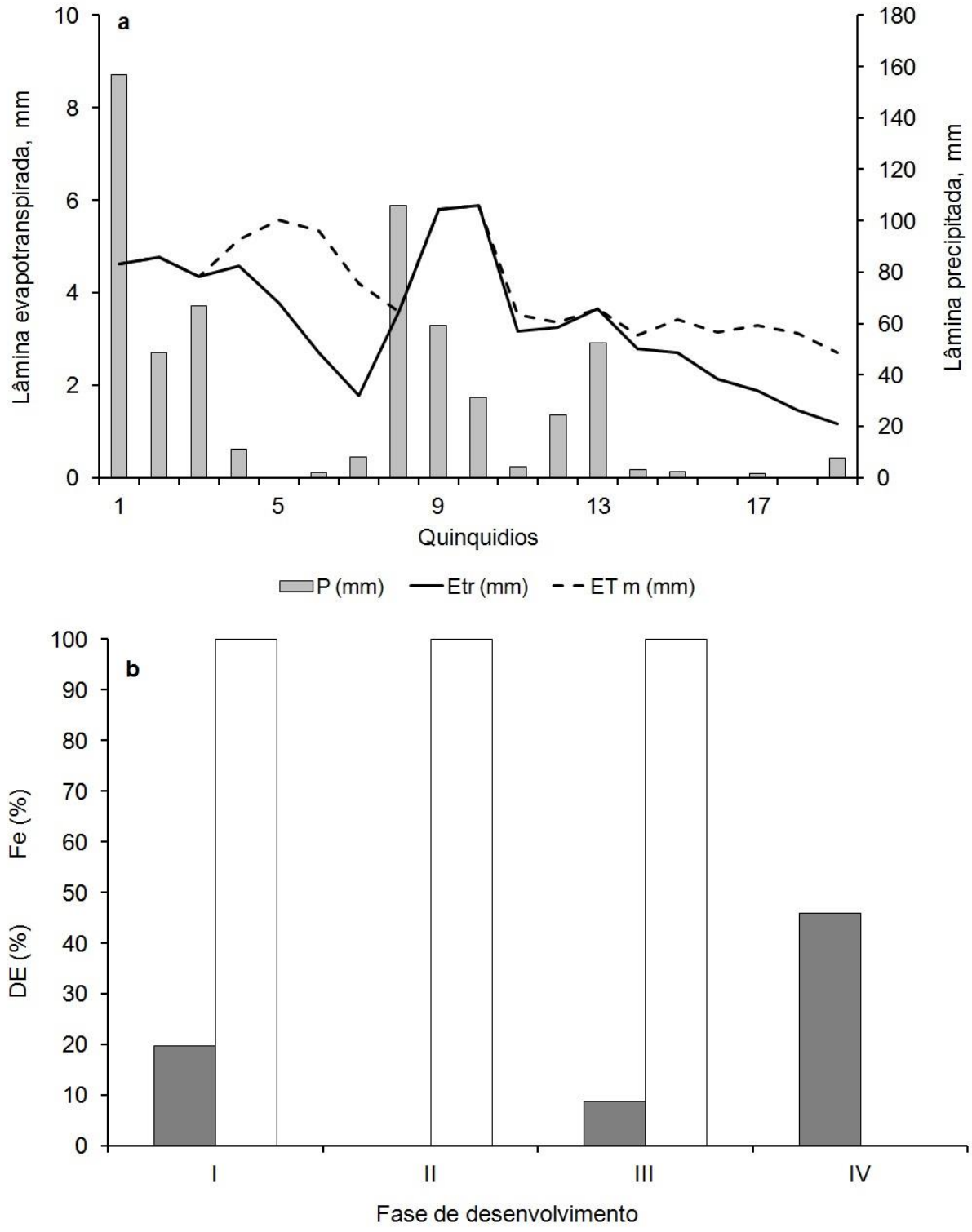


Figura 4. Síntese do balanço hídrico da cultura da soja em solo arenoso (AR) plantada em fevereiro: a) evapotranspiração máxima da cultura (*ETm*), evapotranspiração real da cultura

(*ETr*) e precipitação (*P*) em escala quinquidial b) Deficiência hídrica relativa (DE %) e Fator de excedente hídrico (Fe %) em cada fase de desenvolvimento para a época de plantio avaliada, que corresponde a Fase I - da emergência ao 4 trifólio; Fase II – período completo vegetativo; Fase III – Florescimento ao enchimento de grãos; Fase IV: maturação à colheita.

Cartilhas de zoneamento climático, como a desenvolvida por FARIAS et al, (2001) utilizam a relação (*ETr/ETm*) ≥ 0,65 (DE ≤ 35 %) para recomendar épocas de plantio para diferentes regiões produtoras de soja, De modo geral, se fosse considerado esse valor médio de (DE%) para os dois períodos de plantio avaliados nesse trabalho, concluir-se-ia que ambos são favoráveis ao cultivo da soja para obter-se elevadas produtividades, A imprevisibilidade de ocorrência e intensidade das precipitações pluviométricas é desconsiderada quando não é empregado o fator excedente e a deficiência hídrica relativa por fase de desenvolvimento das culturas, Além disso, esse período corresponde ao final das safras de verão iniciadas de outubro a novembro, onde houve elevada pressão de pragas remanescentes de outras áreas de cultivo, Observa-se nas tabelas 4 e 5 a alta variabilidade entre as repetições, porém, a média baixa de grãos por vagem, onde em condições perfeitas de cultivo são de 3 grãos por vagem, chegando a até 4 em alguns casos, O elevado grau de chochamento também é evidenciado em ambas as áreas,

Tabela 4. Indicadores de produtividade da cultura da soja: número de vagens contendo até 1 grão (V1), número de vagens contendo até 2 grãos (V2), número de vagens contendo até 3 grãos (V3), número total de grãos viáveis, quantidade de vagens por planta e número de grãos por vagem de soja para o plantio realizado em janeiro em solo argiloso (AG) na área experimental da Escola de Agronomia, UFG, em Goiânia, Goiás.

Repetições	V1	V2	V3	Grãos viáveis	N°de vagem /planta	N° de grãos/vagem
1	1,00	36,00	46,00	152,00	83,00	2,54
2	6,00	20,00	32,00	131,00	58,00	2,45
3	6,00	21,00	44,00	164,00	71,00	2,54
4	2,00	27,00	29,00	143,00	58,00	2,47
5	4,00	16,00	9,00	59,00	29,00	2,17
6	4,00	41,00	44,00	173,00	89,00	2,45
Média	3,83	26,83	34,00	137,00	64,67	2,44
CV (%)	53,25	36,62	41,55	29,93	33,38	5,56

Tabela 5. Indicadores de produtividade da cultura da soja: número de vagens contendo até 1 grão (V1), número de vagens contendo até 2 grãos (V2), número de vagens contendo até 3 grãos (V3), número total de grãos viáveis, quantidade de vagens por planta e número de grãos por vagem de soja para o plantio realizado em fevereiro em solo arenoso (AR) na área experimental da Escola de Agronomia, UFG, em Goiânia, Goiás.

Repetições	V1	V2	V3	Grãos viáveis	N° vagem /planta	N° grãos/vagem
1	5,00	6,00	7,00	5,00	18,00	2,11
2	4,00	7,00	5,00	9,00	16,00	2,06
3	3,00	5,00	5,00	9,00	13,00	2,15
4	7,00	8,00	3,00	10,00	25,00	2,04
5	2,00	7,00	4,00	9,00	21,00	2,24
6	4,00	6,00	5,00	15,00	33,00	1,91
Média	4,17	6,50	4,83	9,50	21,00	2,09
CV (%)	41,34	16,14	27,50	33,78	34,21	5,35

Para o plantio em fevereiro, o longo período de florescimento e as elevadas precipitações nesse período propiciaram uma elevada taxa de abortamento das flores, que resultou em plantas com número de vagens muito inferior as do plantio em janeiro, Além disso, a proporção de vagens contendo 2 e 3 grãos é quase a mesma das vagens com apenas 1 grão,

CONCLUSÕES

1 – O excedente hídrico é tão prejudicial quanto a deficiência hídrica durante as fases de emergência, florescimento e enchimento de grãos e seu efeito deve ser quantificado em cada fase de desenvolvimento da cultura da soja;

2 – As épocas de plantio avaliadas não foram favoráveis ao cultivo da soja, onde a combinação de fatores climáticos e bióticos culminou em depleção ao rendimento máximo esperado, onde em termos práticos, diminuição da margem do produtor devido a menor eficiência produtiva;

3 – A diferença de 0,5 h no fotoperíodo do plantio de janeiro para o plantio em fevereiro reduziu a fase juvenil da cultivar AS7303 RR (Monsoy) em 10 dias;

4 –A evapotranspiração de referencia dos dois períodos avaliados variou de 2,6 mm,dia^{-1} a a 5,35 mm,dia^{-1}, onde a evapotranspiração máxima da cultura para o plantio em janeiro foi de 4,25 mm,dia^{-1} e para fevereiro foi de 3,48 mm,dia^{-1},

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, R. G.; et al. Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements. Rome: FAO. **(Irrigation and Drainage Paper, 56)**, 1998.

BERNARDO, S.; SOARES, A. A.; MANTOVANI, E. C. **Manual de Irrigação**. Viçosa (MG): Editora UFV. 8. ed. 2009. 627p.

CAMARGO, M. B. P.; BRUNINI, O.; MIRANDA, M. A. C. Modelo agrometeorológico para estimativa da produtividade para a cultura da soja no Estado de São Paulo**, Bragantia**, Campinas, v. 45, n. 2, p. 279-292, 1986.

DOORENBOS, J.; KASSAN, A. H. **Yield response to water**. FAO (Irrig. and Drain., Paper 33), 1979. 193p.

EMBRAPA, **Tecnologias de Produção de soja na região central do Brasil 2004**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao,cnptia,embrapa,br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil2003/index,htm>

FARIAS, J. R. B.; ASSAD, E. D.; ALMEIDA, I. R. de; EVANGELISTA, B. A.; LAZZAROTTO, C.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L. Caracterização de risco de déficit hídrico nas regiões produtoras de soja no Brasil. **Revista brasileira de Agrometeorologia**, v.9, n.3, p.415-421, 2001.

FERNANDES, E. J.; TURCO, J. E. P. Evapotranspiração de referencia para manejo de irrigação em cultura de soja. **Irrigação**, Botucatu, v.8, n.2, p.132-141, 2003.

IBGE (2012): dados de produtividade de culturas temporárias por município. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/xtras/perfil.php?codmun=520870>Acesso em julho de 2013.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. **Agrometeorologia:** fundamentos e aplicações práticas. 2.ed. Guaíba: Agropecuária, 2002. 478p.

QUEIROZ, E. F. de; MOLION, L. C. B.; MINOR. H. C.; NEUMAIER. N. Um modelo matemático de quantificação da disponibilidade hídrica em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.31, n.10, p.683-690, 1996.

RAPER, C. D.; KRAMER, P. J. **Stress physiology.** In: WILCOX JR (Ed) Soybean: Improvement, production and uses. 2ª ed. Madison: ASA-CSSA-SSSA,1987. p. 589-642.

REICHARDT, K. **A água em sistemas agrícolas**. Barueri: Manole. 1.ed. 1990. 178p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed. 6.ed. 2004. 722p.

PORTAL DO CONSUMIDOR E AÇÕES INTEGRADAS NA ÁREA DE ADMINISTRAÇÃO E PERDAS COMERCIAIS PARA UMA CONCESSIONÁRIA DE ENERGIA ELÉTRICA*

Gilberto Antonio Marcon dos Santos[1] (Bolsista), gilbertoantoniomarcon@gmail.com
Prof. Dr. Getúlio Antero de Deus Júnior[1] (Orientador), getulio@emc.ufg.br
[1]Escola de Engenharia Elétrica, Mecânica e de Computação, Universidade Federal de Goiás

Resumo

Este artigo contém uma descrição das atividades realizadas neste Projeto de Iniciação Científica cumprindo o cronograma proposto no Plano de Trabalho originalmente estabelecido. Como previsto no Plano de Trabalho, o bolsista acompanhou durante o período de um ano um grande Projeto de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) de uma concessionária de energia elétrica onde se implantou um piloto de Redes Elétricas Inteligentes (do inglês: *Smart Grid*). Como principal produto deste acompanhamento foi desenvolvido, por parte do bolsista, um inovador Portal do Consumidor de Energia Elétrica para concessionárias de distribuição de energia. Também foram elaborados Planos de Pesquisa e Planos de Mídia para levantamento de campo e interação do consumidor de energia elétrica em atendimento às demandas geradas pelo piloto da concessionária.

Palavras-chave: *Smart Grid*; Sistemas Web; Administração de *Marketing*.

1. INTRODUÇÃO

Rede Inteligente (do inglês: *Smart Grid*) é um conjunto de tecnologias que visa informatizar os setores de transmissão e distribuição de energia elétrica agregando a estes setores as Tecnologias de Informação e de Comunicações (TIC). A base desta tecnologia é a Infraestrutura de Medição Avançada, ou AMI (do inglês: *Advanced Metering Infrastructure*), uma infraestrutura de telecomunicação que possibilita a troca de dados entre ativos e uma central de informações instalada na concessionária e também a troca de dados entre estes ativos.

Esta tecnologia traz uma gama de melhorias para os setores de transmissão e distribuição, abre um leque de novos serviços relacionados, e cria bases para grandes

* Revisado pelo orientador.

inovações. Uma vez que se estabelece uma comunicação entre os medidores de energia elétrica instalados em cada Unidade Consumidora (UC) e um servidor instalado na concessionária, é possível coletar uma variedade de dados da rede, tais como energia consumida, tensão, frequência, fator de potência, entre outros, em uma escala temporal da ordem de minutos.

A disponibilização de tais dados ao consumidor lhe permite um controle muito mais consciente de seu consumo. Isso eleva a transparência do serviço e facilita o entendimento do cliente sobre como é possível economizar energia e gerenciar gastos relacionados.

O processamento de tais dados tem também o potencial de revelar padrões de consumo e abre possibilidades para pesquisas relacionadas ao consumo de energia, a forma como este está relacionado ao perfil do consumidor e até mesmo como o consumo pode revelar informações sobre seus hábitos e cultura. A coleta e registro contínuo do consumo de energia de cada UC individualmente e em alta granularidade em dada região gera uma grande base de dados sobre sua população. Tais dados também podem auxiliar a concessionária na previsão de demandas de expansão de sua linha de distribuição e no controle de perdas comerciais (furto de energia elétrica).

O projeto de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) 253 “Aplicação da Rede Inteligente (*Smart Grid*) na Supervisão do Fornecimento de Energia Elétrica em Média e Baixa Tensão Utilizando Diferentes Tecnologias de Comunicação” da concessionária de distribuição de energia Celg-D, que atende à maior parte dos consumidores do Estado de Goiás, desenvolvido em colaboração com a Universidade Federal de Goiás, tem como seu escopo principal a implementação de um piloto de Redes Elétricas Inteligentes sobre a rede de distribuição de energia legada da concessionária. Como parte do P&D foram instalados com sucesso medidores inteligentes em 120 UC na cidade de Nova Veneza – GO e dez medidores inteligentes no Condomínio Aldeia do Vale em Goiânia – GO. Todos os medidores foram integrados a um servidor da concessionária através de uma AMI, o que configura um dos pilares da tecnologia *Smart Grid*.

Como previsto no Plano de Trabalho, o bolsista acompanhou a execução do Projeto de P&D participando de suas reuniões semanais. Concomitantemente, foram elaborados Planos de Pesquisa e Planos de Mídias em atendimento às suas demandas. Foi também desenvolvido um Portal do Consumidor inovador cuja finalidade principal é disponibilizar

ao consumidor comum de energia elétrica o acesso a seus dados de consumo de maneira gráfica e intuitiva. Em adição, foram elaborados relatórios mensais descrevendo as atividades e os levantamentos realizados pelo bolsista durante o mês e todos os resultados obtidos a partir destes.

2. METODOLOGIA

2.1 PROPOSTA DE COMBATE ÀS PERDAS COMERCIAIS

Perdas comerciais são caracterizadas por perdas não técnicas, que são furtos de energia, fraudes nos medidores e erros de medição e estimação. Segundo a Agência Nacional de Energia Elétrica (Aneel), o furto e as fraudes de energia elétrica são responsáveis por um prejuízo anual de cerca de R$ 1,2 bilhão ao país (ARAÚJO, 2012). Em determinadas regiões, os furtos são responsáveis por 50% da carga das linhas de distribuição (AMPLA, 2006).

Como descrito no relatório mensal 1 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2012a), foi realizado um levantamento sobre o quadro atual de tecnologias propostas e utilizadas pelas concessionárias de distribuição de energia elétrica nacionais no combate às perdas comerciais. A partir deste levantamento foi proposta uma metodologia de baixo custo para esta finalidade. A metodologia visa determinar, em redes de baixa tensão, quais os transformadores cujas redes são mais prováveis de estarem sofrendo perdas comerciais. Para isso, um medidor de carga deve ser instalado em cada transformador, o que é previsto na implantação das Redes Elétricas Inteligentes (do inglês: *Smart Grid*).

O princípio desta metodologia parte da confrontação dos dados de consumo dos medidores com os dados de carga dos transformadores. As perdas comerciais para um transformador específico são obtidas por meio da seguinte equação (VIEIRALVES, 2005):

$$P_{\text{Perdas Comerciais}} = E_{\text{Trafo}} - (\sum E_{\text{Fat}} + E_{\text{Perdas Técnicas}}), \quad (1)$$

onde E_{Trafo} é a energia demandada por um determinado transformador, E_{Fat} é a energia faturada de uma determinada UC desse transformador e $E_{\text{Perdas Técnicas}}$ é a energia de perdas técnicas na rede desse transformador.

A partir das perdas comerciais, obtém-se a porcentagem de perdas para cada transformador por meio da seguinte equação (VIEIRALVES, 2005):

$$p = \frac{P_{\text{Perdas Comerciais}}}{E_{\text{Trafo}}}. \quad (2)$$

Valendo-se do percentil de perdas comerciais p, podem-se estabelecer políticas de perícia e supervisão das UC. Por exemplo, para um transformador que apresente percentil $p \geq 3\%$ pode ser realizada vistoria nas UC cobertas por esse transformador.

A ferramenta mostra-se uma opção de simples implementação e custo reduzido em redes dotadas da infraestrutura *Smart Grid*. Utilizando-se da metodologia proposta é possível desenvolver sistemas informacionais de detecção de potenciais focos de perdas comercias com boa acurácia e reduzido custo de processamento, valendo-se apenas de dados de fácil acesso para qualquer concessionária de energia elétrica.

2.2 MODELOS PARA DISPONIBILIZAÇÃO DE DADOS DE CONSUMO AO USUÁRIO

Como descrito no relatório mensal 2 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2012b), um dos recursos centrais de *Smart Grid* é a obtenção de dados individuais e detalhados de consumo de energia elétrica. A disponibilização destes dados ao consumidor tem o importante papel de proporcionar transparência e clareza na relação concessionária-consumidor, permitindo um melhor entendimento de seu consumo e da forma com que é cobrado e melhorando a imagem da empresa.

Uma vez instalada a infraestrutura de AMI, a concessionária terá em seu Banco de Dados (BD) informações e dados de consumo de cada UC. Para disponibilizar parte dos dados ao consumidor, sugere-se a adoção de um segundo BD de posse da própria concessionária com dados filtrados do BD da infraestrutura AMI principal. Os dois BDs devem ficar separados por um *firewall* para que haja garantia de segurança do Banco de Dados principal.

Pode-se então distribuir os dados do Banco de Dados "filtrado" para o consumidor por meio de diversas mídias via internet, tais como portais web, TV Digital, SMS, entre outras.

A escolha da(s) mídia(s) pode variar segundo sua disponibilidade e pretensão da concessionária.

2.3 PLANO DE PESQUISA DE *MARKETING* E PLANO DE MÍDIA (VERSÃO 1)

Como descrito no relatório mensal 3 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2012c) foi elaborado o Plano de Pesquisa de *Marketing* 1 para aplicação na cidade de Nova Veneza – GO antes do início das instalações do P&D. Este Plano tem como objetivo a verificação das hipóteses iniciais para as forças ambientais no serviço de AMI, contextualizado no entendimento de como o consumidor se relaciona com o consumo de energia, a companhia de energia elétrica (CELG), o uso de novas tecnologias, o uso de novos serviços e os direitos e os deveres na utilização da energia elétrica. Oitenta perguntas fizeram parte do questionário de aplicação e os resultados dessa Pesquisa de Marketing 1 encontram-se no relatório mensal 4 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2012d).

Com a finalidade de induzir a redução dos índices de perdas comerciais nas áreas de atuação da Celg-D (um dos objetivos alistado no PRJ do Projeto de P&D) e aproveitando a disponibilização de *Smart Grid*, foi desenvolvido o Plano de Mídia 1 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2012f) que visa propagar as seguintes ideias por meio de uma campanha de propaganda: (a) Furto de energia elétrica é crime; (b) Furto de energia elétrica é punido por lei; (c) Furto de energia elétrica resulta em reclusão; (d) Furto de energia elétrica sobrecarrega os ativos da rede, aumentando a incidência de faltas; (e) Furto de energia elétrica pode causar acidentes e incêndios; (f) Fraudes nos sistemas de medição também são consideradas furto; (g) Uso de novas tecnologias para redução de custos para o consumidor; (h) Uso de novas tecnologias com foco na preservação do meio ambiente; (i) Usos de novas tecnologias contribuem para redução da falta de fornecimento de energia elétrica e falha na rede.

Assim, o Plano de Mídia 1 propôs a utilização de *outdoors* espalhados pela região metropolitana de Goiânia e também a utilização da fatura de energia elétrica entregue pela concessionária mensalmente como mídia para veiculação das ideias aqui citadas. Foi proposta ainda a veiculação de mensagens sobre os efeitos do furto de energia, sua

caracterização como crime e as medidas que estão sendo adotadas pela concessionária para detecção de sua prática.

Em adição, uma Cartilha intitulada "Cartilha de Orientação - Projeto Piloto de AMI" foi preparada com o intuito de ilustrar os benefícios e alguns inconvenientes que podem ocorrer ao consumidor no decorrer da implantação do P&D.

2.4 SEGURANÇA CRÍTICA EM PORTAIS WEB DE CONCESSIONÁRIAS

Muitas concessionárias têm negligenciado cuidados fundamentais de segurança de dados na elaboração de seus portais web. Estes portais têm o intuito geral de disponibilizar através da internet dados de consumo, valores faturados, entre outras funcionalidades. Muitas concessionárias, porém, permitem o acesso a qualquer dessas informações sem a solicitação de senha ou qualquer dado adicional. Dessa forma, foi realizado um levantamento sobre como são tratadas as questões de segurança em portais de concessionárias de distribuição de água e energia no país (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013b).

A análise mostrou alguns riscos aos quais os clientes de concessionárias estão expostos devido às vulnerabilidades de seus portais web. A falta de mecanismos de segurança nestes portais permite que qualquer pessoa, leiga ou não, tenha acesso a dados sigilosos relevantes de terceiros. Os portais permitem obter endereço completo e CPF/CNPJ do cliente, além de permitir uma monitoração indevida de seu consumo de energia. Assim, deve-se ressaltar a urgência na adoção de medidas que venham restringir tais acessos e dificultar a liberação indevida de informação (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013b), um ganho muito importante na proposta do Portal de Consumidor como foco principal deste trabalho de iniciação científica.

2.5 PLANO DE PESQUISA DE *MARKETING* E PLANO DE MÍDIA (VERSÃO 2)

Como descrito no relatório mensal 10 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013e), o Plano de Mídia 2 e o Plano de Pesquisa de *Marketing* 2 enquadraram-se em outro momento no curso de implantação da *Smart Grid* na cidade de Nova Veneza – GO, quando os medidores inteligentes já estavam em processo de operação e a fase inicial da Infraestrutura de Medição Avançada encontrava-se funcional. Assim, informações importantes foram obtidas

por meio de uma Pesquisa de *Marketing* 2. Neste novo cenário, surgiu também a necessidade de informar os consumidores sobre o andamento deste processo de implantação, além de difundir na comunidade as características, os benefícios e os potenciais desta nova tecnologia e informar como esta pode impactar em seu cotidiano.

Dessa forma, a elaboração do Plano de Mídia 2 possibilitou a averiguação do avanço no processo de adoção da tecnologia e incentivo à propagação mais eficiente do que estava sendo realizado na comunidade, exercendo o papel de inclusão da comunidade para participação ativa no projeto.

Para tanto, o 9ª Edição do Festival foi realizada no período de 6 a 9 de junho de 2013 na Praça da Matriz de Nossa Senhora do Carmo (centro da cidade de Nova Veneza – GO) tornou-se um valioso local para a comunicação com o mercado consumidor da cidade e implementação do Plano de Mídia 2, com hospedagem de um estande para a Celg-D.

O Plano de Mídia 2 teve como objetivos a distribuição de uma nova versão da cartilha apresentada no primeiro Plano de Mídia 1, a exposição de *banners* retratando a tecnologia *Smart Grid* e o Projeto de P&D da Celg-D, além da realização da coleta de dados do Plano de Pesquisa de *Marketing* 2. A nova cartilha mostrou ainda o andamento do processo com mapas da infraestrutura AMI e imagens dos medidores implantados. Os *banners* expostos no estande tiveram o papel de divulgar a ideia e os benefícios das Redes Elétricas Inteligentes para a cidade de Nova Veneza – GO.

Como incentivo ao preenchimento do formulário de Pesquisa de *Marketing* 2, a equipe da UFG e equipe Celg-D aprovaram a distribuição de *squeeze*s com o tema do projeto como recompensa. Assim, cada entrevistado que respondeu corretamente ao questionário, foi entregue a cartilha sobre o projeto e uma *squeeze*. Essa estratégia visou incentivar os presentes no evento a participar da pesquisa de opinião, além de cativar a atenção do público no Festival para a o estande do Projeto, maximizando a visibilidade deste e difundindo as ideias veiculadas no Plano de Mídia 2. A figura 1 mostra o *kit* distribuído àqueles que participaram da pesquisa de opinião.

O Plano de Pesquisa de *Marketing* 2 foi veiculado em um formulário impresso distribuído no estande do evento. Em resumo, o Plano de Pesquisa de *Marketing* 2 visou obter informações sobre como o consumidor se posiciona em relação: (a) à companhia de energia elétrica (Celg-D); (b) à implantação da Redes Elétrica Inteligentes (*Smart Grid*); (c)

ao serviço de corte e religamento remoto; (d) à utilização de medidor eletrônico; (e) ao acesso ao Portal do Consumidor; (f) ao acesso ao Portal do Consumidor via dispositivos móveis; (g) ao recebimento de alertas por mensagens SMS; e (h) ao uso de faturamento pré-pago.



Figura 1: *Kit* distribuído àqueles que participaram da pesquisa de opinião.

3. RESULTADOS

3.1 EXECUÇÃO DO PLANO DE PESQUISA DE *MARKETING* (VERSÃO 1)

Como discutido no relatório mensal 5 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2012f), a Pesquisa de *Marketing* 1 revelou uma imagem de consumidor condizente com a realidade atual do Brasil. Observou-se um elevado otimismo com relação à vida e a oferta de emprego. Este otimismo, aliado à estabilidade financeira, eleva a dinamicidade do mercado e sua aptidão para o consumo. Sugere também uma demanda por disponibilidade de novos serviços e abertura a novos produtos (KOTLER, 2006).

3.1.1 IMPLICAÇÕES PARA O DESENVOLVIMENTO E IMPLANTAÇÃO DO PORTAL DO CONSUMIDOR

A *Smart Grid* é uma plataforma com o potencial de oferecer uma ampla gama de novos serviços para o consumidor de energia elétrica. Dentre estes novos serviços, pode-se citar o Portal do Consumidor Web, por meio do qual é possibilitado ao consumidor um nível de transparência e disponibilidade de informações a respeito de seu consumo de energia

elétrica até então inalcançável. Uma vez que a tecnologia permite que uma avalanche de dados seja coletada sobre seu consumo em intervalos na ordem de minutos, é possível exibir ao consumidor dados detalhados sobre seu histórico de consumo ao longo do tempo, juntamente com dados estatísticos esclarecedores. Para que tal transparência se realize de maneira satisfatória, é necessário que seja desenvolvido um portal de grande acessibilidade, capaz de ser visualizado em qualquer computador atual e que possa ser operado sem a necessidade de treinamento.

Os fatos mais relevantes para o desenvolvimento e implantação do Portal do Consumidor para o mercado de Nova Veneza – GO revelados por meio dos resultados do Plano de Pesquisa de *Marketing* 1 são apresentados no quadro 1.

Quadro 1: Pontos relevantes para o Portal do Consumidor.

Moradores costumam verificar assiduamente seu consumo de energia;
O conhecimento do consumo em kWh é desconhecido pelos moradores;
Uso majoritário de computadores de mesa;
Acesso à internet majoritariamente realizado por meio de banda larga fixa;
Reduzida utilização da internet para compras e transações bancárias;
Reduzida preferência do Portal do Consumidor como meio para visualização do consumo;
Aqueles que preferem o Portal do Consumidor o acessariam, em maioria, semanalmente;
Os serviços mais requisitados para o Portal do Consumidor são sugestões de economia, gráficos e previsões;
Os serviços menos requisitados para o Portal do Consumidor são alertas, relatórios e comparações de consumo;
A grande maioria prefere adquirir créditos para telefone móvel em estabelecimentos físicos.

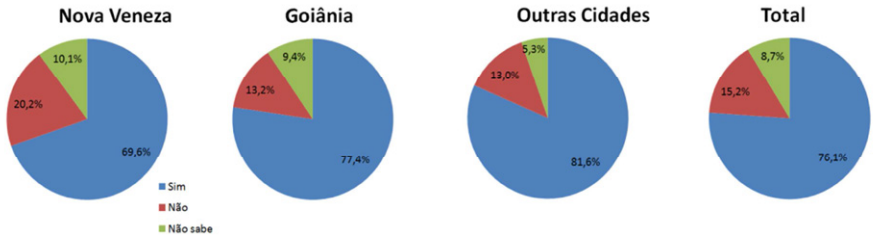
3.2 EXECUÇÃO DO PLANO DE PESQUISA DE *MARKETING* (VERSÃO 2)

Os resultados da execução do Plano de Pesquisa de *Marketing* 2 aplicado durante o 9º Festival Italiano Gastronomia e Cultura Gastronômico Cultural de Nova Veneza – GO encontram-se no relatório mensal 11 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013f). A pesquisa consistiu na aplicação de um questionário impresso de única página no qual foram

veiculadas dez perguntas sobre o conhecimento do cliente sobre os serviços de fornecimento de energia, sua visão e seu interesse pelas novas tecnologias propostas e seu nível de satisfação com a concessionária. Os entrevistados responderam ao questionário na presença dos pesquisadores do projeto de P&D no estande da concessionária durante os quatro dias do Festival.

Durante todo o evento houve presença frequente de pessoas no estande, com destaque para os dias de final de semana. Foram impressos mil formulários para a ocasião, sendo que 888 (oitocentos e oitenta e oito) questionários foram devidamente preenchidos. Assim, a taxa de sucesso foi de 88,8%, considerada excelente.

Durante a coleta de dados no estande da Celg-D no Festival, foi observado pelos pesquisadores presentes que muitos clientes mostravam interesse em preencher corretamente o questionário e satisfação em participar. Enquanto respondiam, muitas dúvidas foram apresentadas sobre a tecnologia e discutidas pessoalmente, havendo diálogo direto entre os pesquisadores presentes e a comunidade. Como pode ser observado no resultado apresentado no Gráfico 1, os consumidores da Celg-D que compareceram ao Festival demonstraram-se favoráveis à implantação do Portal do Consumidor para monitorar o consumo de energia elétrica através de gráficos interativos (pergunta 5). Observando-se as respostas a essa pergunta, verificou-se que há uma adesão positiva do Portal do Consumidor por parte do consumidor, uma vez que sua aceitação é superior a 69% considerando a estratificação proposta. Entretanto, observa-se essa aceitação é relativamente inferior quando comparada à aceitação do medidor eletrônico proposto na pergunta 3 e do *display*, proposto na pergunta 4. Dessa forma, observou-se que os consumidores de Nova Veneza-GO mostraram-se os menos abertos a essa nova tecnologia.



(a) **(b)** **(c)** **(d)**

Gráfico 1: Gráficos percentuais relativos à aceitabilidade do Portal do Consumidor para monitorar o consumo de energia elétrica através de gráficos interativos.

3.3 ENGENHARIA DE *SOFTWARE*

Como apresentado no relatório mensal 6 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013a), em Engenharia de *Software*, o processo de desenvolvimento de *software* é dividido basicamente em três atividades: (a) Especificação de *Software*; (b) Desenvolvimento de *Software*; e (c) Validação de *Software*. A Especificação de *Software*, o primeiro passo neste processo, é fundamental para que se atenda às demandas em vista. A figura 2 apresenta os documentos produzidos definidos pela Engenharia de *Software* antes mesmo do desenvolvimento e da validação do *software* (Portal do Consumidor).

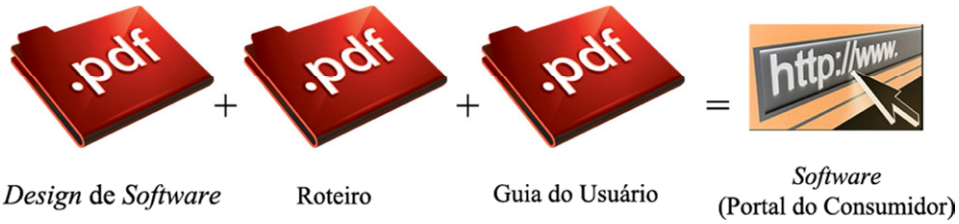


Figura 2: Documentos produzidos antes da implementação do Portal do Consumidor.

4. DISCUSSÃO

4.1 PLANO DE PESQUISA DE *MARKETING* (VERSÕES 1 E 2)

Como discutido no relatório mensal 5 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2012e), os fatos revelados pela Pesquisa de *Marketing* 1 indicaram principalmente dois pontos conflitantes no tocante ao Portal do Consumidor: ao passo que os consumidores em sua grande maioria têm acesso a computadores e conexões rápidas com a internet, há uma grande rejeição por operações que envolvam consumo ou dinheiro por meio da mesma. Contudo, o hábito de verificar assiduamente seu consumo de energia tem o potencial de ampliar o interesse pelo Portal do Consumidor.

É importante ressaltar que o Portal do Consumidor tem o potencial de ampliar o conhecimento do cliente sobre seu consumo em kWh e sobre como são aplicadas as tarifas. Este fator tem peso redobrado para a implantação de tarifas sazonais, uma vez que estas tornam a tarifação significativamente mais complexa e o Portal do Consumidor tem a tarefa de apresentar de maneira clara e transparente através de gráficos intuitivos e elucidativos como estas tarifas afetam a forma com que o consumo de energia é cobrado.

Por fim, um fator de peso foi a constatação da preferência dos consumidores pelas funcionalidades do Portal do Consumidor. A Pesquisa de *Marketing* 1 revelou que a grande maioria dos consumidores que apresentaram preferência pelo Portal do Consumidor desejavam que este disponibilizasse gráficos e previsões de consumo, além de sugestões de como economizar energia. Alertas por *e-mail* e mensagem de celular foram rejeitadas pela maioria os consumidores, bem como relatórios semanais de consumo e comparações gráficas de seu consumo com a média de consumo da cidade. A grande rejeição por alertas via *e-mail* e mensagens de celular são reflexos do efeito das mensagens em massa, *newsletters* e *spam* que enchem as caixas de *e-mail*. Entretanto, acredita-se que esse tipo de serviço é muito bem vindo para consumidores com perfil diferente, ou seja, usuários que utilizam amplamente a internet para compras e *home banking*.

A partir dos resultados apresentados no relatório mensal 11 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013f), pode-se dizer em linhas gerais que os consumidores entrevistados se mostraram abertos às novas tecnologias, com altas taxas de aceitação, frequentemente em torno de 70% a 80%. Entretanto, foi verificado que o consumidor de Nova Veneza – GO mostrou-se mais conservador do que o consumidor de Goiânia – GO. Essa característica por estar relacionada com a origem rural e interiorana dos entrevistados da cidade de Nova Veneza – GO.

Portanto, em vista dos resultados obtidos nas pesquisas realizadas antes e durante a instalação da infraestrutura de AMI, foi proposto um Portal do Consumidor com vistas a atender às demandas latentes observadas para esse mercado. A próxima seção irá apresentar uma discussão da proposta para implementação do Portal do Consumidor.

4.2 PORTAL DO CONSUMIDOR

O documento "*Design* de *Software*" (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013h) foi apresentado no relatório mensal 6 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013a) com o objetivo de definir, como parte da Engenharia de Requisitos, dentro do contexto de Engenharia de *Software* (SOMMERVILLE, 2011), os requisitos, recursos e funcionalidades esperados para o *Software* a ser desenvolvido, o Portal do Consumidor, em caráter qualitativo. Podem-se resumir os requisitos definidos no *Design* de *Sofware* como:

- Proporcionar ao consumidor acesso livre a seus dados de consumo;
- Democratizar o entendimento do consumo de energia elétrica;
- Facilitar a compreensão das tarifas sazonais e de como elas afetam os valores cobrados pela energia consumida em diferentes horários;
- Incentivar um consumo de energia elétrica de maneira mais inteligente e fora dos horários de pico;
- Ampliar a transparência na comercialização da energia elétrica;
- Informar em um primeiro momento as novas formas de consumir energia elétrica e a possibilidade dos clientes entregarem energia elétrica gerada por meio de interligação da rede do cliente na rede da concessionária;
- Melhorar a imagem da concessionária de energia elétrica.

Conforme proposto pelo *Design* de *Software*, o Portal do Consumidor deve oferecer cinco funcionalidades principais: (1) Visualização de gráficos por meio de uma interface interativa que permite ao usuário total flexibilidade de navegação; (2) Visualização dos valores cobrados pelo consumo em paralelo com o consumo; (3) Serviço de verificação de dados cadastrais e cadastramento de e-mail dos clientes para que recebam semanalmente um relatório de seu consumo de energia elétrica e outras funcionalidades; (4) Serviço de *e-commerce* da concessionária de energia elétrica relacionados às futuras implementações de tarifa sazonal ou tarifa branca, programa de microgeração de energia elétrica, entre outras possibilidades; e (5) Serviço de *e-marketing* da concessionária de energia elétrica para envio de informações das principais ações da empresa a seus clientes para melhoramento da sua imagem (*marketing* empresarial).

Com o Portal do Consumidor espera-se alcançar todos os pontos ressaltados, garantindo economia e um consumo de energia elétrica mais sustentável, além de ampliar os novos produtos que surgirão com o *e-commerce* e melhorar a imagem da empresa por meio do *e-marketing*.

O Roteiro de *Software* (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013i) foi apresentado no nos relatórios mensais 8 e 9 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013c) (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013d) para guiar o desenvolvimento do Portal do Consumidor. Este roteiro visou a

definição e associação de todas as seções disponíveis para o usuário, contemplando todos os estados possíveis da navegação pelo sistema. A tabela 1 apresenta distintamente as seções do Portal do Consumidor tratadas pelo Roteiro de *Software* (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013i). As seções "*E-mail*" e "Conta" disponibilizam ao consumidor seus dados cadastrais, além de lhe possibilitar registrar um endereço de *e-mail* para recebimento de relatórios de consumo, em atendendo à funcionalidade 3 do *Design* de *Software*.

Tabela 1: Distribuição de áreas do Portal do Consumidor.

Seção	Descrição
Acesso	A seção "Acesso" representa uma seção importante para todo o portal, uma vez que lhe cabe a responsabilidade por garantir a segurança e limitar a visualização dos dados do portal apenas aos usuários a que estes referem. A restrição de acesso é realizada através do uso de senha. Para visualizar qualquer dado disponibilizado pelo portal, o consumidor deve dispor de seu número de conta e sua senha correspondente.
E-mail	A seção "*E-mail*" visa permitir ao usuário cadastrar seu endereço de *e-mail* para receber relatórios de consumo, alertas e comunicados esporádicos da concessionária. A área deve permitir ao usuário não apenas cadastrar um endereço de *e-mail*, mas também altera-lo quantas vezes for necessário e remove-lo, caso decida parar de receber *e-mail*s da concessionária.
Principal	A seção "Principal" é uma tela central na navegação pelo portal, uma vez que é a primeira tela apresentada após o acesso e o usuário é redirecionado para esta tela toda vez que deseja sair do portal ou navegar para uma área diferente deste. Esta tela possui seis botões de ação que redirecionam o usuário para as seis grandes áreas do Portal e um botão de ação que encerra o acesso deste.
Conta	A seção "Conta" é responsável por apresentar, quando disponíveis, dados do proprietário da conta, tais como nome CPF e o código de sua conta. Assim, as únicas entidades presentes na tela devem ser, a princípio, uma tabela contendo os dados e um botão de retorno, que redireciona o usuário à seção "Principal".

Estatísticas	A seção “Estatísticas” tem o papel de apresentar médias e totais de consumo de cada uma das UC da conta. Além destes dados de consumo, também devem ser apresentados seus análogos em valores monetários, mostrando de maneira clara os valores cobrados pelo consumo.
Comparações	Uma Importante funcionalidade oferecida pelo Portal do Consumidor é a de oferecer ao usuário um comparativo gráfico entre o consumo médio de todas as UC do sistema com suas próprias UC. Através deste recurso, o cliente pode compreender melhor o significado das tarifas sazonais, além de se localizar em relação aos demais consumidores.
Consumo	A seção “Consumo” exerce um papel central no Portal do Consumidor. Esta área cobre a funcionalidade de apresentar ao usuário os dados de consumo de suas diferentes UC.
Tarifas	A seção “Tarifas” tem o papel de apresentar as tarifas cobradas pelo consumo de energia, sejam elas sazonais ou fixas. Esta mostra de tarifas deve ser implementada através de um quadro ou gráfico, de forma a tornar a visualização e o entendimento por parte do usuário o mais direto e completo possível.

Conforme descrito no relatório mensal 12 (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013g), o Portal do Consumidor foi implementado para a web. O servidor, programado em PHP, gera uma página que é enviada ao cliente no formato HTML. Este código HTML é interpretado pelo navegador do cliente, que gera a página para o usuário. É realizado, por vezes, um processamento local programado em JavaScript, que vem embutido na página HTML. Algumas ações do usuário são processadas localmente por JavaScript, como, por exemplo, a navegação através de um gráfico. Outras ações do usuário acarretam em um retorno de dados ao servidor, como, por exemplo, a solicitação de outra UC, ou outro período do registro de consumo. Os dados que retornam ao servidor são novamente processados e este responde com uma nova página HTML, reiniciando o ciclo. O acesso ao Banco de Dados é programado em PHP e processado no servidor visando atender às solicitações do cliente.

Todos os gráficos gerados e apresentados pelo sistema dispõem de recursos de navegação e ampliação interativos, o que permite ao usuário observar seus dados de

maneira flexível. Além disso, em cada gráfico são plotadas as curvas de energia consumida paralelamente às curvas de preço tarifado por essa energia, em atendimento às funcionalidades 1 e 2 propostas no *Design* de *Software.* As seções descritas no Roteiro de *Software* foram implementadas de maneira modular, de tal forma que é possível remover ou adicionar módulos ao portal sem grande dificuldade. Dessa foram possibilita-se à concessionária acrescentar módulos segundo suas necessidades. Tais módulos podem agregar ampla variedade de funcionalidades, tais como *e-marketing* e *e-commerce*, como descrito pelas funcionalidades 4 e 5 do *Design* de *Software.*

O Portal do Consumidor foi desenvolvido para atuar sobre um Banco de Dados próprio. Este Banco de Dados deve ser alimentado periodicamente com novos usuários, UC, dados sobre consumo e valores faturados. Todos estes dados devem ser alimentados pelos sistemas internos da concessionária (por exemplo, sistemas que recebem e registram dados de consumo dos medidores e sistemas que executam faturamento). O modelo Entidade-Relacionamento do Banco de Dados implementado para o Portal do Consumidor é apresentado pela figura 3. As principais telas do portal implementado podem ser observadas nas figuras 4 a 6. Conforme mencionado anteriormente, a proposta do Portal do Consumidor consistiu na elaboração de três documentos que visaram oferecer informações básicas sobre o funcionamento do Portal de maneira instrutiva e utilizando uma linguagem acessível para o consumidor geral (MARCON; DEUS JÚNIOR, 2013j).

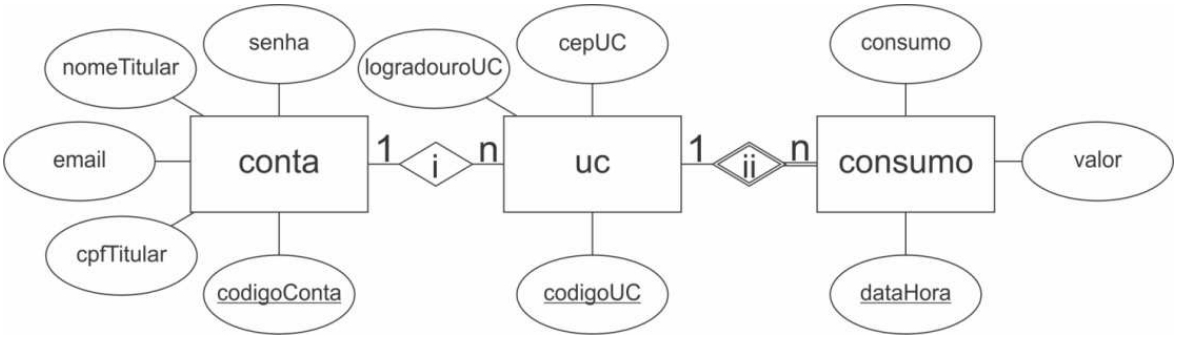


Figura 3: Modelo Entidade-Relacionamento do BD do Portal do Consumidor.



Figura 4: Tela principal do Portal do Consumidor.



Figura 5: Tela de seleção de datas.

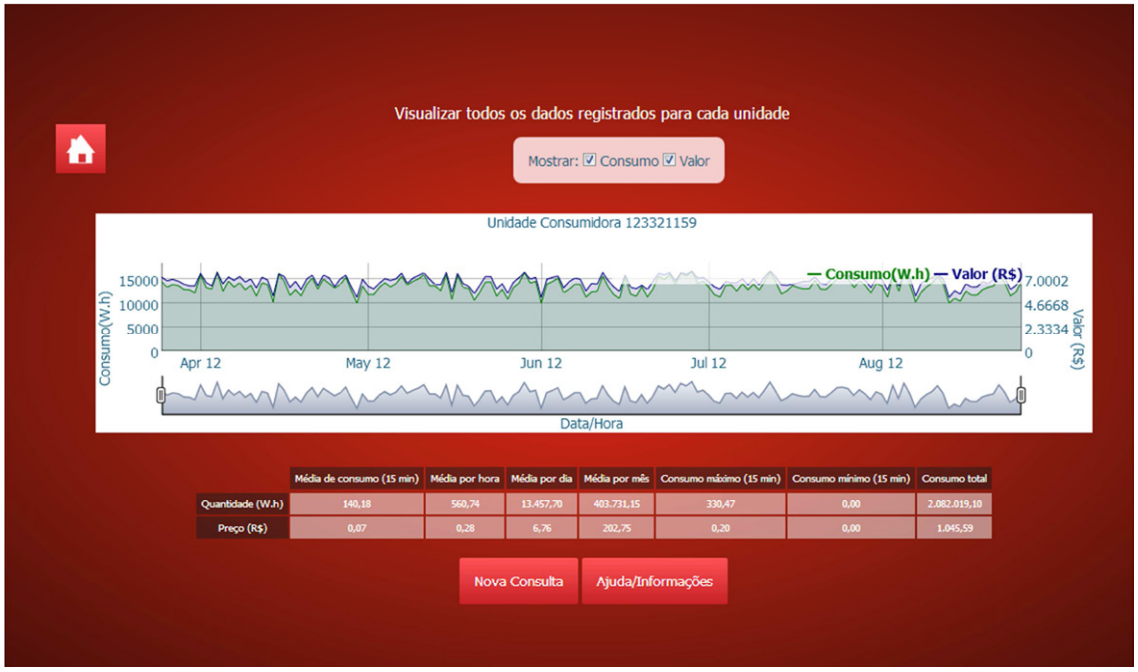


Figura 6: Tela visualização de gráficos.

5. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do exposto, conclui-se que houve sucesso no cumprimento do Plano de Trabalho inicialmente proposto, estabelecendo um passo inicial para posteriores desenvolvimentos no tópico, em especial a partir dos próximos projetos de P&D originários das parcerias firmadas entre Universidade e Concessionária. É importante destacar que o processo de desenvolvimento de software segue um constante aprimoramento, em que a cada nova interação entre cliente e desenvolvedor, novos problemas são detectados e novas melhorias são implementadas, de maneira a produzir uma constante adaptação e adequação do tal. Neste contexto, este trabalho constitui a base inicial do desenvolvimento de um Portal do Consumidor, a partir da qual pesquisas posteriores poderão dar continuidade a este processo de desenvolvimento adaptativo.

6. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. C. M. de. **Perdas e Inadimplência na Atividade de Distribuição de Energia Elétrica no Brasil.** Brasília: acervo da ANEEL. Disponível em:

<http://www.aneel.gov.br/biblioteca/trabalhos/trabalhos/Tese_Antonio%20Carlos.pdf>. Data de Acesso: 29 ago. 2012.

AMPLA. "*Medidor Blindado - Sistema da Ampla coíbe fraudes e vandalismo*". Revista de Pesquisa e Desenvolvimento da Aneel nº 1, 2006, Brasília, p. 16.

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Detecção e Combate às Perdas Comerciais e Arquiteturas de Informação para *Smart Grid*. Goiânia: EMC/UFG, 2012, 40 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-AGOSTO-2012 – Relatório 1).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Modelos de Disponibilização de Dados de Consumo ao Usuário, Fundamentos de Marketing e Perdas Comerciais no Brasil. Goiânia: EMC/UFG, 2012, 28 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-SETEMBRO-2012 – Relatório 2).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Condução de Pesquisa de Marketing, Previsão de Demanda e Engenharia de *Software*. Goiânia: EMC/UFG, 2012, 55 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-OUTUBRO-2012 – Relatório 3).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Banco de Dados, Resultados da Execução do Plano de Pesquisa de Marketing e Proposta de Plano de Mídia. Goiânia: EMC/UFG, 2012, 113 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-NOVEMBRO-2012 – Relatório 4).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Acesso ao Banco de Dados da concessionária e Análise das Implicações dos Resultados da Pesquisa de marketing. Goiânia: EMC/UFG, 2012, 14 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-DEZEMBRO-2012 – Relatório 5).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Portal do Consumidor: Design de *Software*. Goiânia: EMC/UFG, 2013, 10 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-JANEIRO-2013 – Relatório 6).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Vulnerabilidade no Acesso aos Dados dos Consumidores de concessionárias por Meio de Portais Web e View para Acesso aos Dados de Consumo. Goiânia: EMC/UFG, 2013, 24 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-FEVEREIRO-2013 – Relatório 7).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Portal do Consumidor: Roteiro de *Software* (Parte 1). Goiânia:

EMC/UFG, 2013, 20 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-MARÇO-2013 – Relatório 8).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Portal do Consumidor: Roteiro de *Software* (Parte 2). Goiânia: EMC/UFG, 2013, 27 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-ABRIL-2013 – Relatório 9).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Proposta de Plano de Pesquisa de Marketing 2 e Proposta de Plano de Pesquisa de Mídia 2. Goiânia: EMC/UFG, 2013, 42 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-MAIO-2013 – Relatório 10).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Execução do Plano de Pesquisa de Marketing 2. Goiânia: EMC/UFG, 2013, 89 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-JUNHO-2013 – Relatório 11).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Implementação do Portal do Consumidor Proposto. Goiânia: EMC/UFG, 2013, 41 p. (Série PIBIC ciclo 2012-2013 – RLT-JULHO-2013 – Relatório 12).

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Plano de Mídia Para Gerenciamento de Perdas Não Técnicas Para uma concessionária de Energia Elétrica. Goiânia: EMC/UFG, 2012, 43 p.

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Portal do Consumidor: *Design* de *Software*. Goiânia: EMC/UFG, 2013, 5 p.

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Portal do Consumidor: Roteiro de *Software*. Goiânia: EMC/UFG, 2013, 28 p.

MARCON S., G. A.; DEUS JÚNIOR, G. A. DE. **Tecnologias de Comunicação e Aplicações em *Smart Grid*:** Portal do Consumidor: Guia do Usuário. Goiânia: EMC/UFG, 2013, 11 p.

KOTLER, P. **Administração de Marketing.** 12ª Edição. São Paulo: Prentice Hall, 2006.

SOMMERVILLE, I. ***Software* Engineering**, 9th Edition. Addison-Wesley, 2011.

VIEIRALVES, E. de X. Proposta de uma Metodologia para Avaliação das Perdas Comerciais dos Sistemas Elétricos – O Caso Manaus. **Dissertação de Mestrado.** Universidade Estadual de Campinas. 2005. Disponível em: <http://dc442.4shared.com/doc/-Yz7i0DU/preview.html>. Data de Acesso: 29 ago. 2012.

A METAMORFOSE: SIGNOS LITERÁRIOS E CINEMATOGRÁFICOS•

Gilson de Oliveira Mendonça (orientando); Neuda Alves do Lago (orientadora)
UFG/CAJ
gilson.olliveira@hotmail.com; neudalago@hotmail.com

Resumo: O objetivo deste trabalho foi discutir o processo intersemiótico de transformação da obra literária A Metamorfose, de Franz Kafka, em produção cinematográfica, realizada pelo diretor Valery Fokin no ano 2002. Para tanto, foi realizado uma análise dos signos presentes na obra A Metamorfose, fundamentada na Teoria Semiótica de Charles Pierce, se atendo as três modalidades estabelecidas do Pierce, a saber: Primeiridade, Secundidade e Terceridade. Também foi desenvolvido um estudo acerca do autor acompanhado de um resumo da história escrita por Kafka.

PALAVRAS-CHAVE: Semiótica, Literatura, Cinema, *A Metamorfose*.

1. INTRODUÇÃO

Considerado um dos autores de maior relevância da Literatura de língua Alemã, Franz Kafka nasceu em Praga no ano de 1883 e morreu em Kierling (Áustria) em 1924. Entre os muitos livros escritos por Kafka, *A Metamorfose* (2003), escrita no início do século XX, foi uma das poucas obras que o autor publicou ainda vivo. De acordo com Modesto Carone (2009), *A Metamorfose* foi escrita no 29º ano de vida do autor, em 1912, e publicada em 1915.

Em 2002, o diretor de teatro Valeri Fokin produziu uma obra de relevante interesse para o cinema russo, levando às telas o longa-metragem A Metamorfose, numa adaptação que exigiu uma *performance* de extrema complexidade para o ator Yevgeny Mironov, incumbido do desafio de representar o homem metamorfoseado em inseto, Gregor Samsa, personagem principal da obra de Kafka.

Neste trabalho, nos propusemos a analisar as relações entre o livro de Kafka e o filme de Fokin, pensando nas possíveis aproximações e nos prováveis distanciamentos entre as duas obras de arte. Para isso, utilizaremos como arcabouço teórico a Semiótica de Peirce (2000), que nos dará suporte para fazer a análise dos signos empregados tanto na arte literária, quanto na cinematográfica.

• "revisado pela orientadora"

Para pensar uma diferença basilar entre Literatura e Cinema, Dias (2007) coloca que

> *"[a] diferença básica e mais clara entre romance e filme é aquela entre comunicação verbal e a visual, como a diferença entre uma imagem mental e uma imagem visual. Com uma imagem visual o espectador tem a ilusão de perceber objetos representados como se fossem os objetos mesmos, já com a linguagem escrita o leitor pode criar sua própria imagem mental dos acontecimentos narrados."*
> (p. 2)

Literatura e Cinema são artes distintas, que possuem suas próprias peculiaridades e que as fazem existir com autonomia e distinção. Entretanto, não é incomum encontrar numa obra de arte outras artes misturadas. O cinema é o mestre em absorver outras artes. A música, por exemplo, se tornou quase uma regra na constituição do cinema. É quase raro encontrar um filme sem música. Já a Literatura, sofreu inúmeras adaptações cinematográficas. O teatro também tem o seu espaço dentro da sétima arte, pois os personagens dos filmes que se corporificam nos atores, são antes figuras da encenação.

Nas obras que serão analisadas neste trabalho, tem-se um amálgama entre Teatro, Música, Literatura e Cinema, e isso é mais evidente quando se trata do cinema, pois de acordo com Dias (2007), é inigualável a capacidade da narrativa áudio-visual em misturar as linguagens de modo que elas se sustentem mutuamente.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi pesquisar a relação intersemiótica entre a obra literária A Metamorfose e sua adaptação cinematográfica pelo diretor Valery Fokin.

Os objetivos específicos foram:

- estudo dos fundamentos da Semiótica peirciana e da estética literária de Franz Kafka
- análise dos signos explorados nos sistemas literário e cinematográfico
- análise da transposição de um sistema a outro

3. METODOLOGIA

Realizou-se um levantamento bibliográfico de estudiosos da Semiótica e da relação entre cinema e literatura, como Cardoso (2011), Furtado (2003), Santaella (2004) e Moura e Filetti (2009). Estes conhecimentos teóricos deram a base para o estudo concernente à adaptação intersemiótica da obra A Metamorfose.

Foram utilizados os seguintes procedimentos metodológicos:

1- Estudos da estética literária de Franz Kafka

2- Levantamento das temáticas exploradas em A Metamorfose

3- Identificação dos signos das obras a serem avaliados e seu respectivo enquadramento dentro das tricotomias de Peirce

4- Estudo do filme A Metamorfose (2002) assim como da contextualização de sua produção

5- Investigação das temáticas exploradas na obra literária e que foram preservadas na versão cinematográfica

6- Identificação dos signos dentro das temáticas comuns a ambos os sistemas

7- Verificação das formas de exploração dos signos nos dois sistemas semióticos.

4. RESULTADOS

Nesta sessão, apresentamos em tópicos, os resultados obtidos em nossa pesquisa.

4.1 Franz Kafka

Kafka nasceu em Praga, ex-capital do antigo Império Austro-Hungaro, dos Habsburgos, que fora instaurado em 1547, cuja capital fora trasnferida para Viena.

A família paterna de Kafka vem de uma linhagem de açougueiros em Wossek, vilarejo localizado ao sul de Praga. O pai de Kafka mudara-se para Praga por volta dos 25 anos e casou-se com Julie Löwy, filha de Jakob Löwy, que se estabeleceu em Praga como cervejeiro.

A relação de Kafka com a família é permeada pelas boas condições de vida e o acesso aos estudos que a loja de acessórios de moda de seus pais lhe garantia e também pelas dificuldades ou estranhamentos da convivência, *"A coabitação com a família foi, de varias formas, um tormento para Kafka. Ele era melindroso e sensível ao barulho, e no apartamento da família o ataque a seus sentidos era constante"* (BEGLEY, p. 27, 2010).

Uma das faces deste tormento é a dificuldade em se encontrar um ambiente favorável de estudo, onde o silêncio fosse uma constante, já que Kafka encontrava, na escrita, uma premissa existencial para sua vida.

Inicialmente, escolhe estudar letras germânicas, mas não leva isso adiante em função de uma discordância com a linha filológica da universidade e também pelo fato de ser judeu, o que lhe restringia o acesso a um cargo na universidade. Tentou Química e Medicina, que eram considerados campos promissores até para judeus. Kafka não se interessava em assumir os negócios da família. Acabou seguindo o curso de Direito, embora não tivesse intenção de ser advogado.

Durante os estudos Kafka teve seu primeiro colapso, possivelmente nervoso, o que o levou a um sanatório em busca de repouso. Em 1916, recebe o grau de doutor em direito, estagiando no Tribunal de Praga - na área civil e depois criminal. Por intermédio do tio Alfred, Kafka consegue um emprego temporário no escritório de uma seguradora, a Assicurazione Generali. Mas a vontade de Kafka era trabalhar em regime de turno único, sistema adotado nas companhias estatais e em algumas privadas, pois desta forma, trabalhando em média das oito da manhã às duas da tarde, encontraria tempo para dedicar-se ao trabalho da escrita,

> *"Mas a Assicurazioni, além de adotar o turno duplo, com expediente das oito da manhã até as seis da tarde e duas horas de almoço, também tinhas outras condições de trabalho singularmente árduas. As horas extras eram obrigatórias e exigidas com frequência, os supervisores tinham o hábito de maltratar os subalternos, o salário era baixo, e Kafka só teria direito a duas semanas de férias depois de completar dois anos no emprego. Ele não via possibilidade de encontrar tempo para escrever nessas circunstância; de fato, parece não ter escrito coisa alguma enquanto trabalhava para a Assicurazioni"* (BEGLEY, p. 37, 2010).

Em 1908, o amigo Ewald Príbram, que mais tarde se suicidou fugindo dos nazistas, consegue emprego para Kafka no Arbeterunfalb Vercherungs Anstalt (Insituto de Seguro contra Acidente do Trabalho), uma semiestatal dirigida por Otto Príbram, pai de Ewald. Kafka fora o primeiro judeo a ser empregado pelo Instituto, trabalhando na divisão de segurança industrial por um período de experiência. Após mais de um ano foi efetivado, e em 1910 promovido para escrevente chefe. Houveram outras promoções: vice-secretário em 1913, secretário em 1920 e secretário sênior em 1922, pouco antes de se aposentar por razões médicas.

Mesmo com um emprego seguro que lhe garantia, pelo turno único, algum tempo disponível para a escrita, Kafka revela sua insatisfação com o tempo e energia gasta com o trabalho. Ele acreditava que o trabalho no instituto interferia na sua produção literária. Em carta enviada a Felice, diz que, *"a necessidade de escrever é maior que todas as demais necessidades"*.

As horas dedicadas ao Institutto, mesmo em turno único, somado ao ambiente familiar que lhe impunha momentos difíceis como o autoritarismo do pai e os momentos de intimidade sentados à mesa, agregado dos barulhos da casa, figuravam na cabeça de Kafla como entraves ao desenvovimento mais intenso de sua produção literária. Havia uma necessidade de Kafka estar sozinho, fato que nunca se realizou por completo, pois o emprego

e a familia recaíam em Kafa como uma espécie de confinamento, o que é perceptível na *Carta ao Pai*, nos *diários* e numa possível leitura do livro *A Metamorfose*. Nesse sentido, a possibilidade de casar-se figurava como outro obstáculo à sua criação, embora ele mesmo tivesse intenção de se casar com Felice, *"A ligação com F. dará à minha existência mais força para resistir"* (BEGLEY, p. 48, 2010).

Além destes aspectos que causavam estranhamento em Kafka e o mantinham de alguma forma preso; o antissemitismo, muito proliferado em Praga, contribuiu para o confinamento interior de Kafka. Ser judeu na época de Kafka estava sujeito a segregação. Havia uma separação declarada, tanto do ponto de vista jurídico, quanto na questão moral. A relação com os cristões eram bem delimitada, salvo exceções como a relação de Max Brond com Emmy Salvater e de Kafka com Milena Jesenska, uma católica falante do Tcheco.

Foram poucos os cristãos com quem Kafka se relacionou. Os colegas do Instituto, talvez, figurem entre os que Kafka mais conviveu, já que foi o primeiro judeu a ser contratado pelo Instituto. Os empregados de seu pai e o cunhado Josef Dante, que casou com sua irmã Ottla, foram outros cristãos que Kafka teve alguma relação. O clima de Praga estava infectado da história de segregação aos judeos, e o antissemitismo se arrastava pelo ar embora Kafka parece não ter sido atacado diretamente.

Em 1917, Kafka recebe a infeliz notícia de sua tuberculose. A causa é incerta. Entre as várias especulações, figuram as passagens pelo sanatório e o pouco tempo de Berlim e Viena. O fato é que Kafka tinha uma saúde delicada. Foram vários os afastamentos médicos, com algumas internações. Dois anos antes de sua morte, se aposentou por problemas de saúde e nunca mais retornou ao trabalho. Morreu no dia 3 de junho de 1924, aos quarenta anos, diagnosticado com tuberculose na laringe.

4.2 A Metamorfose

O livro tem como personagem principal Gregor Samsa, um caixeiro-viajante que depois de despertar de sonhos revoltos, encontra-se metamorfoseado em um inseto enorme e asqueroso.

Após despertar, Gregor vai tomando contato com sua condição de inseto. Possui dificuldades de se movimentar e sua voz se modifica. Bateram na porta*, " – Gregor - Alguém chamou. Era sua Mãe."* (KAFKA, p. 12, 2003). Seu Pai também o chama, junto com a irmã, mas Gregor se mantém trancado em seu quarto. Ensaia alguns movimentos para se levantar, ainda não entendendo o que se passa, mas não consegue nenhum avanço.

Notando a falta do funcionário, o gerente vai até a casa de Gregor para obter informações sobre o seu não aparecimento no trabalho. O gerente tenta se comunicar com Gregor, pedindo-lhe que abra a porta. Ele explica que teve uma indisposição, mas que pegará o trem das oito e estará no trabalho. O gerente aproveita para dizer-lhe, na presença dos pais, que seu trabalho tem sido insatisfatório.

Ninguém entendeu as palavras de Gregor. Falaram em chamar um chaveiro para abrir a porta e um médico, caso alguma doença estivesse lhe afligindo. Finalmente, com muito esforço, ele consegue abrir a porta. Todos se espantam. O gerente fica assustado e começa a se retirar. Os pais ficam preocupados com a saída do gerente, pois temem que Gregor perca o emprego e acabe com a única renda da família. Após a saída do gerente, numa atitude de abjeção em relação ao filho, *"o pai deu-lhe, por trás, uma enérgica pancada, sem dúvida libertadora, e ele voou para dentro do quarto, sangrando abundantemente."* (KAFKA, p. 39, 2003).

Gregor começa a pensar na vida tranqüila que ele garantia para sua família. Sua irmã leva-lhe comida (pão e leite), mas o prato que antes lhe era favorito, não mais lhe satisfaz, muito pelo contrário, agora sente repulsa. Grete passa a levar restos de comida para a alimentação do irmão, *"Eram legumes murchos, meio apodrecidos; ossos do jantar rodeados por um molho branco já endurecido..."* (KAFKA, p. 46, 2003). Gregor come tudo com muita euforia. Desta forma passou a ser alimentado duas vezes ao dia.

A vida de Gregor passou a ser o confinamento do quarto. Os contatos eram basicamente com a irmã, que lhe levava comida, e as conversas que podia escutar entre a porta. As reflexões sobre a importância do seu trabalho lhe atravessam de forma contundente, levando-o a passar noites em claro quando ouvia discussões sobre a condição financeira da família: *"Quando a conversa recaía na necessidade de ganhar dinheiro, Gregor sempre se afastava da porta e atirava-se no refrescante sofá de couro ao seu lado, pois sentia-se queimar de vergonha e de tristeza"* (KAFKA, p. 56, 2003). Todos dependiam do trabalho de Gregor para lidar com as despesas, já que o pai estava inapto para o trabalho devido à idade, a mãe estava com asma e a irmã tinha apenas dezessete anos.

A irmã passa a entrar no quarto para fazer a limpeza. A simples presença de Gregor lhe causava horror. Ele também sentia o mesmo dela. Gregor começa a sentir desespero e angústia diante da sua existência. Passa a se movimentar pelas paredes buscando prazer, já que a comida e o pouco espaço para se deslocar não lhe possibilitavam deleite.

Passado dois meses, a família começa a tirar os móveis do quarto de Gregor para que ele possa se movimentar melhor. Ele sentiu como se estivessem levando tudo que tinha. O

vazio, a solidão e a angustia de Gregor vão contornando sua existência. A família entra numa crise que se agrava quando a mãe, retirando os móveis com a irmã de dentro do quarto, vê Gregor andando pelas paredes e se desespera, chegando a desmaiar. O pai toma conhecimento da situação e empreende uma caça a Gregor, atirando-lhe maçãs:

> *"Uma maça atirada sem muita força roçou o dorso de Gregor e tombou sem causar danos. Em compensação, a que se seguiu literalmente penetrou em suas asas. Gregor quis continuar arrastando-se, como se a dor incrível e surpreendente pudesse cessar com o movimento; sentiu-se como que pregado ao chão e esticou-se, tomado de uma completa perturbação dos sentidos"*
> (KAFKA, p. 74, 2003)

O acontecimento sensibilizou a família, abrindo um pequeno espaço para o sentimento com Gregor. A porta do quarto passou a ficar aberta e Gregor podia ouvir as conversas familiares. O pai passou a trabalhar como mensageiro no banco; Grete foi trabalhar de vendedora e a mão passou a costurar roupas intimas para a vizinhança. As preocupações de Gregor sempre giravam em torno da casa. Pensava pouco em si, na sua condição e mais na falta que fazia para a família.

Certo dia a mãe foi limpar o quarto de Gregor e desencadeou uma discussão com a irmã e o pai, que não concordavam que ela entrasse lá. O pai proibiu a limpeza do quarto. Gregor passou a viver na sujeira total. Tudo o que não tinha serventia ou espaço passou a ser empilhado junto com Gregor. Foi contratada uma empregada que, entre outras coisas, ficou encarregada de limpar o local onde Gregor ficava. Ela passou a maltratar Gregor, atingindo-o com palavras. O desespero de Gregor aumentou, embora ele estivesse se adaptado as condições do quarto. Passou a comer mal e se mover com maior dificuldade.

A esta altura a família alugou um quarto que recebeu três hospedes. Era uma forma de ajudar nas despesas. Gregor ficava assistindo a invasão que sua família sofria e percebia todos almoçando a mesa. Enquanto os hospedes liam após a refeição, ouviram o som de violino tocado por Grete e pediram a ela que tocasse para eles. Gregor pensava no quanto queria ter investido na carreira musical da irmã, já que percebia nela um talento singular. Gregor se deslocou do quarto até o local onde a irmã tocava. Quando os hospedes viram Gregor, ficaram espantados. O pai pediu que eles retornassem a seus quartos. Ouve uma discussão e eles se retiraram dizendo que não pagariam e sairiam no final do mês em função das horríveis condições.

Após este momento, todos começaram conversar e refletir sobre a condição de Gregor. Concluíram que a melhor solução era se livrar dele, uma vez que aquele não era mais Gregor

Samsa. Passado alguns dias, o inseto Gregor Samsa não mais conseguia se mover e sentia dores. Crescia uma certeza de que precisava desaparecer. Pensava na família com amor e cedeu involuntariamente com a cabeça no chão.

Pela manhã a empregada encontra Gregor morto. Um sentimento de tristeza e alívio tomou a família. Os hospedes foram expulsos pelo pai. A empregada também fora demitida e a família tirou um dia de folga. Foram passear de bonde elétrico e planejavam se mudar para outra casa.

5.3 A Semiótica de Pierce

Charles Sanders Peirce nasceu no século XIX, no ano de 1839 e veio a falecer no início do século XX, com aproximadamente 75 anos. Filho de um matemático, empenhou-se em diversas áreas do conhecimento, estudando desde a Lógica, Matemática, Química, até as ciências humanas como Filosofia, Fenomenologia, História, Linguística e mais tarde adentrando no universo da Semiótica.

Para Santaella (2004), a Semiótica é entendida como uma ciência que abarca toda e qualquer lingugem, distiguindo-se desta forma, da Linguística, por exemplo, ciência que também trabalha com a linguagem, mas restringe-se ao ambito da comunicação verbal, ou seja, a lingua falada e escrita.

Santana (2007) aponta que, a Semiótica é uma área do conhecimento que torna perpecptível a maneira como os homens dão significado a tudo que os cercam. Assim, Peirce estabalece três modalidades (Primeiridade, Secundidade e Terceridade) que permitem ao homem apreender os fenômenos da natureza, ou seja, *"Elas se constituem, no entanto, nas modalidades mais universais e mais gerais, através das quais se opera a apreensão-tradução dos fenônemos"* (SANTAELLA, 2004, p. 42).

Para Sales (2004, p. 10), que parte das discussões de Deleuze sobre a linguagem e o signo, a primeiridade na semiótica de Pierce, liga-se a um movimento indeterminado, de intensidades, desvinculado de significação ou designação, onde *"só há puras qualidades"*. Santaella (2004), aponta que o primeiro (primeridade) é o nível dos sentimentos, da imediaticidade, é a primeira aprenssão que fazemos das coisas, uma espécie de mediador entre a existência e o fenômeno *"nossa primeira forma rudimentar, vaga, imprecisa e indeterminada de predicação das coisas"* (SANTAELLA, 2004, p. 46).

Na Secundidade Sales (2004) mostra que ocorre uma espécie de reação, resposta estimulada por um primeiro, "*É o nivel particular da reação, onde as qualidades e potências primeiras foram atualizados e individuados em estados de coisas, configurações espaço-*

temporais, pessoas ou coletividades" (SALES, 2004, p. 10). Para Santaella (2004), no sergundo há uma especie de captura da primeiridade, é o terreno do existente, da materialização do indeterminado, instante ou processo de significação da qualidade, ou melhor, encarnação da qualidade numa matéria; *"Secundidade é aquilo que dá para a experiência seu caráter factual, de luta e confronto. Ação e reação ainda em nível de binaridade pura, sem o governo da camada mediadora da intecionalidade, razão ou lei."* (SANTAELLA, 2004, p. 51).

A Terceiridade está relacionada ao pensamento como forma de mediação entre o sujeito e os fenômenos, *"Finalmente, terceiridade, que aproxima um primeiro e um segundo numa síntese intelectual, corresponde à camada de inteligibilidade, ou pensamentos em signo, através da qual representamos e interpretamos o mundo"* (SANTAELLA, 2004, p. 51). Sales (2004) aponta que a terceridade se vincula a uma possível lei, aos processos de racionalização – que ela está ligada à alguns determinantes propriamente humanos, como a linguagem e o pensamento.

Na Semiótica de Peirce (2008), ainda se encontram os signos divididos dentro de três tricotomias. Na primeira há o signo em si mesmo (qualissigno, sinsigno, legissigno), na segunda, o sgino em relação ao objeto (ícone, índice, símbolo) e na terceira é o signo na relação com o interpretante (rema, dicente, argumento). Pode-se destacar que estes aspectos se inter-relacionam em muitas das vezes, podendo existir ao mesmo tempo.

5. DISCUSSÃO

A partir dos procedimentos metodológicos aplicados, esta seção apresenta os dados levantados na pesquisa.

5.1 Análise Semiótica da Obra Literária

Gregor Samsa é a personagem em que converge toda a obra de Franz Kafka. Na primeiridade, Gregor pode ser entendido como um caxeiro-viajante, cuja família se orgulha e depende de sua renda para existir, *"Antes da transformação, Gregor literalmente vivia para e pelo trabalho, já seus familiares eram apenas seus parasitas, não produziam nada"* (HÜBNER, p. 6, 2008). Na secundidade, Gregor é um inseto escrupuloso que causa horror e desgosto a sua família. Na terceiridade, Samsa é um problema. Desestabiliza a base familiar, provoca as sensações mais melancólicas em todos e sente vontade de morrer, assim como a seus familiares desejam que ele desapareça.

O quarto de Gregor é o espaço onde a maior parte da história se passa. Na primeiridade pode ser visto com o local de descanso de Gregor, o lugar de segurança onde se sente acolhido. Na secundidade é o ambiente onde hospeda o inseto e que a família não mais habita. Na terceiridade é o local indesejado da casa, *"os móveis do quarto de Gregor são retirados, deixando o espaço vazio para que ele se movimentasse melhor. Essa atitude, entretanto, mesmo não intencionada negativamente, reforçou a solidão existencial do personagem"* (SOUZA, p. 4, 2012). O quarto passa a ser o local onde despeja tudo que não tem serventia, *"Essas mudanças levam-no ao encerramento dentro do quarto, à percepção do afastamento dos membros da familia – pai, mãe e irma – , à solidão total e, por fim, à morte"* (SILVA, p. 2, 2009).

Grete, a irmã de Gregor, na primeiridade é a irmã que adora o irmão que trabalha e mantém as despesas da casa. É o orgulho e até um objeto de desejo inconsciente da irmã. Na secundidade, a irmã passa a fazer um trabalho de cuidar de Gregor, mas contra sua vontade. O que antes foi uma atitude prazerosa, cuidar das coisas do irmão, preparar-lhe o café, passa a ser uma obrigação infeliz. Ter que entrar no quarto do inseto para alimentá-lo com restos, como se fosse ao irmão, e limpar-lhe o ambiente imundo que ficava. Na terceiridade, Grete está perplexa com a perda do irmão, com a patologia que tomou conta dele, desejando fazer o irmão desaparecer.

A metamorfose pode ser considerada um signo de primeiridade, na medida em que Gregor se transforma num inseto. Na secundidade, a metamorfose não tirou todas as capacidades de Gregor e o colocou na condição de inseto por inteiro, pois ele consegue pensar, perceber e sentir o mundo como um humano, *"O inseto kafkiano sofreu uma metamorfose: fisicamente, biologicamente, tornou-se um animal; nesse devir animal perdeu o poder da linguagem humana, mas conservou a capacidade de pensar."* (ALMEIDA, P. 46, 2008). Na terceiridade, a metamorfose é percebida por Gregor como uma mudança irreversível. A angústia invade o seu ser e a rejeição da família faz com que ele tenha certeza de que não mais pertence à família, mas é um problema para ela.

5.3 A transformação da Obra Literária em Arte Cinematográfica

O filme A Metamorfose, adaptado por Valeri Fokin, diretor de teatro russo, exigi toda a habilidade do ator Yevgeny Mironov na tarefa extremamente cênica, de representar nas telas do cinema, sem ajuda de efeitos especiais, Gregor Samsa, personagem que se transforma em inseto no primeiro parágrafo do livro de Kafka.

A história narrada no filme se inicia com uma estação em um dia chuvoso. Gregor desembarcando do trem e se deslocando até sua casa. Volta do trabalho e vai para casa jantar com a família e dormir para encarar mais trabalho no outro dia. Faz a refeição com a família e é cortejado com o som do violino tocado pela irmã ao final. O pai começa a dormir e roncar assim que o som do violino entra na sala. Após a música, todos vão para seus quartos dormir.

Gregor aparece em seu quarto se preparando para dormir. A irmã bate-lhe a porta para desejar boa noite ao irmão e ele lhe fala rapidamente que está se preparando para mandá-la ao conservatório. Gregor vai dormir e sonha que está indo trabalhar em um trem que só pessoas com chapéu, roupas pretas e maleta estão embarcando. Na porta do trem, o homem que verifica quem entra é seu pai. Ele adentra o trem e vê a irmã em um dos compartimentos, simulando um maestro de orquestra. Ela passa por Gregor. Ele continua andando ameaçado por um barulho forte e com pessoas passando sobre a janela. O trem balança e levanta o gerente do seu trabalho como se fosse pegá-lo. Ele tenta fugir e encontra seu pai cerrando um violino como se estivesse tocando. Todas as portas do trem estão fechadas, o gerente vai se aproximando, quando enfim consegue abrir uma porta e entrar, o teto começa a desmoronar e muita terra vai caindo sobre sua cabeça, como se fosse algo em ruínas:

> *"No início do filme, antes da transformação do personagem, ele sonha que está indo à estação de trem (14min). Nessa cena, ele é perseguido pelo seu chefe no vagão do trem, indicando que os pensamentos sobre o trabalho ultrapassavam a fronteira da realidade, chegando ao espaço onírico".* (SOUZA, P. 7, 2012).

Neste instante o filme vai para o quarto onde Gregor está acordando do sonho e abre a cena com a imagem dos pés de Gregor tremendo, seus olhos abertos e seu corpo numa espécie de convulsão, como água que vai esquentando e entrando em ebulição. O livro inicia-se neste momento que Gregor Samsa desperta de um sonho e se depara com outra condição existencial, *"metamorfoseado num inseto monstruoso"* (KAFKA, p. 7, 2002).

No filme acrescenta-se pelo menos quatro cenas até que alcance o livro e ocorra a metamorfose. A cena da descrição do sonho, que não existe no livro, é uma criação do diretor Valeri Fokin que marca a autonomia do cinema no processo de transposição de uma obra literária para o cinema. A cena de Gregor jantando com a família, recebendo os carinhos da mãe, depois ouvindo a música tocada pela irmã e o descaso do pai com o som do violino, que não existem no livro, remetem a signos que representam a privação que Gregor sofrerá após a metamorfose:

> *"A transmutação de Gregor, tanto no livro quanto no filme, possui uma crítica social ácida ao sistema capitalista e as relações familiares que se orientam por interesses financeiros. O monstro, ora representado como uma prisão sem muros ora representado como uma libertação (a morte), simboliza uma violência interna, ao pensarmos na dilaceração do corpo de Gregor, e externa, ao considerá-la o vetor que desenvolveu o sofrimento do personagem e encaminhou os atos violentos praticados pelo ambiente familiar"* (SOUZA, p. 9, 2012).

A transformação da obra literária em arte cinematográfica pressupõe uma mudança de linguagem, ou seja, implica em modificações do original, *"toda adaptação cria uma nova realidade, constitui-se como uma releitura, o que nos impede de cobrar uma suposta fidelidade ao texto primeiro"* (SOTTA, p. 2, 2012). Não há possibilidade de produzir um filme igual ao livro, pois são artes com linguagens distintas, *"ambas são compostas a partir de recursos distintos: enquanto a literatura é, por excelência, a arte da palavra, o cinema tem como cerne a imagem em movimento e se vale de inúmeros procedimentos, tais como a seleção de cenas, os cortes, a movimentação da câmera, a iluminação, a trilha sonora, a escolha do elenco, entre outros aspectos"* (SOTTA, p. 2, 2012). Valeri Fokin criou a cena da descrição do sonho numa linguagem carregada de simbolismo, insinuando um espaço de interpretação ligado de forma intrínseca à obra de Kafka e ao seu próprio filme.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo foi desenvolvido a partir da intersemiótica, com a finalidade de analisar a transposição da obra literária *A Metamorfose* para a versão cinematográfica de 2002. Para tanto, foi realizado um estudo da Semiótica de Pierce para fundamentar teoricamente a análise.

A partir da pesquisa foi possível entender alguns processos sobre a transformação da obra literária em arte cinematográfica. A adaptação em análise provocou uma mudança no início da obra original, de forma a acrescentar algumas cenas no inicio da história, *"Se Literatura e Cinema são dois meios expressivos diversos, é natural que a passagem ou transformação de uma história de um meio a outro faça com que esta se torne uma obra diferente da original"* (CREUS, p. 57, 2006). O sentido da história permaneceu inalterado, colocando o acréscimo de cena como um agregador de sentido, pois a cenas incluídas favoreceram um espaço de interpretação vinculado diretamente aos desdobramentos da história. No geral, o filme conseguiu preservar de forma consistente a história do original.

7. REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, P. C. C. *As Narrativas Animalistas de Kafka e as Representações da Exclusão Social no Início do Século XX*. Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência da Literatura da Faculdade de Letras da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

2. BEGLEY, L. *O mundo prodigioso que tenho na cabeça: Franz Kafka: Um ensaio biográfico.* São Paulo, Companhia das Letras, 2010

3. CARDOSO, J. *Cinema e Literatura: Contrapontos Intersemióticos.* Revista Literatura em Debate, vol. 5, N. 8, p. 1 a 15, jan.-jul., 2011.

4. CARONE, M. *Lição de Kafka*. São Paulo: Companhia das Letras, 2009.

5. CREUS, T. E. *Do Conto ao Filme: A Transposição da Narrativa Breve ao Cinema e seus Modos de Transformação.* Tese de Doutorado do programa de pós-graduação em Letras – Literatura Comparada da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

6. DIAS, C. R. *Análise Intersemiótica: Cinema e Literatura*. Academos: Revista Eletrônica da FIA, vol. III, N. 3, Jul-Dez/2007.

7. EPSTEIN, I. *O signo*. São Paulo: Ática, 2001.

8. FURTADO, J. *A adaptação literária para cinema e televisão*. Palestra na 10ª Jornada Nacional de Literatura. Passo Fundo, ago. 2003. Disponível em: http://www.scribd.com/doc/7391112/A-AdaptaCAo-LiterAria-Para-Cinema-e-TelevisAo Acesso em: 15 fev 2012.

9. HÜBNER, B. Franz Kafka, A Metamorfose Possíveis Leituras. III Jornada Nacional de Linguística e Filologia da língua Portuguesa, nov. 2008. Disponível em: http://www.filologia.org.br/iiijnlflp/ Acesso: 31/07/2013

10. KAFKA, F. A Metamorfose. São Paulo: Nova Cultura, 2002.

11. MOURA, A. R.; FILETTI, E. Literatura *e Cinema: possibilidades de leitura em sala de aula.* 2009. Disponível em: http://www.alb.com.br/anais17/txtcompletos/sem04/ COLE_562.pdf Acesso em: 22 mai 2013.

12. PEIRCE, C. S. *Semiótica*. São Paulo, ed. Perspectiva, 3.ed., 2000, trad. José Teixeira Coelho Neto.

13. SANTAELLA, L. *O que é semiótica*. São Paulo: Brasiliense, 2004.

14. SANTANA, A. L. *Semiótica*. 2007. Disponível em: http://www.infoescola.com/filosofia/semiotica/ Acesso em: 17 mai 2012.

15. SILVA, R. C. A. *Exílios Profundos: Clarice Lispector e Franz Kafka.* Simpósio Internacional Literatura, Crítica, Cultura III: Interfaces, Juiz de Fora/MG, mai. 2009.

16. SOUZA, D. S. *A representação da monstruosidade no livro e no filme A Metamorfose.* IV Seminário Nacional Literatura e Cultura, mai/2012.

17. SOTTA, C. P. *O cinema visita a literatura: a tradução intersemiótica de Ensaio sobre a Cegueira*. 2º Colóquio Internacional de Estudos Linguísticos e Literários / 5º Colóquio de Estudos Linguísticos e Literários, jun/2012.

[1]EVOLUÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATAS DIABÉTICAS TRATADAS COM GEL DE QUITOSANA 2%: aspectos macro e microscópicos

Gladsthon Divino de Sousa Filho[1], Taís Andrade Dias [2], Neusa Margarida Paulo[3]

[1] Orientando - PIBIC - Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO 4001-970, Brasil - email: gladsthonfilho@hotmail.com; nmp@vet.ufg.br

[2] Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

[3] Orientador - Professora Doutora da EVZ/UFG

RESUMO

A quitosana tem sido estudada quanto à sua capacidade de acelerar o processo cicatricial e vem sendo testada na terapia de lesões de difícil cicatrização. A dificuldade de cicatrização de feridas é uma das principais complicações decorrentes do diabetes mellitus o que torna a utilização da quitosana nas terapias para cicatrização de lesões dos pacientes diabéticos uma alternativa de tratamento. Cinquenta e quatro ratas Wistar foram separadas em três grupos e subdivididas em três subgrupos (n=6) correspondentes aos períodos de avaliação pós-operatória (7, 14 e 21 dias). Todos os indivíduos foram submetidos à indução experimental de diabetes. Após comprovado o estado diabético, procedeu-se a anestesia e a confecção de feridas cutâneas na região dorsal dos animais. O grupo controle (GC) foi tratado com solução fisiológica, o grupo GA com óleo à base de ácidos graxos essenciais e o GQ com gel de quitosana à 2%. Análises macroscópicas, histológicas e histomorfométricas foram realizadas para acompanhar o processo cicatricial. A cicatrização das feridas tratadas com quitosana apresentou-se mais acelerada que a dos demais grupos aos 14 e 21 dias de pós-operatório. Diferença estatística foi encontrada aos 14 dias entre o GQ e o GC na análise macroscópica (p=0,02). Histologicamente, observou-se adiantamento na reepitelização do GA e do GQ em relação ao GC. O protocolo proposto com gel de quitosana a 2% mostrou-se satisfatório visto que acelerou a cicatrização das lesões quando comparada à dos animais tratados com solução fisiológica e óleo de ácidos graxos essenciais.

Palavras-chaves: diabetes mellitus, feridas, biomateriais, reparo tecidual.

Revisado pelo orientador

INTRODUÇÃO

A cicatrização é um fenômeno bioquímico e fisiológico caracterizado pela substituição do tecido lesado por tecido fibroso ou cicatricial. Esse novo tecido é mais frágil e possui menor força de tensão que a pele original, sendo a forma de reparo mais comum em feridas profundas cuja epiderme e o estrato germinativo foram perdidos (HESS, 2002). O objetivo principal da cicatrização é restabelecer a integridade anatômica do tecido lesionado. A restauração do tecido ocorre por meio de respostas e/ou interações celulares e moleculares que ocorrem de forma harmoniosa e simultânea (CONTRAN et al., 2000).

O processo cicatricial é basicamente uma sequência de eventos complexos coordenados que envolve migração celular, inflamação, proliferação de diferentes tipos celulares, angiogênese, formação de componentes da matriz extracelular (MEC), remodelamento e reepitelização. Porém no diabetes mellitus diversos fatores interferem no metabolismo deste processo tornando-o lento e sujeito a complicações (GOOVA et al., 2001).

A dificuldade de cicatrização de feridas em indivíduos diabéticos está relacionada ao atraso no início da reação inflamatória e sua permanência por maior tempo, bem como a diminuição da angiogênese, alteração na proliferação de queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais, aumento da apoptose destas células, diminuição da migração de fibroblastos, diminuição da produção de fatores de crescimento e defeitos na deposição de colágeno (SPRAVCHIKOV et al., 2001; LOOTS et al., 2002; DEVECI et al., 2005).

A quitosana tem sido estudada quanto a sua capacidade de acelerar a cicatrização e vem sendo testada na terapia de lesões de difícil cicatrização como as dos pacientes diabéticos. Ela é obtida por meio da desacetilação da quitina podendo ser utilizada como veículo para fármacos e peptídeos. Pesquisadores têm demonstrado sua atuação em todas as fases do reparo tecidual e a ausência de efeitos adversos após a aplicação nos tecidos, tanto em animais quanto nos seres humanos (HOWLING et al., 2001; CÁRDENAS et al., 2008). Suas propriedades cicatrizantes, hemostáticas, antimicrobianas, angiogênicas, analgésicas, bem como a estimulação da proliferação de fibroblastos e produção de matriz extracelular, fazem da quitosana um acelerador do reparo tecidual (ALSARRA, 2009).

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da quitosana na cicatrização de feridas cutâneas de ratas diabéticas por meio de análises macro e microscópicas do reparo tecidual em tempos determinados, acompanhando a evolução do processo cicatricial. Para efeito comparativo, foram realizados tratamentos com soro fisiológico e óleo de ácidos graxos essenciais em grupos animais específicos.

METODOLOGIA

Esse trabalho foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Goiás recebendo o protocolo 114/2011. Foi ainda contemplado no EDITAL UNIVERSAL do CNPQ 14/2011 com financiamento de 18.309,04 reais.

Foram utilizadas 54 ratas da linhagem Wistar, adultas, pesando entre 150-200g. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos (GC, GA e GQ) com 18 indivíduos cada, de acordo com o tratamento recebido e cada grupo foi subdividido em três subgrupos contendo seis animais, de acordo com o tempo experimental pré-determinado para análise histológica da ferida, sendo 7, 14 e 21 dias de pós-cirúrgico. As ratas do GC ou grupo controle receberam sobre suas feridas apenas solução fisiológica, as do GA tiveram suas feridas tratadas com óleo de ácidos graxos essenciais (AGEs) e o GQ recebeu como tratamento gel de quitosana à 2%.

Todos os animais foram submetidos à indução química do diabetes mellitus e, após a confirmação do estado diabético, foram submetidos ao procedimento cirúrgico para confecção das feridas cutâneas. Com os animais sob o efeito de anestesia geral, as feridas cutâneas foram promovidas com auxílio de *punch* para biópsia de 8,0mm de diâmetro, retirando-se pele e tecido subcutâneo, deixando a fáscia muscular exposta na região dorsal das ratas. Após o procedimento foi realizada toda a terapia analgésica necessária para o conforto e bem estar dos animais. Curativos foram realizados nas feridas a cada 48 horas, de acordo com o tratamento e período estabelecido para cada grupo, sendo as feridas previamente limpas com solução fisiológica antes da aplicação do respectivo tratamento. Não foi necessária sedação ou anestesia para a contenção dos animais no momento dos curativos.

A avaliação macroscópica da cicatrização foi realizada por meio da determinação da área da ferida e análise visual de seus aspectos macroscópicos. Nos dias de curativo foram capturadas imagens digitais das feridas com câmera Sony®, resolução 7.2 Megapixels, fixada em estativa e mantida a uma distância constante de 15cm do dorso de cada rata. Posteriormente as imagens foram analisadas no programa Image J® para determinação das medidas de área das mesmas, mediante prévia calibração do software.

Ao final do período de tratamento estabelecido para cada subgrupo (7, 14 e 21 dias), os animais foram submetidos à eutanásia em câmara de CO2 sob anestesia geral, para coleta do tecido das feridas dorsais. Cada ferida cirúrgica foi dissecada com margem de segurança de 1cm em torno do leito da lesão, sendo a peça anatômica colocada em recipiente contendo formol 10%. As amostras foram processadas para a confecção de lâminas histológicas que

receberam coloração pela técnica de hematoxilina eosina (HE) para a análise morfológica dos tecidos (OBARA et al., 2003; WANG et al., 2008; ALSARRA, 2009; PARK et al., 2009).

Com o intuito de acompanhar microscópicamente o processo de cicatrização foram avaliados os seguintes parâmetros: necrose, hiperplasia e reepitelização na epiderme, células mononucleares, neovascularização, fibroblastos, colágeno e tecido conjuntivo, na derme. Para necrose e hiperplasia foram atribuídas duas graduações: presente ou ausente; para reepitelização foram três: ausente, parcial ou completa, para tecido conjuntivo duas: frouxo ou denso e para os demais parâmetros quatro escores: ausente (0), discreto (1-25% do campo), moderado (26-50% do campo) ou acentuado (51-100% do campo) (BRANCO NETO et al., 2006; GARROS et al., 2006).

Os dados quantitativos referentes à redução da área das feridas foram analisados por Análise de Variância (ANOVA). Sendo a ANOVA significativa, foi realizado o Teste de Tukey para duas médias. Na avaliação por microscopia, as frequências dos escores relacionados à epiderme foram submetidas ao Teste Exato de Fischer; já as dos escores da derme, ao Teste de Kruskal – Wallis (SAMPAIO, 1998; GARROS et al., 2006). Para todos os testes foi utilizado nível de significância de 5% ($p<0,05$).

RESULTADOS

A avaliação macroscópica das feridas foi realizada a fim de acompanhar o processo de cicatrização no decorrer de cada período de avaliação. Aos sete dias de pós-operatório observou-se redução média de 44% da área da ferida no GC, 57,1% no GA e 53,9% no GQ. Não foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos pela ANOVA ($p>0,05$), porém pode-se observar maior rapidez na cicatrização das feridas tratadas com AGEs e quitosana quando comparadas ao controle.

A contração média das feridas aos 14 dias foi de 81% no GC, 89,29% no GA e 97,3% no GQ. Neste período a ANOVA demonstrou diferença estatística entre os grupos. Foi realizado o Teste de Tukey para duas médias, comparando os grupos dois a dois, sendo possível observar superioridade estatística do tratamento do GQ sobre o GC ($p=0,02$).

Com 21 dias de pós-operatório, a maioria dos animais apresentava reepitelização completa das feridas, principalmente nos grupos GA e GQ. As porcentagens médias de contração da ferida foram 92,14% para o GC, 98,89% para o GA e 99,18% para o GQ. Também não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos neste período, porém novamente os grupos GA e GQ se mostraram superiores ao GC.

Os dados da análise das lâminas histológicas foram tabulados de acordo com o período de avaliação pós-operatório e divididos em parâmetros relacionados à epiderme e à derme.

Aos sete dias de pós-operatório observou-se a presença de necrose em 83% dos animais do GC e 17% do GQ, o que não foi encontrado nas lâminas do GA. Pelo Teste Exato de Fischer, encontrou-se diferença significativa entre o GC e GA (p=0,01) e entre GC e GQ (p=0,04), o que não foi observado entre GA e GQ. Hiperplasia foi encontrada em 100% dos animais do GC, 87% do GA e 67% do GQ, não havendo diferença significativa. Quanto à reepitelização neste período, ela esteve ausente em 100% do GC e 83% do GA, porém apresentou-se de forma parcial em 67% do GQ, demonstrando aceleração do processo cicatricial neste grupo. Estatisticamente, houve diferença entre o GC e o GQ (p=0,04) para a variável reepitelização, no que diz respeito à avaliação microscópica.

Na derme, ainda no período de sete dias, evidenciou-se discreta neovascularização e acentuada presença de células mononucleares nas amostras de todos os grupos. Fibroblastos se apresentaram de forma discreta em 50% das lâminas do GC e em 83% do GA, estando ausentes em 50% do GQ. A presença de fibras colágenas não foi notada em 50% das feridas do GC e do GQ no período de sete dias, sendo visualizadas de forma discreta em 83% do GA. Infiltrado polimorfonuclear (PMN) foi encontrado de forma acentuada apenas nas lâminas das feridas tratadas com quitosana aos sete dias de pós-operatório. Tal achado não foi evidenciado nos demais grupos. O tecido conjuntivo se caracterizou como frouxo em todos os animais dos três grupos analisados. Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros avaliados na derme.

Na epiderme aos 14 dias de tratamento, houve ausência de necrose em 83% das feridas em todos os grupos, enquanto que hiperplasia foi observada em 17% do GC, 50% do GA e 67% do GQ. As frequências dos dois parâmetros se mostraram estatisticamente iguais para os três grupos. No que diz respeito à reepitelização, ela ocorreu de forma parcial em 83% das amostras do GC e de forma completa em 67% do GA e 83% do GQ. Na comparação dos tratamentos dois a dois, constatou-se diferença significativa entre GC e GQ (p=0,04).

A neovascularização apresentou-se ausente ou discreta na maioria dos animais dos três tratamentos aos 14 dias. Este evento se mostrou acentuado apenas em dois animais (33%) do GC e um animal (17%) do GA. Os mononucleares estiveram presentes de forma discreta a moderada no GC, discreta no GA e discreta a acentuada no GQ. Quanto à presença de fibroblastos e colágeno, ambos apresentaram maiores níveis se comparados ao período de sete dias, estando presentes de forma moderada a acentuada em todos os grupos. O tecido

conjuntivo ainda se manteve frouxo na maioria das amostras, apenas o GQ apresentou 33% de lâminas com tecido conjuntivo denso.

Aos 21 dias de pós-operatório, a maioria das feridas já se apresentava na fase final de cicatrização, não havendo mais sinais de necrose ou hiperplasia na epiderme de nenhuma amostra nos diferentes tratamentos. A reepitelização se mostrou completa na maioria das amostras do GC e em todas do GQ, apresentando-se parcial em 50% das feridas do GA. Da mesma forma, os achados da derme estiveram de acordo com a fase final do processo de reparo da pele, com diminuição da neovascularização e da presença de mononucleares. A acentuada predominância de fibroblastos e colágeno caracterizou o processo de remodelagem da área reparada. No entanto, o tecido conjuntivo permanecia frouxo na maioria das amostras dos três grupos, com exceção do grupo GA que apresentou 50% de suas amostras com tecido conjuntivo denso.

DISCUSSÃO

A quitosana já possui efeito cicatrizante comprovado cientificamente e por isso tem despertado o interesse da comunidade científica em utilizá-la em estudos de cicatrização dos mais diversos tipos de lesões. De acordo com UENO et al. (2001) este polímero participa de todas as fases do reparo de feridas ativando células como macrófagos, fibroblastos, polimorfonucleares, estimulando a angiogênse e promovendo maior formação de tecido de granulação. GARCIA et al. (2008) atribuíram à quitosana propriedades antimicrobianas, hemostáticas e imunomoduladoras. Todas essas características, além do fato de se tratar de um polímero biodegradável e biocompatível, motivaram a escolha da quitosana para a terapia de feridas diabéticas que são conhecidamente feridas de difícil cicatrização.

Os resultados obtidos com o acompanhamento macroscópico do reparo das feridas mostraram superioridade dos tratamentos com óleo de AGEs e gel de quitosana sobre o grupo controle em todos os períodos de observação (7, 14 e 21 dias), sendo a redução da área das lesões maior no GA aos sete dias e no GQ aos 14 e 21 dias. No entanto, diferença estatística foi encontrada apenas entre o GC e o GQ aos 14 dias. Acredita-se que tal fato tenha ocorrido devido à grande variação individual nas respostas aos tratamentos dentro de um mesmo grupo, o que gerou elevado desvio padrão dificultando a expressão da diferença significativa. A capacidade de aceleração da cicatrização de feridas diabéticas pela quitosana foi demonstrada por OBARA et al. (2003), SEZER et al. (2007) e WANG et al. (2008) tanto na forma de gel como na forma de filmes, membranas e esponjas.

Constatou-se também, por meio dos dados obtidos que a quitosana atua principalmente nas fases iniciais da cicatrização, já que a taxa de redução da área da ferida foi mais acentuada neste grupo até o oitavo dia de pós-operatório. Padrão semelhante de resposta foi encontrado por PARK et al. (2009) e por ALSARRA (2009) que obtiveram redução de 80% da área de feridas cutâneas tratadas com quitosana aos oito dias de pós-operatório. Tal fato justifica a afirmação de UENO et al. (2001) quanto a importante atuação da quitosana nas primeiras fases da cicatrização, estimulando a migração e proliferação celular e aumentando os níveis de angiogênese e fatores de crescimento no sítio da ferida.

A diferença estatística encontrada para o parâmetro necrose no GC corrobora com os achados de ALSARRA (2009) que observou elevada presença de material necrótico na epiderme do grupo não tratado em seu estudo aos quatro dias.

Esperava-se encontrar aos sete dias níveis de angiogênese mais acentuados principalmente nas feridas tratadas com quitosana já que sua capacidade de estimular a neovascularização foi bem retratada nos estudos realizados por UENO et al. (2007), YAN et al. (2010) e MURAKAMI et al. (2010). Esta propriedade também foi atribuída aos AGEs por MANHEZI et al. (2008). Porém deve-se levar em consideração o fato de que uma das principais razões para a dificuldade de cicatrização no paciente diabético é justamente a dificuldade de macro e microcirculação sanguínea e diminuição da formação de neovasos no leito das feridas, como destacado por SPRAVCHIKOV et al. (2001), LOOTS et al. (2002) e DEVECI et al. (2005).

A presença de células polimorfonucleares de forma acentuada foi observada nas feridas do GQ aos sete dias de tratamento. Esse tipo celular também foi encontrado em abundância em feridas tratadas com quitosana por UENO et al. (2001) que afirmaram que este biopolímero exerce quimiotaxia sobre os PMNs estimulando sua migração para o leito da ferida nas fases inicias do processo de cicatrização. A reepitelização da epiderme aos sete dias se mostrou ausente na maioria das lâminas do GC e do GA e parcial nas do GQ, havendo diferença estatística entre este grupo e o grupo controle o que mostra processo de cicatrização mais adiantado nas feridas tratadas por quitosana. Resultados semelhantes foram encontrados por OBARA et al. (2003), YAN et al. (2010) e que reafirmam a capacidade deste polímero de acelerar o reparo tecidual de feridas.

Os parâmetros observados na avaliação histopatológica aos 14 dias indicaram que as feridas se encontravam em fase mais adiantada de cicatrização em todos os grupos, com predominância de fibroblastos e colágeno e diminuição da necrose, hiperplasia, angiogênese e células mononucleares, quando comparadas aquelas do período de sete dias. De acordo com

MENDONÇA & COUTINHO NETTO (2009) este padrão histológico caracteriza os estágios proliferativo e de remodelação do processo de cicatrização. Elevados índices de proliferação fibroblástica foram atribuídos por HOWLING et al. (2001) em estudo *in vitro* e por UENO et al. (2001), OBARA et al. (2003) e ALSARRA (2009) em feridas experimentais em ratos. MANHEZI et al. (2008) afirmam que os ácidos graxos essenciais também são capazes de acelerar o processo de granulação tecidual, migração e proliferação celular.

A reepitelização aos 14 dias se apresentou parcial à completa com destaque para o GQ onde 83% das amostras encontravam-se completamente reepitelizadas. Tanto na análise macroscópica quanto na histológica o GQ mostrou-se estatisticamente superior ao GC quanto ao grau de contração da área da ferida e de reposição do epitélio perdido. Mais uma vez pode-se verificar o aumento na velocidade de reparação tecidual provocado pela quitosana nas feridas. Esta propriedade é especialmente interessante para feridas de pacientes diabéticos já que, segundo FRYKBERG & ROBERTS (1999), a dificuldade de cicatrização gerada pela doença pode levar a complicações que resultam na maioria das vezes em gangrena e amputação de membros.

Aos 21 dias de pós-operatório destacou-se a acentuada presença de fibroblastos e colágeno nas feridas de todos os grupos avaliados neste estudo. Além disso, os padrões relacionados às fases inflamatória e proliferativa da cicatrização não foram mais encontrados ou se apresentaram de forma discreta. Como esperado para este período a maioria das feridas se encontravam parcialmente ou completamente reepitelizadas, principalmente nos grupos tratados com AGEs e quitosana. Tecido conjuntivo denso já organizado em 50% das amostras do GA indicou estadiamento final de cicatrização nestes animais.

CONCLUSÃO

O gel de quitosana a 2% auxilia o processo de cicatrização acelerando a reepitelização do leito de feridas cutâneas de ratas diabéticas.

O tratamento proposto se mostra satisfatório e economicamente viável para a utilização como terapia tópica de lesões cutâneas.

As metodologias utilizadas para as avaliações macro e microscópica da ferida se mostraram satisfatórias, permitindo o adequado acompanhamento do processo de cicatrização das feridas diabéticas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os biopolímeros estão sendo estudados quanto ao seu potencial de acelerar os mecanismos de reparo tecidual em feridas de difícil cicatrização, como as dos pacientes diabéticos, sendo uma opção de tratamento para esses casos. No entanto, mais investigações e descobertas se fazem necessárias para alcançar evolução significativa, já que o tratamento de feridas crônicas no paciente diabético ainda é um desafio a ser esclarecido.

A quitosana conseguiu desempenhar seu papel acelerando o processo de cicatrização das feridas diabéticas. O óleo de ácidos graxos essenciais também demonstrou reparo tecidual adequado das feridas tratadas por este composto. É importante ressaltar, no entanto, que a quitosana é obtida a partir de resíduos da indústria pesqueira, já que é extraído do exoesqueleto de crustáceos, o que a torna uma matéria prima barata para o desenvolvimento de fármacos, curativos ou substitutos de pele.

Os avanços obtidos nas últimas décadas no âmbito do tratamento de feridas de difícil cicatrização revelam novas perspectivas principalmente para o uso de biopolímeros que melhorem as terapias empregadas atualmente. No entanto, mais investigações e descobertas se fazem necessárias para alcançar evolução significativa neste setor, já que o tratamento de feridas crônicas no paciente diabético ainda é um desafio a ser esclarecido.

REFERÊNCIAS

1. ALSARRA, I.A. Chitosan topical gel formulation in the management of burn wounds. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v.5, n.1, p.16-21, jul. 2009.

2. BRANCO NETO, M.L.C.; RIBAS FILHO, J.M.; MALAFAIA, O.; FILHO, M.A.O.; CZECZKO, N.G.; AOKI, S.; CUNHA, R.; FONSECA, V.R.; TEIXEIRA, H.M.; AGUIAR, L.R.F. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.21, n.2, p.17-22, 2006.

3. CÁRDENAS, G.; ANAYA, P.; VON PLESSING, C.; ROJAS, C.; SEPÚLVEDA, J. Chitosan composite films. Biochemical applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, London, v.19, n.6, p.2397-2405, jun. 2008.

4. CONTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Patologia estrutural e funcional.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

5. DEVECI, M.; GILMONT, R.R.; DUNHAM, W.R.; MUDGE, B.P.; SMITH, D.J.; MARCELO, D.J. Glutathione enhance fibroblasts collagen contraction and protects keratinocytes from apoptosis in hyperglycaemic culture. **British Journal of Dermatology**, Oxford, v.152, n.2, p.217-224, 2005.

6. FRYKBERG, R.G.; ROBERTS, G. Epidemiology of the diabetic foot: ulcerations and amputations. **Advances Wound Care**, Dundee, v.12, n.4, p.139-141, 1999.

7. GARROS, I.C.; CAMPOS, A.C.L.; TÂMBARA, E.M.; TENÓRIO, S.B.; TORRES, O.J.M.; AGULHAM, M.A.; ARAÚJO, A.C.F.; SANTIS-ISOLAN, P.M.B.; OLIVEIRA, R.M.; ARRUDA, E.C.M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.21, supl. 3, p.55-65, 2006.

8. GOOVA, M.T.; LI, J.; KISLINGER, T.; QU, W.; LU, Y.; BUCCIARELLI, L.G.; NOWYGROD, S.; WOLF, B.M.; CALIESTE, X.; YAN, S.F.; STERN, D.M.; SCHMIDT, A.M. Blockade of receptor for advanced glycation end-products restores effectives wound healing in diabetic mice. **The American Journal of Pathology**, Bethesda, v.159, n.2, p.513-525, 2001.

9. HESS, C.T. **Tratamento de Feridas e Úlceras.** 4.ed. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso Editores, 2002, 226p.

10. HOWLING, G.I.; DETTMAR, P.W.; GODDARD, P.A.; HAMPSON, F.C.; DORNISH, M.; WOOD, E.J. The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes in vitro. **Biomaterials**, Surry, v.22, n.22, p.2959-2966, 2001.

11. LOOTS, M.A.M.; KENTER, S.B.; AU, F.L. Fibroblasts derived from chronic diabetes ulcers differ in their response to stimulation with EGF, IGF-1, bFGF e PDGF-ab compared to controls. **European Journal of Cell Biology**, Stuttgart, v.81, n.3, p.153-160, 2002.

12. MANHEZI, A.C.; BACHION, M.M.; PEREIRA, A.L. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Rio de Janeiro, v.61, n.5, p.620-629, 2008.

13. MENDONÇA, R.J.; COUTINHO NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.84, n.3, p.257-262, 2009.

14. MURAKAMI, K.; AOKI, H.; NAKAMURA, S.; NAKAMURA, S.; TAKIKAWA, M.; HANZAWA, M.; KISHIMOTO, S.; HATTORI, H.; TANAKA, Y.; KIYOSAWA, T.; SATO, Y.; ISHIHARA, M. Hydrogel blends of chitin/chitosan, fucoidan and alginate as healing-impaired wound dressings. **Biomaterials**, Surry, v.31, n.1, p.83-90, 2010.

15. OBARA, K.; ISHIHARA, M.; ISHIZURA, T.; FUJITA, M.; OZEKI, Y.; MAEHARA, T.; SAITO, Y.; YURA, H.; MATSUI, T.; HATTORI, H.; KIKUCHI, M.; AKIRA, K. Photocrosslinkable chitosan hydrogel containing fibroblast growth factor-2 stimulates wound healing in healing-impaired db/db mice. **Biomaterials**, Surrey, v.24, n.20, p.3437-3444, set. 2003.

16. SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal.** Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária, 1998. 221p.

17. SEZER, A.D.; HATIPOGLU, F.; CEVHER, E.; OGURTAN, Z.; BAS, A.L.; AKBUGA, J. Chitosan film containing fucoidan as a wound dressing for dermal burn healing: preparation and in vitro / in vivo evaluation. **AAPS PHARMSCITECH**, Istanbul v.8, n.2, maio. 2007.

18. SPRAVCHIKOV, N.; SIZYAKOV, G.; GARTSBEIN, M.; ACCILI, D.; TENNENBAUM, T.; WERTHEIMER, E. Glucose effects on skin keratinocytes implications for diabetes skin complications. **Diabetes**, New York, v.50, n.7, p.1627-1635, 2001.

19. UENO, H.; MORI, T.; FUJINAGA, T. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v.52, n.2, p.105-115, nov. 2001.

20. UENO, H.; OHYA, T.; ITO, H.; KOBAYASHI, Y.; YAMADA, K.; SATO, M. Chitosan application to X-ray irradiated wounds in dogs. **Journal of Plastic, Reconstrutive and Aesthetic Surgery**, Oxford, v.60, n.2, p.304-310, 2007.

21. WANG, W.; LIN, S.; XIAO, Y.; HUANG, U.; TAN, Y.; CAI, L.; LI, X. Acceleration of diabetic wound healing with chitosan-crosslinked collagen sponge containing recombinant human acidic fibroblast growth factor in healing-impaired STZ diabetic rats. **Life Sciences**, Amsterdam, v. 82, n. 3-4, p. 190-204, 2008.

22. YAN, X.; CHEN, B.; LIN, Y.; LI, Y.; XIAO, Z.; HOU, X.; TAN, Q.; DAI, J. Acceleration of diabetic wound healing by collagen-binding vascular endothelial growth factor in diabetic rat model. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Amsterdam, v.90, n.1, p.66-72, 2010.

Produção de proteínas recombinantes LeIF, TSA, LACK e LbSTI de *Leishmania (Viannia) braziliensis* candidatas à vacina contra a leishmaniose

Lucas Scárdua Silva [a,b,1]; João Pedro Tôrres Guimarães [b]; José Vitor Ferreira Alves [b]; Rosana Pereira Morais Balian [b]; Miriam Leandro Dorta [b,2.]

[a] Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás.

[b] Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás.

Endereço eletrônico: lucas_scarduasilva@hotmail.com; mledorta@gmail.com

Palavras-chave: *L.(V.)braziliensis*, proteínas recombinantes, LACK, TSA, LeIF, LbSTI

Resumo: As leishmanioses constituem um grupo de infecções causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. Dentre as espécies encontradas no Brasil, *L. (V.) braziliensis* é a que possui maior distribuição geográfica no país, incluindo a região Centro-Oeste. Inúmeros antígenos de diversas espécies de *Leishmania* estão sendo testados para fins de desenvolvimento de vacinas contra a leishmaniose, mas nenhum estudo até o presente utiliza proteínas de *L.(V.) braziliensis*. Dentre os vários antígenos testados, se destacam LACK (receptor para proteína C-kinase ativada de *Leishmania*), TSA (antioxidante tiol-específico), LeIF (fator ribossomal de elongação e iniciação nuclear de *Leishmania*) e LmSTI1 (proteína 1 de estresse induzível de *Leishmania*). O presente trabalho tem como objetivos a produção das proteínas recombinantes LACK e TSA, LeIF e LbSTI de *L.(V.)braziliensis.* Bactérias *E. coli* BL21-DE3 contendo o genes de resistência ao cloranfenicol, foram transformadas com plasmídios contendo os genes LeIF, TSA, LACK e LbSTI associado ao gene de resistência à ampicilina para a produção das quatro proteínas recombinantes. As bactérias transformadas foram cultivadas em grande escala em meio LB e as proteínas produzidas como corpos de inclusão foram purificadas em gel de SDS-PAGE. As proteínas obtidas foram eluídas do gel de poliacrilamida, dialisadas, quantificadas e armazenadas para serem utilizadas em estudos de imunogenicidade. Foram obtidas as concentração de 24,15 mg 37,91 mg, 38,4 mg e 17,1 mg de rLACK, rTSA, rLeIF e rLbSTI, respectivamente. Estas proteínas serão avaliadas quanto a sua imunogenicidade e capacidade de induzir uma resposta imune protetora e duradoura em ensaios de vacinação utilizando modelos experimentais.

Orientadora: Miriam Leandro Dorta
Aluno de Iniciação Científica (PIVIC): Lucas Scárdua Silva
Revisado pelo Orientador

1. **Introdução**

As leishmanioses compreendem um grupo de doenças que apresentam características clínicas, histopatológicas e imunológicas distintas. É uma protozoose causada por parasitos intracelulares do sistema fagocítico mononuclear que pertencem ao gênero *Leishmania*. Essa doença é uma zoonose primariamente de animais silvestres, sobretudo roedores, sendo transmitida por flebotomíneos de florestas tropicais. Seres humanos têm uma suscetibilidade variada à doença, embora não façam parte da cadeia de transmissão habitual (Gontijo & Carvalho, 2003; Ameen, 2010).

As espécies de *Leishmania* patogênicas para o homem, presentes na América Latina, pertencem a dois Subgêneros: (1) *Viannia*, representado por *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis* e *L. peruviana*, causam lesões cutâneas e mucocutâneas e (2) *Leishmania*, representado por *L. mexicana* e *L. amazonensis*, causam envolvimento cutâneo localizado ou difuso (Silveira e cols, 2009).

No Brasil, as leishmanioses vêm apresentando franco crescimento, em magnitude e expansão geográfica, sendo encontradas em praticamente todos os estados e nos últimos 20 anos, tem apresentado crescimento progressivo**.** Cerca de 90% dos casos de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no Brasil são causados por *L. (V.) braziliensis*, e esta são que é a espécie que desenvolve as lesões mais graves e que está frequentemente associada à invasão de mucosas (Silveira e cols, 2009).

As manifestações clínicas das leishmanioses no homem podem variar desde uma simples lesão cutânea até lesões destrutivas da mucosa ou formas viscerais, como consequência de uma complexa resposta imunológica do hospedeiro, de sua resistência natural e diversidade da espécie envolvida na infecção. Assim, a doença passa a ter um amplo espectro de variação clínica, com prognóstico variável, indo desde formas que evoluem para cura espontânea até as formas resistentes à terapêutica convencional que podem levar à morte. Estudos têm demonstrado que o espectro clínico da doença está relacionado com as diferentes espécies de *Leishmania* (Laisson & Shaw, 1987; Silveira e cols, 2009) e com a interação entre o parasito e o hospedeiro (Ameen, 2010).

As leishmanioses ocorrem em praticamente todas as regiões geográficas do Brasil e têm merecido atenção nos últimos anos, tanto pela sua incidência como pela sua capacidade de dispersão. Apesar das falhas na notificação compulsória, é crescente o número de casos novos da doença em nosso país. No Brasil, as leishmanioses vêm apresentando franco

crescimento, em magnitude e expansão geográfica, sendo encontradas em praticamente todos os estados e nos últimos 20 anos, tem apresentado crescimento progressivo**.** No estado de Goiás, foram notificados 1.610 casos de LTA, entre os anos de 2007 e 2010, dos quais 246 casos em 2007, 351 em 2008, 460 em 2009 e 553 em 2010. Os municípios de Niquelândia, Baliza, São Miguel do Araguaia, Doverlândia, Minaçu, São Domingos, Rio Verde, Mineiros, Caiapônia, Divinópolis de Goiás, Itajá, Porangatu, Posse, Campos Belos, Jataí,Crixás, Jaraguá, Araguapaz, Motividiu do Norte, Rubiataba, Serranópolis e Uruaçu foram os de maior ocorrência (MS, 2013).

A medidas profiláticas e tratamento da LTA apresentam diversas limitações o que dificulta o seu controle. Os antimoniais pentavalentes são indicados para o tratamento de todos os tipos de manifestações clínicas de leishmaniose, embora as formas mucosas e mucocutâneas exijam maior cuidado, por apresentarem resposta mais lenta e maior possibilidade de recidivas Não havendo resposta satisfatória com o tratamento pelos antimoniais pentavalente, as drogas de segunda escolha são a Anfotericina B e a Pentamidina (Tuon e cols., 2008). Podem ocorrer um ou mais efeitos colaterais, tais como artralgias, mialgia, inapetência, náuseas e outros. Recentemente, têm-se reportado resistência à droga de 1ª escolha (Glucantime), requerendo o uso das drogas mais tóxicas como a Anfoterecina B ou Pentamidina (Croft e cols., 2006; Ashutosh e cols, 2007). Estas últimas necessitam serem administradas no hospital (leito dia) devido aos efeitos colaterais que podem causar durante a sua administração (FUNASA, 2001, WHO, 2002). As drogas utilizadas apresentam um custo elevado, requerem um regime de tratamento longo e estão se tornando menos efetivas. Considerando a LTA um problema de saúde pública, novas estratégias de controle e/ou combate da doença devem e estão sendo investigadas (Ameen, 2010; Kato e cols, 2010).

Segundo Laison & Show (1987), cada espécie de *Leishmania* é adaptada a uma determinada espécie de vetor e mamífero. Características ecológicas diferentes determinam condições particulares para transmissão de cada espécie, sendo inviável fazer o controle dos reservatórios selvagens e vetores. O controle da leishmaniose em áreas endêmicas é difícil e requer uma noção exata da sua epidemiologia. Na maioria dos casos não existe uma medida única para reduzir com eficácia a transmissão da doença (Cardoso & Cabral, 1998). Os procedimentos para o diagnóstico desses parasitos são baseados no tipo de apresentação clínica, história epidemiológica, testes parasitológicos (exame direto, cultura axênicas de amostras de biópsias, aspirados de lesões), métodos imunológicos (Intradermoreação de Montenegro, Imunofluorescência Indireta – IFI, Fixação do Complemento - FC, Ensaio Imunoenzimático – ELISA e análise histopatológica) (Gontijo & Carvalho, 2003). Na maioria

das vezes, estes testes consomem muito tempo, apresentam baixa sensibilidade ou requerem condições para manutenção de culturas de parasitos. Assim, vários testes bioquímicos, imunológicos e moleculares têm sido desenvolvidos para detectar e caracterizar espécies de *Leishmania* em amostras clínicas, tais como, análise baseada no perfil eletroforético de isoenzimas, anticorpos monoclonais, análise de kDNA, sondas moleculares específicas para o genoma nuclear ou mitocondrial (Volpini e cols. 2004; Reithinger & Dujardin, 2007). Uma identificação precisa da espécie do parasito infectante é importante, uma vez que as espécies do subgênero *Viannia* complexo *braziliensis*, associadas com afecções cutâneas, são responsáveis também por lesões mucosas mutilantes e o conhecimento do agente etiológico, bem como um diagnóstico precoce, são essenciais para um tratamento e controle apropriado (Herwaldt, 1999; Romero & Boelaert, 2010).

Se disponível, a vacinação poderia ser uma ferramenta promissora para o controle da LTA. Com os avanços das técnicas moleculares, peptídeos e antígenos derivados de DNA recombinante têm sido produzidos e estudos com estes têm se tornado um importante instrumento para identificar possíveis candidatos para uma vacina protetora contra a leishmaniose (Coler & Reed, 2005; Khamesipour e cols, 2006; Multiso e cols, 2010; Bacom e cols, 2013). Alguns antígenos utilizados são específicos para as diferentes formas do parasito, promastigotas e amastigotas e, outros são comuns a estas duas formas evolutivas da leishmania. Alguns são conservados entre as espécies e outros não. Os principais antígenos que estão sendo investigados como potenciais alvos para vacinação estão sumarizados no Quadro abaixo.

Antígenos utilizados em estudos de vacinação que estão sendo realizados em modelos experimentais e em humanos (Handman, 2001; Khamesipour e cols., 2006).

Antígeno	Objetivos da imunização	Proteção	Hospedeiro
Gp63 nativa ou recombinante e peptídeos sintéticos	Profilático	Boa	Camundongos e primatas
Gp46/M2/PSA-2 nativos ou recombinantes	Profilático	Excelente mas dependentes da conformação e adjuvante	Camundongos
LACK recombinante	Profilático	Boa, aumenta com IL-12	Camundongos
A2, P4 e P8	Profilático	Boa	Camundongos
Antígeno flagelar LCR1	Profilático	Boa	Camundongos
LeIF (*Leishmania* Elongation Initiation Factor).	Profilático	Boa	Camundongos
TSA (Thiol Specific Antioxidant)	Profilático	Boa	Camundongos
LmSTI1 (*Leishmania major* Stress Inducible protein 1)	Profilático	Boa	Camundongos
DNA de gp63, PSA-2 e LACK	Profilático ou terapêutico	Boa	Camundongos

A vacinação genética contra leishmaniose cutânea experimental em camundongos BALB/c altamente suscetíveis à infecção por *L. (L.) major* foi descrita com um plasmídio contendo o gene do antígeno LACK ("*Leishmania* Activated C Kinase") de *L. (L.) major, L. (L.) amazonensis, L. infantum, L. mexicana, L donovani* e *L. chagasi* (Dumonteil, 2007). Os animais imunizados com este plasmídio apresentaram uma resposta imune do tipo *T helper 1* (Th1) semelhante à de animais imunizados com a proteína LACK recombinante, juntamente com interleucina-12 (IL-12) recombinante (Gurunathan e cols, 1997). Foi demonstrado que a vacinação genética com plasmídios contendo os genes do antígeno *Thiol Specific Antioxidant* (TSA) ou Leishmania major Stress Inducible protein 1 (LmSTI1) foi capaz de induzir resposta imune protetora contra a infecção por *L.(L.)major* em camundongos altamente suscetíveis BALB/c (Mendez e cols, 2001; Badiee e cols, 2007). Além da vacinação genética, os antígenos TSA, LmSTI1 e *Leishmania elongation initiation factor* (Leif) de *L. (L.) major*

estão sendo utilizadas em estratégias de imunização em formulações separadas ou conjuntas de poliproteínas, mostrando-se em todos os casos, capazes de conferir proteção em modelos animais desafiados com *L. (L.) major* e imunizações estão sendo feitos no homem e em cães (Campos-Neto e cols, 2001; Cooler & Reed, 2005; Coler e cols, 2007; Chakravarty e cols. 2011).

Dados demonstram que as diferentes leishmanioses cutâneas são distintas em sua etiologia, epidemiologia, transmissão e distribuição geográfica e que durante o curso da infecção, cada fase é desencadeada por interações de grupos distintos de moléculas do parasito com um compartimento da resposta imune específico. Fenótipos virulentos podem ser apresentados com um espectro de manifestações de infecções que variam de assintomáticas a fatais. Num segundo nível de regulação estariam os fatores genéticos do hospedeiro e fatores ambientais (Chang & Mcguire, 2002). Assim, é de grande importância para o controle da LTA no Brasil, que estudos sejam realizados com o objetivo de identificar proteínas imunogênicas para que sejam testadas e utilizadas como potenciais antígenos para o desenvolvimento de uma vacina protetora e duradoura, desde que, esta é a espécie que apresenta maior importância epidemiológica no Brasil, e países vizinhos.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

- Produção das proteínas rLeIF, rTSA, rLACK e rLbSTI de *L.(V.)braziliensis*.

2.2. Objetivos específicos:

- Transformação de bactérias E. coli para expressão dos genes *leif*, *tsa*, *lack* e *lbst*I de *L. (V.) braziliensis*, para produção das proteínas recombinantes;
- Produção em pequena e grande escala das proteínas recombinantes rLACK, rTSA, rLeIF e rLbSTI;
- Purificação das proteínas recombinantes produzidas em grande escala.

3. Metodologia

3.1 Obtenção das proteínas recombinantes rLACK, rTSA, rLeIF e LbSTI em *E. coli.*

As bactérias competentes *E. coli* BL21-DE3 com gene de resistência a cloranfenicol foram preparadas para receber os plasmídios pHis recombinantes (LeIF-pHis, TSA-pHis, LACK-pHis e LbSTI-pHis) contendo um gene de resistência a ampicilina. Através de um processo de eletroporação foram inseridos os plasmídios pHis contendo os genes LeIF, TSA,

LACK e LbSTI, realizada pela equipe do Dr. André Kipnis (Microbiologia/IPSTP/UFG). Em seguida, todo o conteúdo do tubo foi adicionado em uma placa contendo LB-ágar (Luria Bertani – ágar) com ampicilina (100 mg/mL) e cloranfenicol (20 mg/mL) (LB-agar-amp/clor) que foi colocada na estufa a 37ºC e incubada por 18 horas, segundo protocolo descrito pro Ribeirão e cols (1997). Após o crescimento de bactérias foi feita a "replica plate" de cada placa contendo as bactérias transformadas e o repique destas foi feito de 3 em 3 semanas para a manutenção das colônias a 4^{o}C.

Em seguida foi feito o crescimento em pequena escala para identificar e selecionar as colônias que melhor expressavam a proteína recombinante. Foi feito um pré-inóculo de diferentes colônias de bactérias em 5 mL de meio cultura Lb contendo ampicilina e cloranfenicol (LB-amp/clor) e este foi cultivado sob agitação a 37^{o}C por 18 horas. Posteriormente foi adicionado 300 µL desse pré-inóculo (inóculo de 3%) em 10 mL de meio LB (LB-amp/clor) em tubos de 50 mL para expressão das proteínas rLeIF, rSTA, rLACK e rLbSTI, sempre em duplicata pois para verificar a eficiência da indução da expressão da proteína, avaliávamos sempre um tubo com IPTG e outro sem IPTG . Após a adição do pré-inóculo a densidade óptica (D.O.) era medida no espectofotômetro (entre 560 e 600 nm) até que atingisse um valor entre 0,4 e 0,6, quando era acrescentado 10 µL de Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) 0,1 M em nos tubos (amostra induzida) contendo o pré-inóculo das colônias transformadas, deixando o outro tubo sem acréscimo de IPTG (amostra não-induzida). Os tubos foram deixados sob agitação, 170 rpm (shaker) a 37ºC por mais ou menos 3 a 4 horas. A D.O. foi medida no espectofotômetro, devendo no final se encontrar entre 1,3 e 1,9. Depois, os tubos foram centrifugados a 3.500 rpm (rotações por minuto), a 10ºC por 15 minutos. Os sedimentos foram ressuspendidos em 400 µL de Tampão de ligação ("Binding Buffer"), 40 µL de inibidor de protease (PMSF – Fluoreto de fenilmetilsulfonil), 50 µL de lisozima 6 mg/mL e deixados à temperatura ambiente sob agitação por 30 minutos. Em cada amostra foram realizados quatro ciclos de sonicagem de 30 segundos cada, em contato com gelo. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente. Os sedimentos foram ressuspendidos em 500 µL de "Binding Buffer" Uréia 8 M e colocados sob agitação por 18 horas e em seguida a expressão da proteína foi analisada por SDS-PAGE (mini-gel da Bio-Rad : composto por gel de corrida 12% e gel de empilhamento 3%) e as bandas foram visualizadas com azul de Coomassie (concentração).

Uma vez que foi confirmada a expressão das proteínas recombinantes pelos clones de bactérias analisados, foram selecionados aqueles que estavam expressando maior quantidade das proteínas para que fosse realizada a produção em grande escala. O mesmo procedimento

da pequena escala foi feito para obtenção das bactérias em grande escala, foi utilizado um volume de 500 mL de meio de cultura (meio LB-amp/clor). As bactérias foram centrifugadas e o sedimento foi ressuspendido em 8 mL de "Binding buffer" uréia 8 M e as proteínas expressas foram purificadas através de SDS-PAGE 10%.

3.2. Purificação das proteínas recombinantes de *L. (V.) braziliensis.*

Géis grandes de poliacrilamida a 10% foram preparados e em seguida foi adicionado o extrato total das bactérias obtido em grande escala preparado como descrito anteriormente e a eletroforese foi feita durante 30 minutos a 80 V (gel de empilhamento) e 7 horas e 30 minutos a 100 V (gel de corrida). Para evidenciar a proteína no gel e extraí-la para sua eluição, foi adicionada uma solução gelada de cloreto de potássio sobre o gel de poliacrilamida, para que as proteínas se precipitassem e permitissem a visualização de uma banda opaca. A banda foi cortada, macerada e colocada em um tubo de 50 mL contendo 5 mL de água Milli-Q, e deixada sob agitação à t.a. à 156 rpm por 18 horas para eluição da proteína. Sem seguida o tubo foi centrifugado por 15 minutos, a 10°C, a 3500 rpm, o sobrenadante foi colhido e adicionado em um saco de diálise e este foi colocado dentro de um béquer contendo 2 litros de PBS (1x), à 4°C, sob agitação. A solução de PBS (1x) foi trocada 3 vezes ao dia, durante 24 horas. A pureza das proteínas obtidas foi analisada por SDS-PAGE, em seguida foi feita a dosagem das proteínas por Kit de BCA e por SDS-PAGE.

As proteínas foram quantificadas através de SDS-PAGE, comparando-se a concentração da proteína com uma concentração conhecida de BSA. Foi feita uma curva de BSA, partindo de uma solução estoque de 2 mg/mL de BSA, foram aplicadas 4 concentrações diferentes no gel de poliacrilamida, correspondendo a 16 µg, 8 µg, 4 µg e 2 µg. O mesmo processo foi feito para a proteína recombinante purificada. Foi aplicado 20 uL de cada amostra em diferentes poços do gel de poliacrilamida 12% e feita a eletroforese a 80 V por 20 minutos para o empilhamento e posteriormente, a 100 V por 90 minutos. O gel foi corado com azul de Coomassie e descorado logo em seguida com solução descorante. De acordo com o padrão da curva de BSA foi feita a dosagem da proteína. A quantificação foi feita também utilizando o Kit BCA (Pierce) segundo as recomendações do fabricante. Após adição de inibidores de proteases (Sigma), as amostras foram então aliquotadas e armazenadas a -20 ^{o}C.

4. Resultados

4.1. Transformação de Bactérias competentes *E. coli* Bl-21 com LACK-pHis, TSA-pHis, LeIF-pHis e LbSTI-pHis

As bactérias competentes *E.coli* Bl21-DE3 foram transformadas com plasmídio pHis contendo os genes *lack, tsa, leif, lbsti* e gene de resistência a ampicilina, em placa contendo LB-ágar com ampicilina e cloranfenicol. Foram obtidas colônias transformadas LACK-pHis, TSA-pHis, LeIF (dados não mostrados) e LbSTI-pHis (Figura 1). As colônias transformadas foram mantidas através de *replica plate*, que eram feitas a cada três semanas.

A **B**

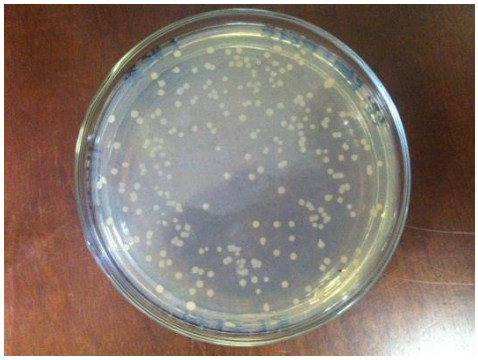


Figura 1. Colônias de bactérias *E. coli* transformadas com o plasmídeo contendo os genes de LbSTI-pHis. (A) colônias de *E.coli* transformadas em placas de LB-ágar contendo ampicilina e cloranfenicol. (B) *Replica plate* das colônias para análise dos diferentes clones.

4.2. Avaliação da Expressão das proteínas, rLACK, rTSA, rLeIF e rLbSTI de *L.(V.)braziliensis* pelas colônias de *E.coli* transformadas.

Para verificarmos se as colônias de *E.coli* obtidas após transformação com os respectivos plasmídios estavam expressando as proteínas recombinantes, LACK-His e TSA-His, foi feito o crescimento das bactérias em meio LB-amp/clor em pequena escala, seguido da análise da expressão através de SDS-PAGE. Inicialmente foram analisados cinco clones de bactérias transformadas com LACK-pHis, TSA-pHis, LeIF-pHis e LbSTI-pHis. Todas as colônias analisadas expressavam as proteínas recombinantes. Na Figura 2 observamos a análise de três (03) colônias de *E.coli* transformadas com o gene *lack.* As colônias foram cultivadas em pequena escala e para avaliar a eficiência da expressão das proteínas recombinantes foram comparadas culturas de bactérias induzidas com IPTG e não induzidas. Segundo dados da literatura, a proteína LACK de *L. major* é expressa como corpos de inclusão e apresenta peso molecular de 34 kDa (Gonzalez-Aseguinolaza *et al*, 1999). No presente trabalho avaliamos a expressão da LACK recombinante tanto no sobrenadante quanto no pellet das culturas e verificamos que a maior parte da proteína estava presente no

pellet e como esperado as amostras induzidas com IPTG expressaram uma concentração maior de proteína (Fig. 2). Selecionamos a colônia 3 para obtenção de proteína em grande escala.

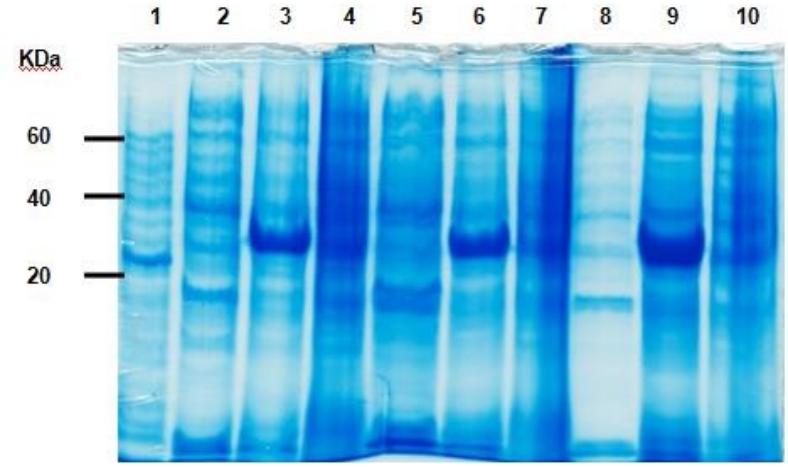


Figura 2. Avaliação da expressão da proteína recombinante, LACK-pHis, por bactérias competentes, *E.coli,* Bl21-DE3. Gel de Poliacrilamida 12% foi utilizado para analisar a expressão de LACK-pHis. Canaletas; 1- Proteína LACK, 2- Sobrenadante de cultura induzida com IPTG 0,1 M (clone 1), 3– Pellet da cultura induzida com IPTG 0,1 M (clone 1), 4- Pellet da cultura tratada com Uréia não-induzida com IPTG 0,1 M (clone 1), 5- Sobrenadante de cultura induzida com IPTG 0,1 M (clone 2), 6- Pellet da cultura induzida com IPTG 0,1 M, (clone 2), 7- Pellet da cultura tratada com Uréia não-induzida com IPTG 0,1 M (clone 2), 8- Sobrenadante de cultura induzida com IPTG 0,1 M (clone 3), 9- Pellet da cultura induzida com IPTG 0,1 M, (clone 3), 10- Pellet da cultura tratada com Uréia não-induzida com IPTG 0,1 M (clone 3). Gel corado com solução corante Comassie Blue.

A Figura 3 mostra bactérias *E.coli* transformadas com o gene *tsa*. Das colônias analisadas foi avaliada a eficiência da expressão das proteínas recombinantes, foram comparadas culturas de bactérias induzidas com IPTG e não induzidas, e foi observado se havia a presença da proteína no sobrenadante e/ou no pellet da cultura. O clone 3 foi escolhido para obtenção de rTSA em grande escala. Segundo dados da literatura, a proteína TSA de *L. major* é parcialmente solúvel (Webb, John *et. al*,1998), podendo dessa forma ser encontrada não só no pellet, como também no sobrenadante (TSA ~22KDa).

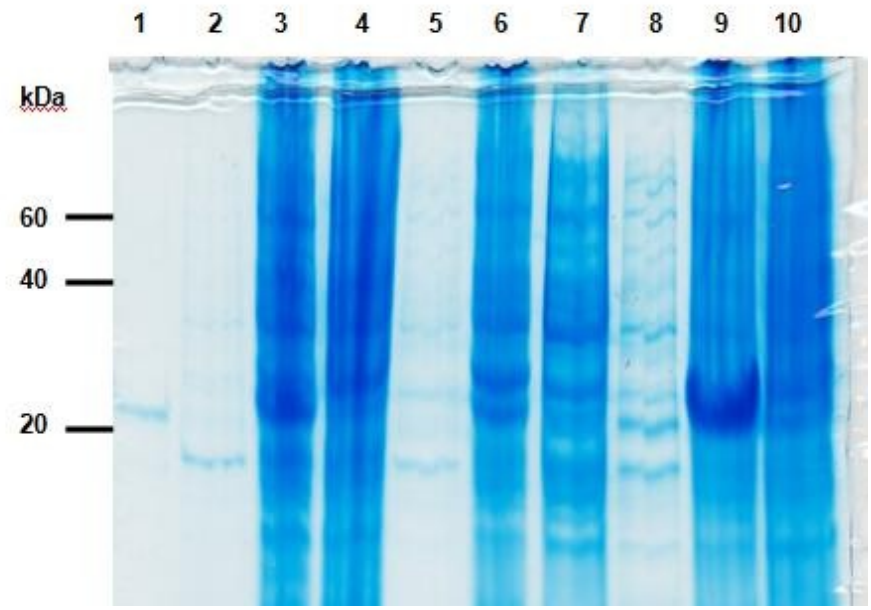


Figura 3. Avaliação da expressão da proteína recombinante, TSA-pHis, por bactérias competentes, *E.coli*, Bl21-DE3. Gel de Poliacrilamida 12% foi utilizado para analisar a expressão de TSA-pHis. Canaletas; 1- Proteína TSA, 2- Sobrenadante de cultura induzida com IPTG 0,1M (clone 1), 3– Pellet da cultura induzida com IPTG 0,1 M (clone 1), 4- Pellet da cultura tratada com Uréia não-induzida com IPTG 0,1 M (clone 1), 5- Sobrenadante de cultura induzida com IPTG 0,1 M (clone 2), 6- Pellet da cultura induzida com IPTG 0,1 M, (clone 2), 7- Pellet da cultura tratada com Uréia não-induzida com IPTG 0,1 M (clone 2), 8- Sobrenadante de cultura induzida com IPTG 0,1 M (clone 3), 9- Pellet da cultura induzida com IPTG 0,1 M (clone 3), 10- Pellet da cultura tratada com Uréia não-induzida com IPTG 0,1 M (clone 3). Gel corado com solução corante Comassie Blue.

A Figura 4 mostra bactérias *E.coli* transformadas com o gene *leif*. Todas as colônias analisadas expressavam as proteínas recombinantes, porém a colônia 1 apresentou uma expressão maior no pellet da amostra induzida com IPTG (canaleta 3). Esta colônia que apresentou maior expressão da proteína LeIF foi a escolhida para a produção em grande escala e posterior purificação desta proteína. Segundo Sheik *et al* (1995) o gene LeIF codifica uma proteína de 403 aminoácidos e apresenta um peso molecular de 45 kDA e a construção LeiF-pHis é expressa como corpo de inclusão pela bactéria.

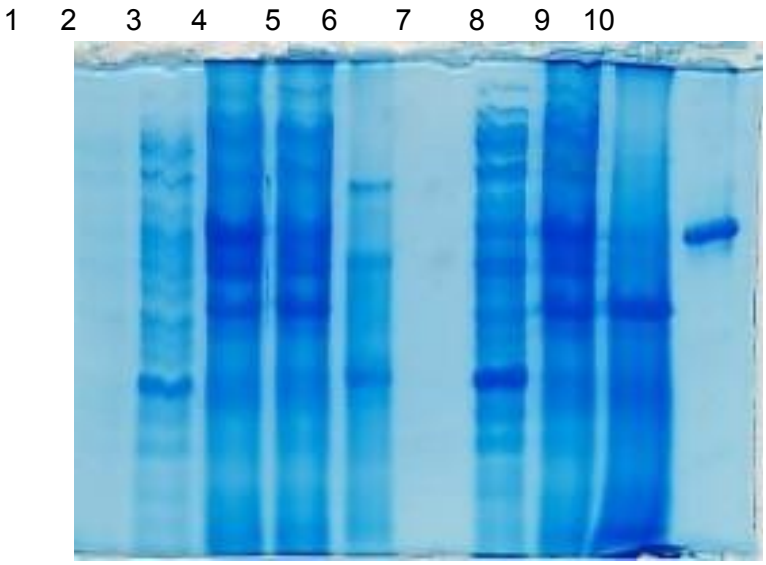


Figura 4. Avaliação da expressão da proteína recombinante, LeIF-pHis, por bactérias competentes, *E.coli,* Bl 21-DE3. Gel de Poliacrilamida 12% foi utilizado para analisar a expressão de LeIF-pHis. Canaletas: 1- Sobrenadante de cultura de amostra induzida com IPTG 0,1 M (clone 1), 2- Sobrenadante da cultura ressuspenso em amostra induzida com IPTG 0,1 M (clone 1), 3- Sobrenadante da amostra Induzida com IPTG 0,1 M (clone 1), 4- Sobrenadante da amostra não-induzida com IPTG, 5- padrão de peso molecular, 6- Sobrenadante de cultura de amostra induzida com IPTG 0,1 M (clone 2), 7- Sobrenadante da amostra induzida com IPTG 0,1 M (clone 2), 8- Sobrenadante da amostra não induzida com IPTG (clone 3), 10- proteína LeIF purificada. Gel corado com solução corante Coomassie Blue.

No presente trabalho também avaliamos a expressão da LbSTI recombinante tanto no sobrenadante quanto no pellet das culturas de E.coli transformadas com o gene *lbsti* e verificamos que a maior parte da proteína estava presente no pellet e as amostras induzidas com IPTG expressavam uma concentração maior de proteína (Fig. 5). Selecionamos a colônia 1 para obtenção de proteína em grande escala. A proteína LmSTI foi descrita por Webb *et al* (1996, 1997), apresenta um peso molecular de 60 kDa e é expressa na forma insolúvel, como corpos de inclusão.

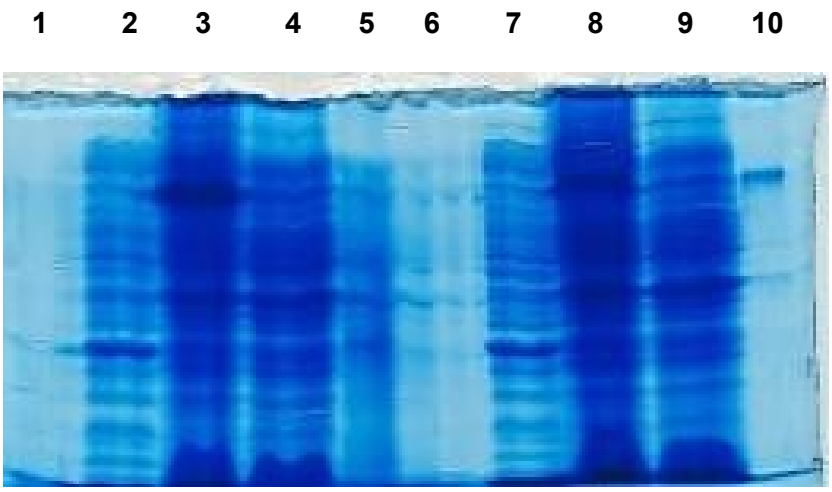


Figura 5. Avaliação da expressão da proteína recombinante, LbSTI-pHis, por bactérias competentes, *E.coli,* Bl 21-DE3. Gel de Poliacrilamida 12% foi utilizado para analisar a expressão de STI-pHis. Canaletas: 1 sobrenadante de cultura da amostra induzida com IPTG 0,1 M (clone 1) 2- Sobrenadante da amostra Induzida com IPTG 0,1 M (clone 1); 3- Sobrenadante da amostra induzida com IPTG 0,1 M (clone 1); 4- Sobrenadante da amostra não induzida com IPTG (clone 1); 5- proteína LeIF purificada; 6- Sobrenadante de cultura da amostra induzida com IPTG 0,1 M (clone 2); 7- Sobrenadante da amostra induzida com IPTG 0,1 M (clone 2); 8- Sobrenadante da amostra induzida com IPTG 0,1 M (clone 2); 9- Sobrenadante da amostra não induzida com IPTG (clone 2); 10- padrão de peso molecular. Gel corado com Coomassie Blue.

4.4. Purificação e eluição das proteínas recombinantes produzidas em grande escala.

As proteínas obtidas apresentaram pesos moleculares de 34 KDa, 28 KDa, 47 KDa e 65 KDa, respectivamente para a His-LACK, His-TSA, His-LeIF e His-LbSTI1 (Fig. 6).

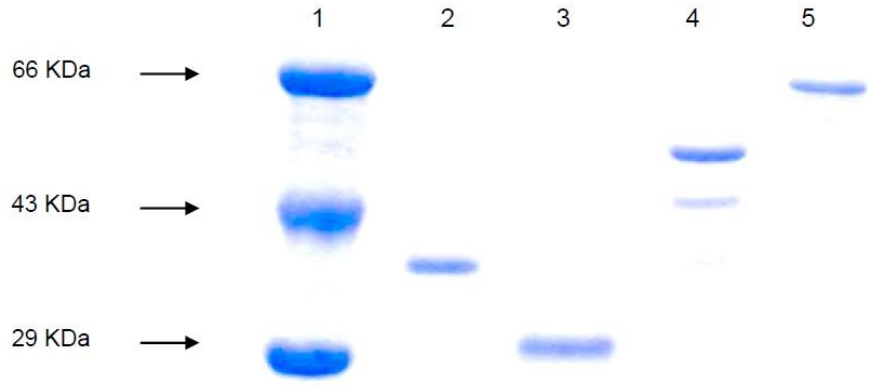


Figura 6. SDS-PAGE de proteínas recombinantes LACK, TSA, LeIF e STI de *L. (V.) braziliensis*. As proteínas foram submetidas a gel de SDS-PAGE de 12% sob condições redutoras e coradas com Coomassie Blue. As linhas são: (1) Padrão de peso molecular, (2) rLACK, (3) rTSA, (4) rLeIF e (5) rLbSTI1.

A Figura 6 mostra as proteínas purificadas, rLACK, rTSA, rLeIF e rLbSTI. Foram obtidas 24,15 mg de rLACK, 37,91 mg de rTSA, 38,4 mg de rLeIF e 17,1 mg de rLbSTI.

5. Considerações finais

Em estudos futuros estas proteínas serão avaliadas quanto a sua imunogenicidade e capacidade de induzir uma resposta imune protetora e duradoura em modelos experimentais.

6. Discussão

As diferentes leishmanioses cutâneas são distintas em sua etiologia, epidemiologia, transmissão e distribuição geográfica e durante o curso da infecção, cada fase é desencadeada por interações de grupos distintos de moléculas do parasito com distintas células da resposta imune específica. Assim, é de grande importância para o controle da LTA no Brasil, a identificação de proteínas imunogênicas de *L.(V.) braziliensis* para que sejam testadas e utilizadas como potenciais antígenos para o desenvolvimento de uma vacina protetora e duradoura, desde que, esta é a espécie que apresenta maior importância epidemiológica no Brasil e na América do Sul. Salay e cols (2007) desenvolveram estudos com os genes homólogos aos já usados para a imunização contra *L. (L.) major, lack, tsa, lbsti1,* e *leif*, para a vacinação genética contra a infecção experimental com *L. (V.) braziliensis*, espécie responsável por mais de 90% dos casos de LTA no Brasil. Assim o presente trabalho teve como objetivo a produção das proteínas recombinantes LACK, TSA, LeIF, LbSTI de *L.(V.) braziliensis* segundo descrito por Salay e cols (2007) para que sejam testados posteriormente em estudos de vacinas contra a LTA.

As proteínas rLACK, rTSA, rLeIF e rLbSTI foram expressas em bactérias transformantes BL21 DE3 e foram purificadas por SDS-PAGE segundo descrição de Ribeirão e cols (1997). Salay e cols (2007) também utilizaram o mesmo protocolo e obtiveram proteínas recombinantes com alto grau de pureza.

As proteínas rLACK, rTSA, rLeIF e rLbSTI de *L.(V.)braziliensis* purificadas apresentaram peso molecular de 34 KDa, 28 KDa, 47 KDa e 66 KDa, respectivamente (Fig 6). As proteínas foram todas expressas em corpos de inclusão e tiveram que ser solubilizadas com solução de uréia para que pudessem ser purificadas.

` As proteínas recombinantes obtidas serão utilizadas em ensaios que irão avaliar as respostas imunes humoral e celular de animais imunizados as respectivas proteínas recombinantes e com diferentes adjuvantes. É de grande importância para o controle da LTA no Brasil, que estudos sejam realizados em modelos de infecções experimentais que utilizem *L. (V.) braziliensis,* o objetivo maior é a identificação de proteínas imunogênicas para que sejam testadas e utilizadas como potenciais antígenos

para o desenvolvimento de uma vacina protetora e duradoura, desde que, esta é a espécie que apresenta maior importância epidemiológica no Brasil, e países vizinhos.

7. Conclusão

As proteínas recombinantes LACK, TSA, LeIF e LbSTI *Leishmania (Viannia) braziliensis* foram expressas em bactérias *E. coli* e foram obtidas as concentrações de 24,15 mg 37,91 mg, 38,4 mg e 17,1 mg de rLACK, rTSA, rLeIF e rLbSTI, respectivamente.

Tais concentrações indicam quantidades razoáveis de proteínas, indicando que a transformação bacteriana, especialmente em *E. coli*, é um processo eficiente de produção.

No entanto, ressalta-se a necessidade de mais investimentos nesta área de micro-organismos recombinantes de forma a tornar ainda mais eficaz o processo, diminuindo o tempo de produção com consequente aumento da produtividade nas pesquisas.

8. Referências

AMEEN M. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: emerging therapies and progress in disease management. **Expert Opin Pharmacotherapy,** v. 11, n. 4, p. 557-69, 2010.

ASHUTOSH SUNDAR S., GOYAL N. Molecular mechanism of antimony resistance in Leishmania. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, n.2, p. 143-153, 2007.

BACON e cols. The potential economic value of a cutaneous leishmaniasis vaccine in seven endemic countries in the Americas. **Vaccine**, v. 31, p.480-486, 2013.

BADIEE A. et al. Leishmania major: Immune response in BALBç mice immunized with stress-inducible protein 1 encapsulated in liposomes. **Experimental Parasitology,** v. 115, p. 127-134, 2007.

BOTELHO O. et al. Alterations in phenotypic profiles of peripheral blood cells from patients with human American cutaneous leishmaniasis following treatment with an antimonial drug and a vaccine. **Acta Tropical**, v. 112, n. 2, p. 143-8, 2009.

BRELAZ A. et al. Antigenic fractions of Leishmanis (Viannia) braziliensis: the immune characterization of patients at the initial phase of disease. **Parasite Immunology.** v. 34, p. 236-239, 2012.

CARDOSO V. et al. Identification and purification of immunogenic proteins from nonliving promastigote polyvalent Leishmania vaccine (Leishvacin). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 193-199, 2003.

CHANG K. P. & MCGWIRE B. S. Molecular determinants and regulation of leishmania virulence. **Kinetoplastid Biology and Disease**, v. 1, n. 1, p. 1, 2002.

CHAKRAVARTY J. et al. A clinical trial to evaluate the safety and immunogenicity of the LEISH-F1+MPL-SE vaccine for use in the prevention of Visceral leishmaniasis. **Vaccine**, 2011.

CAMPO-NETO A. et al. Vaccination with Plasmid DNA Encoding TSA/LmSTI1 Leishmanial Fusion Proteins Confers Protection against Leishmania major Infection in
Susceptible BALB/c Mice. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 6, p. 2828–2836, 2001.

CARDOSO, L., CABRAL, M. Leishmania e Leishmaniose Canina. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 527, n. 1, p. 121-141, 1998.

COLER, R. N.; REED, S. G. Second-generation vaccines against leishmaniasis. **Trends in parasitology**, v. 21, n. 5, p. 244-9, 2005.

CROFT S. L., SUNDAR S., FAIRLAND A.H. Drug resistance in leishmaniasis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 111-26, 2006.

DEGRAVE W. & ROMANHA A. J. Leishmania (Viannia) braziliensis is the predominant species infecting patients with american cutaneous leishmaniasis in state of Minas Gerais, southeast Brazil. **Acta Tropica**, v. 72, p. 251-8, 1999.

DUMONTEIL B. DNA Vaccines against Parasites: Advances and Challenges. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 2007.

EL-ON J. Current Status and Perspectives of the Immunotherapy of Leishmaniasis. **IMAJ**, v. 11, p. 623-8, 2009.

GONTIJO B. & CARVALHO M. L. R. Leishmaniose Tegumentar Americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 11, p. 71-80, 2003.

GURUNATHAN S et al. Vaccination with DNA encoding the immunodominant LACK parasite antigen confers protective immunity to mice infected with Leishmania major. **Journal of Experimental Medicine**, v. 186, p. 1137-1147, 1997.

KHAMESIPOUR A. et al. Leishmaniasis vaccine candidates for development: a global overview. **Indian Journal of Medical Research**, v. 123, p. 423-438, 2006.

KUBAR J. & FRAGAKI K. Recombinant DNA proteins from the laboratory to the field. **Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 2, p. 107-14, 2005.

LAISSON R; SHAW J.J. Evolution, Classification and Geographical Distribution.In: Peters, W.; Lillick-Kendric, K. (eds) **The leishmanioses in Biology and Medicine.** Academic Press, London Academic Press, p. 1-120, 1987.

MAYRINK W. e cols. A field trial of a vaccine against American cutaneous leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 80, p. 1001, 1979.

MAYRINK W. e cols (Immunotherapy, immunochemotherapy and chemotherapy for American cutaneous leishmaniasis treatment. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p.14-21, 2006.

MENDEZ E. et al. The potency and durability of DNA- and protein-based vaccines against Leishmania major evaluated using low-dose, intradermal challenge. **Journal of Immunology**, v. 166, p. 5122-28, 2001.

MODABBER F. Leishmaniasis vaccines: past, present and future. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 36, p. 58–61, 2010.

MUTISO, J. M.; MACHARIA, J. C.; GICHERU, M. M. A review of adjuvants for vaccine candidates, v. 24, n. 1, p. 16-25, 2010.

NAGILL R. & KAUR S. Vaccine candidates for leishmaniasis: A review. **International Immunopharmacology**, v. 11, p. 1464-1488, 2011.

NASCIMENTO M. et al. A clinical trial to evaluate the safety and immunogenicity of the LEISH-F1 + MPL-SE vaccine when used in combination with meglumine antimoniate for the treatment of cutaneous leishmaniasis. **Vaccine**, v. 28, p. 6581–6587, 2010.

OLIVEIRA M. A. P. et al. Leishmania spp. parasite isolation through inoculation of patient biopsy macerates in interferon gamma knockout mice **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 2, p. 345-53, 2010.

PALATNIK-DE-SOUSA A. Vaccines for leishmaniasis in the fore coming 25 years. **Vaccine**, v. 26, p. 1709-1724, 2008.

REITHINGER R. et al. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 7, p. 581-96, 2007.

RIBEIRÃO M. et al. Temperature differences for trans-glycosilation and hydrolysis reaction reveal an acceptor binding site in the catalytic mechanism of Trypanosoma cruzi trans-sialidase **Glycobiology**, v. 7, p. 1237-1246, 1997.

ROMERO G. A., BOELAERT M. Control of visceral leishmaniasis in latin America - a systematic review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 1, p. 584, 2010.

SALAY G. et al. Testing of four Leishmania vaccine candidates in a mouse model of infection with L(V)braziliensis, the main causative agent of cutaneous leishmaniasis in the new World. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 14, n. 9, 2007.

SILVEIRA F. T. et al. Immunopathogenic competences of Leishmania (V.) braziliensis and L. (L.) amazonensis in American cutaneous leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v. 31, n. 8, p. 423-31, 2009.

STOBER G. et al. From genome to vaccines for leishmaniasis: screening 100 novel vaccine candidates against murine Leishmania major infection. **Vaccine**, v. 24, p. 2602-2616, 2006.

TUON F. F., AMATO V. S. ; GRAFT M. E., SIQUEIRA A. M., NICODEMO A. C., AMATO NETO V. Treatment of New World cutaneous leishmaniasis – a systematic review with a meta-alnalysis. **International Journal of Dermatology,** v. 47, p. 109-124, 2008.

VOLPINI A. C. et al. PCR-RFLP to identify Leishmania (Viannia) braziliensis and Leishmania (Leishmania) amazonensis causing American cutaneous leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 90, p. 31-37, 2004.

[1]Produção de *Curcuma longa* l. em função de diferentes níveis de calcário e fósforo

Macedo, Guilherme Mendanha[1]; **Brasil**, Eliana Paula Fernandes[2]; **Frazão**, Joaquim José[3]

Escola de Agronomia – Universidade Federal de Goiás

[1]gmendanhamacedo@gmail.com; [2]elianafernandesufg@gmail.com;
[3]joaquimfrazao2@hotmail.com

RESUMO

A acidez do solo é um dos mais importantes fatores que limitam a produção em regiões tropicais. A eficiência da adubação fosfatada é influenciada pela acidez do solo. Nesse sentido é importante que se realize a correção da acidez do solo, por meio da calagem, com intuito de melhorar o aproveitamento de fósforo e a produção das culturas, entre essas, o açafrão. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de níveis calagem e doses de fósforo sobre o crescimento e produção de açafrão. O experimento foi realizado em casa de vegetação na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, em vasos preenchidos com terra proveniente do horizonte subsuperficial de um Latossolo Vermelho distrófico típico. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x4+1 (três níveis de calagem, quatro doses de fósforo e o controle). Os níveis de calagem estudados para elevação da saturação por bases foram: 40, 60 e 80%. As doses de fósforo testadas foram: 160, 320, 480 e 640 mg dm^{-3} de P_2O_5. Durante o período de implantação do ensaio experimental foram realizadas medições de altura e diâmetro das plantas. A produção de massa seca de parte aérea de plantas e a produção de rizomas foi maior quando elevou-se a saturação por bases para 40%, nas doses 480 e 320 mg de P_2O_5 por vaso.

Palavras-chave: açafrão, adubação, produtividade, calagem

[1] Revisado pelo orientador

1 INTRODUÇÃO

A cúrcuma (*Curcuma longa* L.) pertence à família *Zingiberaceae*, ordem *Scitaminae* (Shashidharet al., 1997a), subordem *Zingiberoidae* (Govindarajan, 1980). É também conhecida por açafroeira, açafrão-da-terra, açafrão-da-Índia, batatinha amarela, gengibre dourada, mangarataia (Correa, 1926), curcuma (Maia et al., 1995).

A crescente utilização de açafrão ou cúrcuma (*Curcuma longa* L.) na indústria de alimentos tem despertado interesse na expansão dessa cultura e obtenção de produto de melhor qualidade e mais competitivo no mercado (Silva et al., 2004), os pigmentos que fornecem cor à cúrcuma, pertence à classe dos diferoluilmetano e são representados principalmente pela curcumina, tendo concentração média de 2,5% (Pereira, 1998).

O maior plantio comercial de cúrcuma no Brasil está situado no município de Mara Rosa-GO. Devido ao alto valor agregado do produto, constitui uma boa alterativa para os pequenos produtores da região, os quais empregam mão-de-obra familiar em suas propriedades. No entanto, o baixo nível tecnológico tem dificultado o aumento da produtividade (GLOBO RURAL, 1994) e aumentado a preocupação com a sustentabilidade do sistema produtivo na região.

A cúrcuma é considerada uma planta cuja produção é altamente influenciada pela nutrição (Rao &Reddy, 1977, Govindarajan, 1980 e Shashidharet al., 1997b), tendo uma resposta imediata à aplicação dos nutrientes, com incrementos na qualidade e na quantidade de rizomas produzidos (Goto, 1993). O estudo da nutrição desta espécie nas condições brasileiras é importante, uma vez, que a grande maioria dos trabalhos são realizados em países asiáticos (Shah&Muthuswami, 1981; Tayde&Deshmukh, 1986; Balashanmugam&Chezhiyan, 1988).

Os teores de fósforo (P) em solos de Cerrado são geralmente muito baixos. Essa condição associada à alta capacidade que esses solos têm para reter o P na fase sólida é a principal limitação para o desenvolvimento de qualquer atividade agrícola rentável sem a aplicação de adubos fosfatados (Sousa & Lobato, 2004). Visto que a disponibilidade de nutrientes às plantas é afetada pela alteração da acidez do solo (pH), práticas como a calagem se torna essencial no melhor aproveitamento de fósforo pelo açafrão, visando obter melhores produtividades. Karthikeyanet al. (2010) utilizando fontes de Ca e Mg observaram que o açafrão-da-terra responde bem a esses nutrientes, refletindo positivamente no crescimento,

rendimento e qualidade. Os estudos sobre calagem e adubação fosfatada na cultura do açafrão ainda são incipientes, sendo importante o desenvolvimento de pesquisas que podem elucidar melhor às exigências nutricionais dessa cultura.Neste contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de diferentes níveis de calagem e doses de fósforo sobre o crescimento e produção de açafrão.

2 METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, localizada na Escola de Agronomia, da Universidade Federal de Goiás. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x4+1(três níveis de calagem, quatro doses de fósforo e o controle), totalizando treze tratamentos, com quatro repetições. Os níveis de calagem para elevação da saturação por bases testados foram: 40% 60% e 80%. As doses de fósforo testadas foram: 160, 320, 480 e 640 mg de P_2O_5na forma de super fosfato triplo, por vaso.

Cada parcela foi constituída por um vaso, com capacidade para 25 L, preenchido com 22 kg de terra, proveniente de um horizonte sub superficial de um Latossolo Vermelho distrófico típico, cuja caracterização química e de textura está apresentada na Tabela 1. Antes do preenchimento dos vasos com a terra, essa foi seca ao ar e peneirada (malha de 5 mm).

Em 27 de outubro de 2012, foi feita a aplicação de calcário dolomítico com PRNT de 92,5%, para atingir as saturações por bases desejáveis de acordo com o projeto. Esse corretivo foi misturado com o solo de forma homogênea e em seguida a umidade do solo foi elevada para aproximadamente 80% da capacidade máxima de retenção de água. As terras dos vasos permaneceram por um período de incubação por 30 dias.

Após o período de incubação foram feitos sulcos longitudinais nos vasos acerca de 10 cm de profundidade, para aplicação do fertilizante fosfatado nas doses testadas. Na mesma ocasião também foram aplicadas 11 e 10,7 gramas de cloreto de potássio (KCl) e ureia, respectivamente. Em seguida adicionou-se terra até que o sulco feito no vaso ficasse com uma profundidade de 4 cm. Assim foram plantados três rizomas por vaso procedendo com irrigação.

Tabela 1. Análise química e granulométrica do solo utilizado no experimento.

Caracterização química do solo									
pH	**Ca^{2+}**	**Mg^{2+}**	**$H^{+}+Al^{3+}$**	**Al^{3+}**	**K^{+}**	**CTC**	**P**	**V**	**M.O.**
$CaCl_2$	----------	----------	$cmol_c\ dm^{-3}$	----------	----------	----------	$mg\ dm^{-3}$	------ %	------
4,9	0,60	0,20	2,10	0,00	0,19	3,09	5,30	32,04	1,30

Caracterização granulométrica do solo			
Areia	**Silte**	**Argila**	**Classe textural**
----------	$g\ kg^{-1}$	----------	
440	110	450	Argilosa

Após a emergência das plântulas começaram-se as avaliações de altura e diâmetro, realizadas de 15 em 15 dias. Durante todo o período experimental, os vasos foram irrigados regularmente, de acordo com a necessidade da cultura. De acordo com o monitoramento diário foi detectada pequena infestação da cultura por lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*), sendo realizado o controle químico.

Aos 96 dias após o plantio, foi realizada a aplicação de cobertura com ureia, na dose de 15 gramas diluída em 0,5 litros de água, através de um regador manual.

A colheita foi realizada oito meses após o plantio, julho de 2013. A parte aérea foi cortada rente à superfície do solo, onde em seguida encaminhou-se o material para secagem em uma estufa de circulação forçada, a 65ºC, para posterior determinação de matéria seca. Para a retirada dos rizomas do vaso, colocou-se a terra sobre uma lona plástica, separando manualmente os rizomas, lavando e identificando-os para determinar a produtividade de rizomas através da determinação da massa fresca.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando o teste de F foi significativo comparou-se as médias pela análise de regressão, utilizando o software estatístico SAS (SAS, 1999).

3 RESULTADOS

A massa seca de parte aérea de plantas (MSPA) foi influenciada pelas doses de fósforo somente nas parcelas sob o nível de calagem 80% (Figura 1). As maiores produções de MSPA foram observadas quando elevou-se a saturação por bases para 40%, em todas as doses de fósforo estudadas, comparativamente aos demais níveis de saturação por bases (60 e 80%).

Foi observada diminuição na produção de MSPA com o aumento das doses de fósforo, com a elevação da saturação por bases para 80%. Ao mesmo tempo em que a elevação do pH do solo, por meio da calagem, aumenta a disponibilidade de fósforo no solo, ao utilizar uma fonte de fósforo com elevada solubilidade em água, como o superfosfato triplo, utilizado nesse estudo, e em doses elevadas, pode favorecer a precipitação com cálcio, oriundo da calagem, tornando o fósforo não disponível às plantas e consequentemente, reduzindo o crescimento e produção das plantas, como observado nesse estudo. Diversos autores relatam esse efeito da formação de fosfatos de cálcio no solo em condições de elevados teores de fósforo em solução e calagem excessiva, entre esses, pode-se destacar Novais (2007).

Na Figura 1 são apresentados os resultados de massa seca da parte aérea de açafrão. A elevação da saturação por bases a 40% aumentou a produção de massa seca da parte aérea e sem mostrar influência por porta das diferentes doses de fósforo. Quando elevada a saturação por bases a 60% não demonstrou acréscimo na massa seca da parte aérea. Houve efeito quadrático significativo para saturação por bases a 80% em função das diferentes doses de fósforo.

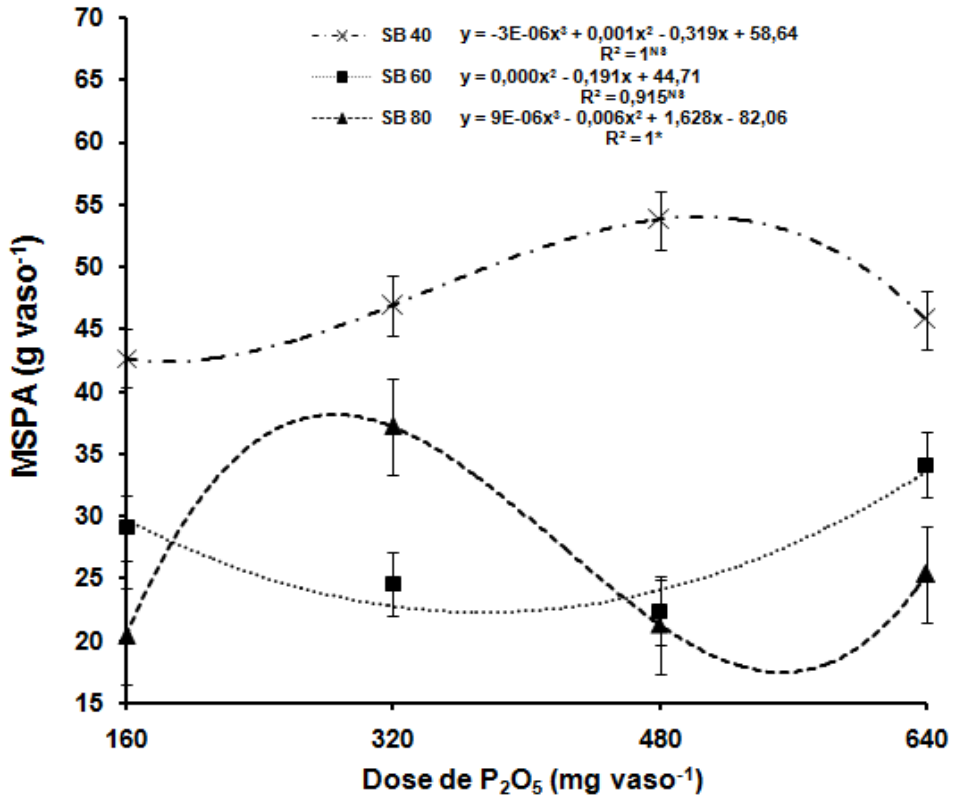


Figura 1. Massa seca de parte aérea (MSPA) de plantas de açafrão (MSPA) sob diferentes níveis de calagem e fosfatagem.

Na Figura 2 nota-se que a elevação da saturação por bases a 40% influenciou significativamente no aumento da produção de rizomas, assim como as doses de fósforo, que também só responderam nos tratamentos com saturação por bases igual a 40%. Enquanto nas saturações por base de 60 e 80% não tiveram efeito significativo sobre a produção de rizomas.

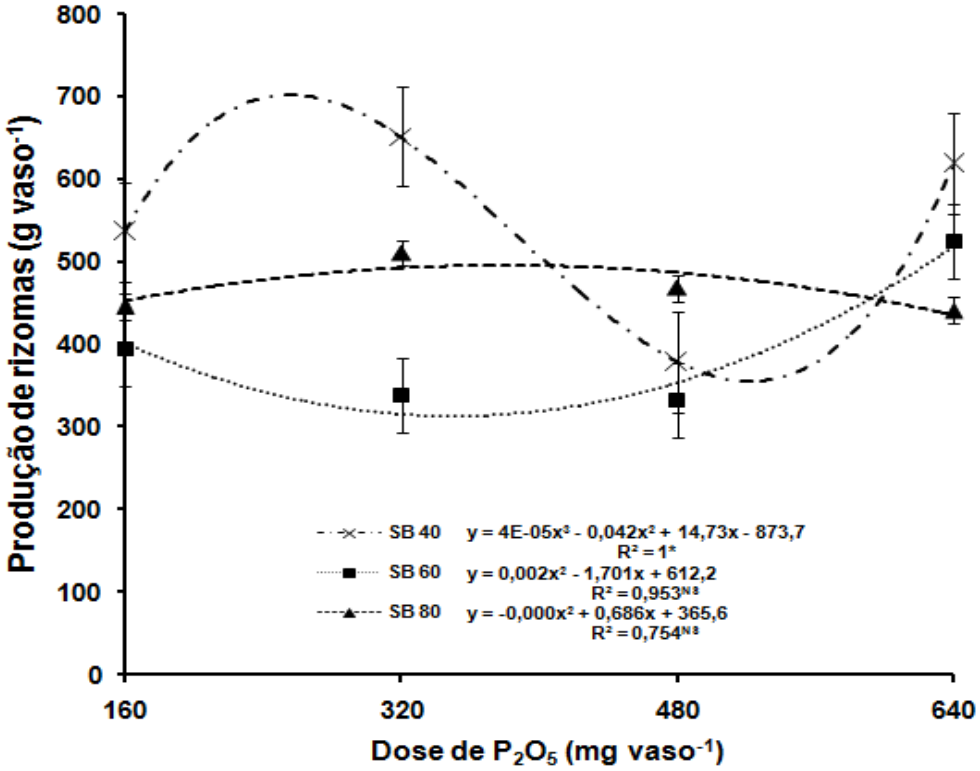


Figura 2. Produção de rizomas de plantas de açafrão sob diferentes níveis de calagem e fosfatagem.

Tabela 2. Altura média das plantas em função dos níveis de calagem e das doses de fósforo.

Calagem	Dose de P	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8
%	mg P_2O_5 vaso^{-1}	---------- cm ----------							
0	0	12,68 b	24,52 a	26.25 a	23.05 a	12,08 a	16,53 a	14,61 c	25,15 a
40	100	12,64 ab	29,26 a	31.75 a	32.68 a	26,65 a	32,53 a	40,13 bc	41,02 a
40	200	19,79 ab	35,64 a	36.93 a	39.60 a	27,32 a	37,13 a	46,95 abc	45,72 a
40	300	18,24 ab	33,61 a	27.17 a	39.12 a	28,53 a	36,72 a	35,63 abc	44,36 a
40	400	18,46 ab	27,86 a	30.59 a	32.78 a	22,78 a	37,05 a	38,67 abc	38,70 a
60	100	12,21 ab	23,82 a	27.86 a	25.87 a	19,86 a	27,36 a	32,92 abc	37,83 a
60	200	13,26 ab	28,21 a	34.63 a	23,13 a	13,11 a	22,03 a	23,90 abc	32,72 a
60	300	9,73 ab	23,74 a	25.58 a	24,55 a	15,68 a	28,67 a	34,42 abc	34,85 a
60	400	12,11 ab	24,93 a	26.92 a	25,67 a	27,67 a	28,23 a	44,30 abc	46,90 a
80	100	15,23 ab	36,33 a	35.03 a	37,71 a	20,25 a	23,71 a	28,76 abc	35,30 a
80	200	12,53 a	28,18 a	32.93 a	32,65 a	19,66 a	32,80 a	37,23 abc	39,00 a
80	300	19,32 a	32,24 a	31.68 a	34,42 a	21,61 a	28,01 a	33,30 ab	38,58 a
80	400	14,28 a	32,86 a	36.00 a	32,36 a	22,19 a	26,17 a	17,31 a	35,08 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. H1 (altura de plantas aos 30 dias após o plantio); H2 (altura de plantas aos 45 dias após o plantio); H3 (altura de plantas aos 60 dias após o plantio); H4 (altura de plantas aos 75 dias após o plantio); H5 (altura de plantas aos 90 dias após o plantio); H6 (altura de plantas aos 105 dias após o plantio); H7 (altura de plantas aos 120 dias após o plantio); H8 (altura de plantas aos 135 dias após o plantio).

Tabela 3. Diâmetro médio das plantas em função dos níveis de calagem e das doses de fósforo.

Calagem	Dose de P	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8
%	mg P_2O_5 vaso^{-1}	---------- cm ----------							
0	0	6,06 a	8,37 a	11,66 a	13,39 a	7,00 a	5,89 b	6,83 a	7,05 a
40	100	5,78 a	11,47 a	13,35 a	19,98 a	8,92 a	11,32 ab	11,61 a	12,30 a
40	200	7,09 a	12,74 a	15,76 a	28,21 a	9,67 a	11,91 ab	12,62 a	13,65 a
40	300	7,55 a	9,39 a	11,82 a	21,22 a	10,80 a	13,01 ab	12,48 a	15,08 a
40	400	6,58 a	10,92 a	10,69 a	24,04 a	8,26 a	10,76 ab	11,50 a	13,07 a
60	100	6,86 a	10,22 a	12,71 a	22,10 a	8,52 a	10,22 ab	11,01 a	12,50 a
60	200	5,73 a	12,34 a	9,15 a	15,24 a	7,53 a	11,18 ab	9,66 a	10,37 a
60	300	5,25 a	9,50 a	12,65 a	20,35 a	7,90 a	9,02 ab	10,20 a	11,62 a
60	400	5,40 a	10,30 a	12,55 a	20,81 a	10,73 a	12,15 ab	12,80 a	13,85 a
80	100	7,12 a	13,60 a	14,75 a	26,92 a	6,10 a	8,62 ab	9,76 a	10,30 a
80	200	7,32 a	12,06 a	14,47 a	24,04 a	8,63 a	10,25 ab	10,80 a	12,31 a
80	300	8,30 a	13,52 a	13,32 a	22,65 a	8,78 a	9,78 a	11,06 a	11,86 a
80	400	7,06 a	12,78 a	15,62 a	20,04 a	7,75 a	7,67 a	8,86 a	9,48 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. D1 (diâmetro de plantas aos 30 dias após o plantio); D2 (diâmetro de plantas aos 45 dias após o plantio); D3 (diâmetro de plantas aos 60 dias após o plantio); D4 (diâmetro de plantas aos 75 dias após o plantio); D5 (diâmetro de plantas aos 90 dias após o plantio); D6 (diâmetro de plantas aos 105 dias após o plantio);D7 (diâmetro de plantas aos 120 dias após o plantio); D8 (diâmetro de plantas aos 135 dias após o plantio).

4 DISCUSSÕES

De acordo com os resultados apresentados na Figura 1, a saturação por bases a 40% se mostrou mais eficiente na produção de parte aérea e de rizomas das plantas de açafrão. Considerada por alguns autores como adsorção de P no solo, a precipitação ocorre para diferentes compostos em função do pH do solo. Em baixo pH (< 4,5-5,0), adições de P aos solos pode resultar em precipitação de fosfatos de Al e Fe enquanto que, para menores níveis de acidez (pH >6,0-6,5) fosfatos insolúveis de cálcio podem ser formados (HAYNES, 1984). De acordo com TISDALE et al., (1993), o pH de maior disponibilidade de P no solo situa-se na faixa de 5,5 a 6,8 em água e 5,0 a 6,2 em $CaCl_2$.

A elevação do pH do solo pela calagem, aumentando a concentração e atividade dos íons OH^- em solução, promove a precipitação de Fe e Al, reduzindo a precipitação de P-Fe e P-Al de baixa solubilidade; há, também, geração de cargas negativas pela desprotonação de hidroxilas expostas nas argilas e matéria orgânica, ocorrendo repulsão entre o fosfato e a superfície adsorvente (Mcbride, 1994).Assim, a adsorção máxima de P pelo solo deve ser ocorre a baixo pH (HAYNES, 1984). Por outro lado, o aumento do pH diminui a forma $H_2PO_4^-$, em relação a HPO_4^{2-} que é, então, preferencialmente adsorvida. Assim podemos indicar uma possível ineficiência das saturações por bases de 60 e 80%, em que quantidades mais elevadas de cálcio e de fósforo solúvel na terra, podem formar precipitados, promovendo uma indisponibilização do fósforo para as plantas.

A provável explicação fornecida para a Figura 1 pode explicar a figura 2, onde a menor saturação por bases não interferiu na absorção de fósforo pelas plantas. Nas saturações por base maiores, 60 e 80%, pode ter ocorrido a precipitação do fósforo com o cálcio, devido a maiores disponibilidade desses íons.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que os diferentes níveis de calagem e de doses de fósforo aumentam a produtividade de rizomas e de parte aérea das plantas de açafrão, sendo que a quantidade fornecida desse corretivo de acidez do solo pode interferir sob a absorção de fósforo pela planta. Portanto, a expansão das áreas de plantio para solos de baixa fertilidade, característicos do cerrado brasileiro, deve ser vinculada a adoção de práticas de calagem e de adubação, visando garantir maior retorno econômico da atividade.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É sabido que solos tropicais apresentam teores elevados de acidez, fator esse que causa a baixa disponibilidade de fósforo para às plantas, limitando a produção das culturas. Observa-se que a prática da calagem é de importância significativa para melhorar a eficiencia da adubação fosfatada. Uma quantidade expressiva de pesquisas tem buscado definir padrões de fertilidade associada a boas práticas de adubação de acordo com as necessidades nutricionais das culturas.

A cultura de açafrão é bastante expressiva para os agricultores familiares do Estado de Goiás, principalmente no municipio de Mara Rosa, e acredita-se que a contribuição da pesquisa em avaliar a influencia da calagem e de fósforo foi importante para promover respostas positivas à cadeia produtora de açafrão. Salientamos que a continuidade é necessária para estudar os parámetros químicos, físicos e biológicos do solo visando a sustentabilidade da cultura na região dos cerrados e com avanços para outras unidades federativas do Brasil.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA FILHO, R.T.; VALERI, S.V.; CRUZ, V.M.C.P. **Calagem e adubação fosfatada no crescimento de mudas de *Mimosa caesalpiniifolia*Benth, em latossolo vermelho-amarelo.** Ciência Florestal, Santa Maria, v. 23, n. 1, p. 89-98, jan.-mar., 2013

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.**2.ed. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370p.

GOMES, K.C.O.G.; PAIVA, H.N.; NEVES, J.C.L.; BARROS, N.F.; SILVA, S.R.**Influência da saturação por bases e do fósforo no crescimento de mudas de angico-branco**. R. Árvore, Viçosa-MG, v.28, n.6, p.785-792, 2004

GLOBO RURAL. **Açafrão - O ouro da cozinha.** Revista Globo Rural, Rio de Janeiro, nº.110. Dez. 1994.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's guide,** Version 8.Cary, NC: SAS Institute, 1999.

GOTO, R. **Épocas de Plantio, Adubação Fosfatada e Unidades Térmicas em Cultura do Açafrão (Curcuma longa L.).**Tese de doutorado. Jaboticabal, São Paulo. UNESP. 1993.

KARTHIKEYAN, P.K.; RAVICHANDRAN, M.; IMAS, P.; ASSARAF, M. **Application of potassium and magnesium on tumeric (Curcuma longa L.) to increase productivity in inceptisols.**International conference on soil fertility and productivity at Humboldt Universitatzu Berlin.17-20 March, 2010.

SILVA, L.C. **Níveis e fontes de fósforo adicionados a um biossólido tratado pelo processo N-Viro aplicado em solos ácidos do Paraná.** Tese de Mestrado. Curitiba, Paraná. UFPR. 2007

SILVA, N.F.; SONNENBERG, P.E.; BORGES, J.D. **Crescimento e produção de cúrcuma (Curcuma longa L.) em função de adubação mineral e densidade de plantio.** Horticultura Brasileira. Brasília, vol.22, n.1, p. 61-65, 2004.

SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E. **Cerrado:** correção do solo e adubação. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004, 416p.

SOUZA, R.F.; FAQUIM, V.; TORRES, R.F.; BALIZA, D.P. **Calagem e adubação orgânica: influência na adsorção de fósforo.** R. Bras. Ci. Solo, 30:975-983, 2006.

MAY, A.; CECÍLIO FILHO, A.B.;CAVARIANNI, R.L.; BARBOSA, J.C. **Desenvolvimento e produtividade da cúrcuma (Curcuma longa L.) em função de doses de nitrogênio e potássio**.REV.BRAS.PL.MED., Botucatu, v.7, n.3, p.72-78, 2005.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DE ABASTECIMENTO PÚBLICO DOS MUNICÍPIOS DA MESO-REGIÃO CENTRAL DO ESTADO DE GOIÁS

Paulo Sergio Scalize[1]
Guilherme Milhomem da Silva[2]

RESUMO

O acesso à agua de boa qualidade ainda é difícil em determinadas regiões do pais, mas é função do Estado promover ações para ocorrer tal acesso, assim como realizar medidas para que essa agua seja boa qualidade. Este artigo tem como objetivo analisar a qualidade da água fornecida pela empresa de saneamento do Estado de Goiás nos 75 municípios que compõem a meso-região central do Estado de Goiás, de acordo com a portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde, nos parâmetros físico-químicos: alcalinidade, cloreto, cor, fluoreto, pH e turbidez, no ano de 2013.

Palavras-chave: Abastecimento Público; Saneamento; Parâmetros físico-químicos; Qualidade das Aguas.

[1]Doutor em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos, Brasil(2003)
Professor Adjunto da Universidade Federal de Goiás, Brasil.
Contato: pscalize.ufg@gmail.com
[2]Acadêmico de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal de Goiás.
Contato: guimilhomem@hotmail.com

revisado pelo orientador

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), saneamento é o controle ou gerenciamento de todos os fatores do meio físico do homem, que exercem ou podem exercer efeitos prejudiciais sobre ele seja físico, mental e social. O Saneamento básico compõe quatro vertentes: drenagem urbana, coleta, transporte e tratamento de esgoto, coleta e disposição de resíduos e abastecimento de agua, objeto desse estudo. Logo a distribuição de água tratada à população é de evidente importância para a mínima qualidade de vida necessária aos habitantes.

Segundo Cesa (2012), desde a antiguidade o homem já relacionava que a agua de má qualidade possuía cor, odor e sabor desagradável, logo evitada de consumi-la ou fervia para então consumi-la. Quando não é tratada corretamente pode causar diversas doenças devido a sua ingestão dentre elas: amebíase e giardíase, e o impacto é facilmente percebido, principalmente em comunidades mais carentes, pois além da maioria não possuir um conhecimento básico sobre a qualidade da agua também não possuem recursos para trata-la. Por isso a eficiência do tratamento e consequentemente a distribuição de água de boa qualidade para o abastecimento urbano é imprescindível.

A água destinada a consumo humano é dotada de características específicas sendo direcionadas a proteger tanto a saúde humana, quanto à rede de abastecimento propriamente dita. Assim elas podem ser resumidas em:

- Ausência de substâncias químicas tóxicas, vírus e/ou microorganismos patogênicos;
- Valores mínimos ou ausência de cor, turbidez, sólidos suspensos, cheiro e sabor;
- Teores baixos de substâncias que deixem manchas (por exemplo: ferro);
- Baixa tendência de incrustação e corrosão em condutos e outros componentes do sistema de abastecimento.

Mediante a este fato, o Ministério da Saúde estabelece por meio da portaria de nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011, padrões e normas de potabilidade da água destinada para consumo humano. Em uma correta caracterização de qualidade da água faz-se necessário à vigilância de parâmetros físico-químicos e microbiológicos após o tratamento visando assegurar a conformidade do sistema.

"O benefício oferecido pelo tratamento de água, por exemplo, é indiscutível, pois transforma, após a remoção de contaminantes, água inadequada para o consumo humano em um produto que esteja em acordo com padrões de potabilidade" (SOARES, et al, 2002).

revisado pelo orientador

Visando a avaliação da água usada para abastecimento oferecida aos habitantes dos municípios da mesorregião central do estado de Goiás, e tendo em vista a grande quantidade de parâmetros que podem ser analisados, foram delimitados seis parâmetros físico-químicos relevantes a serem analisados bem como discutidos nesse trabalho.

Portanto é extremamente necessário a vigilância e controle da qualidade de agua para a conformidade com as normas vigentes, assim como para manter as politicas publicas.

2 JUSTIFICATIVA

A avaliação da água, principalmente daquela destinada ao consumo humano, é de fundamental importância, principalmente em Goiás cuja população é estimada em 6.154.996 habitantes com base em estudos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) para o ano de 2012, abrangendo uma extensão territorial de 340.103,467 quilômetros quadrados situado no centro do Brasil e a meso-região central possui as três maiores cidades do Estado.

A presença de determinadas substâncias químicas e microorganismos podem ser prejudiciais à saúde humana, afetando assim as politicas de saúde publica. Com os resultados obtidos nesse estudo, será possível avaliar qualitativamente o sistema de tratamento de água bem como adotar medidas mitigatórias a fim de apontar falhas quando houver para manter o padrão de qualidade proposto pela portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Levantamento da qualidade das amostras de água tratadas pela Empresa de Saneamento de Goiás – Saneago, dos municípios da mesorregião central do estado de Goiás no ano de 2013

3.2 Objetivos Específicos

a) Verificar os padrões de potabilidade da água fornecida à população da mesorregião central do Estado de Goiás de acordo com os limites estabelecidos na portaria nº 2.914/2011, avaliando os parâmetros de alcalinidade, cloreto, cor aparente, fluoreto, pH e turbidez.
b) Detectar possíveis riscos a saúde pública devido à presença excessiva ou reduzida de compostos químicos na água de abastecimento.

revisado pelo orientador

c) Propor soluções de correção ao sistema, em caso de falha do mesmo.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

> "A qualidade da água de superfície é um fator importante que afeta sistemas ecológicos, especialmente em torno urbana saúde humana e áreas, uma vez que os rios e seus afluentes, passando por cidades receber um grande número de contaminantes liberados industrial, efluentes domésticos, esgoto e agrícola" (Qadir et al.,2008)." Influências antrópicas, como a urbanização, industrial e práticas agrícolas, acidentes de derramamento de produtos químicos, de barragens construção, e os processos naturais, como a erosão e climáticas condições, cada um poderia afetar a qualidade da água de superfície. No entanto, o grau em que cada um dos fatores contribui para a qualidade da água é claro" (Zhang Y et al., 2009). "A fim de ajudar os gestores priorizar e tomar decisões racionais quanto ao melhor curso de ação para melhorar a qualidade da água, que é necessário para diminuir esta incerteza, interpretando variações temporais e espaciais na qualidade da água" (Wang et al., 2008) e identificar a latente fontes de poluição (Q Zhang et al., 2009).

Segundo Liguori (2010) a qualidade e a segurança desse composto continuam a ser um problema importante de saúde, porque a sua contaminação tem sido frequentemente descrita como responsável pela transmissão de doenças infecciosas que causaram doenças graves e de mortalidade associada em todo o mundo.

> "A urbanização tem como principal impacto o aumento da carga de sedimentos provocada, principalmente, pela falta de proteção do solo, somado ao lançamento de resíduos sólidos (lixo) no sistema de drenagem, perda da qualidade das águas superficiais e subterrâneas geradas pela lavagem de ruas, transportes de materiais sólidos, e ligações clandestinas de esgotos, ou seja, a disposição de esgotos sem tratamento é a principal fonte de poluição dos recursos hídricos e está diretamente associada à falta de infra-estrutura de saneamento" (BREGUNCE et al, 2011).

Al-Bahyra (2013) cita em seu artigo que do ponto de vista do desenvolvimento humano sustentável, recuperar e reutilizar aguas residuais, ou seja, após o uso é uma das formas para diminuir o consumo de aguas potável. Esse frisa também que um modo de garantir a segurança da qualidade da água envolve tecnologia, economia, impacto ambiental, gestão e varios outros fatores, sendo que uma quantidade considerável deles são fatores qualitativos que são difíceis de serem quantificados.

"Fontes de contaminação da água são comuns e incluem derrames acidentais, aterros sanitários, tanques de armazenamento, dutos e atividades agrícolas. Das fontes, poluição não pontual tem sido uma grande preocupação, especialmente quando intensas operações

agrícolas existem perto de águas ambientalmente sensíveis." (CHEN, 2012). E por Goiás possuir uma base agrícola desde sua origem e os municípios estudados estarem entre os maiores e mais desenvolvidos, deve-se atentar mais a este fato.

De acordo com Michely Zat e Antonio D. Benetti, a maioria da população avalia a qualidade da água através das percepções de gosto, odor e cor, o que não quer dizer necessariamente que a água com gosto, odor e cor aceitáveis são necessariamente potáveis. Por isso a necessidade da realização de análises físico-químicas e biológicas para o controle da qualidade da água.

5 METODOLOGIA

Como mencionado, as normas do Ministério da Saúde que regem sobre a qualidade da água que é distribuída a população brasileira. É notável que a haja padronização da coleta de amostras, quantidade coletada, dos pontos de amostragem e das análises laboratoriais, para que assim fique assistida a forma de como realizar os estudos. Para então avaliar da melhor maneira o cumprimento da legislação vigente.

5.1) Coleta: quantidade de amostras e pontos de amostragem.

A coleta das amostras será realizada por técnicos, devidamente treinados, seguindo critérios de coletas e armazenamento visando a integridade das amostras. A definição do número de amostras a ser coletadas por município leva em consideração a população local, com dados baseados no censo demográfico de 2010 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Os pontos de coleta, por sua vez, foram determinados em: saídas de reservatórios e locais de maior consumo coletivo – tais como escolas e hospitais – e demais locais extremidades de rede. A distribuição dos pontos e da quantidade de amostras coletadas, também leva em consideração parâmetros como a homogeneidade do escoamento do recurso hídrico bem como a acessibilidade aos pontos de amostragem. Esse mesmo padrão é seguido pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do estado de São Paulo – CETESB. A tabela 1 demonstra claramente a quantidade de amostras a serem coletadas em cada um dos municípios relacionados.

revisado pelo orientador

População Total do Município (habitantes)	Nº de amostras a ser coletadas e analisadas
Até 20.000	3
20.000 a 50.000	8
50.000 a 100.000	15
100.000 a 500.000	20
500.000 a 2.000.000	30

Tabela 1. Definição do número de amostras de acordo com a população do município.

5.2) Análises laboratoriais

As análises dos parâmetros especificados (tabela 2) serão realizadas seguindo a metodologia no manual de análises de águas de abastecimento e águas residuárias, Standard Methods (2005). E serão analisadas no Laboratório de Qualidade das Águas e Monitoramento Ambiental e no Laboratório de Saneamento da Universidade Federal de Goiás na Escola de Engenharia Civil.

Parâmetros	Unidade	Valor mínimo permitido	Valor máximo permitido
Alcalinidade Total[1]	mg/L	Não aplicável	Não aplicável
Cloreto	mg/L	-	250
Cor aparente	uH	0	15
Fluoreto	mg/L	-	1,5
pH à 25ºC	-	6	9,5
Turbidez	UNT	0	5,0

Tabela 2 – Parâmetros utilizados na investigação com os respectivos valores permitidos conforme a portaria nº 2914/2011.

Nota:

(1) A Alcalinidade natural da água normalmente está em torno de 30 mg/L.

5.3) Análise dos resultados

Para se analisar os resultados obtidos em laboratório, serão utilizados os limites estabelecidos na portaria nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde. Na tabela 2 encontram-se os parâmetros estudados bem como os limites estabelecidos pela legislação.

revisado pelo orientador

Será realizada uma análise dos resultados inicialmente de maneira individual, ou seja, listando todos os resultados obtidos das análises propostas das cidades citadas na tabela 3, e posteriormente os dados serão, se possível, relacionados. A partir de tais análises o sistema também pode ser avaliado, localizando-se os possíveis pontos de falha na rede ou no sistema de tratamento.

5.4) Local de coleta

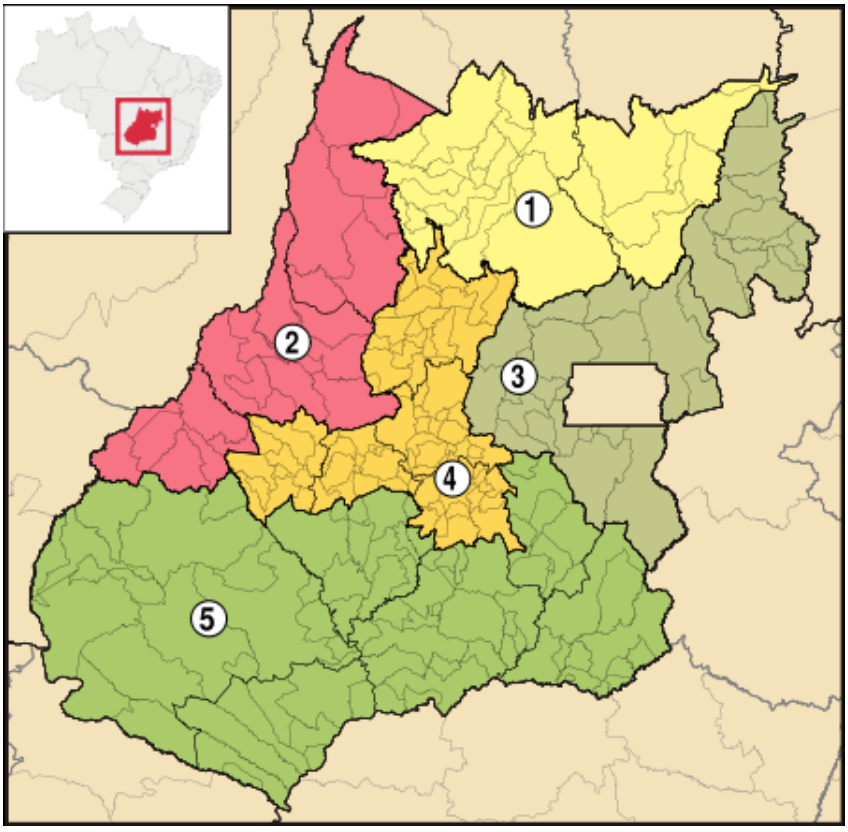


Figura 1 – Mapa do estado de Goiás destacando as mesorregiões e os limites da cada município.

Fonte: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Anexo:Lista_de_mesorregi%C3%B5es_de_Goi%C3%A1s>

A região estudada é a mesorregião de número 4 (cor amarela), como indicada na figura 1, contendo as seguintes cidades descritas na tabela 3. Essa região é a que contem a maior parte da população goiana, contem, por exemplo, municípios como: Anápolis e Goiânia. Segundo dados do IBGE (2010) essa população é de 3.056.794 habitantes, correspondendo a 50,91% da população do estado.

revisado pelo orientador

Municípios estudados		
Abadia de Goiás	Adelândia	Americano do Brasil
Amorinópolis	Anápolis	Anicuns
Aparecida de Goiânia	Aragarças	Aragoiânia
Arenópolis	Aurilândia	Baliza
Barro Alto	Bela Vista de Goiás	Bom Jardim de Goiás
Bonfinópolis	Buriti de Goiás	Caldazinha
Campo Limpo de Goiás	Campos Verdes	Carmo do Rio Verde
Ceres/Rialma	Cocalzinho de Goiás	Córrego do Ouro
Crixas	Diorama	Fazenda Nova
Firminópolis	Gameleira de Goiás	Goianápolis
Goiânia	Goianira	Guapo
Hidrolândia	Hidrolina	Ipiranga de Goiás
Iporá	Israelândia	Itapaci
Ivolândia	Jaraguá	Jaupací
Jesúpolis	Jussara	Leopoldo de Bolhões
Moiporá	Montes Claros de Goiás	Morro Agudo de Goiás
Nerópolis	Nova América	Nova Gloria
Novo Brasil	Ouro Verde de Goiás	Palestina de Goiás
Pilar de Goiás	Piranhas	Pirenópolis
Rianápolis	Rubiataba	Sanclerlândia
Santa Fé de Goiás	Santa Isabel	Santa Terezinha de Goiás
São Francisco de Goiás	São Luís de Montes Belos	São Luiz do Norte
São Patrício	Silvania	Teresópolis de Goiás
Trindade	Turvânia	Uirapuru
Uruana	Vianópolis	Vila Propício

Tabela 3 – Lista das cidades integrantes da região estudada

revisado pelo orientador

5.5) Resultados fora do especificado pela legislação: Possíveis riscos á saúde humana.

5.5.1) Fluoreto

É conhecida a importância da agregação de fluoreto ao tratamento da água para reduzir a prevalência de cárie na população. No entanto em quantidades excessivas o flúor acrescentado oferece riscos de obtenção da fluorose dental (deficiência na mineralização do esmalte dentário devida à ingestão diária de fluoreto durante o desenvolvimento dental), responsável pelo escurecimento do esmalte dos dentes. Tais efeitos maléficos podem ser minimizados com a manutenção de uma concentração "ótima" dessa substância na água.

Tal concentração depende da temperatura ambiental e para a maioria das regiões brasileiras é de 0,7 ppm F (mg F/L), tolerando o mínimo de 0,6 e o máximo de 0,8 (CATANI *et. al.*, 2007)

5.5.2) Cloreto

A presença de cloreto na água pode estar associada á poluição por esgoto sanitário e efluente industrial, pois um ser humano urina cerca de 4g de cloreto por dia, segundo dados da CETESB.

Concentrações excessivas de cloreto aceleram a corrosão dos metais. No caso de sistemas distribuidores construídos utilizando tubulações metálicas, cloretos em excesso aumentarão a concentração dos metais na água potável, em virtude da corrosão das canalizações (Vianna,1997).

Altas concentrações o íon cloreto (mais que 250 mg/L) na água tendem não somente a conferir sabor mas também efeito laxativo à mesma. Em geral, o efeito nocivo se dá pela associação á íons de cálcio, magnésio, sódio e potássio. Há ainda estudos que afirmam que a reação com alguns compostos orgânicos leva á formação de trihalometanos (THM), possíveis causadores de câncer (Cornationi, 2010).

5.5.3) Turbidez

A turbidez é facilmente percebida, pois é uma característica física da agua. Ela representa a concentração de partículas solidas em suspensão na agua que diminuem a claridade do meio, reduz a transmissão da luz e conferem a proteção aos microrganismos

quando minimizam o contato direto com o agente desifectante. Porem é incorreto dizer que valores iguais de turbidez podem apresentar partículas suspensas de diferentes características.

Esse parâmetro é bastante utilizado quando se trata da eficiência das estações de tratamento de água. “Há muito no meio técnico consolidou-se a premissa da maior eficiência da desinfecção, independente do desinfetante empregado, para aguas com turbidez baixa, em virtude da proteção conferida aos microorganismos pelas partículas suspensas, por vezes denominada efeito-escudo”(MATERIAL FORNECIDO EM SALA DE AULA)

5.5.4) Cor

É um paramento bastante utilizado para eficiência de estações de tratamento, pois é perceptível ao olho humano e principalmente para a população que associa uma cor alta a qualidade baixa. A cor existente na água pode ser resultante de diversas fontes, sob forma de solução: substâncias metálicas como ferro e manganês, matérias húmicas, taninos, provenientes de origem mineral ou vegetal, ou por resíduos orgânicos ou inorgânicos de indústrias, tais como: mineração, refinarias, explosivos, polpa e papel e outras. Assim elevações nesse parâmetro podem estar relacionadas à contaminação residuárias, bem como de metais danosos ao organismo humano.

5.5.5) Alcalinidade e pH

O pH está diretamente relacionado com a alcalinidade, pois durante a etapa de determinação dos respectivos valores, esses são juntos. Valores muito baixos, ou seja, ácidos são prejudiciais aos equipamentos e tubulações não tendo um efeito grave ao ser humano, pois ingerimos alimentos com pH muito baixo, como por exemplo: abacaxi entre 4,5 e 5,5, o mesmo ocorre para valores altos, alcalinos, clara de ovo pode chegar a 9,0.

5.6) Propostas de adequação ás falhas

É necessário avaliar individualmente cada sistema deficitário para propor uma adequação do mesmo, mas alguns erros no sistema são comuns e a esses se pode previamente propor as seguintes medidas:

- Em casos de alcalinidades extremas o processo de floculação do tratamento de água pode não ocorrer como necessário, nesses casos faz-se necessária a adição artificial de

algum tipo de alcalinizante tal como a cal hidratada. Em processos de tratamento que se utilizam do coagulante sulfato de alumínio a alcalinidade natural da água tende a ser suficiente para a perfeita floculação no tratamento.

- Em casos de necessidade de remoção de fluoreto em excesso, processos especiais como a troca iônica ou a osmose reversa se fazem necessários e pelo seu alto custo podem inviabilizar economicamente o uso desta água. Pode-se em alguns casos tentar minimizar essa quantidade de fluoreto realizando a mistura de água com excesso de fluoreto com águas de outras fontes, realizando assim diluição. Neste caso, haveria a necessidade de mistura com vazão igual de outra água de outra fonte isenta de fluoreto. O emprego de técnicas de desfluoretação deverá ser estudado se não existirem fontes alternativas para o abastecimento em questão. São conhecidos casos em que a remoção de fluoreto tem sido realizada através de colunas com alumina ativada.
- Quanto á remoção de cloreto podem ser mencionados os usos da osmose reversa para a dessalinização (remoção de cloreto propriamente dita). Na remoção de cloro residual, pode-se recorrer à adsorção em carvão ativado.
- Valores elevados de cor e turbidez podem estar associados a falha da etapa de filtração do tratamento de água. Tais falhas podem ser por necessidade de lavagem dos filtros ou pela formação de caminhos preferenciais no meio filtrante fazendo com que a água não seja tratada. Nesse ultimo caso faz-se necessário à montagem de um novo meio filtrante.

6 RESULTADOS

Todas as amostras dos 75 municípios citados foram analisadas no laboratório de Qualidade das Aguas e Monitoramento Ambiental da Universidade Federal de Goiás. O dado mais antigo é da cidade de Campo Limpo de Goiás datada de 9 de janeiro de 2013 e o mais recente é da cidade de São Luís dos Montes Belos na data de 25 de junho de 2013. Construiu-se então a tabela 4 com os respectivos dados das analises físico-químicas.

revisado pelo orientador

Tabela 4 (continuação) – Valores médios dos resultados obtidos nas analises físico-químicas

Municípios	Alcalinidade Total	Cloreto	Cor	Fluoreto	pH	Turbidez
	mg/L CaCO3	mg/L	uH	mg/L	NA	UNT
Abadia de Goiás	34,4	18,00	9,0	0,87	7,20	0,6
Adelândia	15,1	15,00	3,0	0,71	7,00	0,3
Americano do Brasil	13,0	14,00	1,0	0,63	7,00	0,2
Amorinópolis	34,8	6,00	4,0	0,31	7,30	2,6
Anápolis	8,1	18,00	12,0	0,72	6,28	3,4
Anicuns	22,1	25,80	4,2	0,58	7,20	0,6
Aparecida de Goiânia	46,8	10,54	13,8	0,50	7,09	2,3
Aragarças	9,6	17,00	4,0	0,75	6,70	0,7
Aragoiânia	5,8	20,00	1,0	0,58	6,50	0,4
Arenópolis	56,7	20,00	1,0	0,76	7,50	0,3
Aurilândia	11,6	14,00	6,0	0,39	7,50	2,7
Baliza	25,9	21,00	2,0	0,87	6,40	0,1
Bela Vista de Goiás	13,4	17,10	2,0	0,90	7,00	3,6
Bom Jardim de Goiás	7,2	20,00	2,0	0,64	6,40	0,6
Bonfinópolis	102,0	19,00	1,0	0,32	8,00	0,2
Buriti de Goiás	40,8	19,00	1,0	0,15	7,50	0,3
Caldazinha	12,0	20,00	2,7	0,64	7,20	0,2
Campo Limpo de Goiás	32,2	19,00	9,0	0,57	7,20	2,1
Campos Verdes	52,5	28,00	2,4	0,75	7,80	0,5
Carmo do Rio Verde	33,2	27,00	2,0	0,69	7,50	0,2
Ceres	28,8	27,00	4,0	0,51	7,50	0,2
Cocalzinho de Goiás	12,7	19,00	10	<0,01	6,60	1,4
Córrego do Ouro	27,0	17,00	2,0	0,76	7,40	0,5
Crixás	81,9	28,00	3,0	0,60	7,70	0,3
Diorama	8,20	17,00	2,0	0,83	6,20	0,5
Fazenda Nova	26,0	9,00	4,0	0,74	7,40	0,6
Firminópolis	27,6	16,00	1,0	0,65	7,10	0,3
Gameleira de Goiás	75,0	8,00	6,0	0,31	7,20	1,3
Goianápolis	13,3	19,00	7,0	0,24	7,20	4,2
Goiânia	34,5	29,00	4,3	0,68	7,29	1,7
Goianira	72,1	21,00	2,1	0,61	7,80	0,5
Guapó	6,4	26,00	5,0	0,56	6,00	1,8
Hidrolândia	33,5	19,00	<1,0	0,53	7,60	<0,1
Hidrolina	61,2	23,00	2,0	0,43	7,40	0,6
Ipiranga de Goiás	6,9	48,00	1,0	<0,01	5,50	0,3
Iporá	32,3	6,00	4,3	0,67	7,39	0,7
Israelândia	9,3	7,00	<1	0,38	6,60	0,5
Itapaci	31,5	26,00	3,0	0,65	7,40	0,2

revisado pelo orientador

Tabela 4 (continuação) – Valores médios dos resultados obtidos nas analises físico-químicas

Municípios	Alcalinidade Total	Cloreto	Cor	Fluoreto	pH	Turbidez
	mg/L CaCO3	mg/L	uH	mg/L	NA	UNT
Ivolândia	22,5	6,00	7,0	0,70	7,10	2,4
Jaraguá	25,0	16,00	5,0	0,54	6,61	1,1
Jaupaci	9,5	6,00	<1	0,63	6,70	<0,1
Jesúpolis	67,0	17,00	2,0	0,11	7,20	2,5
Jussara	11,8	7,00	2,0	0,64	6,80	0,8
Leopoldo de Bulhões	16,2	15,00	1,0	0,64	6,90	0,2
Moiporá	7,4	18,00	5,0	0,46	6,10	0,8
Montes Claros de Goiás	74,1	22,00	1,0	0,78	7,50	0,2
Morro Agudo de Goiás	29,8	28,00	23	0,79	7,00	3,1
Nerópolis	56,7	18,83	1,0	0,84	7,43	0,1
Nova América	47,7	28,00	18,0	<0,01	7,10	4,2
Nova Glória	12,0	29,00	<1	0,64	7,10	0,1
Novo Brasil	10,0	8,00	1,0	0,54	6,90	0,7
Ouro Verde de Goiás	33,7	19,00	4,0	0,68	7,30	0,2
Palestina de Goiás	130,8	7,00	<1	0,68	7,60	0,1
Pilar de Goiás	22,7	28,00	<1	0,71	7,30	0,1
Piranhas	2,9	20,00	3,0	0,67	5,60	0,4
Pirenópolis	5,4	15,00	1,0	0,41	6,41	1,1
Rialma	30,4	26,00	3,0	0,59	7,70	0,2
Rianápolis	20,4	28,00	1,0	0,73	7,90	0,1
Rubiataba	25,9	31,00	5,0	0,37	7,10	1,1
Sanclerlândia	30,5	15,00	1,0	0,79	7,30	0,3
Santa Fé de Goiás	186,7	27,00	2,0	0,53	8,30	0,5
Santa Isabel	110,6	30,00	1,0	0,14	6,90	0,1
Santa Terezinha de Goiás	111,9	42,00	4,0	0,14	7,60	0,5
São Francisco de Goiás	34,4	31,00	3,0	0,72	7,40	0,3
São Luís de Montes Belos	67,5	19,55	4,1	0,58	7,48	0,8
São Luiz do Norte	76,8	26,00	4,0	<0,01	7,80	0,4
São Patrício	128,8	38,00	<1	0,13	7,80	0,1
Silvania	8,3	8,00	8,0	0,80	6,50	2,0
Terezópolis de Goiás	14,1	23,00	3,0	0,54	7,70	0,1
Trindade	32,4	24,21	2,5	0,78	7,30	0,7
Turvânia	22,3	15,00	1,0	0,61	6,80	0,2
Uirapuru	58,8	28,00	11,0	0,10	7,30	1,1
Uruana	21,5	27,00	1,0	0,51	6,90	0,5
Vianópolis	16,6	14,00	14,0	0,69	7,10	2,8
Vila Propício	58,8	27,00	4,0	<0,01	7,50	0,2

revisado pelo orientador

Como destacado na tabela 4 e visto no gráfico 1, nas cidades de Ipiranga de Goiás e Piranhas os valores do pH foram abaixo de 6,00 que é o mínimo recomendado pela Portaria 2914 do Ministério da Saúde, porém esses valores foram pontuais em apenas 2 cidades, além do que está próximo ao limite recomendado pela Portaria 2914.

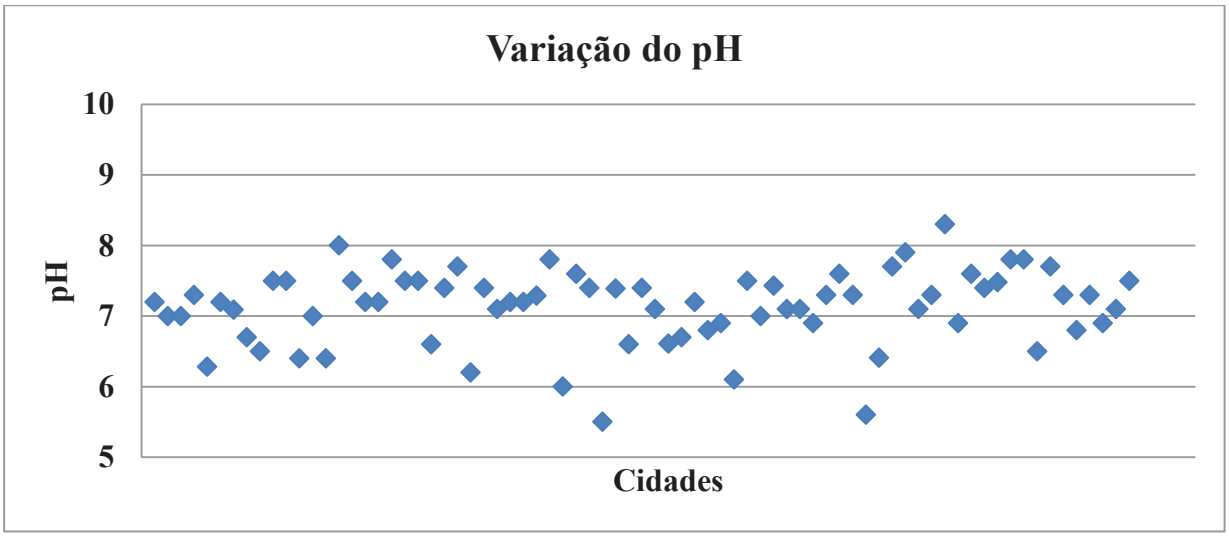


Gráfico 1 – Variação do pH de acordo com os municípios

O gráfico 1 também destaca que os valores de pH entre os municípios não sofreram variações maiores que 3,0, isso em função da qualidade da água bruta e do tipo de tratamento empregado peça Saneago.

Destaca-se na tabela 4 que o valore mais encontrado para cor foi de 18, o que é próximo ao limite superior estabelecido pela Portaria 2914.

7 CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu concluir que a qualidade da agua fornecida à população das cidades da meso-região central do Estado de Goiás está de acordo com a legislação, evidenciando então que o serviço prestado pela Saneago é de boa qualidade.

8 REFERÊNCIAS

Al-Bahrya, S. N.; Al-Hinaib, J. A.; Mahmoudc, I. Y.; Al-Musharafid, S. K. **Opportunistic and Microbial Pathogens in Municipal Water Distribution Systems.** ICESD 2013: January 19-20, Dubai, UAE. APCBEE Procedia 5 (2013) 339 – 343.

revisado pelo orientador

ATLAS BRASIL: **abastecimento urbano de água : resultados por estado / Agência Nacional de Águas**; Engecorps/Cobrape. — Brasília : ANA : Engecorps/ Cobrape, 2010. 2 v. Disponivel em : <http://arquivos.ana.gov.br/imprensa/publicacoes/atlas/Atlas_ANA_Vol_02_Regiao_Centro-Oeste.pdf> acesso em: 05/03/2012 as 15 horas.

American public health association; american water works association; water environment federation. **Standand Methods For the examination of water and wastewater.** 21. Ed., 2005. Washington, D.C, USA.

BREGUNCE, D. T.; JORDAN, E. N.; DZIEDZIC; M. et al. Avaliação da Qualidade da Água do Ribeirão dos Müller, Curitiba-PR. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos.** Jul/Set 2011. Vol. 16 n.3.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.914 em 12 de dezembro de 2011**. Normas e Padrão de potabilidade de água destinada ao consumo humano.

CATANI, DANILO BONADIA et. al., 2007. **Relação entre níveis de fluoreto na água de abastecimento público e fluorose dental.** Rev. Saúde pública, 2007.

CESA, MARCIA DE VICENTE, 2012. **Água e outros fatores socioambientais na ocorrência das doenças de veiculação hídrica na ilha de Santa Catarina**. Tese-Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina.

CORNATIONI, MIGUEL BOLPETI, 2010. **Análises físico-quimicas da água de abastecimento do município de Colina-São Paulo**. Bebedouro, São Paulo.

DECO PROTESTE. Disponível em: <http://www.deco.proteste.pt/agua/analises-a-agua-uma-nova-iniciativa-deco-proteste-s357631.htm#Node357641>. Acesso em: 15/06/12 as 17 horas.

JIANG YAPING, MA ZONGREN. **An Evaluation of Water Quality from Locations of Huangyang Reservoir**. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S1878029612002794/1-s2.0-S1878029612002794-

revisado pelo orientador

main.pdf?_tid=dfe96cbab84b3b61ae00e3b8a273a0b9&acdnat=1342056025_ab088f1b3ab56a525382bb0b7d3cdd78>. Acesso em 15/06/2012 às 14h.

L. CHEN, R.M. LIU, Q. HUANG. **An integrated simulation-monitoring framework for nitrogen assessment: a case study in the Baixi watershed, China**. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S1878029612001028/1-s2.0-S1878029612001028-main.pdf?_tid=5ec841eb4219af7e5ebc4fe26e350af7&acdnat=1342056121_864cfc0d9869b1ed39f2947a3935be98>. Acesso em 02/07/2013 às 20h.

LIGUORI, G., CAVALLOTTI, I.,ARNESE, A. et al. **Microbiological quality of drinking water from dispensers in Italy**. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2824693/pdf/1471-2180-10-19.pdf>. Acesso em 05/07/2013 às 22h.

Mapas das Mesorregiões Goianas. Wikipedia. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Anexo:Lista_de_mesorregi%C3%B5es_de_Goi%C3%A1s>. Acesso em 01/07/13 às 15 horas.

Qadir, A., Malik, R.N., Husain, S.Z., 2008. **Spatio-temporal variations in water quality of Nullah Aik-tributary of the river Chenab, Pakistan.** Environ. Monit. Assess. 140, 43 e 59.

SOARES, SERGIO R. A.; BERNADES, RICARDO S.; NETTO, OSCAR DE M. CORDEIRO; 2002. **Relações entre saneamento, saúde pública e meio ambiente: elementos para formulação de um modelo de planejamento em saneamento.** Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 18(6):1713-1724, nov-dez.

VIANNA, MARCOS ROCHA. **Hidráulica aplicada ás estações de tratamento de água**. 3ª edição – Belo Horizonte: Imprimatur, 1997.

VON SPERLING, MARCOS. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** 3ª edição. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. 2005**.** 15 p.

revisado pelo orientador

Wang, J.Y., Da, L.J., Song, K., Li, B.L., 2008. **Temporal variations of surface water quality in urban, suburban and rural areas during rapid urbanization in Shanghai, China**. Environ. Pollut. 152, 387 e 393.

Wang, Y.; Wang, P.; Bai, Y.; Tian, Z.; Li, J.; Shao, X.; Mustavich, L.F.; Li, B-L. **Assessment of surface water quality via multivariate statistical techniques: A case study of the Songhua River Harbin region, China.** Journal of Hydro-environment Research 7 (2013) 30e40.

ZAT, M; BENETTI, A. D.; Remoção dos compostos odoríferos geosmina e 2-metilisoborneol de águas de abastecimento através de processos de aeração em cascata, dessorção por ar e nanofiltração. **Revista Eng. Sanit. Ambient.** Rio de Janeiro, Out/Dez 2011. Vol. 16 n4.
Wang, J.Y., Da, L.J., Song, K., Li, B.L., 2008. **Temporal variations of surface water quality in urban, suburban and rural areas during rapid urbanization in Shanghai, China**. Environ. Pollut. 152, 387 e 393.

Zhang, Q., Li, Z.W., Zeng, G.M., Li, J.B., Fang, Y., Yuan, Q.S., Wang, Y.M., Ye, F.Y., 2009. **Assessment of surface water quality using multivariate statistical techniques in red soil hilly region: a case study of Xiangjiang watershed, China**. Environ. Monit. Assess. 152, 123 e 131.

Zhang, Y., Guo, F., Meng, W., Wang, X.Q., 2009. **Water quality assessment and source identification of Daliao river basin using multivariate statistical methods.** Environ. Monit. Assess. 152, 105 e 121.

revisado pelo orientador

LIBERDADE, ESTADO E MORAL NO PENSAMENTO POLÍTICO DE MAQUIAVEL[1]

Aluno: Guilherme Ricardo de Lima (guilhermimn@hotmail.com)
Orientador: Prof. Dr. Renato Moscateli (rmoscateli@hotmail.com)
Faculdade de Filosofia - Universidade Federal de Goiás

RESUMO

Em suas obras, Nicolau Maquiavel (1469-1527) analisa diferentes formas de ação política com base em suas reflexões sobre as instituições de povos antigos e modernos, tais como Esparta, Veneza e, principalmente, Roma. Assim, ele nos fornece teses importantes sobre o ordenamento dos Estados. Nesse sentido, este trabalho trata dos principais exemplos de ação política discutidos por Maquiavel em seus textos, a saber, a fundação das cidades, a conquista e manutenção do poder, e a dinâmica conflituosa que leva à liberdade republicana. Ao abordá-los, buscamos compreender alguns dos conceitos mais importantes no pensamento político maquiaveliano, entre eles os de *virtù*, fortuna e liberdade política.

PALAVRAS-CHAVE: Maquiavel; Liberdade; Estado; Moral; *O Príncipe*; *Comentários Sobre a Primeira Década de Tito Lívio*.

INTRODUÇÃO

O presente trabalho tem como objetivo abordar os principais exemplos de ação política discutidos por Maquiavel em *O Príncipe* e nos *Discursos sobre a primeira década de Tito Lívio*: a fundação das cidades; a conquista e manutenção do poder; e a dinâmica conflituosa que leva à liberdade republicana. Desse modo, buscaremos compreender alguns dos elementos mais importantes no pensamento político maquiaveliano.

[1] Revisado pelo orientador.

DISCUSSÃO

1. A ação política no nascimento das cidades

No capítulo 1 dos *Discursos,* Maquiavel nos diz que todas as cidades foram fundadas por estrangeiros ou, simplesmente, por naturais do país em que vivem.

No caso das cidades fundadas por habitantes naturais do local, a motivação é a necessidade de defesa:

> Quando os habitantes, disseminados por muitas vilas de limitada população, têm dificuldades de viver em segurança, já que nenhuma dessas vilas, pela sua localização e reduzido tamanho, pode resistir com as próprias forças à agressão de eventuais atacantes. À aproximação do inimigo não há tempo para a defesa comum, sendo necessário ceder-lhe a maior parte das instalações, que são logo capturadas. Para prevenir este perigo, os habitantes, espontaneamente ou movidos pela tribo de maior autoridade, decidem habitar em conjunto um local de sua escolha que ofereça maior comodidade e cuja defesa seja mais fácil. (MAQUIAVEL, 2008, p. 19)

Já no caso das fundações realizadas por estrangeiros, homens livres ou homens independentes de outro Estado serviam-se da cidade para acomodar uma população excedente ou para guardar conquistas: "Deve-se incluir nesta categoria as colônias fundadas pelas repúblicas, ou pelos príncipes, para receber a população excedente ou manter suas novas conquistas de modo mais seguro e menos dispendioso." (MAQUIAVEL, 2008, p. 19-20)

Quanto às cidades originadas por habitantes naturais do local, Maquiavel nos dá dois exemplos: Atenas, que foi construída para acolher a população espalhada pela Ática[2], e também Veneza, que reuniu o povo refugiado na constelação de Ilhotas do mar Adriático, o qual fugia das guerras ocorridas com a queda do império Romano. Nessa época, começaram as invasões dos bárbaros e nenhum governante garantia a segurança do povo com leis apropriadas.

Entre as cidades originadas por estrangeiros, os romanos fundaram muitas como extensão de seus territórios.

Maquiavel ainda nos fala de um outro tipo de cidade: a construída para exibir a glória do seu fundador, como Alexandria, por exemplo. Mas essas cidades não têm origem natural e é muito raro que cresçam se tornando capitais de um Estado. Florença nasceu assim, fundada pelo Império Romano. No começo, ela não pôde se expandir e só se cresceu por causa do

[2] Nos dias atuais, a região grega da Ática compreende quatro prefeituras: Atenas, Pireus, Ática oriental e Ática ocidental. Pertencem também a esta periferia as ilhas de Salamis, Aegina, Poros, Hydra, Spetses e Antikythera que se encontram no golfo Sarónico.

príncipe. Ou seja, as primeiras expansões florentinas ocorreram por causa das concessões feitas pelo imperador romano.

Para erigir uma cidade, Maquiavel ressalta, deve-se levar em conta a fertilidade do solo ou se é mais vantajoso escolher um lugar infértil, "onde os habitantes, constrangidos ao trabalho, e menos inclinados ao ócio, possam viver unidos, sujeitos à concórdia pela sua situação de pobreza." (MAQUIAVEL, 2008, p. 20) Ragusa é um exemplo de cidade que foi construída em um local infértil e, para o autor, essa escolha seria a mais sábia e a mais útil se os indivíduos se contentassem apenas com o que têm e não buscassem aumentar seus territórios. Porém, eles geralmente preferem garantir o seu destino com o poder e buscam terras fecundas onde o solo permita o progresso e onde possam se defender contra invasores. Segundo Maquiavel, nesses locais é preciso criar ordenamentos para estimular os homens à atividade, tais como nas terras férteis do Egito da Antiguidade, onde eram realizados muitos exercícios militares para formar homens notáveis nos campos de batalha.

A existência das cidades é devida a homens livres quando, movidos por fome, doença ou para fugir da guerra, eles saem de sua pátria e seguem para outro lugar, guiando-se por si mesmos ou por um príncipe. Os emigrantes podem se dirigir a cidades que foram conquistadas pela força das armas ou podem criar uma nova cidade. Se for o segundo caso, suas características dependerão da *virtù* e da *fortuna* do fundador.

A esse respeito, Maquiavel enfatiza o trabalho crucial desempenhado pelo legislador na instituição de uma república, pois quando se tem um bom legislador, o Estado é bem ordenado desde o seu inicio e não precisa de reformas posteriores em suas leis, pois estas são sempre perigosas. Isso porque os cidadãos dificilmente aceitam de boa vontade uma nova lei que mude a ordenação do local onde vivem. Esparta é o exemplo que Maquiavel nos dá, pois suas leis foram respeitadas sem precisar de correções e sem muitas desordens por oito séculos. Por outro lado, uma república que não tem um legislador prudente atuando desde o princípio deve reformular suas leis para tentar estabelecer uma boa ordem, um objetivo que nem sempre alcança o êxito.

Para o autor, "É necessário que um só homem imprima a forma e o espírito do qual depende a organização do Estado." (MAQUIAVEL, 2008, p. 49) Assim, o legislador sábio deve trabalhar em vista do público e evitar os interesses pessoais. Tal legislador será bem sucedido se suas leis assegurarem a segurança de todos de modo a deixar o povo tranquilo e, sem precisar reformá-las.

Nesse momento, podemos comparar o que Maquiavel diz sobre a fundação das cidades nos *Discursos* com o que ele expôs sobre isso em *O príncipe*. Para o autor, os

príncipes mais louváveis são os que criam coisas completamente novas, ou seja, aqueles que demonstram possuir grande *virtù* e aproveitam a ocasião dada pela *fortuna* para a fundação de um Estado. São esses homens que dependem menos da fortuna do que da sua própria *virtù* os que conseguem melhores resultados. O autor nos dá vários exemplos que usarei para ilustrar tal argumento.

N'*O príncipe*, Maquiavel cita alguns personagens importantes que conseguiram ser príncipes pela *virtù* e não pela fortuna, tais como Moisés, Ciro, Rômulo e Teseu. Moisés é um caso muito importante para Maquiavel, pois foi "um mero executor de coisas ordenadas por Deus, ele deve ser admirado ao menos pela graça que o tornou digno de falar com Deus. Consideremos porém Ciro e os demais conquistadores ou fundadores de reinos: acharemos todos admiráveis e, se observarmos suas ações e modos peculiares de proceder, não nos aparecerão discrepantes dos de Moisés, que teve tão grande preceptor." (MAQUIAVEL, 2001, p. 24.) Assim, todos os fundadores de reinos são admiráveis para Maquiavel, pois receberam da fortuna apenas a ocasião:

> Era necessário, portanto, que Moisés encontrasse no Egito o povo de Israel escravizado e que este se dispusesse a segui-lo. Era preciso que Rômulo não se contentasse com Alba e tivesse sido abandonado ao nascer, para que se tornasse rei de Roma e fundador daquela pátria. Era preciso que Ciro encontrasse os persas descontentes com o império dos medas e estes debilitados e afeminados pela longa paz. Não poderia Teseu demonstrar sua *virtù* se não tivesse encontrados os atenienses dispersos. Essas ocasiões, portanto, tornaram aqueles homens afortunados; enquanto sua excelente *virtù* fez com que reconhecessem a ocasião. Com isso, trouxeram honra e felicidade a suas pátrias. **(**MAQUIAVEL, 2001, p. 24-25)

Mas há o outro lado da moeda que Maquiavel expõe também. É muito difícil, há riscos e é duvidoso de se alcançar sucesso quando se criam coisas completamente novas e é introduzida uma nova ordem. Os homens que se beneficiam com as antigas ordens são inimigos dos que trazem inovações e os que se beneficiariam com as novas coisas, Maquiavel diz que são tímidos defensores, pois os homens só creem nas coisas novas depois de serem comprovadas por experiência. Assim, primeiramente os inimigos atacam fortemente enquanto, timidamente, os outros se defendem. Então, quando os inovadores dispõem de seus próprios meios e forças, é mais difícil que fracassem. Desta forma, é importante a força das armas, pois quando o povo não acreditar mais no introdutor de novos ordenamentos, é necessário usar a força e fazê-lo continuar obedecendo. Aqueles exemplos citados por Maquiavel não teriam conseguido se estivessem desarmados.

Assim, como é dito nos *Discursos* sobre o estudo da história ensinar o governante a

fundar um bom governo, n'*O príncipe* não é diferente: "um homem prudente deve sempre seguir os caminhos abertos pelos grandes homens" (MAQUIAVEL, 2001, p. 23). É preciso se espelhar nos grandes príncipes do passado, pois ainda que não se alcance a grande *virtù* que eles tinham, é possível pelo menos tentar imitá-la em alguma medida.

Vimos como é a ação política no nascimento das cidades para Maquiavel. Agora, veremos a ação política na conquista e manutenção do poder.

2. A ação política na conquista e manutenção do poder

Em *O príncipe*, o autor florentino afirma que todos os domínios que tiveram ou têm poder sobre o homem foram ou são repúblicas ou principados (Monarquias). Na *Teoria das formas de governo*, Norberto Bobbio lembra que Maquiavel substitui a tripartição clássica de Aristóteles e de Políbio que perdurava por séculos sem modificações, dentro da qual havia três formas de governo essencialmente boas e três essencialmente más, classificadas de acordo com dois critérios: de "quem" governa e "como" governa: a monarquia (uma só pessoa governa), a aristocracia (poucas pessoas governam) e a politia (muitas pessoas governam) tendo em vista do primeiro critério. Pelo segundo critério, "as constituições podem ser boas ou más, com a consequência de que às três primeiras formas boas se acrescentam e se contrapõem as três formas más" (BOBBIO, 1981, p. 47) que são: a tirania, a oligarquia e a democracia. As repúblicas podem corresponder à democracia e também à aristocracia, já os principados correspondem ao reino. Para Bobbio, ao falar apenas em república e principado, Maquiavel continua a usar um critério quantitativo: ou os Estados são governados por uma pessoa só (principados) ou por muitos (repúblicas).

Após apresentar essa divisão inicial nas formas de governo, Maquiavel concentra-se na análise dos principados e acrescenta que eles são hereditários ou são novos.

Dos principados hereditários – em que o poder é transferido de acordo com uma lei constitucional de sucessão –, o autor fala que as dificuldades de se governar são bem menores do que em um principado novo. De acordo com Maquiavel, basta apenas o príncipe não descuidar das ordens que já vêm de seus antecessores e saber controlar os acidentes que possam acontecer. Já nos principados novos, em que o poder é conquistado por quem ainda não o tinha por direito, é onde se encontram as maiores dificuldades. A partir das diferentes maneiras como o poder é conquistado, Maquiavel distingue quatro espécies: pela *virtù*, pela fortuna, pelo crime e pela escolha dos cidadãos. Existem ainda os principados que não são completamente novos, ou seja, os formados por um Estado antigo e os territórios por ele

conquistados.

Na compreensão desse contexto de luta pela tomada e manutenção do poder sobre os principados, os conceitos de *virtù* e de fortuna são os mais fundamentais na formulação de teses maquiavelianas. *Virtù* "é todo o conjunto de qualidades e possibilidades, sejam elas quais forem, cuja aquisição o príncipe possa achar necessária a fim de 'manter seu Estado' e realizar grandes feitos". (ARNAUT e BERNARDO, 2002, p. 97) Assim, a *virtù* traduz-se em elementos necessários como a coragem, capacidade de liderança e a perspicácia para lidar com os diferentes interesses políticos que existem na cidade. Nesse sentido, não podemos confundir a *virtù* com a virtude cristã. O príncipe não precisa possuir as virtudes cristãs para ser um bom governante, mas deve aparentar tê-las aos olhos de seus súditos. Afinal, para o povo, o que importa são as aparências.

Quanto à *fortuna,* Maquiavel volta às origens clássicas romanas que a consideravam uma deusa capaz de distribuir todos os bens de desejos do homem, tais como honra, riqueza, glória e poder. Então, um homem dotado de *virtù* poderia ser capaz de seduzir a sorte e atrair esses bens. A partir dessa metáfora contida na imagem mitológica, o florentino descreve a fortuna como o rumo dos acontecimentos que independem da vontade do ser humano, os quais podem variar de forma inesperada, tanto para o bem quanto para o mal de cada pessoa.

Entretanto, o que consegue ser realizado depende da *virtù* e da fortuna. "Já que nosso livre-arbítrio não desapareceu", escreve Maquiavel,

> julgo possível ser verdade que fortuna seja árbitro de metade de nossas ações, mas que também deixe ao nosso governo a outra metade, ou quase. Comparo a sorte a um desses rios impetuosos que, quando se irritam, alagam as planícies, arrasam as árvores e as casas, arrastam terras de um lado para levar a outro: todos fogem deles, mas cedem ao seu ímpeto, sem poder detê-los em parte alguma. Mesmo assim, nada impede que, voltando a calma, os homens tomem providências, construam barreiras e diques, de modo, que quando a cheia se repetir, ou o rio flua por um canal, ou sua força se torne menos livre e danosa. (MAQUIAVEL, 2001, p. 119-120)

Assim, há diferenças nas conquistas dos principados por meio da *virtù* ou pela *fortuna*. Os adquiridos pela *virtù* são mais duradouros, porém, podem ser mais difíceis de administrar inicialmente. Essas dificuldades nascem, em parte, do novo ordenamento que é imposto obrigatoriamente no Estado para garantir a segurança e o poder do governante. Já o domínio sobre os principados conquistados pela *fortuna* não é tão estável quanto no caso dos obtidos pela *virtù,* pois, conforme diz Maquiavel:

> não é razoável que saibam comandar tendo sempre vivido como particulares; e não podem porque não têm forças que lhes possam ser amigas e fiéis. Além disso, os

> estados que nascem subitamente – como todas as outras coisas da natureza que nascem e crescem depressa – não podem formar suas raízes e ramificações, de modo que sucumbem na primeira tempestade. A menos que – como já disse – aqueles que repentinamente se tornaram príncipes sejam de tanta *virtù* que saibam rapidamente se preparar para conservar aquilo que a fortuna lhes colocou nos braços e estabeleçam depois os fundamentos que outros estabeleceram antes de se tornarem príncipes. Quero, a cada um desses modos citados de tornar-se príncipe, por *virtù* ou por *fortuna*, aduzir dois exemplos ainda em nossa memória, que são Francesco Sforza e Cesare Borgia. Francesco, pelos devidos meios e uma grande *virtù,* passou de cidadão privado a duque de Milão, e o que havia conquistado com enorme empenho com pouco esforço manteve. Por outro lado, Cesare Borgia, vulgarmente chamado duque Valentino, conquistou o estado com a fortuna do pai e com ela o perdeu, apesar de ter usado de todos os atos e de ter realizado todas as coisas que um homem prudente e valoroso deveria ter feito para deitar raízes em um estado que as armas e a fortuna de outros lhe haviam proporcionado. (MAQUIAVEL, 2001, p. 27-28)

Temos também os principados conquistados por meios criminosos. Maquiavel não faz a distinção entre eles e os principados "bons" como havia antigamente na tripartição das formas de governo. Os que se tornam governantes desse modo, que poderíamos denominar de tiranos, na visão de Maquiavel são considerados príncipes como todos os outros, pois o critério que o autor usa para julgar o governo de alguém não é o moral, e sim o seu êxito. Newton Bignotto, no seu artigo *O silêncio do tirano,* enfatiza um tirano que Maquiavel analisa: Agátocles da Sicília. Ele poderia ser condenado pela forma como alcançou o poder, mas Maquiavel o avalia por seu sucesso:

> A discorrer sobre Agátocles e a condição ínfima da qual partiu para atingir o poder – perfil típico de usurpador –, Maquiavel afirma: "No entanto, seus atos celerados se acompanharam de uma tal *virtù* que, estando na milícia, alcançou, galgando de grau em grau, o posto de pretor de Siracusa"[3]. Uma vez instalado no poder, Agátocles decide mantê-lo a qualquer custo e recorre ao uso da arma tradicional dos tiranos para alcançar seus objetivos: a violência.
>
> Maquiavel vê nesse homem cruel um exemplo possível da manifestação do que chama de *virtù*. Não se trata de elogiar seus atos – "pois não podemos dizer ser meritório matar seus cidadãos, trair seus amigos, ser sem fé, nem piedade e nem religião[4]" –, além do mais, a tirania conduz ao poder e não a glória. Mas mesmo nesse caso extremo, podemos reconhecer um traço da vida política normal, uma vez que não podemos dizer que não seja lícito o desejo de conservação de uma posição elevada alcançada à frente da cidade. (BIGNOTTO, 1998, p. 138)

Assim, Maquiavel mostra a insuficiência da condenação moral de tais governantes para a compreensão da tirania. O autor tenta entender até o limite tudo o que é e o que não é possível no campo político.

[3] Maquiavel, *O príncipe*, cap. VIII.
[4] Maquiavel, *O príncipe*, cap. VIII.

Desta forma, Maquiavel trata igualmente do principado civil, afirmando que, neste caso, se trata de um indivíduo que se torna príncipe pelo apoio dos cidadãos. Assim, para alcançar o poder desta maneira, não é preciso muita *virtù* e nem muita fortuna, mas é preciso, antes de tudo, uma "astúcia afortunada." (MAQUIAVEL, 2001, p. 43)

Vale lembrar que, em seus escritos, Maquiavel propõe uma ação política guiada em vista da necessidade, a qual deve delimitar as ações do príncipe: "Donde é necessário, a um príncipe que queira se manter [no governo], aprender a poder não ser bom e usar ou não de sua bondade, segundo a sua necessidade." (MAQUIAVEL, 1976, p. 90) Para o autor, convém ao príncipe ser temido e amado, mas como é difícil conseguir ambas as coisas, é melhor ser temido do que ser amado. Além disso, é importante que se evite ser odiado. Desta forma, o príncipe não deve perseguir e cobiçar as coisas alheias, pois, enquanto não perdem as honras e o patrimônio, os homens vivem felizes. Cabe ao príncipe, igualmente, buscar em suas ações que se reconheçam a sua grandeza, energia, ponderação e ânimo, pois o ódio e o desprezo foram a razão da ruína de muitos imperadores mencionados por Maquiavel.

Então, o pensamento político de Maquiavel pode ser visto como sustentado pelos fatos históricos, pelos inúmeros exemplos citados para corroborar suas ideias e pela explicação do comportamento do ser humano demonstrado neles. Podemos perceber que os governantes devem aprender com a história e que esses estudos podem ser utilizados no presente, adaptados contemporaneamente, como um meio de agir de acordo com cada situação.

Desta forma, a obra de Maquiavel não é simplesmente um manual finalizado ensinando como alguém deve governar, mas contém um profundo estudo sobre as quais a ação política se manifesta.

3. A ação política na liberdade republicana

Podemos passar, enfim, à questão da liberdade no pensamento político de Maquiavel. Como vimos, ela começa a ser exposta nos *Discursos sobre a primeira década de Tito Lívio* quando o autor fala sobre a fundação das cidades edificadas por homens livres ou por dependentes de outro Estado.

De acordo com Quentin Skinner (1988), um importante comentador da obra de Maquiavel, quando este fala em liberdade de uma cidade, quer dizer que ela não está sujeita à servidão política, tanto a imposta por um tirano quanto a imposta por um poder imperial, ou seja, tal Estado é livre interna e externamente. Assim, Maquiavel identifica a liberdade com o

autogoverno.

Essa compreensão sobre a liberdade pode ser vista na análise de Maquiavel sobre a história política de Roma. A partir dela, o autor diz que em toda república existem dois humores distintos: o desejo do povo e o dos grandes. O povo não quer ser oprimido, enquanto os grandes – a elite da sociedade – querem oprimir. Por meio dessa desunião é que nascem todas as leis para proteger a liberdade. Para ilustrar essa afirmação um tanto polêmica, Maquiavel nos dá o exemplo dos tumultos que ocorreram em Roma desde a época dos Tarquínios até a dos Gracos: "Não se pode de forma alguma acusar de desordem uma república que deu tantos exemplos de virtude, pois os bons exemplos nascem da boa educação, a boa educação das boas leis, e estas das desordens que quase todos condenam irrefletidamente." (MAQUIAVEL, 2008, p. 31)

Para José Luiz Ames, quando coloca o conflito entre os grandes e o povo no centro de sua teoria, Maquiavel rompe com uma longa tradição de pensamento político para a qual a sociedade civil parte do princípio do desejo do bem e da concórdia. Nesse conflito analisado pelo filósofo, explica Ames, na verdade estão em confronto dois desejos heterogêneos, dois humores de natureza diferente, "que não definem mais um conflito possível em torno de um único e mesmo objetivo, nem descrevem a configuração das relações de poder na simetria, mas na dissimetria. A impossibilidade de conciliação destes dois humores inscreve o fato de que *a política é essencialmente o que não se concerta*". (AMES, 2010, p. 40)

Esta discussão acerca da teoria dos humores tem como ideia central mostrar como o conflito entre os grandes e o povo pode resultar na liberdade. O desejo dos grandes, que é de dominar, se confunde com o exercício do poder e pode pôr em risco a liberdade do corpo político. Já o desejo do povo, que é a de não ser dominado, se associa com o de liberdade, opondo-se ao desejo dos grandes. Lairton Winter, no seu artigo chamado A *teoria dos humores de Maquiavel: a relação entre o conflito e a liberdade*, diz "que o corpo humano é uma metáfora do corpo político: do mesmo modo que o corpo humano o corpo político é marcado por humores que, em função de suas pulsões – o desejo –, desencadeiam um conflito permanente entre dois opositores – os grandes e o povo." (WINTER, 2011, p. 44-45) Então, é essencial conhecer essa dinâmica do corpo político para estabelecer a liberdade cívica no Estado.

Este conflito, dos grandes e do povo, é condição necessária para a liberdade. Mas se ele ocorrer de forma descontrolada, poderá acarretar nos ódios, nas inimizades, nos partidos e nas facções que, para Maquiavel, acabam destruindo este corpo político e acarretam em tirania. Podemos mencionar o exemplo dos decênviros, que o autor cita nos capítulos 35 e 40

da Primeira Parte dos *Comentários sobre a primeira década de Tito Lívio*. Ele nos conta que dez cidadãos foram eleitos pelo povo para legislar, os decênviros, e que logo eles usaram os grandes poderes que receberam para se transformar em tiranos, prejudicando a liberdade na república romana.

Nesse caso, a causa da tirania é apontada nos excessos cometidos na manifestação dos humores dos grandes e do povo. Maquiavel fala que o decenvirato foi instituído pelos dois grupos e que isso só foi feito pela esperança dos plebeus de eliminar o título de cônsul (controlado pela aristocracia) e pelo desejo dos patrícios de eliminar os tribunos da plebe. Assim, no momento em que esses títulos foram suprimidos e o poder foi entregue aos decênviros, o povo deu seu apoio a eles acreditando que o protegeriam da opressão dos grandes. Porém, diz Maquiavel, isso abriu espaço para que as ambições pessoais dos decênviros os levassem a abusar de sua autoridade.

Outro exemplo de como os conflitos políticos podem levar à tirania é dado pelo autor em seu relato sobre os tumultos criados em Roma por causa da lei agrária.

Maquiavel afirma que alguns homens querem possuir mais, enquanto outros temem perder o que já possuem: “Daí o atrito e a guerra, que por sua vez provocam a destruição de um império para servir à elevação de outro.” (MAQUIAVEL, 2008, p. 121) Assim, o povo romano criou a instituição dos tribunos para se opor às ambições dos grandes. Mal os tribunos foram criados, o povo voltou a combater a nobreza, querendo suas riquezas e honrarias, e para isso se serviu da lei agrária. Esta prejudicava os nobres de duas formas: estabelecia limites à acumulação de terras e estabelecia que as terras conquistadas deveriam ser divididas por todo o povo. Assim, houve uma série de coisas que a nobreza teve que fazer para contornar o perigo, como: levantar as armas, opor os tribunos, às vezes cediam aos desejos do povo, entre outras. Os conflitos provocados pela lei agrária continuaram até a invasão de algumas terras distantes da Itália. Em razão disso, em meio a essas desordens, as autoridades ordinárias não tinham como solucioná-las.

Assim, o confronto descambou para o partidarismo e cada lado escolheu líderes para comandar a luta contra seu rival. O povo elegeu Mário várias vezes, já os grandes voltaram-se para Sila. Com isso, a guerra civil foi desencadeada. Tempos depois, a luta ainda continuava sob César e Pompeu:

> A vitória sorriu então para César, que foi o primeiro tirano de Roma, cidade que nunca mais voltou a ser livre. Assim se originou e findou a lei agrária; e se o que digo aqui sobre os seus efeitos parece contradizer o que demonstrei alhures (que a inimizade entre o povo e o Senado de Roma contribuiu para manter sua liberdade), direi que não

> é assim. A ambição dos poderosos é tal que se num Estado se procura esmagá-la sem piedade, por todos os meios e modos, ela o arrastará na sua queda. Se bem seja verdade que a lei agrária quis escravizar Roma durante três séculos, a cidade se teria perdido antes se o povo, por meio dessa lei e de outras reinvindicações, não houvesse conseguido refrear a ambição dos nobres. (MAQUIAVEL, 2008, p. 122)

Logo, podemos concordar com as observações do professor Ames acerca destas situações. Para ele, Maquiavel ensina que

> Enquanto o conflito permanece de tal modo que o povo consegue deter a tendência dos grandes ao exercício da dominação ilimitada e os grandes são capazes de impedir o povo de estabelecer uma situação de absoluta liberdade, ele engendra um *vivere civile*; quando, porém, um humor chega até o seu próprio termo e se completa plenamente, ou quando um humor renuncia à sua singularidade para colocar-se no lugar do outro, transforma seu objetivo último e se identifica com o humor oposto, a Cidade é atravessada por um conflito de natureza diversa, que, em vez de engendrar um *vivere civile*, na realidade o destrói. (AMES, 2010, p. 53)

Mas então, a quem confiar a defesa da liberdade? Maquiavel nos dá o exemplo dos lacedemônios, que a confiaram nos nobres, assim como os venezianos haviam feito na época do autor. Já os romanos confiaram a defesa da liberdade ao povo. Então, qual a melhor escolha? Quando os nobres salvaguardavam a liberdade, ela teve vida mais longa do que quando o povo era o guardião. Vejamos os argumentos de Maquiavel.

Quando os nobres guardavam a liberdade, o Estado ganhava duas vantagens:

> A primeira é contemplar, em parte, a ambição dos que exercem importante influência na república e que, tendo em mãos as armas que protegem o poder, por isso mesmo têm mais motivos de satisfação com a sua partilha; a segunda é impedir que o povo, de índole inquieta, use o poder que lhe facultaria o provocar dissensões e distúrbios capazes de levar a nobreza a algum gesto de desespero, cujos efeitos funestos se fariam sentir um dia. (MAQUIAVEL, 2008, p. 33-34).

Por outro lado, como os nobres querem oprimir enquanto o povo não quer ser oprimido, poder-se-ia dizer que a vontade dele seja mais firme de viver em liberdade. Desta forma, o povo não pouparia esforços para cumprir essa tarefa de salvaguardar a liberdade.

Além disso, é preciso saber qual tipo de república se tem em vista: uma que quer adquirir um império ou uma república que quer apenas a sua própria conservação. Se for o primeiro caso, cabe então a guarda da liberdade ao povo; se for o segundo caso, cabe aos nobres. As repúblicas que querem adquirir um império, diz Maquiavel, deveriam organizá-las como Roma, abrindo espaço para a participação do povo no exército e, consequentemente, dando a ele poder político: “sem uma população importante, bem armada, nenhuma república

poderá jamais crescer." (MAQUIAVEL, 2008, p. 39). Já nas repúblicas que querem a autossuficiência, o fundador deveria proibir as conquistas, pois, elas acabam arruinando o Estado. Esparta, por exemplo, se recusava a receber estrangeiros, tinha um senado pouco numeroso, era governada por reis e os cidadãos se submetiam às leis de Licurgo, o que afastava as desordens e unia os cidadãos. O povo de Esparta não tinha ambição pelo poder, pois os reis defendiam-no contra qualquer insulto. Assim, era afastado do povo todo tipo de corrupção.

O autor acredita que uma república que deseja a longevidade deveria se organizar em um local bem protegido, ficando forte o bastante para que ninguém pudesse vencê-la. "Pois, só dois motivos levam a atacar uma república: o desejo de apoderar-se dela, ou de impedir que venha a se apoderar do país atacante." (MAQUIAVEL, 2008, p. 39) Daí se segue a dificuldade de atacar uma república que sempre está pronta a se defender. Podemos ver um problema aqui, pois se surgir a necessidade de expansão, essa república fundada para se manter sem conquistas, logo se arruinaria. "Por outro lado", propõe Maquiavel, "se o céu a favorecesse poupando-lhe os desastres da guerra, o ócio criaria no seu seio a discórdia ou o langor: estes dois flagelos (se um só não bastasse) seriam a causa da sua perdição." (MAQUIAVEL, 2008, p. 40)

Então, para o autor, ao fundar uma república, ela deveria escolher o caminho mais honroso organizando-se de tal maneira que, se precisasse crescer e se expandir, ela poderia conservar essas conquistas. Desta forma, se deveria imitar a constituição romana para fundar uma república, pois as discórdias que podem nascer entre o povo e o senado devem ser toleradas. Daí se segue que a autoridade dos tribunos é importantíssima na conservação da liberdade, pois o poder de acusar é vantajoso para as repúblicas, como veremos mais a frente.

Maquiavel faz essa distinção para analisar melhor a quem confiar a guarda da liberdade, pois, para o autor, é difícil determinar com total certeza qual é a espécie de homem que é mais danosa em uma república: a que não quer perder o que possui ou a que quer adquirir. As pessoas que já possuem poder e riqueza criam maiores dificuldades, pois o medo de perder o que têm provoca uma ambição igual ao desejo de adquirir. Desta forma, quanto mais alguém tem, mais quer ter. Logo, é bem mais fácil esse indivíduo provocar alterações na ordem, visto que essa ambição provoca inveja nos corações dos que não têm.

Percebemos que, para Maquiavel, a liberdade política liga-se à obediência da lei. Como ele parte da ideia de que todos os homens são maus e só fazem o bem quando é necessário, as leis mostram-se imprescindíveis para torná-los bons cidadãos. Afinal, "quando cada um tem a liberdade de agir com abandono e licença, a confusão e a desordem não tardam

a manifestar por toda a parte." (MAQUIAVEL, 2008, p. 29) Por isso o autor florentino ensina que, para ser efetiva, a liberdade demanda boas leis a serem respeitadas pelos membros do Estado.

Neste sentido, Maquiavel se preocupa com a manutenção da ordem civil, pois:

> Não se pode dar aos guardiões da liberdade num Estado direito mais útil e necessário do que o de poder acusar, perante o povo, ou diante de um magistrado ou tribunal, os cidadãos que tenham atentado contra esta liberdade. Esta medida tem, numa república, dois efeitos extremamente importantes: o primeiro é que os cidadãos temendo ser acusados, não ousam investir contra a segurança do Estado; se tentam fazê-los, recebem imediatamente o castigo merecido. O outro é o de se construir numa válvula de escape à paixão que, de um modo ou de outro, sempre fermenta contra algum cidadão. Quando esta paixão não encontra um meio legal de vir à superfície, assume uma importância extraordinária, que abala os fundamentos da república. Nada a enfraquecerá tanto, todavia, quanto organizar-se o Estado de modo tal que a fermentação de paixões possa escapar por um canal autorizado. (MAQUIAVEL, 2008, p. 41)

É necessário que as leis confiram aos cidadãos meios legítimos para manifestar seu descontentamento. Quando isso não existe, o desafogo desta ira ocorre por meios extraordinários causando grandes males. Para apoiar sua opinião com exemplos, Maquiavel recorre ao relato de Tito Lívio, segundo o qual os grandes de Roma estavam em desacordo com o povo, pois tinha adquirido uma certa autoridade desde a criação dos tribunos da plebe. Naquela época, Roma sofria falta de alimentos e o senado tinha comprado na Sicília os cereais necessários para suprir essa carência. O patrício Coriolano queria castigar o povo tirando dele a autoridade que havia adquirido, e propôs que se deixasse o povo passar fome não distribuindo os alimentos. Quando essa noticia se espalhou, houve uma grande indignação contra Coriolano, o que foi chamado a se defender perante as autoridades. Assim, afirma Maquiavel, caso a situação tivesse sido resolvida pela violência, as consequências seriam péssimas para a república:

> Que se considere, com efeito, todos os males que teriam resultado da comoção popular. Teria havido um crime; ora, o crime provoca o medo; o medo busca meios de proteção; estes reclamam de partidos; e os partidos criam as facções que dividem as cidades, e originam a ruína dos estados. Mas se a ação for cometida pela autoridade legítima, prevenir-se-á o desenvolvimento de todos os males que poderiam nascer do simples uso da força particular. (MAQUIAVEL, 2008, p. 41-42)

Nas cidades onde reinam a liberdade, a calúnia também deve ser detestada. As calúnias irritam os homens e não os corrigem. Daí a importância de criar instituições capazes de reprimi-las, abrindo caminho para as denúncias públicas diante das autoridades

constituídas.

Maquiavel fala então da importância de se conservar a religião no Estado para se evitar a corrupção, o que é de grande importância para a compreensão acerca da liberdade: "O índice mais seguro da ruína de um país é o desprezo pelo culto dos deuses." (MAQUIAVEL, 2008, p. 61) Ele expõe um exemplo muito interessante sobre a importância da religião no corpo político, dizendo:

> A religião dos pagãos se fundava nos vaticínios dos oráculos, nos augúrios e auspícios; esta a origem de todas as suas cerimônias, seus ritos e sacrifícios. Acreditavam que a divindade que podia prever os bens e os males futuros era capaz também de provocá-los. Daí os templos, sacrifícios, orações e todas as demais cerimônias destinadas a honrar os deuses. Pelos mesmos motivos o oráculo de Delos, o templo de Júpiter-Amon, e outros não menos célebres mereciam admiração e devoção universais. Mas quando os oráculos começaram a tomar o partido dos poderosos, e a fraude foi percebida, os homens se fizeram menos crédulos, mostrando-se dispostos a contestar a ordem estabelecida. (MAQUIAVEL, 2008, p. 61)

Então, o escritor florentino quer dizer que os grandes devem respeitar os fundamentos de uma religião, pois é muito mais fácil manter a união e os bons costumes entre os cidadãos. Os oráculos eram usados politicamente em Roma, fazendo o povo acreditar em cada ação movida pelos grandes. Assim, quando um governante consultava os oráculos e não seguia as respostas dadas por eles, o povo ficava desiludido. Neste sentido, é interessante ver em Maquiavel a importância desse aspecto religioso no corpo político e suas implicações acerca da moral e da organização entre os cidadãos. Pois os romanos respeitavam os juramentos muito mais do que as leis. Para os cidadãos, quando se tratava de juramento, estava em jogo a potência dos deuses, que para eles era maior do que a dos homens. Dois bons exemplos dados pelo autor são os de Cipião e Mânilo. Cipião fez os soldados romanos – que estavam aterrorizados por uma derrota diante das tropas de Aníbal – jurarem não abandonar a pátria, enquanto Mânlio obrigou um tribuno a jurar que retiraria a acusação feita contra seu pai. Em ambos os casos, os juramentos foram mantidos.

Maquiavel tem um olhar político sobre as religiões, um olhar humano. O autor nos fala da importância da religião em um Estado e cita Numa, segundo rei de Roma que, de acordo com ele, completou a obra de Rômulo. Numa fez todo o trabalho da religião romana. Com isso, ajudou a diminuir a ferocidade dos cidadãos e incluiu a sociabilidade neles. Os cidadãos não deixaram de serem soldados, apenas ficaram mais organizados e obedientes. Sobre o crime também houve mudança. Pois, se antes o crime era da sociedade, com a inclusão da religião acabou virando também crime religioso. Portanto, a contribuição de Numa foi mais

importante do que a de Rômulo, exatamente por causa dessa questão moral.

Nessa exposição acerca da religião feita por Maquiavel, podemos perceber um caráter educacional em torno dos cidadãos, pois ela os continha quando as leis e o amor à pátria não bastavam. Dessa maneira, a religião é mais um dos fatores que impedem a corrupção política nas repúblicas, e quando ela não cumpre o seu papel, a corrupção difunde-se entre o povo.

Enfim, chegamos a um último ponto importante abordado pelo escritor florentino, que é a corrupção. Se uma cidade está entrando nesse processo e ele atinge apenas o governante, Maquiavel nos dá uma solução: a eliminação dele e a sua substituição por outro que, com sua *virtù*, reordene a cidade. Porém, quando o povo em geral está corrompido,

> mesmo as leis melhor ordenadas são impotentes – a menos que sejam manipuladas habilmente por uma personalidade vigorosa, respeitada pela sua autoridade, e que possa cortar o mal pela raiz.
> Não sei se já se viu tal prodígio, ou mesmo se ele é possível. Se acontecesse de uma cidade arruinada pela corrupção se recuperar da sua queda, este beneficio só poderia ser atribuído a virtude de um homem, e não à vontade geral que o povo pudesse ter em favor de boas instituições. E mal a morte abatesse este reformador, a massa retornaria aos seus antigos costumes. (MAQUIAVEL, 2008, p. 74)

Visto isso, podemos perceber que o problema da corrupção não está somente nos governantes, mas é um mal que pode se alastrar por toda a república, destruindo as condições necessárias à vida livre.

Neste sentido, Maquiavel nos mostra que é guiada pela liberdade e pela procura da igualdade a verdadeira política, a qual "somente pode existir se conduzida no interior de instituições sólidas, capazes de transformar o desejo de liberdade e de não-opressão em desejo de participação na vida pública e respeito por seus mecanismos legais de regulação de conflitos." (WINTER, 2011, p. 45)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em cada um dos exemplos de ação política analisados durante a pesquisa, Maquiavel aponta a responsabilidade dos homens em construir a sociedade e as relações de poder que se dão dentro dela. Seja na fundação das cidades, na conquista do Estado ou nos conflitos republicanos, percebemos que essas relações podem ter resultados bem diferentes, e que dentre eles, a liberdade vigente na vida cívica é o mais elogiado pelo autor, embora também seja um dos mais difíceis de obter. Afinal, ele exige boas leis e ordenamentos capazes de

guiar os cidadãos rumo ao bem comum, mesmo em meio aos confrontos causados por seus desejos distintos. Nisso, a religião tem um papel fundamental para moldar moralmente o povo. Somente com esforços contínuos em prol da liberdade é possível combater os avanços da corrupção sobre o Estado.

METODOLOGIA

O método do trabalho adotado teve etapas distintas. Primeiramente, foi feita a leitura das obras de Maquiavel definidas como fontes para a pesquisa, focando no conjunto de questões pertinentes aos temas da liberdade, do Estado e da moral.

Em seguida, passou-se ao estudo da bibliografia auxiliar produzida por um conjunto de comentadores das obras de Maquiavel, a fim de encontrar discussões conceituais que ajudassem a responder à problemática proposta no projeto.

O último passo foi confrontar as ideias obtidas pelo pesquisador, a partir de suas próprias leituras das fontes, com as interpretações sobre as teses maquiavelianas levantadas na bibliografia auxiliar.

RESULTADOS

Apresentação de trabalho:

- Comunicação oral intitulada “Nascimento das cidades e suas reformas no pensamento político de Maquiavel”, apresentada na XX Semana de Filosofia/XV Semana de Integração da Graduação e Pós-Graduação, realizada pela Faculdade de Filosofia da UFG, em Goiânia, de 8 a 12 de julho de 2013.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMES, José Luiz. A lógica do heterogêneo e a liberdade republicana em Maquiavel. In: MARTINS, José Antônio. **Republicanismo e democracia**. Maringá: Eduem, 2010. p. 35-57.

ARNAUT, Cezar; BERNARDO, Leandro Ferreira. Virtù e fortuna no pensamento político de Maquiavel. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 1, p. 91-102, 2002.

BOBBIO, Norberto. **A teoria das formas de governo**. Trad. Sérgio Bath. Brasília: Editora UnB, 1998.

BIGNOTTO, Newton. O silêncio do tirano. **Revista USP**, São Paulo, n. 37, p. 132-143, mar./maio 1998.

MAQUIAVEL, Nicolau. **O príncipe**. Trad. de Roberto Grassi. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1976.

_____. **O príncipe**. Trad. Maria Júlia Goldwasser. São Paulo: Martins Fontes, 2001.

_____. **Il príncipe**. Torino: Marco Valerio, 2001.

_____. **Comentários sobre a primeira década de Tito Lívio**. Trad. Sérgio Bath. Brasília: Editora UnB, 2008.

SKINNER, Quentin. **Maquiavel**. Trad. Maria Lucia Montes. São Paulo: Brasiliense, 1988.

WINTER, Lairton. A teoria dos humores de Maquiavel: a relação entre o conflito e a liberdade. **Cadernos de Ética e Filosofia Política**, Foz do Iguaçu, n. 19, p. 43-75, 2011.

Determinação de grupos SH livre em nanopartículas de ouro e maghemita funcionalizadas com DMSA

Guilherme A. Ferreira, Emília C. D. Lima, Olga S. R. Barros, Fernando C. Damasceno
Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO 74001-970, Brasil
guilhermeferreyra@gmail.com

Resumo

Nanopartículas tioladas (aquelas funcionalizadas com moléculas que possuem o grupo tiol, SH) têm sido bastante usadas para diversas aplicações biomédicas. Contudo, ainda hoje não são encontrados na literatura métodos para determinação desses grupos tiol na superfície das referidas nanopartículas. Neste trabalho, são apresentados a adaptação de três métodos colorimétricos para quantificação de grupos SH livres na superfície de nanopartículas de maghemita e ouro funcionalizadas com DMSA. O método clássico de Ellman não se mostrou eficiente para as análises requeridas devido a ligação do íon cromóforo às partículas. Os outros métodos adaptados mostraram, com boa linearidade, que aumentando a razão molar DMSA / metal na funcionalização dessas nanopartículas, aumentou também o teor de grupos SH livres em suas superfícies.

Palavras chave: nanopartículas tioladas, DMSA, óxido de ferro, ouro.

1. Introdução

Nanopartículas magnéticas e metálicas, dispersas em meio aquoso têm sido alvo de grande interesse em aplicações biomédicas, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (TARTAJ, P. et al., 2003), por serem não-tóxicas, biocompatíveis (GUPTA; WELLS, 2004) e ainda passíveis de funcionalização com agentes biologicamente ativos (SOUSA et al., 2001). Dentre as principais aplicações das nanopartículas suspensas em meio aquoso, destacam-se seu uso na vetorização de medicamentos (JAIN et al., 2005), na manipulação magnética de células (WILHELM et al., 2002), no tratamento de câncer por hipertermia (ITO et al., 2005) e como agente de contraste em imagens por ressonância magnética (PORTET et al., 2001).

Para estes propósitos, as nanopartículas passam por modificações adequadas em sua superfície. Na literatura, encontram-se pesquisas relacionadas à funcionalização de nanopartículas magnéticas de óxido de ferro (como a magnetita e a maghemita) com diferentes ligantes como polietilenoglicol (KIM et al., 2003), ácido meso-2,3-dimercaptossuccínico – DMSA - (FAUCONNIER et al., 1997) e ainda bicamadas de laurato (PRADHAN et al., 2007) ou bicamadas de oleato/Pluronic (JAIN et al., 2005). A funcionalização visa melhorar a biocompatibilidade, resistir à adsorção de proteínas e aumentar o tempo de circulação das nanopartículas no organismo (ZHANG; KOHLER; ZHANG, 2002).

Pesquisas feitas pelo nosso grupo, utilizando dispersões coloidais de nanopartículas de maghemita funcionalizadas com DMSA, tem demostrando que essas nanopartículas apresentam uma biodistribuição preferencial para o pulmão, de 5 minutos até 24 horas após a administração intravenosa durante testes *in vivo* realizados em camundongos, promovendo migração transendotelial de leucócitos dos vasos sanguíneos para o parênquima pulmonar (AZEVEDO et al., 2011; VALOIS et al., 2009). A afinidade de nanopartículas tioladas para o pulmão pode estar relacionada a formação de ligações covalentes entre os grupos SH livres na superfície das mesmas e os subdomínios de cisteína presentes nas glicoproteínas que compõem o tecido pulmonar dos animais (VALOIS et al., 2009).

Devido ao crescente interesse em nanopartículas magnéticas recobertas com DMSA, vários estudos foram desenvolvidos com o objetivo de caracterizar e entender a interação entre a superfície das nanopartículas e a molécula do ligante (FAUCONNIER et al., 1997; SOLER, et al., 2011;). A partir do exposto nesses trabalhos, sabe-se que é difícil predizer a quantidade de grupos SH livres na superfície das partículas de posse, somente, da estequiometria do ligante utilizada na preparação das mesmas. Conhecendo o crescente interesse em nanopartículas tioladas para aplicações biomédicas, como exposto aqui, e que não é encontrado na literatura um método confiável para determinação de grupos tiol na superfície das referidas nanopartículas, no presente estudo, três métodos colorimétricos para determinação de tiol em solução foram adaptados para os sistemas nanoestruturados, objetivando determinar o teor de grupos SH livre em nanopartículas de maghemita e ouro funcionalizadas com DMSA.

2. Experimental

2.1.Reagentes, materiais e equipamentos

Todos os reagentes foram de grau P.A. e usados sem purificação prévia, adquiridos da Merck (Alemanha), Synth (Brasil) e Aldrich (EUA). Todas as soluções para os estudos espectrais foram preparadas usando água deionizada. As medidas de espectrometria de UV-Vís foram feitas num espectrômetro Perkin-Elmer Lambda 45 usando uma cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico. Os teores de metal (ferro e ouro) nas dispersões das nanopartículas foram determinados por espectrometria de absorção atômica usando um espectrômetro Perkin-Elmer 5000. As micrografias de microscopia eletrônica de transmissão (MET) das amostras foram obtidas num microscópio eletrônico de transmissão JEOL 1011. Os espectros de infravermelho foram feitos num espectrômetro Spectrum 400.

2.2.Síntese e funcionalização das nanopartículas de maghemita com DMSA

Primeiramente, nanopartículas de magnetita foram obtidas pelo método da coprecipitação de íons Fe(II) e Fe(III) em meio alcalino na razão molar de 1:2. O precipitado negro obtido, depois de separado do sobrenadante com o auxílio de um imã e lavado com água deionizada, foi oxidado a maghemita por refluxo com solução ácida de nitrato férrico 3 $mol.L^{-1}$ (SOLER, et al., 2011). As nanopartículas obtidas foram funcionalizadas com o ligante variando a razão molar DMSA/Fe em 0,1; 0,36 e 0,90, dando origem as amostras Fe-10%, Fe-36% e Fe-90%, respectivamente, em suspensões aquosas estáveis. Uma amostra de maghemita sem funcionalização foir caracterizada por MET.

2.3.Síntese e funcionalização das nanopartículas de ouro com DMSA

As nanopartículas de ouro foram obtidas pelo método de redução adaptado (GAO et al., 2012). Uma solução aquosa de $HAuCl_4$ 1 x 10^{-3} $mol.L^{-1}$ foi aquecida até a ebulição. Após isso, uma solução básica de DMSA foi adicionada a solução acima e o sistema foi aquecido por mais 15 minutos. A razão molar de DMSA para ouro foi de 0,1 e 0,3, originando as amostras nomeadas de Au-10% e Au-30%. As amostras foram caracterizadas por MET.

2.4.Métodos colorimétricos

O primeiro método colorimétrico usado para determinado a quantidade de grupos tiol livre na superfície das nanopartículas preparadas foi o proposto por Ellman (Ellman, 1957), que usa o reagente *ácido ditiobis-2-nitrobenzóico* (também chamado de

DTNB). Num experimento típico, a curva de calibração foi primeiramente obtida no comprimento de onda de 315 nm usando o aminoácido cisteína como padrão, variando sua concentração entre 0 - 1,5 x 10^{-5} mol.L^{-1}. Após, a quantificação de grupos SH livre na superfície das nanopartículas foi feita misturando-se quantidades estequiométricas (volume/volume) das suspensões aquosas das nanopartículas e solução de DTNB numa cubeta, onde os sistemas foram equilibrados e a absorbância no mesmo comprimento de onda descrito acima foi registrada num espectrômetro UV-Vís.

O segundo método usado foi o descrito por Zeng e colaboradores (Zeng, et al. 2008), que usa o composto *N'N-dimetil-anilina-p-benzoquina* para detecção de grupos SH em soluções contendo aminoácidos tiolados. Seguindo o procedimento, a curva de calibração foi feita usando glutationa como padrão variando sua concentração entre 0 - 1,5 x 10^{-5} mol.L^{-1} e comprimento de onda de 582 nm. As análises dos grupos tiol nas nanopartículas foram feitas similarmente ao método de Ellman. O último método colorimétrico testado foi o descrito por Murray e colaboradores (Murray, et al. 1967) que usa *2'2-Dipiridil-dissulfeto* (chamado comercialmente de Aldrithiol) para quantificação de tiol em soluções de proteínas e outras biomoléculas. A curva foi obtida usando mais uma vez cisteína como padrão na faixa de concentração citada acima no comprimento de onda de 330 nm. As nanopartículas foram analisadas seguindo o procedimento já descrito aqui.

3. Resultados e discussão

3.1.Caracterização das amostras

A Figura 1a mostra uma imagem de microscopia eletrônica de transmissão das nanopartículas de maghemita sem funcionalização. As barras verticais na Figura 1b representam o histograma de distribuição do tamanho das partículas obtidas através das imagens de MET, onde os valores do diâmetro médio (D_{TEM}) e o desvio padrão (s) encontrados através dos dados obtidos do histograma foram de 8,5 ± 0,1 nm e 0,22 ± 0,02, respectivamente.

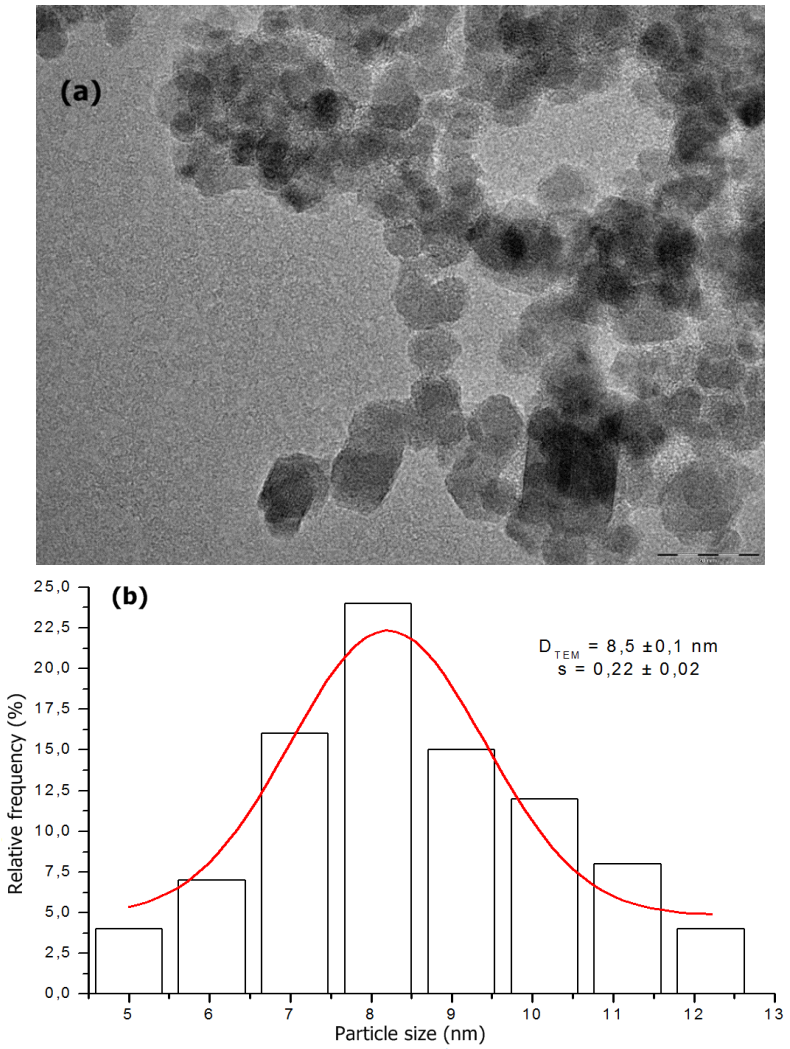


Figura 1 - (a) Micrografia obtida por MET e (b) histograma de distribuição do diâmetro das partículas referentes a amostra de maghemita sem funcionalização.

Similarmente, as Figuras 2a e 2b mostram a micrografia obtida por MET e o histograma de distribuição do diâmetro das nanopartículas de ouro (amostra Au-10%), respectivamente. O diâmetro médio para as partículas foi de 9,2 ± 0,5 nm e o desvio padrão foi de 0,25 ± 0,05.

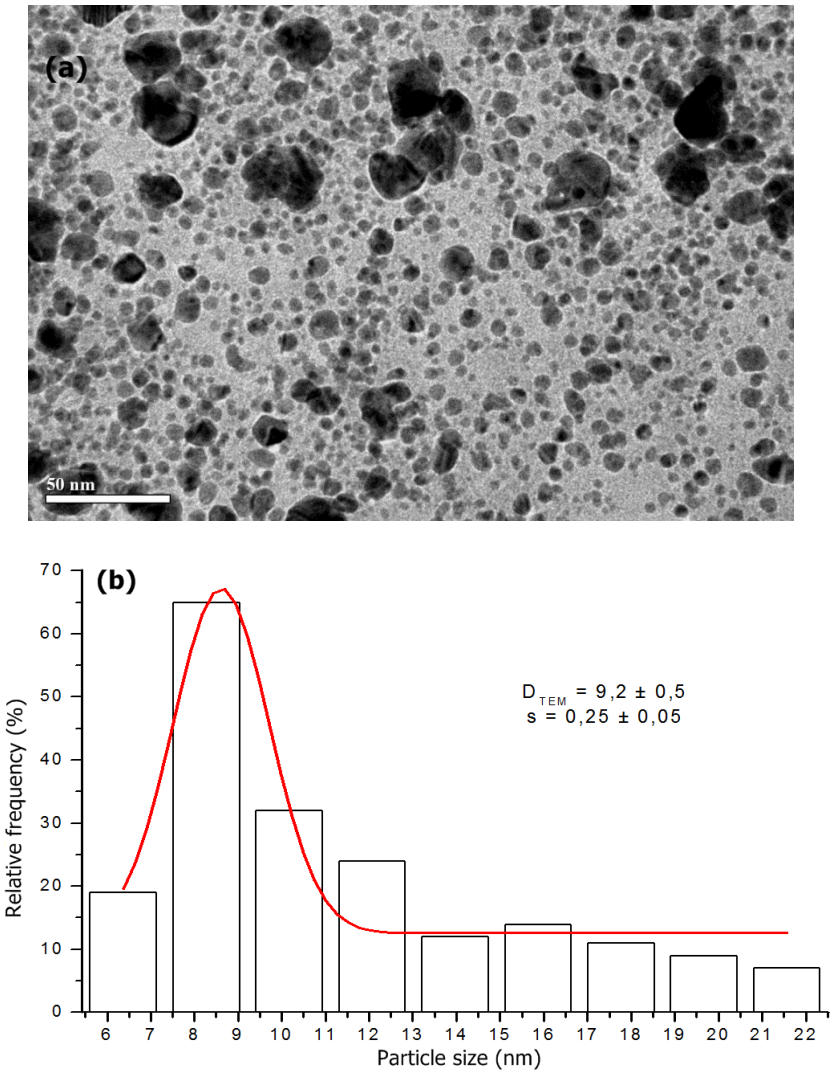


Figura 2 - (a) Micrografia e (b) histograma de distribuição do diâmetro das partículas referentes a amostra Au-DMSA 10%.

3.2.Métodos colorimétricos

A Tabela 1 apresenta as equações da reta obtidos pelo método da regressão linear para as curvas de calibração de cada método. Como pode ser observado, em todos eles a intensidade de absorbância nos comprimentos de onda selecionados variaram linearmente com a concentração do padrão.

Tabela 1 – Curva de calibração, número de ensaios, n, e coeficientes de correlação, R, para os métodos usados.

Método	Curva de Calibração	n	R
Ellman	y = 0,0149 + 88,503x	20	0,99794
Zeng	y = 0,021 – 0,00304x	20	0,99588
Murray	y = 0,02147 – 0,00297x	20	0,99905

Os espectros de absorção na região do UV-Vís obtidos nas análises das nanopartículas são mostrados na Figura 3 (algumas amostras selecionadas), onde as curvas representam a subtração entre a absorção das dispersões das nanopartículas e a absorção das mesmas dispersões das nanopartículas na presença dos reagentes colorimétricos.

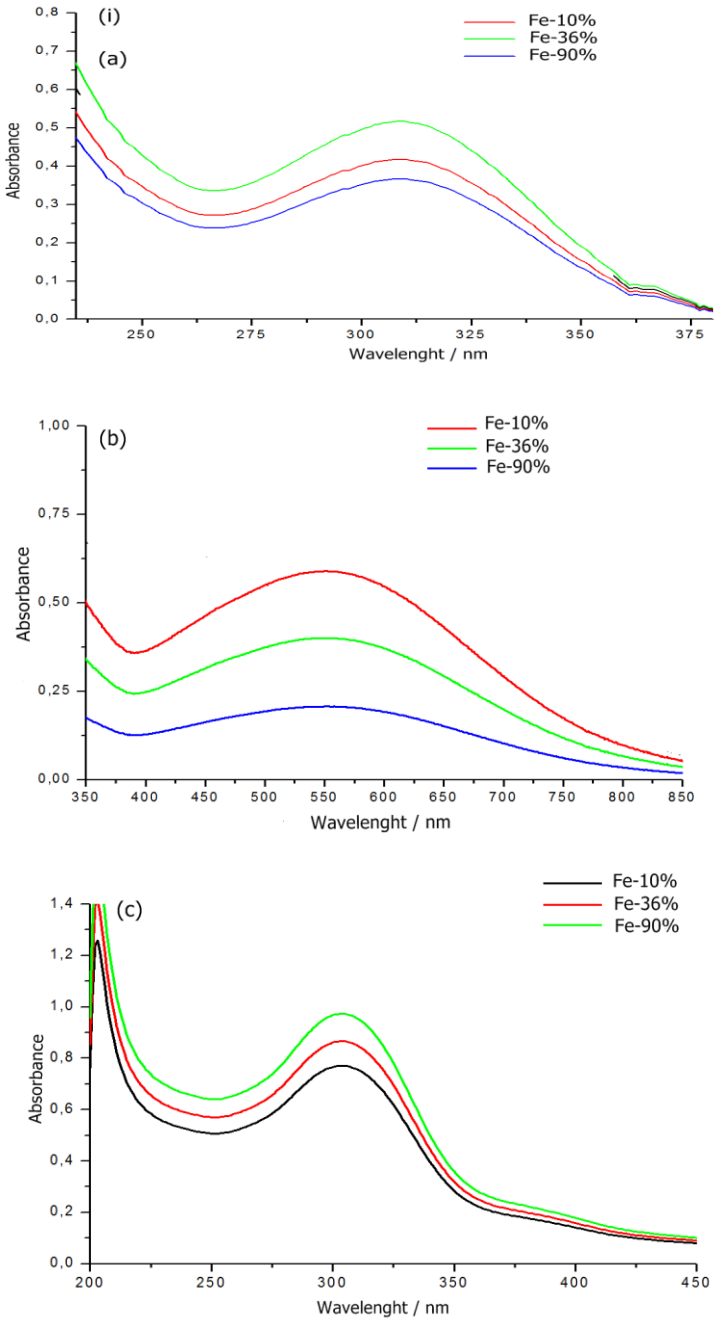


Figura 3 – Espectros de absorção na região do UV-Vis para as amostras de maghemita usando os métodos de a) Ellman b) Zeng e c) Murray.

A quantidade de grupos tiol livre na superfície das nanopartículas funcionalizadas foi determinada usando os dados de absorbância obtidos nesses espectros e as curvas de calibração, já apresentadas na Tabela 1. Os valores encontrados estão apresentados na Tabela 2, onde os resultados são expressos em mmol de SH por mg do metal precursor das partículas (nesse caso, ferro e ouro)

Tabela 2 – Resultados obtidos expressos em mmol of SH por mg do metal precursor das nanopartículas (ferro e ouro).

Amostra	Método de Ellman	Método de Zeng	Método de Murray
Fe-10%	0,234	0,252	0,251
Fe-36%	0,266	0,316	0,318
Fe-90%	0,222	0,424	0,421
Au-10%	0,298	0,262	0,261
Au-36%	0,330	0,352	0,352

Os dados apresentados na Tabela 2 mostram que os valores encontrados nos métodos de Zeng e Murray são similares e apresentaram valores de desvio padrão baixos para as análises realizadas, em oposto ao método de Ellman, que apresentou resultados diferentes dos outros dois métodos utilizados, além do que apresentou desvio padrão alto.

A reação característica do reagente de Ellman (DTNB) com compostos tiolados é mostrado na Figura 4, onde o íon cromóforo formado absorve na região do visível, dando a cor característica do método, e o outro composto formado tem uma banda de absorção forte na região ultravioleta (ELLMAN, 1959). A hipótese de que o íon cromóforo formado na reação poderia estar se ligando na superfície da nanopartícula foi considerada para justificar os resultados não lineares encontrados para o método.

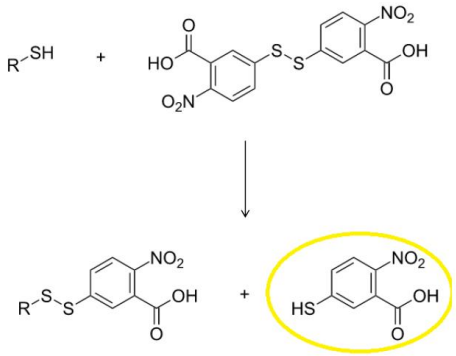


Figura 4 - Reação química entre o reagente de Ellman (DTNB) e um composto tiolado, formando o íon cromóforo, grifado em amarelo.

Tentando validar a hipótese, um experimento simples foi realizado. Primeiro, uma reação estequiométrica entre DNTB e a Cisteína foi feita e o produto em dispersão aquosa resultante foi caracterizado por espectroscopia UV-Vis. Depois, no mesmo sistema, uma pequena quantidade de cada suspensão das nanopartículas não funcionalizadas, separadamente, foi adicionada, misturada e centrifugada a 5000 rpm. O sobrenadante isolado foi analisado por espectroscopia de UV-Vis e o sólido sedimentado, após lavagem exaustiva com água deionizada, foi caracterizado por espectroscopia de FTIR. Ambos os espectros de UV-Vis e IV são apresentados na Figura 5.

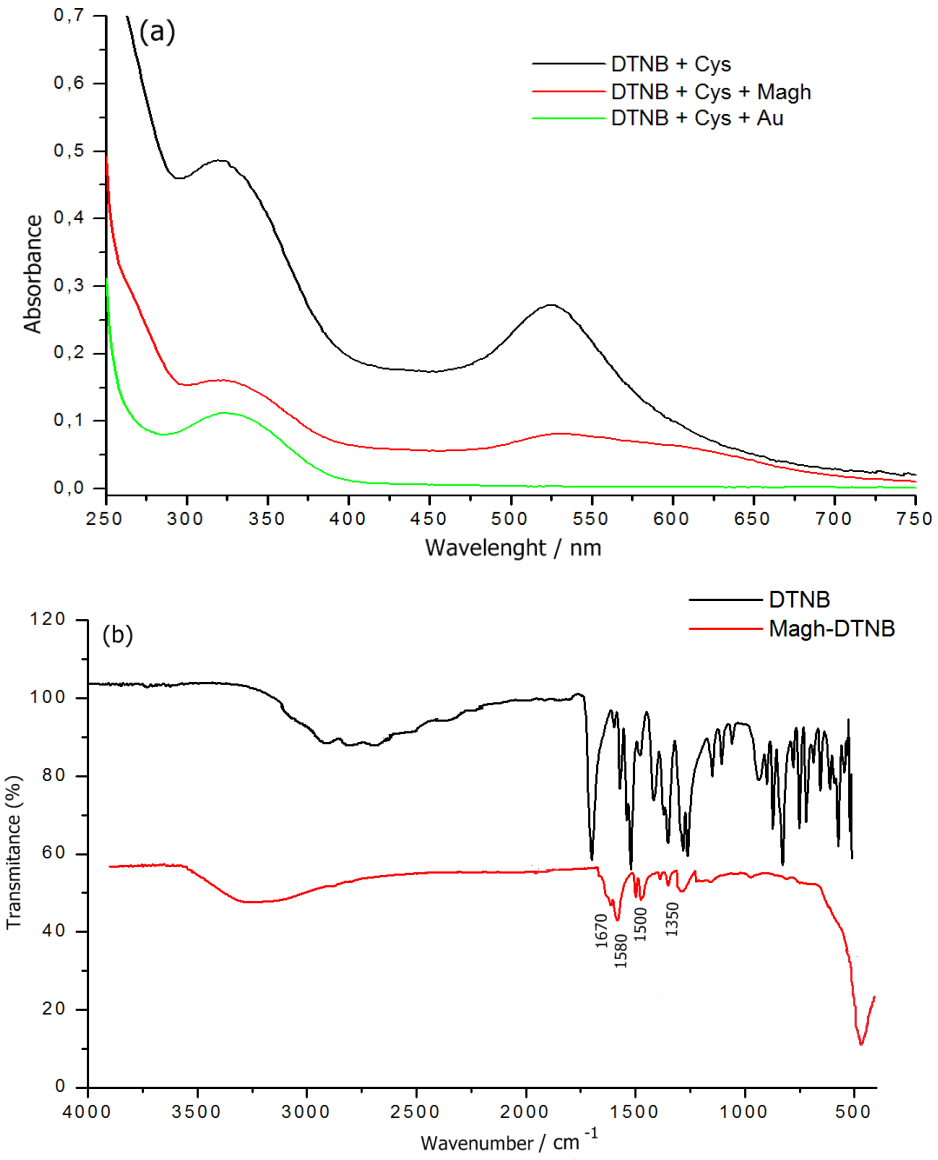


Fig. 5. (a) Espectro de absorção e (b) espectro FTIR obtidos no experiment realizado com a amostra de maghemita.

Os espectros de absorção (Figura 5a) mostram que há uma redução drástica na banda de absorção característica do cromóforo, mostrando que o íon é efetivamente ligado à superfície das nanopartículas, tendo a sua absorção alterada, o que justifica os resultados não lineares encontrados para o método de Ellman, em comparação com as outras técnicas utilizadas. Os espectros de FTIR da amostra maghemita utilizada na experiência descrita (Figura 5b) confirma tal ligação, como pode ser notado pela presença de bandas características de alguns grupos funcionais encontrados na molécula DTNB, como os picos correspondentes aos estiramentos assimétrico e simétrico do grupo COO^- (cerca de 1580 e 1670 cm^{-1}, respectivamente), a deformação axial assimétrica da ligação N-O (arbitrada os grupos NO_2) em 1350 cm^{-1}, e picos em cerca de 1500 cm^{-1}, que corresponde aos modos de vibração C = C (NAKAMOTO, 1997).

4. Conclusão

Em conclusão, observou-se que o método clássico de Ellman não mostrou resultados lineares, devido à ligação entre o íon cromóforo e a superfície das nanopartículas. A adaptação de métodos colorimétricos proposto por Zeng e Murray mostraram-se altamente seletivos na determinação de grupos SH livres na superfície das nanopartículas funcionalizadas com DMSA e outras moléculas que contêm tiol. Ambos os métodos mostram que o aumento da razão molar DMSA / metal, ferro ou ouro, a quantidade de grupos mencionados aumenta na superfície das nanopartículas. Utilizando os métodos adaptados descritos aqui, estudos continuarão, por preparação de novas amostras e fazendo os ensaios biológicos, para compreender a migração diferencial das nanopartículas citadas para o pulmão, e, com a informação exata, desenvolver novos sistemas para o tratamento de doenças locais.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem às agencias financiadoras do laboratório (Capes, Funape, CNPq), ao Programa de Iniciação Científica da UFG e ao INCT em Nanobiotecnologia pela bolsa concedida ao estudante Guilherme Augusto Ferreira.

6. Referências Bibliográficas

AZEVEDO, R. B.; VALOIS, C. R. A.; CHAVES, S. B.; Silva, JR ; GARCIA, M. P. **Leukocyte transepithelial migration in lung induced by DMSA functionalized magnetic nanoparticles**. Cell Adhesion & Migration, v. 5, p. 29-33, 2011.

ELLMAN, G. M. **Tissue sulfrhydryl groups**. Archives of biochemistry and biophysics, 82, p. 70-77, 1959.

FAUCONNIER, N.; PONS, J. N.; ROGER, J.; BEE, A. **Thiolation of maghemite nanoparticles by dimercaptosuccinic acid**. Journal of Colloid and Interface Science, v. 194, p. 427-433, 1997.

GAO J, HUANG X, LIU H, ZAN F, REN J. **Colloidal stability of gold nanoparticles modified with thiol compounds: bioconjugation and application in cancer cell imaging**. Langmuir 28, p. 4464-4471, 2012.

GUPTA, A. K.; WELLS, S. **Surface-modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: preparation, characterization, and cytotoxicity studies**. IEEE Transactions on Nanobioscience, v. 3, n. 1, p. 66-73, 2004.

ITO, A.; SHINKAI, M.; HONDA, H.; KOBAYASHI, T. **Medical application of functionalized magnetic nanoparticles.** Journal of Bioscience and Bioengineering, v. 100, n. 1, p. 1-11, 2005.

JAIN, T. K.; MORALES, M. A.; SAHOO, S. K.; LESLIE-PELECKY, D. L.;

KIM, D. K.; MIKHAYLOVA, M.; ZHANG, Y.; MUHAMMED, M. **Protective coating of superparamagnetic iron oxide nanoparticles.** Chemistry of Materials, v. 15, p. 1617- 1627, 2003.

LABHASETWAR, V. **Iron oxide nanoparticles for sustained delivery of anticancer agents**. Molecular Pharmaceutics, v. 2, n. 3, p. 194-205, 2005.

MURRAY, J. M., GRASSETI, D. R. **Determination of sulfhydryl groups with 2,2'- or 4,4'-dithiodipyridine.** Archives of biochemistry and biophysics, 119, p. 41-49, 1967.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 5. ed. New York: Wiley, 1997

PORTET, D.; DENIZOT, B.; RUMP, E.; LEJEUNE, J.; JALLET, P. **Nonpolymeric coatings of iron oxide colloids for biological use as magnetic resonance imaging contrast agents**. Journal of Colloid and Interface Science, v. 238, p. 37-42, 2001.

PRADHAN, P.; GIRI, J.; BANERJEE, R.; BELLARE, J.; BAHADUR, D. **Cellular interactions of lauric acid and dextran-coated magnetite nanoparticles.** Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v. 311, p. 282-287, 2007.

SOLER, M. A. G.; LIMA, E. C. D.; NUNES, E. S.; SILVA, F. L. R.; OLIVEIRA, A. C.; AZEVEDO, R. B.; MORAIS, P. C. **Spectroscopic Study of Maghemite Nanoparticles Surface-Grafted with DMSA**. The Journal of Physical Chemistry. A, v. 115, p. 1003-1008, 2011.

SOUSA, M. H.; RUBIM, J. C.; SOBRINHO, P. G.; TOURINHO, F. A. **Biocompatible magnetic fluid precursors based on aspartic and glutamic acid modified maghemite nanostructures**. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, v. 225, p. 67-72, 2001.

TARTAJ, P.; MORALES, M. P.; VEINTEMILLAS-VERDAGUER, S.; GONZÁLEZCARREÑO, T.; SERNA, C. J. **The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine**. Journal of Physics D: Applied Physics, v. 36, p. R182-R197, 2003.

VALOIS, C. R.A.; BRAZ, J. M.; NUNES, E. S.; VINOLO, M. A.R.; LIMA, E. C. D.; CURI, R.; KUEBLER, W. M.; AZEVEDO, R. B. **The effect of DMSA-functionalized magnetic nanoparticles on transendothelial migration of monocytes in the murine lung via a ?2 integrin-dependent pathway**. Biomaterials, v. 31, p. 366-374, 2010.

WILHELM, C.; BILLOTEY, C.; ROGER, J.; PONS, J. N.; BACRI, J. -C.; GAZEAU, F. **Intracellular uptake of anionic superparamagnetic nanoparticles as a function of their surface coating**. Biomaterials, v. 24, p. 1001-1011, 2003.

ZENG, Y., ZHANG, G., ZHANG, D. **A selective colorimetric chemosensor for thiols based on intramolecular charge transfer mechanism**. Analytica Chimica Acta, 627, p. 254-257, 2008.

ZHANG, Y.; KOHLER, N.; ZHANG, M. **Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake.** Biomaterials, v. 23, p. 1553- 1561, 2002.

Prescrições e normas jurídicas: do dever-ser ao dever-fazer[1]

Gustavo Vieira Vilar Garcia (orientando), Wagner de Campos Sanz (orientador)
Universidade Federal de Goiás — Faculdade de Filosofia
gustavovvg@gmail.com, wagnersanz@gmail.com

Resumo

De acordo com o jusfilósofo polonês Jerzy Wróblewski, ainda que Hans Kelsen tenha sido um dos primeiros pensadores do direito a fundar seu esforço teórico sobre bases filosóficas consideradas sólidas, concernentes à distinção entre ser e dever-ser, o positivismo kelseniano padece de uma importante lacuna teórica, que corresponde à ausência de caracterização da semântica peculiar da norma jurídica, qual seja o dever-ser. A descrição adequada de um fundamento semântico sensível às peculiaridades das normas, portanto, parece ser uma tarefa inconclusa, especialmente no âmbito da filosofia do direito e do positivismo jurídico. Nesse sentido, a lógica, e em especial a lógica deôntica, oferece subídios capazes de contribuir com o trabalho de elucidação do espaço ocupado pelas normas na linguagem e da função que exercem no interior de um sistema jurídico (apesar da posição cética que Kelsen assume com respeito à utilização de princípios lógicos na avaliação de normas jurídicas). Uma aguda análise do tema parecer ter sido levada a cabo pelo filósofo guatemalteco Héctor-Néri Castañeda. No longo debate acerca do *status* apropriado das normas entre as prescrições e as proposições, Castañeda as identifica como espécies do gênero *proposição* e, em seguida, procede a uma correção de natureza semântica: antes de pertencerem ao *dever-ser*, como sustentaram Kelsen e os autores clássicos da lógica deôntica, as normas deveriam ser compreendidas sob a forma semântica do *dever-fazer*, em atenção à natureza eminentemente prática da atividade prescritiva, que se dirige a agentes e às ações por estes levadas a efeito.

Palavras-chave: Kelsen, Castañeda, dever-ser, dever-fazer, semântica.

1. INTRODUÇÃO

O trabalho desenvolvido, intitulado "*Prescrições e normas jurídicas: do dever-ser ao dever-fazer*" busca conjugar aportes teóricos oriundos da lógica deôntica, mais

[1] Revisado pelo orientador.

especificamente da lógica da ação na versão proposta pelo filósofo guatemalteco radicado nos Estados Unidos Héctor-Neri Castañeda[2], e do positivismo normativista de Hans Kelsen, enquanto modelo teórico privilegiado do direito como sistema de normas.

O ponto de partida de nossa investigação pode ser localizado em uma insuficiência conceitual latente ao pensamento kelseniano (WRÓBLEWSKI, 1981, p. 510). Ainda que o autor vienense tenha pretendido elaborar uma ciência que tivesse por objeto a norma como elemento central e unidade mínima do ordenamento jurídico, a caracterização que a toma como pertencente ao domínio do *dever-ser* se encerra, na obra de Kelsen, na afirmação de que sua distinção do campo cognitivo do *ser* não poderia ser mais aprofundada: diz Kelsen que de algo dever ser não se segue que seja e de algo ser não se segue que deva ser (KELSEN, 2006, p. 06).

Esse limite, indicado com clareza pelo jusfilósofo polonês Jerzy Wróblewski, parece apontar de maneira insistente para a necessidade de aprofundar-se o estudo de uma semântica específica de normas, que possa ligar-se consistentemente aos problemas peculiares e aos caracteres fundamentais do ordenamento jurídico e da normatividade (imperatividade, completude, regras de reconhecimento, etc.). No contexto em que a empregamos, semântica deve ser entendida como a teoria que trata do significado dos elementos de uma linguagem (CF. BRANQUINHO; MURCHO; GOMES, 2006, p. 695). Uma semântica de normas é, portanto, o estudo da estrutura de significação das normas.

Tal pretensão, contudo, parece esbarrar numa ressalva apontada pelo próprio Kelsen e endereçada à tentativa de aproximação entre lógica e direito: segundo o autor, não seria possível aplicar princípios lógicos aos ordenamentos jurídicos. A razão que Kelsen declina para justificar seu argumento é a de que normas, ao contrário de proposições, não seriam falsas ou verdadeiras. No limite, as normas jurídicas poderiam receber a qualificação de válidas ou inválidas, conforme tenham sido promulgadas pela autoridade competente nos termos do procedimento legislativo adequado, o que sob nenhum aspecto guardaria relação com a característica bivalência das proposições.[3]

[2] Nascido em San Vicente Zacapa, Guatemala, Héctor-Neri Castañeda iniciou seus estudos filosóficos na Universidade de São Carlos, na Guatemala. Nos Estados Unidos obteve o título de Ph.D. em filosofia pela Universidade de Minnesota, sob a orientação de Wilfrid Sellars. Lecionou em várias universidades, dentre elas: Wayne State University, Oxford University, Indiana University, University of Texas. Foi fundador da revista filosófica *Nôus*. Faleceu em 1991. (RAPAPORT, 2005).

[3] Acerca dessa relação Kelsen afirma o seguinte: "Sobre esta suposição do paralelo de valor-validade e valor-verdade baseia-se em grande parte a doutrina de que princípios lógicos são aplicáveis igualmente – ou de modo

Outro problema que se pode associar a esse último é a relação necessária que se estabeleceu entre lógica e proposição. A lógica formal desde Frege consolidou-se como o caminho natural do desenvolvimento da disciplina ao incorporar a linguagem típica da matemática e ao assumir problemas matemáticos como pontos de partida para a investigação da linguagem. No campo linguístico, a proposição passou a ser vista como a unidade básica da atividade assertiva e o material de trabalho primário da lógica. Visto que as proposições são relativas a estados de coisas, uma parte significativa da linguagem ordinária não pode ser incorporada à teoria lógica ou o foi com grandes dificuldades, trazendo comumente à tona inúmeras inconsistências técnicas e dando origem a paradoxos linguísticos.

A lógica deôntica surge, nesse cenário, como possibilidade de compreensão sistemática das expressões prescritivas, a exemplo de imperativos, ordens e requisições, bem como de normas qualificadas pelo pertencimento aos mais diversos ordenamentos, tais como as normas da moral, as regras de um jogo qualquer e, finalmente, as normas jurídicas.

Qual poderia ser, nesse quadro amplo de categorias prescritivas que se encontram sob as lentes analíticas da lógica deôntica, o possível contributo dirigido à elucidação da forma lógica das normas? Como preservar a relativa autonomia do direito em face de abordagens que parecem não considerar a existência de princípios gerados pelo próprio ordenamento para fazer frente aos conflitos normativos e às suas zonas lacunosas (caso a autonomia seja realmente algo que mereça ser buscado)?

Tomando certos cuidados quanto à delimitação de nosso objeto de pesquisa, acreditamos poder afastarmo-nos da crítica cética kelseniana. Isso porque a pretensão do trabalho cinge-se à localização do espaço adequado da descrição que Kelsen nos oferece da norma jurídica entre a dicotomia ser-dever (*sein-sollen*), e às possíveis contribuições teóricas que lhe podem ser dirigidas a partir do modelo semântico da lógica da ação de Castañeda, o dever-fazer (*ought-to-do*).

A imprecisão do fundamento semântico da norma em Kelsen nos autoriza a buscar modelos comparativos nas lógicas normativas e, quanto ao sistema lógico de

análogo – tanto a enunciados quanto normas. Mas este paralelo não existe. Sobretudo opõe-se-lhe que a relação entre o ato com o qual é estabelecida a norma e a validade da norma é fundamentalmente diferente da relação entre o ato com o qual é feito o enunciado e a verdade do enunciado." (KELSEN, 1986, p. 215)

Castañeda aqui admitido, a assentar a experiência jurídica sobre o solo filosófico da razão prática, do qual exsurge seu modelo semântico do dever-fazer (*ought-to-do*).

2. METODOLOGIA

A pesquisa foi conduzida especialmente em nível teórico, a partir da revisão bibliográfica de obras pertinentes ao tema; livros, periódicos, relatórios, teses, dissertações, artigos de revistas especializadas e materiais divulgados pela internet.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Kelsen e a dicotomia ser-dever

As expressões do dever que traduzem imperativos, prescrições e regras de conduta recebem, no âmbito de um ordenamento de direito, o peculiar status de normas jurídicas. Tomando essa categoria de prescrição como objeto central de sua investigação, o jurista austríaco Hans Kelsen pretendeu dotar de cientificidade o estudo das normas, objetivo que culminou na publicação em 1934 de sua célebre *Teoria Pura do Direito.* A obra seminal do representante maior do positivismo jurídico foi, segundo Jerzy Wróblewski (1981), a primeira a assentá-lo sobre bases filosóficas relativamente sólidas, identificadas com a dicotomia entre ser e dever, que está na raiz do pensamento positivista:

> The dualism or dichotomy of the Is and the Ought is basic for Kelsen's normativism. This dualism is not only proclaimed as one of the foundations of the pure theory but also in fact is highly relevant in normativistic thinking. It is, thus, not a decoration making the positivistic antecedents more philosophic, but is the real basis of normativism.[4] (WRÓBLEWSKI, 1981, p. 509)

Uma caracterização bastante remota e pouco desenvolvida da dicotomia já aparece no *Treatise of Human Nature*, de David Hume, sob a forma do que se convencionou chamar de "Lei de Hume"[5] ou tese da falácia naturalística. Hume observa intrigado que diversos autores de seu tempo se valiam de premissas ligadas por cópulas do verbo ser para

[4] "O dualismo ou dicotomia do Ser e do Dever é básico para o normativismo de Kelsen. Esse dualismo é não somente proclamado como um dos fundamentos da teoria pura, mas é também, de fato, altamente relevante no pensamento normativista. Ele não é, então, um elemento decorativo que torna os antecedentes positivistas mais filosóficos, mas é a base real do normativismo." (tradução nossa).

[5] Na sua Teoria Geral das Normas, Kelsen transcreve integralmente a passagem caracterizada como a "Lei de Hume", no contexto em que combate diversas tentativas de redução do dever-ser ao ser e enumera algumas definições da dicotomia. Ver, para tanto, KELSEN, 1986, p. 108-109.

formular conclusões que tomavam cópulas do tipo ‘deve’ ou ‘não deve’, a fim de prescrever uma regra de conduta. Haveria, então, um erro lógico em derivar de premissas factuais, pertencentes à ordem do ser, conclusões envolvendo um dever, sem que existisse no silogismo ao menos uma premissa que autorizasse a inclusão do dever na conclusão (HUME, 2009). Ainda que Hume tenha visado os moralistas a ele contemporâneos através da crítica da forma lógica empregada em seus raciocínios, de maneira reflexa o autor sugere a existência de dois modos específicos do pensamento, um deles dirigido à asserção por meio do emprego da cópula ‘ser’ e outro à prescrição de condutas, com a utilização da cópula ‘deve’.

A mais notável consequência da dicotomia parece ser a criação de uma barreira inferencial (GENRO, 2007, p. 84) que distingue e separa essas duas dimensões aparentemente bem organizadas do pensamento. Na dimensão que chamaremos *cognitiva* o pensamento se volta ao conhecimento e à descrição dos fatos do mundo, preocupando-se com a verdade ou falsidade das asserções que se põe a descrevê-lo — a atitude tipicamente científica do pensamento. Naquela que será tratada como dimensão *normativa*, os enunciados pretendem determinar cursos de ação a seus destinatários, indicando ou exigindo como se deveriam conduzir agentes determinados ou indeterminados — o campo característico da moral e do direito.

A adesão de Kelsen à tese da falácia naturalística resta indubitável a partir da leitura da Teoria Pura. Após discorrer brevemente sobre a separação necessária entre a norma como dever-ser da conduta humana e a própria conduta como dimensão do ser, que se pode ou não adequar ao padrão normativo, Kelsen se aproxima do tema:

> A distinção entre ser e dever-ser não pode ser mais aprofundada. É um dado imediato da nossa consciência. Ninguém pode negar que o enunciado: tal coisa é – ou seja, o enunciado através do qual descrevemos um ser fático – se distingue essencialmente do enunciado: algo deve ser – com o qual descrevemos uma norma – e que da circunstância de algo ser não se segue que algo deva ser, assim como da circunstância de que algo deve ser não segue que algo seja. (KELSEN, 2003, p. 06)

Em apoio à sua proposta, o autor aponta duas versões do dualismo nas primeiras duas notas do capítulo inicial da Teoria Pura do Direito. Tratam-se da ‘noção simples’ de George Edward Moore segundo a qual a ideia de bom (e, diria Kelsen, também a de dever-ser) não é definível e a versão da falácia proposta por Arthur N. Prior: “é impossível deduzir uma conclusão ética de premissas inteiramente não-éticas”. (Idem, Ibidem, p. 399).

O conceito kelseniano, contudo, nos abandona à própria sorte ao resignar-se a não aprofundar a distinção entre ser e dever-ser e ao exigir que identifiquemos intuitivamente sua diferença como "dado imediato da nossa consciência"[6]. Na *Teoria Geral das Normas* Kelsen se vale da ideia de dever-ser como *categoria original* derivada da obra de Georg Simmel e mantém sua posição de que não é possível propor definições de categorias originais (KELSEN, 1986, p. 03). Na mesma obra Kelsen reitera de modo quase literal o posicionamento exposto na Teoria Pura, afirmando aqui que a distinção "é dada, espontaneamente, à nossa consciência" (Idem, Ibidem, p. 77). Se esse é o substrato filosófico que sustenta o positivismo, é ao menos curiosa[7] a recusa de Kelsen em oferecer uma concepção adequada da separação entre os domínios cognitivo e normativo do pensamento, resguardado pela "noção simples" de Moore ou pela "categoria original" de Simmel.

Se em Kelsen não encontramos uma descrição suficiente da estrutura semântica das normas jurídicas teremos que buscá-la em outra parte, tendo em mente a necessária dicotomia entre ser e dever da qual o autor nos adverte amiúde. Nesse sentido, o estudo sistemático das relações lógicas entre normas deve-se, sobretudo, ao grande desenvolvimento da lógica deôntica e de sua relativa autonomia alcançada diante da lógica modal.

Ainda que Kelsen conhecesse o tratamento dado aos enunciados prescritivos pela lógica deôntica, como demonstra o debate travado com o lógico alemão Ulrich Klug, entre 1959 e 1965, o autor afastou a utilização de princípios lógicos da avaliação de normas jurídicas, porque estas, ao contrário das proposições, não expressariam conteúdos passíveis de verificação segundo sua verdade ou falsidade (KELSEN; KLUG, 1984)[8]. Nesse sentido, é notável que boa parte da *Teoria Geral das Normas* seja dedicada a investigar o problema da aplicabilidade de princípios lógicos às normas e a identificar os limites de uma abordagem

[6] Wróblewski identifica esse problema de definição na Teoria Pura, argumentando ser necessário aprofundar a abordagem da dicotomia em Kelsen se se quiser compreender seu alcance para o normativismo: "Any analysis of the Is-Ought dichotomy within the framework of Kelsen's normativism is difficult because of the lack of any definition of both concepts involved in it: *Sein* as well as *Sollen* are thought of as primary, undefined concepts or categories […]. One has, therefore, to identify the meaning of the dichotomy in question from the context of its use." (WRÓBLEWSKI, 1981, p. 510). "Qualquer análise da dicotomia Ser-Dever no âmbito do normativismo de Kelsen é difícil em razão da ausência de qualquer definição de ambos os conceitos envolvidos: *Sein* assim como *Sollen* são tomados como conceitos ou categorias primárias, indefinidas [...]. Deve-se, então, identificar o significado da dicotomia em questão através de seu contexto de utilização." (tradução nossa).

[7] Da expressão se vale Eduardo Ramalho Rabenhorst quando trata da ausência de definição precisa dos termos ser e dever na obra kelseniana (2005).

[8] É o que Kelsen expressa sumariamente no seguinte fragmento, extraído das correspondências que manteve com Klug: "Desde que uma norma – como ordem, permissão, autorização – não pode ser verdadeira nem falsa e os princípios lógicos – segundo uma concepção tradicional – somente se aplicam a afirmações que podem ser verídicas ou inverídicas, é de admitir-se que o emprego de princípios lógicos, com relação a normas, só é possível de modo indireto ou *per analogiam*." (KELSEN; KLUG, 1984, p. 10, grifo do autor).

dos enunciados de dever-ser, qualificados pelo pertencimento a um ordenamento de direito, a partir de um arcabouço teórico-lógico que parece não poder prescindir de valores de verdade.

Em nosso trabalho a específica questão relativa ao estudo lógico do direito se restringirá ao campo mais preciso da investigação dos modos empregados na qualificação de normas — o *dever-ser* (*ought-to-be*) no sistema deôntico padrão e o *dever-fazer* (*ought-to-do*) no sistema de Hector-Néri Castañeda — e às semânticas deles derivadas.

3.2 Lógica deôntica e semântica de mundos deonticamente perfeitos

Apesar da advertência de Kelsen, a lógica normativa ou lógica deôntica e, em específico, a abordagem lógica das normas, conheceu um formidável desenvolvimento ao longo do último século, sobretudo a partir dos trabalhos de Georg Henrik von Wright e da sistematização das modalidades de obrigação, proibição e permissão verificáveis em um sistema normativo qualquer.

Nos primeiros anos de seu desenvolvimento a lógica deôntica se apresentava como mera variação sintática da lógica modal alética. Isso se torna claro a partir da comparação entre os operadores modais de necessidade (necessário *p*, $\Box p$) e possibilidade (possível *p,* $\Diamond p$) e os operadores deônticos de obrigação (obrigatório *p*, O*p*) e permissão (permitido *p*, P*p*). Para atestar essa semelhança vejamos, respectivamente, os esquemas modal e deôntico de definição a seguir[9].

Tomado o operador de necessidade ($\Box$) como primitivo, valem as seguintes relações entre operadores modais:

É possível que p = $\sim\Box\sim$p
É impossível que p = $\Box\sim$p
Não é necessário que p = $\sim\Box$p
É contingente que p = $\sim\Box$p $\wedge\sim\Box\sim$p

Por seu turno, ao tomarmos o operador de obrigação (O) como primitivo, valem as seguintes igualdades:

[9] Trata-se de uma adaptação da versão de McNamara (McNAMARA, In: GABBAY; WOODS, 2006, p. 197 et seq.).

É permitido que p = ~O~p
É proibido que p = O~p
Pode-se omitir p = ~Op
É opcional que p = ~Op ∧~O~p

Uma rápida comparação entre as sentenças produzidas a partir dos operadores primitivos de cada sistema permite estabelecer uma equivalência direta entre os conjuntos de definições. Obrigação (O) e necessidade (□) afiguram-se mutuamente substituíveis na construção dos operadores sentenciais. Com efeito, basta trocar □ por O e teremos todas as fórmulas básicas do esquema deôntico tradicional.

A relação direta aqui evidenciada parece conduzir à conclusão de que □p ≡ Op e ◊p ≡ Pp. A equivalência, no entanto, é falsa. E por qual razão a analogia entre necessidade-obrigatoriedade e possibilidade-permissão revela-se falsa? Ora, algumas lógicas modais aléticas consideram os seguintes princípios como válidos:

Se p é necessário, então p é verdadeiro (□p→p);
Se p é verdadeiro, então p é possível (p→◊p).

Caso a lógica deôntica se mostrasse uma mera variação terminológica da lógica modal, os seguintes princípios deônticos também deveriam ser válidos:

Se p é obrigatório, então p é verdadeiro (e a obrigação será cumprida) (Op→p);
Se p é verdadeiro (e, portanto, cumprido), então p é permitido (p→Pp).

Ocorre que essas formulações deônticas são claramente inverídicas. Se uma conduta é obrigatória, isso não significa que a obrigação não possa ser violada. Por outro lado, se uma conduta se realiza, daí não se extrai que seja permitida.

O desenvolvimento da lógica deôntica dá-se a partir da demarcação de seus objetos e de sua caracterização como lógica de sentenças normativas, tendo ocorrido no rastro da elaboração do sistema-padrão deôntico (*Standard Deontic Logic* – SDL) por von Wright e por diversos lógicos, a exemplo de Stig Kanger, Saul Kripke e Jaakko Hintikka.

O sistema-padrão fundamenta-se numa semântica do dever-ser específica, derivada do modelo de mundos possíveis da lógica modal. Trata-se da semântica dos mundos deonticamente perfeitos, cujos caracteres gerais apresentaremos de maneira breve. Antes, porém, seguindo a forma de exposição que já utilizamos, iremos oferecer um pequeno comentário acerca do modelo de mundos possíveis em lógica modal, que servirá de base para a explanação da semântica dos mundos deonticamente perfeitos[10].

Já vimos que os principais operadores da lógica modal são o operador de necessidade (□) e o operador de possibilidade (◊). Tomada uma proposição qualquer 'p', □p será verdadeiro se p *for verdadeiro em quaisquer situações*. Por seu turno, ◊p será verdadeiro se p *for verdadeiro em ao menos uma situação*. Essa relação em linguagem lógica deu origem à semântica dos mundos possíveis, que nada mais é que a inserção de *situações* ou *mundos* que satisfaçam uma proposição *necessariamente* ou *possivelmente*. Vejamos o exemplo que Nelson Gonçalves Gomes nos oferece:

> Seja L [em nosso caso, □] o operador modal que representa *É necessário que...* e seja a expressão *É possível que...* simbolizada por M [em nosso caso, ◊]. Se *q* significa que 2 + 2 = 4, então L*q* [□*q*] e M*q* [◊*q*] devem ser lidas como *É necessário que 2 + 2 = 4* e *É possível que 2 + 2 = 4*, respectivamente. Se a frase L*q* [□*q*] for verdadeira, então *q* deve ser verdadeira em todos os mundos possíveis. Portanto, como a fórmula 2 + 2 = 4 jamais é falsa, L(2 + 2 = 4) [□(2 + 2 = 4)] é uma frase verdadeira. Por sua vez, M*q* [◊*q*] será uma frase verdadeira se *q* for verdadeira em ao menos um mundo possível. Nesses termos, visto que a frase *A malária está erradicada* talvez venha a ser verdade, algum dia, a asserção M(*A malária está erradicada*) [◊(*A malária está erradicada*)] é uma frase verdadeira. (GOMES, 2008, p. 10, apontamentos nossos e grifos do autor)

Como observamos, não é possível falar em equivalência entre operadores modais e deônticos, o que não quer dizer que não existam diversas relações entre ambos. Uma das mais notáveis é precisamente a derivação que se nota da semântica dos mundos possíveis para a particular semântica do SDL, baseada no conceito de mundo deonticamente perfeito.

Seja 'O' o operador deôntico de obrigação e 'P' o operador deôntico de permissão. Dada uma proposição 'p' qualquer temos:

Op (É obrigatório p) e

[10] Nossa exposição da semântica dos mundos deonticamente perfeitos do sistema-padrão é uma adaptação da versão de Gomes (GOMES, In: KRITERION, 2008, p. 9-38).

Pp (É permitido p)

Naturalmente as obrigações formuladas por um sistema normativo qualquer nem sempre se verificam no mundo real, isto é, não são invariavelmente cumpridas pelos agentes a que se destinam. Também as condutas levadas a cabo no mundo não são exatamente aquelas autorizadas ou permitidas por um dado ordenamento, razão da invalidade das formulações Op→p e p→Pp em lógica deôntica, como tivemos a ocasião de observar.

Seja m_0 o mundo real e M o conjunto dos mundos alternativos deonticamente perfeitos com respeito ao mundo real, tal que M: $\{m_1, m_2, m_3, ...\}$. Desse modo, cada m_i será um mundo alternativo ao mundo real em que todas as obrigações formuladas em m_0 são cumpridas. Esse constructo é necessário para sustentar o cumprimento de obrigações sob um padrão ideal, em que efetivamente agentes aderem às ordens que lhes são dirigidas.

A partir da ideia de mundos alternativos, pode-se sem dificuldade definir as noções de obrigação e permissão. Assim Op será verdadeiro se em todos os mundos do conjunto M — os mundos deonticamente perfeitos com respeito à m_0 — p for verdadeiro (e, portanto, p se realizar em todos os mundos de M) e Pp será verdadeiro se p for verdadeiro em ao menos um dos mundos deonticamente perfeitos relativos a m_0 (e, portanto, p se realizar em ao menos um dos mundos de M).[11]

O SDL e sua semântica de utopias é, segundo McNamara "the most cited and studied system of deontic logic, and one of the first deontic logics axiomatically specified."[12] (McNAMARA, 2006, p. 207). Apesar disso, a lógica deôntica baseada no SDL foi notadamente responsável pelo surgimento de inúmeras inconsistências contraintuitivas, conhecidas como paradoxos[13], que sinalizavam a existência de diversas dificuldades a serem

[11] Ao expor à sua maneira o modelo de mundos deonticamente perfeitos, Nelson Gonçalves Gomes demonstra como há uma dimensão prática da idealização de mundos em que são cumpridas obrigações e verificadas permissões, que pode ser diretamente extraída da semântica da lógica deôntica padrão: "Quando um legislador apresenta um projeto de lei, ele lança mão dos conceitos ora definidos, na medida em que tenta provar que haveria progresso se as obrigações ali propostas *fossem*, de fato, realizadas. Se ele propõe uma permissão, deve mostrar que esta nada envolve de ilegal. Esses modos de falar recorrem a idealizações que são mundos deonticamente perfeitos." (Idem, Ibidem, p. 16, grifo do autor);

[12] "o mais citado e estudado sistema de lógica deôntica, e um dos primeiros a ser axiomaticamente especificado." (tradução nossa).

[13] Branquinho, Murcho e Gomes entendem que um paradoxo lógico "consiste em duas proposições contrárias ou contraditórias derivadas conjuntamente a partir de argumentos que não se revelaram incorretos fora do contexto particular que gera o paradoxo. Ou seja, partindo de premissas geralmente aceitas e utilizadas, é (pelo menos aparentemente) possível, em certas condições específicas, inferir duas proposições que ou afirmam exatamente o inverso uma da outra ou não podem ser ambas verdadeiras." (BRANQUINHO; MURCHO; GOMES, 2006, p.

desvendadas sobre a base supostamente consistente do sistema-padrão. O problema dos paradoxos, entretanto, não será tratado nesse trabalho e a menção a eles presta-se tão-somente a introduzir as preocupações que cercavam a proposta de Castañeda de uma semântica não-padronizada (*non-standard*), fundada no dever-fazer (*ought-to-do*).

3.3 Dever-fazer e razão prática em Castañeda

Para além do surgimento de paradoxos derivados das conclusões inverossímeis a que se pode chegar por meio de fórmulas bem formadas (fbf_s) do sistema deôntico padrão, a semântica de mundos deonticamente perfeitos suscitou a crítica de Hector-Néri Castañeda em relação a outro aspecto bem definido, qual seja a semântica padrão do dever-ser.

Já tivemos a oportunidade de considerar que a categoria do dever-ser esteve sempre ligada à forma das prescrições, não só do direito, mas, sobretudo, da moral. Vimos também que Hume já observara a dicotomia ser-dever na linguagem ordinária, quando identificara a confusão no uso das cópulas próprias a cada uma delas e, ainda que indiretamente, distinguira o dever-ser como o modo adequado da linguagem de conduta, concebendo uma primitiva formulação da falácia naturalística. Foi natural a Kelsen e aos pensadores do direito, portanto, tomar indistintamente o dever-ser como configuração básica da norma, sobretudo em razão da consagrada oposição do dever à forma lógica do ser, tão cara ao normativismo kelseniano. O mesmo ocorreu com os primeiros teóricos da lógica deôntica, que formularam o sistema-padrão sobre o solo semântico do dever-ser.

Segundo Castañeda, uma semântica derivada do dever-ser não está apta a integrar agentes e ações nos enunciados dela decorrentes e, portanto, não se presta a formular regras de conduta ou prescrições e a orientar o pensamento prático. No limite o dever-ser é capaz de formular desejos e utopias em termos gerais, sem poder dirigir-se à conduta de agentes:

> The primary contrast in the above conception of deontic logic [abordagem padrão da lógica deôntica, *standard approach*] is the contrast between what is and what ought-to be. The idea of *who* is to realize the obligation is not considered, so that the approach can handle very nicely genuinely impersonal statements like "There ought to be no pain", meant merely to articulate something about the universe, which is not conceived as an agent but simply as the totality of all existents and all facts. This impersonal statement tells of what would be a necessary lack in every universe, and neither attributes responsibility for any action to somebody nor demands any action from anybody: the statement is oriented to no agents: it has the structure of the

573).

> statement "It is (would be) desirable that there were no pain."[14] (CASTAÑEDA, 1970, p. 450, nota explicativa nossa e grifo do autor)

Diante da aparente insuficiência do dever-ser, Castañeda propõe uma retificação de fundo semântico a fim de que se substitua o modelo padrão por uma semântica da ação sob a forma do *dever-fazer* (*ought-to-do*). Castañeda não se afasta do sistema de mundos possíveis, mas ao contrário do conceito de mundos deonticamente perfeitos nos quais as obrigações são inalteravelmente cumpridas, propõe o constructo teórico dos mundos práticos alternativos (*alternative practical worlds*). Em seu sistema, não se exige que as proposições às quais se alocam operadores deônticos sejam verdadeiras, ou seja, que venha a ocorrer o estado de coisas ali designado, mas tão-somente que as prescrições derivadas de um ordenamento de normas qualquer sejam necessariamente prescritas a agentes:

> In earlier papers I have adopted a non-standard view of deontic logic. That view focuses on the agential ought statements, and is based on a generalization of the common structure underlying all processes of legislating or rule-making […]. Thus, a piece of rule-making confronts the real world, with all facts and laws of nature, with other possible practical worlds in which the same facts and laws of nature hold, but different decisions and orders take place: the making of a set of rules is, at bottom, nothing more (on this analysis) than the adoption of a system S_β of alternative *practical* worlds which share both the same facts and the same set β of prescriptions or commands. A contingent prescription or command (with respect to S_β) is one that holds in some worlds but fails to hold in other worlds of S_β. What is obligatory with respect to the legislating or enacting of β, i.e., what is obligatory$_\beta$ is what is 'commanded' in every world of S_β: What is obligatory is, thus, in a sense, what is necessarily prescribed or commanded.[15] (Idem, Ibidem, p.451, grifos do autor)

A semântica do dever-fazer em Castañeda exige a construção de sentenças que tenham a presença de agentes e ações a eles atribuídas prescritivamente, ou seja, exige o uso

[14] "O contraste primário na concepção de lógica deôntica acima é o contraste entre o que é e o que deve ser. A ideia de *quem* deve realizar a obrigação não é considerada, de forma que a abordagem pode lidar apropriadamente com asserções impessoais como 'Não deveria haver dor', significando meramente a articulação de algo acerca do universo, que não é concebido como agente, mas simplesmente como a totalidade das coisas que existem e de todos os fatos. Essa asserção impessoal expressa o que seria uma ausência necessária em todo o universo, e tanto não atribui responsabilidade por qualquer ação a alguém, quanto não exige nenhuma ação de ninguém: a asserção não é orientada a nenhum agente: ela tem a estrutura da asserção 'Seria desejável que não houvesse dor'." (tradução nossa).

[15] "Em artigos recentes adotei uma visão não-padronizada da lógica deôntica. Essa visão direciona seu foco para asserções de dever agenciais, e está baseada em uma generalização da estrutura comum subjacente a todos os processos legislativos ou de elaboração de leis. [...] Assim, um fragmento legislativo confronta o mundo real, imbuído de todos os seus fatos e leis da natureza, com outros possíveis mundos práticos em que os mesmos fatos e leis da natureza se mantém, mas diferentes decisões e ordens tomam lugar: a elaboração de um conjunto de regras é, no fundo, nada mais (nesta análise) que a adoção de um sistema S_β de mundos *práticos* alternativos, que compartilham os mesmos fatos e o mesmo conjunto β de prescrições ou comandos. Uma prescrição ou comando contingente (com respeito a S_β) é aquele que se mantém em alguns mundos, mas deixa de se manter em outros mundos de S_β. O que é obrigatório com respeito à legiferação ou legalização de β, i.e., o que é obrigatório$_\beta$ é aquilo que é 'comandado' em todos os mundos de S_β: O que é obrigatório é, então, em certo sentido, o que é necessariamente prescrito ou comandado." (tradução nossa)

de cópulas que evidenciem seu caráter normativo. Isso não quer dizer, entretanto, que os agentes devam explicitamente integrar o conteúdo das normas que lhes são dirigidas. O que se deve exigir de uma norma é que constitua um espaço de incidência capaz de abranger agentes, determinados ou não, cuja conduta se pretende orientar:

> Now, an important feature of certain deontic statements is that they involve an action and an agent and demand that the agent do, or fail to do, the action in question. Many an ordinary statement that is apparently agentless demands an action; e.g., "Cars ought to have plates" demands that some agents put plates on cars; it is short for a statement to the effect that people in a relationship R of a certain kind to a car (ownership, usership, managership, etc.) put plates on that car. The statement supports imperatives of the form "If you are R to that car, put plates on it" That statement contrasts very sharply with the agentless statement "There ought to be no pain" […]. In short, deontic statements divide neatly into: (i) those that involve agents and actions and support imperatives, and (ii) those that involve states of affairs and are agentless and have by themselves nothing to do with imperatives. The former belong to what used to be called the *Ought-to-do* and the latter to the *Ought-to-be*. Our non-standard approach, then, is not suited for the Ought-to-be; but, we hope, it is adequate for the Ought-to-do.[16] (Idem. Ibidem, p. 452, grifos do autor)

A proposta de Castañeda, então, se insere no panorama teórico da lógica normativa da ação, fundada na semântica do dever-fazer (*ought-to-do*). O amplo sistema filosófico do autor parte da constatação da prevalência ontológica do pensamento teórico, da razão pura, sobre o pensamento prático (*practical thinking*). O homem, entretanto, não é apenas uma bem construída máquina de formular hipóteses; antes, o que com mais veemência parece caracterizar a razão humana é sua aptidão para a ação concreta, para a tomada de decisões, ainda que essa função esteja em íntima conexão com a índole investigativa e eminentemente proposicional do pensamento:

> […] there is an obvious sense in which purely contemplative thinking and its contents have an ontological primacy over practical thinking and its contents. This is the sense in which there is no inconsistency in the supposition that there might be a purely contemplative creature, endowed with the capacity to think and the power to cognize the world, but deprived of the power to act deliberately on the world: that is, deprived of the power to conceive intentions or mandates and unable to consider

[16] "Agora, um importante aspecto de certas asserções deônticas é o de que elas envolvem uma ação e um agente e exigem que o agente faça ou deixe de fazer a ação em questão. Várias asserções comuns que são aparentemente destituídas de agentes exigem uma ação; e.g. 'Carros devem ser emplacados' exige que alguns agentes coloquem placas em seus carros; é a versão reduzida de uma asserção que requer que pessoas em uma relação R de certo tipo com um carro (propriedade, uso, administração) coloquem placas naquele carro. A asserção sustenta imperativos da forma 'Se você é R com respeito àquele carro, emplaque-o'. Essa asserção contrasta de maneira aguda com a asserção sem agentes 'Não deveria haver dor' [...]. De maneira breve, asserções deônticas dividem-se estritamente entre: (i) aquelas que envolvem agentes e ações e sustentam imperativos, e (ii) aquelas que envolvem estados de coisas e são destituídas de agentes e, por elas mesmas, não tem qualquer relação com imperativos. As primeiras pertencem ao que costumava ser chamado de *Dever-fazer* e as últimas ao *Dever-ser*. Nossa abordagem não-padronizada, então, não é apropriada para o dever-ser, mas esperamos que seja adequada para o dever-fazer. (tradução nossa).

> deontic noemata. On the other hand, if a creature is an agent endowed with practical reason, he is, a fortiori, endowed with contemplative thinking. […] The comprehensiveness of practical thinking that includes and requires contemplative thinking is characteristic of a mind that has the adequate mechanism, with great survival value, for keeping fast to the needed *unity* of the world of contemplation and the world of action. While contemplative thinking is, as explained, ontologically prior, and could in principle appear pure in an angelic creature, practical thinking becomes psychologically dominant and logically encompassing. The ultimate unity of reason *is* the unity of practical reason.[17] (Idem, 1975, p. 08, grifos do autor)

A razão prática tem conexão íntima com as instituições, onde se enunciam mandados, tomam-se decisões, atribuem-se deveres e obrigações, verificam-se conflitos de promessas e normas e onde Castañeda localiza uma insuficiência teórica que merece a atenção da filosofia. Sua *magnum opus* intitulada *Thinking and Doing*, enuncia claramente essa pretensão no subtítulo "The Philosophical Foundations of Institutions"[18]. As instituições que regem a vida prática "agem" por meio da atividade legislativa própria (*enactment*) que distingue seu campo de normatividade. Do Direito Constitucional às regras de um jogo de tabuleiro (CASTAÑEDA, 1975, p. 179-181), os sistemas normativos regulam o espectro das atividades inerentes, e são determinados pelo conteúdo mesmo de suas normas. A fim de caracterizar o que seria a teoria completa de um sistema normativo, Castañeda se vale de uma definição que, notavelmente, o aproxima de Kelsen e de sua formulação da ciência do direito:

> The full theory of a given institution *i* is at bottom, then, the total theory of the norms characterizing, or, better, constituting, the normative system N (*i*) that determines institution *i*. This is the theory that accounts for the logical form of such norms, their implication relationships, and their truth conditions. For example, the total theory or philosophy of morality is the theory of the norms of the form 'X ought *morally* to do action A' as well as of the complex statements composed of such norms. Likewise, the theory or philosophy of law is the theory of the norms

[17] "[…] existe um sentido óbvio em que o puro pensamento contemplativo e seus conteúdos têm primazia ontológica sobre o pensamento prático e seus conteúdos. Trata-se do sentido a partir do qual não há inconsistência na suposição de que pode haver uma criatura puramente contemplativa imbuída da capacidade de pensar e do poder de conhecer o mundo, mas privada do poder de agir deliberadamente sobre o mundo: isto é, destituída do poder de conceber intenções ou mandatos e incapaz de considerar noemata deônticos. Por outro lado, se uma criatura é um agente dotado de razão prática, ela é, a fortiori, dotada do pensamento contemplativo. [...] A abrangência do pensamento prático que inclui e requer o pensamento contemplativo é característica de uma mente que possui o mecanismo adequado, com grande valor de sobrevivência, para aferrar-se à *necessária* unidade do mundo da contemplação e do mundo da ação. Enquanto o pensamento contemplativo, como explicado, é ontologicamente anterior e poderia, em princípio, surgir de maneira pura em criaturas angelicais, o pensamento prático se torna psicologicamente dominante e logicamente envolvente. A unidade última da razão *é* a unidade do pensamento prático." (tradução nossa).

[18] "Os Fundamentos Filosóficos das Instituições" (tradução nossa).

> involving the form 'X must (ought, should) *legally* do A'.[19] (Idem, Ibidem, p. 03, grifos do autor)

Castañeda enumera diversas categorias linguísticas pertinentes à razão prática, a exemplo das deliberações, dos mandatos, das prescrições, das intenções e também do que ele concebe como juízos deônticos ou normas (*normatives or deontic judgments*). Seu sistema deôntico é formado por uma estrutura tripartite que abrange as prescrições, as intenções[20] e as proposições deônticas. Prescrições e intenções são agrupadas sob a denominação comum de pratições. As pratições não são equivalentes às proposições, mas, no contexto de sua obra, são dotadas de valores semânticos análogos aos valores de verdades, chamados de valores de Legitimidade ou ortóticos[21] (*orthotic*): "prescriptions and mandates have ontological, or semantical values that are formally, logically exactly analogous to truth-values"[22] (Idem, Ibidem, p. 120). Já os juízos deônticos, proposições deônticas ou *noemata* deônticos[23] são por ele considerados a forma fundamental das normas institucionais, dentre elas as normas jurídicas. Seu traço peculiar é que, ao contrário das pratições, os juízos deônticos são verdadeiras proposições formadas pela aplicação das propriedades (operadores) deônticas de obrigação, permissão, proibição e opção às pratições. A consequência imediata que advém dessa conclusão não é outra senão a de que as normas são verdadeiras ou falsas (lembremo-nos da integral rejeição de Kelsen a essa ideia). Mas, questiona o autor, "What are we to do? Are we to say that deontic judgments are true or false? Are they true or false in exactly the

[19] "A teoria completa de uma dada instituição *i* é, no fundo, a teoria total das normas que caracterizam, ou melhor, constituem o sistema normativo N (*i*) que determina a instituição *i*. Esta é a teoria que justifica a forma lógica de tais normas, suas relações de implicação e suas condições de verdade. Por exemplo, a teoria total ou filosofia da moralidade é a teoria de normas da forma 'X deve *moralmente* fazer a ação A' assim como das asserções complexas compostas de tais normas. De igual modo, a teoria ou filosofia do direito é a teoria das normas que envolvem a forma 'X precisa (deve, deveria) *legalmente* fazer A'." (tradução nossa).

[20] Estas duas, por sua vez, são componentes de uma categoria específica na obra de Castañeda, nomeada através do neologismo *practitions*, que traduziremos por pratições: "For convenience we introduce the term 'practition' to refer generically to both prescriptions and intentions." (Idem, Ibidem, p. 43)

[21] Castañeda emprega a maiúscula para distinguir a Legitimidade enquanto valor das pratições dos usos ordinários da palavra. Os termos *orthotes* e *anarthotes* são utilizados no mesmo sentido, para tratar, respectivamente, de Legitimidade e Ilegitimidade. (Idem, Ibidem, p. 131 et seq.)

[22] "prescrições e mandatos possuem valores ontológicos ou semânticos que são formalmente, logicamente exatamente análogos aos valores de verdade." (tradução nossa).

[23] *Noemata* é o plural da palavra grega *noema*. Na terminologia de Castañeda trata-se da unidade mental básica de pensamento que se distingue do ato de enunciação, do próprio enunciado, do significado do enunciado e mesmo da linguagem, compondo uma espécie de conteúdo das prescrições, pratições e proposições: "We shall call any minimal unit of *what* is thought, whether theoretical or not, a *noema*, plural *noemata*. This is the old Greek work [sic] νόημα, which means thought, piece of advice, purpose, and end." (CASTAÑEDA, 1974, p. 29, grifos do autor). "Nós chamaremos qualquer unidade mínima do *que* é pensado, teoreticamente ou não, de um *noema*, plural *noemata.* Essa é antiga palavra grega νόημα, que significa pensamento, conselho, propósito ou fim." (tradução nossa). Ademais, proposições deônticas e juízos deônticos serão tratados como expressões sinônimas.

same sense in which ordinary propositions are true or false?"[24] (Idem, Ibidem, p. 183). Tais questões parecem decorrer de uma sensação de estranhamento adequadamente identificada por Castañeda quando compara a suposta verdade deôntica com as verdades científicas e matemáticas:

> Nevertheless, there is a difference between mathematical and scientific verification procedures and all the procedures for verifying deontic judgments. The difference is, roughly, that many a deontic truth seems to depend intimately on legislative procedures, so that deontic truth seems man-made in a way in which scientific and mathematical truths are not man-made.[25] (Idem, Ibidem, p. 183)

O que seria, então, verdade em sentido deôntico? Qual é o quadro de referência apto a estabelecer uma ligação com as proposições deônticas, a fim de lhes conferir valores de verdade, à semelhança da relação de isomorfismo entre fatos e proposições que identifica a verdade para as proposições em geral?

Segundo Castañeda, os juízos deônticos são formados por uma propriedade/operação deôntica (*deontic properties*) que indica seu pertencimento a um específico sistema normativo — tratam-se de operadores deônticos subscritos por uma variável que denota a relação com algum sistema normativo, a exemplo de obrigatório$_j$, que poderia ser uma obrigação em sentido jurídico — e por um núcleo praticional (*core practition*) (Idem, Ibidem, pp. 40 e 190). Retornemos, pois, às pratições. De acordo com o autor, os valores de Legitimidade ou valores ortóticos das pratições podem ser determinados a partir de contextos de Legitimidade (*Legitimacy contexts*), ligados a fins cuja realização é almejada. Os agentes aos quais são dirigidas as pratições voltadas à consecução desses fins podem agir Legitimamente ou Ilegitimamente, caso endossem (*endorsement*) ou não as pratições qualificadas por contextos de Legitimidade. Ocorre que os valores ortóticos das pratições variam segundo o contexto que as qualifica. De acordo com determinados contextos ligados a distintos fins ou objetivos, uma mesma pratição pode ser Legítima ou ortótica com respeito ao contexto de Legitimidade *p* e Ilegítima ou anaortótica (*anarthotic*) com respeito ao contexto de Legitimidade *q*. Isso significa que, ao contrário dos valores de verdade que se

[24] "O que faremos? Diremos que os juízos deônticos são verdadeiros ou falsos? São eles verdadeiros ou falsos exatamente no mesmo sentido em que proposições comuns são verdadeiras ou falsas?" (tradução nossa).
[25] "Não obstante, há uma diferença entre os procedimentos de verificação científicos e matemáticos e todos os procedimentos de verificação de verdades deônticas. A diferença é, grosseiramente, que as verdades deônticas parecem ser construções humanas em um sentido em que verdades científicas e matemáticas não o são." (tradução nossa).

presumem perenes e independentes dos contextos dos quais são extraídos, os valores de Legitimidade lhes são intimamente dependentes:

> There is a tremendously important difference between the semantical values of propositions, i.e., those involved in implication, namely truth and falsity, and the semantical values of practitions. The former are just two absolute values in the sense that a proposition has its values once and for all tenselessly and regardless of how large a segment of the actual universe we consider. [...] On the other hand, the semantical values of practitions are many and depend intimately on segments of the universe. They pertain to the Legitimization of the commands, orders, requests, pieces of advice, or petitions, or resolutions they formulate. [26] (Idem, Ibidem, p. 240)

Vimos que Castañeda admite o caráter proposicional dos juízos deônticos. Esse aspecto, porém, não reproduz a noção de verdade no exato sentido em que as proposições matemáticas, por exemplo, revelam-se verdadeiras. Ao contrário, o valor de verdade das proposições deônticas reporta-se, em última instância, ao valor de Legitimidade das pratições a elas correspondentes. Ora, se os juízos deônticos estão sujeitos às vicissitudes de contextos institucionais relativos, qual é o ganho teórico que representa a possibilidade de lhes atribuir valores de verdade?

> But the Legitimacy or Non-legitimacy of an imperative relative to a certain context constituted by a set of facts, ends, procedural conventions and decisions would be useless unless the conflict were resolved in a larger context. In cases of conflict, life itself forces us to make choices and produce a balance, so that we may speak of a total context, in which we regard the ends and procedural conventions as hierarchically organized, even if that organization is rough and revisable and even if its structure and outline are only dimly conceived (as it may well be, especially in the case of a conflict.) [27] (Idem, Ibidem, p. 241)

Os contextos totais de fins hierarquicamente organizados aqui referidos são chamados por Castañeda de contextos absolutos (*absolute contexts*). Com efeito, o uso ordinário dos imperativos prescinde da constante indicação do contexto que é tomado como relevante para legitimar o emprego de um mandato. Isso significa que nem todo uso de

[26] "Há uma diferença tremendamente importante entre os valores semânticos de proposições, i.e., aqueles envolvidos em implicações, nomeadamente verdade e falsidade, e os valores semânticos das pratições. Os primeiros são apenas dois valores absolutos no sentido de que uma proposição tem seus valores de uma vez por todas e independentemente de quão largo seja um segmento do universo atual considerado. [...] Por outro lado, os valores semânticos das pratições são inúmeros e dependem intimamente de segmentos do universo. Eles pertencem à Legitimação de comandos, ordens, requerimentos, conselhos, petições ou resoluções formuladas." (tradução nossa).

[27] "Mas a Legitimidade ou Ilegitimidade de um imperativo relativo a certo contexto constituído por um conjunto de fatos, fins, convenções procedimentais seria inútil, a não ser que o conflito fosse resolvido em um contexto mais amplo. Em casos de conflito, a própria vida nos impele a tomar decisões e a produzir equilíbrio, de modo que podemos falar de um contexto total, no qual observamos os fins e convenções procedimentais como hierarquicamente organizados, ainda que a organização seja grosseira e sujeita a revisão e mesmo se a sua estrutura e seus contornos sejam apenas vagamente concebidos (assim pode realmente ser, especialmente no caso de um conflito)." (tradução nossa).

imperativos se vale de contextos específicos capazes de legitimá-los, ou melhor, que alguns deveres extraem sua legitimidade de contextos absolutos implícitos que lhes atribuem tal proeminência a ponto de tornarem-se dominantes em relação a deveres conflitantes (*overriding oughts*) Os valores equivalentes a esses contextos também recebem uma designação especial; como não são qualificados por contextos específicos o autor os categoriza como ortóticos não-qualificados (*unqualified orthotes*). Pois bem, os juízos deônticos constituídos por imperativos pertencentes a essa categoria seriam precisamente aqueles imbuídos de valores de verdade universais, não sujeitos à crítica da relatividade a contextos institucionais localizados.

A classificação das normas como proposições deônticas com a consequente autorização de se lhes atribuir valores de verdade sob a forma semântica do dever-fazer parece ser um ganho considerável, sobretudo ao verificarmos que todas as importantes conquistas da lógica proposicional passam a ser admitidas no tratamento das normas. Essa possibilidade é vislumbrada pelo próprio Castañeda, quando imagina que seria possível transferir conquistas teóricas entre os diferentes sistemas lógicos, alargando o espectro de investigação da própria lógica: "We rejoice at our fast enrichment of logical theory. Since deontic judgments are propositions, every principle of truth [...] discussed [...] automatically applies to deontic judgments."[28]

Castañeda nos oferece um instrumental teórico robusto cujo principal benefício parece ser sua escrupulosa consideração da dimensão prática da atividade humana como essencial para se proceder ao exame das prescrições e de todo o aparato linguístico mobilizado na condução das ações dos homens. Se essa for realmente a função precípua do direito e se as normas jurídicas puderem ser adequadamente descritas por meio da semântica do dever-fazer parece haver em sua teoria um vasto e promissor espaço de investigação do ordenamento e de seus componentes.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

A descrição semântica das normas parece ser um trabalho que ainda está por ser realizado. Chegamos a essa conclusão ao percebermos que Hans Kelsen, um dos mais

[28] "Nós nos regozijamos com nosso rápido enriquecimento da teoria lógica. Sabendo que os juízos deônticos são proposições, todo princípio de verdade [...] discutido [...] automaticamente se aplica aos juízos deônticos." (tradução nossa).

destacados justeóricos do século XX, de quem ainda se parte para delimitar os principais problemas do direito enquanto sistema de normas, não foi capaz de oferecer uma teoria semântica consistente, adequada ao objeto central de suas pesquisas. Somente disso, porém, não se conclui que o dever-ser é um modo inapropriado de análise das normas. O que se pode afirmar é que, a partir da consideração kelseniana da norma como integrante da categoria semântica do dever-ser, a singela afirmação de que não é possível aprofundar a distinção entre ser e dever parece ser claramente insuficiente.

Nesse sentido, a lógica deôntica na versão proposta por Castañeda parecer oferecer inúmeros subsídios para o projeto de construção de uma semântica de normas adequada às suas peculiaridades desse objeto e, em última instância, torna admissível uma investigação que tangencie o próprio conceito de norma, em vista dos possíveis resultados que podem ser extraídos da compreensão das noções de dever-ser e dever-fazer para o tratamento das normas e, em específico, das normas de um ordenamento jurídico.

O aparato teórico que Castañeda organiza em seu favor permite que formule conceitos-chave em sua obra, a exemplo dos contextos de Legitimidade e dos valores de Legitimidade das prescrições correlatos aos valores de verdade dos juízos deônticos — a forma canônica das normas, segundo o autor. A noção de verdade deôntica parece autorizar uma inusitada aproximação entre a lógica, mesmo a lógica proposicional clássica, e o direito, em termos peremptoriamente recusados por Kelsen.

A negativa insistente com que o autor vienense questionou a aplicação de princípios lógicos ao direito, então, perde um pouco de seu sentido. Tal recusa certamente não é incoerente com o conjunto de sua obra, mas sinaliza a necessária superação de alguns dos limites teóricos impostos à ciência do direito e à investigação dos componentes mínimos dos diversos sistemas normativos.

É possível vislumbrar, desse modo, que o complexo mecanismo da ação em Castañeda oferece ao estudioso do direito e da normatividade em geral uma série de potenciais resultados em termos de sistematização do ordenamento, conceituação das normas e determinação de seus possíveis valores de verdade, o que albergaria, contra a tradição kelseniana, uma análise de tipo lógico do direito, ao menos no que tange à caracterização de

uma semântica adequada às normas jurídicas, entendidas a partir do vetusto solo filosófico da razão prática.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRANQUINHO, João; MURCHO, Desidério; GOMES, Nelson Gonçalves. **Enciclopédia de Termos Lógico-Filosóficos**. São Paulo: Martins Fontes, 2006

CASTAÑEDA, Héctor-Neri. On the semantics of the ought-to-do. **Synthese**. Dordrecht, v. 21, nº3-4, p.449-468, 1970

_____. **Thinking and Doing**. Dordrecht/Boston: D. Reidel Publishing Company, 1975

_____. **Structure of Morality**. Springfield: Charles C. Thomas Publisher, 1974

GENRO, Guilherme Saideles. **Dedução Transcendental e Norma Fundamental: Questões de Legitimação em Kant e Kelsen.** Santa Maria: Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, 2007. Disponível em: <http://w3.ufsm.br/ppgf/menuesp2/35dd2324f1feb4ee04f1c5dd2794794c.pdf>. Acesso em 29 de julho de 2012.

HUME, David. **Tratado da Natureza Humana**, Trad. Déborah Danowski. São Paulo: Unesp, 2009

KELSEN, Hans. **Teoria Geral das Normas**, Trad. José Florentino Duarte. Porto Alegre: Sérgio Antonio Fabris Editor, 1986

_____. **Teoria Pura do Direito**, Trad. João Baptista Machado. São Paulo: Martins Fontes, 2003

_____; KLUG, Ulrich. **Normas Jurídicas e Análise Lógica**, Trad. Paulo Bonavides. Rio de Janeiro: Forense, 1984

McNAMARA, Paul. Deontic Logic. In: GABBAY, Dov M.; WOODS, John; (Org.). **Handbook of the History of Logic.** Amsterdam: Elsevier, 2006

RAPAPORT, W. "CASTAÑEDA, Hector-Neri (1924-1991)". In: **Dictionary of Modern American Philosophers**, Briston: Thoemmes Press, 2005. Disponível em: <http://www.cse.buffalo.edu/~rapaport/Papers/hncdict.tr.pdf>. Acesso em 12 de setembro de 2012.

RABENHORST, Eduardo Ramalho. **Ser e dever ser na teoria kelseniana do direito**. Revista Direito e Liberdade, Mossoró, v. 1, n. 1, p. 94-102, 2005. Disponível em <http://www.esmarn.tjrn.jus.br/revistas/index.php/revista_direito_e_liberdade/article/view/218/248>. Acesso em 23 de agosto de 2012.

WRÓBLEWSKI, Jerzy. Kelsen, the Is-Ought Dichotomy and Naturalistic Fallacy. **Revue Internationale de Philosophie**, Bruxelles, nº138, p. 508-517, 1981

CONTROLE DE IRRIGAÇÃO E AVALIAÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE PEQUIZEIRO *(Caryocar brasiliense camb.)* IRRIGADAS E ADUBADAS EM GOIÂNIA

GUSTAVO X. de LIMA[1], JOSÉ ALVES Jr.[2], ADÃO W. P. EVANGELISTA[2], DERBLAI CASAROLI[2], LUCAS M. VELLAME[2]

[1] Orientado, Graduando em Agronomia, Escola de Agronomia (EA), Universidade Federal de Goiás (UFG), e-mail: gxavierl_@hotmail.com

[2] Orientador, Prof. Dr. Eng. Agr., EA, UFG, e-mail: josealvesufg@yahoo.com

RESUMO

O pequizeiro é uma frutífera do cerrado brasileiro que têm grande importância para população, principalmente a goiana que utiliza e têm seu fruto como alimento tradicional. Nesse contexto o pequizeiro é uma frutífera nativa que tem sua exploração baseada no extrativismo, um dos grandes problemas relacionados ao seu cultivo é o longo período juvenil, em torno de 6 a 7 anos para colheita dos primeiros frutos. Acredita-se que o déficit hídrico, característico do clima da região durante um período do ano e os solos pobres em nutrientes sejam os fatores limitantes ao seu cultivo. Assim objetivou-se avaliar a resposta em crescimento de plantas jovens de pequizeiro submetidas á irrigação e adubação em latossolo vermelho distroférrico em Goiânia-Go. O experimento foi conduzido em um pomar de 42 meses de idade, com plantas espaçadas 5 x 5m. Para irrigação foi utilizado um sistema de microaspersão com um microaspersor por planta, para adubação foram utilizados composto orgânico (10 kg/planta) e Yoorin (1kg/planta). O experimento foi conduzido em arranjo fatorial duplo em parcelas subdivididas, com 16 plantas por bloco, sendo 8 irrigadas e 8 não irrigadas. As plantas foram avaliadas mensalmente com base na altura e diâmetro do caule a 10cm do solo e os resultados analisados com base no programa computacional ASSISTAT 7.6 BETA. Os resultados indicam que o pequizeiro não respondeu a adubação e irrigação utilizados($p>0,05$). Assim o pequizeiro demonstra ser uma planta extremamente adaptada, não respondendo em crescimento dos 42 aos 54meses de idade.

---

1 revisado pelo orientador

PALAVRAS-CHAVE

Pequizeiro, Déficit hídrico, Crescimento de Plantas, Fruteira nativas do Cerrado.

INTRODUÇÃO

O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro sendo considerado o ecossistema tropical de savana mais rico em biodiversidade do mundo, com cerca de 12350 espécies de plantas, grande parte endêmicas desse ambiente. Constitui, dessa maneira, um dos mais importantes biomas do Brasil, com aproximadamente 207 milhões de hectares distribuídos, em sua maior parte, pelo planalto central do país (Macedo, 1996). No entanto com o modelo de exploração adotado grande parte desta biodiversidade está se perdendo, muitas espécies estão desaparecendo sem que se conheça seu potencial. Segundo Klink & Machado (2005) apenas 2,2 % da área do cerrado encontram-se legalmente protegida.

Os frutos das espécies nativas do cerrado oferecem um elevado valor nutricional, além de atrativos peculiares e intensos, ainda pouco explorados comercialmente (Oliveira, 2011). Segundo Naves (1999) espécies frutíferas do cerrado têm sido relembradas e exaltadas frequentemente como produtoras de frutos e produtos para o aproveitamento humano. As fruteiras do cerrado ocupam lugar de destaque no ecossistema do cerrado e seus frutos já são comercializados em feiras da região e com grande aceitação popular, hoje existem mais de 58 espécies de frutas nativas conhecidas e utilizadas pela população (Salgado, 2013).

A região dos Cerrados ocupa uma área expressiva do território brasileiro. Como conseqüência de sua extensão, ocorre grande variabilidade de clima e de solos e, certamente, uma grande diversidade da fauna e da flora (Ribeiro & Walter,1998). Dentre as espécies nativas o pequizeiro se destaca como uma espécie de grande potencial. Segundo Kerr (2007) o pequi e a 3° fruta mais consumida pelas populações do cerrado. O pequizeiro (*Caryocar spp.*) é um exemplo destas espécies com potêncial econômico, podendo ser empregada com sucesso em programas de revegetação de áreas em degradação (Leão et al., 2012). O interesse por esta frutífera não está somente para o consumo do fruto, mas também da utilidade de sua madeira e seu valor ornamental. Matos (2007) argumenta que o pequi possui madeira de ótima qualidade, moderadamente pesada, macia, resistente e de boa durabilidade natural.

O extrativismo e a realidade atual da espécie, que ainda se encontra em estado silvestre na natureza, em quantidade insuficiente para atender a demanda, o que tem de

agricultores para seu cultivo (Pozo, 1997). Diante disso torna-se imprescindível o inicio de seu cultivo. Os solos do cerrado apresentam grandes limitações ao cultivo, graças a sua baixa fertilidade natural (Lopes, 1983), pesquisadores como Alvin & Silva (1978) sustentam que o fator limitante a produção agrícola nos solos do cerrado é a disponibilidade hídrica.

Assim no presente trabalho pretende avaliar o crescimento de plantas jovens de pequizeiros em um pomar de 42 meses de idade irrigado e adubado nas condições edafoclimáticas de Goiânia-GO.

METODOLOGIA

O experimento está sendo conduzido na área experimental da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (EA/UFG), em Goiânia-Go, desde Janeiro de 2009.

O trabalho é constituído de um experimento com delineamento em blocos completos casualizados com parcelas subdivididas com seis repetições. Cada repetição com dezesseis plantas, oito irrigadas e oito de sequeiro, constituindo as parcelas. Cada subparcela é constituída por quatro plantas com e sem adubação orgânica. O espaçamento entre plantas é de 5 x 5 m.

A irrigação foi realizada por microaspersão durante o período seco do ano. No período chuvoso realizou-se irrigações em caso de necessidade, em períodos prolongados de estiagem (veranicos). A quantidade de água aplicada em cada irrigação é determinada com base na evapotranspiração de referência (ETo- Equação 1) e (ETc- Equação 2), obtida na estação agrometeorológica da EA/UFG, localizada 300 m do experimento.

$$ETo = Kp * ECA \quad \text{----------(1)}$$

$$ETc = ETo * Kc \quad \text{----------(2)}$$

Em que :

ETo: É a evapotranspiração de referência (mm)

Kp: É o coeficiente do tanque, valor tabelado que leva em conta a umidade relativa do ar média e velocidade media do vento, além da bordadura ao redor do tanque.

ECA: É a evaporação de água do tanque classe A mensurada (mm).

ETc : Evapotranpiração da Cultura (mm).

Kc :Coeficiente de cultura, obtido experimentalmente no caso do pequi utilizou-se 0,9 para o período;

A irrigação empregada foi por microaspersão (Figura 4), com 1 microaspersor por planta (nos tratamentos irrigados), com pressão de serviço de 10 mca, fornecendo uma vazão de 40 L h^{-1} e formando um raio molhado de 2 m (12,5 m^2). Como apenas 50% da área útil de cada planta era irrigada, a *ETc* era corrigida, como proposto por (Keller & Bliesner, 1990) por um coeficiente de correção localizado (*Kloc* = 0,71) para o cálculo do volume de água aplicado por planta (Equações 3 e 2).

$$V = (ETc * Kloc * A)/Ea \quad \text{..... (3)}$$
$$Kloc = 0{,}1\ Pm \quad \text{..... (4)}$$

Em que,

V: Volume de água aplicado por planta (L $planta^{-1}$);

Kloc: Coeficiente de correção devido à localização da irrigação (Keller & Bliesner, 1990);

A: Área útil da planta em função do espaçamento - 5 x 5m (m^2);

Ea: Eficiência de aplicação de água por microaspersão (90%) (Bernardo et al., 2006);

Pm: Porcentagem de área molhada (%);

O crescimento das plantas foi avaliado com base na altura de planta, utilizando uma mira topográfica, e no perímetro do caule a 10 cm acima do solo, utilizando uma fita métrica. Todas as avaliações foram realizadas mensalmente. Os dados de cada tratamento foram analisados via programa computacional ASSISTAT 7.6 BETA para avaliar os efeitos da irrigação e da adubação sobre o crescimento das plantas.

RESULTADOS E DISCUSÃO

Os tratamentos não diferiram entre si ($p>0.05$). Todos os tratamentos tiveram crescimentos semelhantes (Figura 1), assim o pequizeiro demonstra ser uma espécie peculiar, adaptada aos solos e as condições hídricas anuais do cerrado. Naves & Santana (2003) afirmam que o pequizeiro é uma das espécies do cerrado bastante adaptada as condições do ambiente, ocorrendo naturalmente em regiões com solos de baixa fertilidade natural.

Tais constatações são reafirmadas por Ramos (2012) quando afirma que a espécie *Caryocar Brasiliense* apresenta grande quantidade de tricomas em toda a nervura principal e

na epiderme da face abaxial de seus folíolos. Essa relação da quantidade de tricomas encontrados nas folhas pode ser caracterizada como uma estratégia de conservação de água em folhas de plantas que ocorrem em ambientes xéricos, pois os tricomas auxiliam na reflexão dos raios solares, além da diminuição da temperatura foliar, evitando a perda excessiva de água pela transpiração (Boeger *et al*., 2008).

Na época sem chuva do ano as plantas se mantêm fortes e vigorosas. Segundo Naves (1999) o pequizeiro possui raízes profundas e pivotantes com grande capacidade de se desenvolver horizontalmente, principalmente em solos rasos.

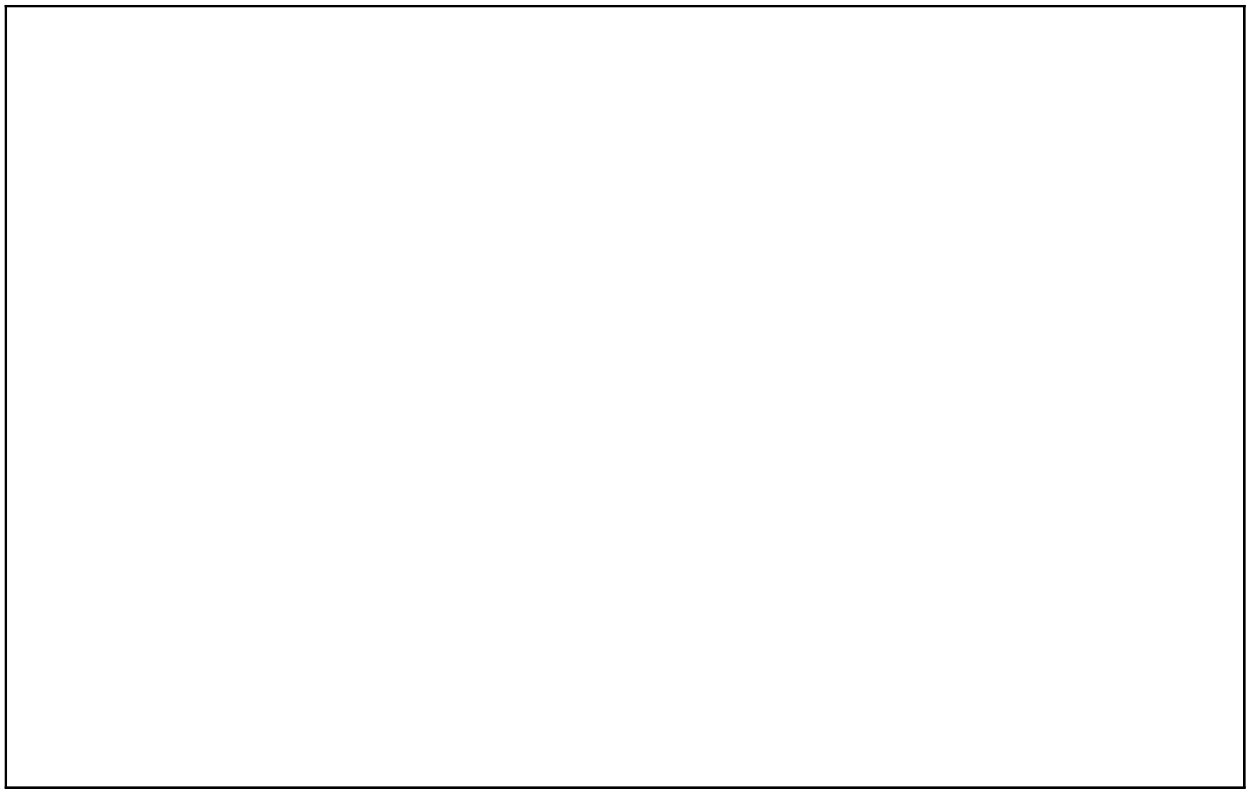


Figura1. Gráfico de Barras ilustrando a altura média das plantas dos diferente tratamento durantes os meses com os respectivos desvios padrões de cada tratamento: Trat A - Irrigado e adubado; Trat B - Irrigado e não adubado; Trat C - Não irrigado e Adubado; Trat D - Não irrigado e não adubado.

CONCLUSÃO

O pequizeiro não respondeu em crescimento à irrigação e adubação orgânica utilizados, durante o período de avaliação.

REFERÊNICAS BIBLIOGRAFICAS

ALVIM. P. de T.; SILVA. J. E. da.Variações no crescimento do tronco de plantasdo Cerrado em funções da disponibilidade de água no solo. In: **CON GRESSO LATINOAMERICANO DE BOTANICA. 2.; CONGRESSO NACIONAL DE BOTANICA.** 29. Brasília. DF. **Resumos** dos trabalhos. Brasília: Sociedade Botânica do Brasil. 1978, p. 336.

BERNADO, S.; SOARES, A. A.; MONTAVANI, E. C.; **Manual de irrigação**. 8. ed Viçosa, 2011. Cap. 9 p. 483-54.

BOEGER, M. R. T.; GLUZEZAK, R. M.; PIL, M. W. GOLDENBERG, R.; MEDRI, M. Variabilidade morfológica foliar de *Miconiasellowiana*(D.C) Naudin (Melastomataceae) em diferentes fitofisionomias no Estado do Paraná. **Rev. Brasileira de Botânica**, v.31, n.3, p. 443-452, 2008.

KELLER. J.; BLIESNER. R.D. **Sprinkle and trickle irrigation**. New York: van Nostrand Reinhold. 1990. 652p.

KERR, W. E.; SILVA, F. R.; TCHUCARRAMAE, B. Pequi (Caryocar brasiliense Camb.) Informações preliminares sobre um pequi sem espinhos no caroço**. Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p.169-171, 2007.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v.1, n.1, p. 147-155, 2005.

LEÃO, E. F.; PEIXOTO, N.; MORAIS Jr, O. P. Emergência de plântulas de pequizeiro em função da planta matriz e uso de ácido giberélico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 4, p. 416-423 out-dez 2012.

LOPES, A. S. **"Solos sob cerrados": Características, propriedades e manejo**. Piracicaba: Instituto da Potassa & Fósforo, Instituto internacional da Potassa, 1983, p. 162.

MACEDO, J. **Produção de alimentos: o potencial dos cerrados**. Planaltina: Embrapa. 1996. 33p.

MATOS, E. H S. F. Cultivo do pequi e extração de óleo. **Dossiê técnico**. UNB/Centro de apoio ao desenvolvimento tecnológico, 2007. 26 p. Disponível em: http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/Njg Acesso em: 19 jun. 2013.

NAVES. R. V. Espécies frutíferas nativas dos Cerrados de Goiás: caracterização e influência do clima e dos solos. 1999. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás. Goiânia.

OLIVEIRA, D. L. Viabilidade econômica de algumas espécies medicinais nativas do cerrado. **Revista Estudos,** Goiânia, v.38, n.2, p. 301-332, abr/jun. 2011

POZO, O. V. C. *O pequi (Caryocar brasiliense)*: uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do Cerrado no norte de Minas Gerais. 1997. 100 f. Dissertação (Mestrado em Administração Rural) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

RAMOS, **Variabilidade fenotípica em frutos e caracterização anatômica e histoquímica em folhas de pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) em diferentes fitofisionomias do Cerrado**.. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Ecótonos) - Universidade Federal do Tocantins, Porto Nacional, 2012, 73 f.

SALGADO, J. Conheça os principais frutos do cerrado e seus benefícios a saúde. Disponível em: <http://www2.uol.com.br/vyaestelar/frutos_do_cerrado.htm>Acesso em: 18 de jul. 2013.

SANTANA, J. G & NAVES, R. V. Caracterização de ambientes de cerrado com alta densidade de pequizeiros (*Caryocar brasiliense* Camb.) na região sudeste do estado de 38 Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.1, n.33, p.1-10, 2003.

Análises proteômicas de *Staphylococcus saprophyticus* sob diferentes condições de pH – Relações com a patogenicidade

Identificação de proteínas diferencialmente expressa de *Staphylococcus saprophyticus* sob condições de estresse de pH

Orientadora: Juliana Alves Parente Rocha / 432489

Orientado/matrícula: Hanna Hamano/ 133365

Instituto de Ciências Biológicas

juliana.parente@pq.cnpq.br

Revisado pelo orientador

1. Resumo

O presente projeto objetivou a análise de proteínas da bactéria patogênica de trato genito-urinário humano *Staphylococcus saprophyticus* que são diferencialmente expressas em condições de pH ácida, neutra e alcalina. As análises proteômicas foram realizadas por cromatografia líquida de alta performance acoplada à nanoeletrospray MS/MS. Proteínas relacionadas a vários processos celulares, tais como metabolismo energético, síntese protéica, proteínas de parede celular e metabolismo de ácidos nucléicos foram identificadas. Análises de PCR em tempo real serão realizadas para confirmação do nível de expressão dos transcritos das proteínas identificadas. As análises comparativas das proteínas identificadas em cada condição de pH estão sendo finalizadas e contribuirão na elucidação da resposta adaptativa de *S. saprophyticus* às diferentes condições de pH, essencial para estabelecimento de infecção no trato urinário humano. Os dados gerados por este projeto contribuirão para descrição de vias metabólicas relacionadas a cada condição estabelecida, levando à identificação de proteínas pH-dependentes, possivelmente relacionados à patogenicidade/virulência de *S. saprophyticus*.

2. Introdução

As bactérias em geral se encontram geralmente na nossa pele e nas mucosas estabelecendo uma relação de simbiose com o hospedeiro. Apesar da relação de simbiose, existem bactérias que se tornam patogênicas ao hospedeiro (Heikens *et al*, 2005). Dentre elas, a *Staphylococcus saprophyticus* é um importante espécie de bactéria Gram-positiva, e ECN (em inglês SCN) (Kloos *et al*, 1994 & Heikens *et al*, 2005). Sendo a segunda maior em ocorrências em doenças uropatogênicas encontrados na em pacientes de UTI (Henry *et al*, 1998; Gupta *et al*, 1999). Presente na região periuretral, pele e ecossitema muscoso do trato genito-urinário (Kloos *et al*, 1994). Causa infecções do trato urinário (ITU) tanto em homens quanto em mulheres, com prevalência em mulheres (Lo *et al*. 2013).

S. saprophyticus é um *S*CN da microbiota humana, encontrado com maior frequência na região periuretral e trato genito-urinário (Kloos & Bannerman 1994).

São descritos que casos de cistites agudas sem complicações em mulheres não hospitalizadas têm como agentes etiológicos, em 90% dos casos, *Escherichia coli* e *S. saprophyticus* (Gupta *et al*, 1999).

Um fator de virulência importante em *S. saprophyticus* é a proteína urease, que catalisa a conversão de uréia em dióxido de carbono e amônia. Como consequência da produção de amônia, ocorre o aumento do pH do meio. Em *S. saprophyticus*, a urease pode contribuir para o crescimento invasivo (Gatermann & Marre 1989). A urina humana apresenta pH levemente ácido, variando de 5 a 6. Quando a infecção por *S. saprophyticus* é iniciada no trato urinário, as células bacterianas utilizam a uréia da urina para aquisição de nitrogênio. A uréia é degradada a dióxido de carbono e amônia pela ação da urease de *S. saprophyticus*, ocorrendo o aumento do pH do meio extracelular (Gatermann & Marre 1989). Outra proteína relacionada com aumento da sobrevivência de *S. saprophyticus* diante da resposta do sistema imune inato é a proteína SssF. É uma proteína GPI-ancorada codificada pelo plasmídeo pSSAP2 e que apresenta alta prevalência em amostras clínicas, sendo um possível fator de virulência nesta bactéria (King *et al*, 2012).

Diante do exposto, a capacidade de adaptação de *S. saprophyticus* a diferentes condições de pH é essencial para a sobrevivência no trato genito-urinário e, consequente sucesso no estabelecimento da infecção. Elucidar os mecanismos adaptativos utilizados por *S. saprophyticus* para sobrevivência em diferentes condições de pH pode trazer dados relevantes quanto à patogênese deste microrganismo no trato genito-urinário.

O resultados demonstrados neste relatório é parte integrante do projeto intitulado "Análises proteômicas de *Staphylococcus saprophyticus* sob diferentes condições de pH – Relações com a patogenicidade", coordenado pela Profª Juliana Alves Parente e financiado pelo CNPq após aprovação em edital Universal MCT/CNPq 14/2010.

3. Objetivos

Dado o conhecimento ainda incipiente relacionado à biologia e à patogênese de *S. saprophyticus* tornam-se necessários estudos proteômicos neste modelo. O objetivo central do projeto é a identificação de proteínas diferencialmente expressas

em diferentes condições de pH. Em função desse objetivo geral temos os seguintes objetivos específicos:

1- Caracterizar o perfil proteômico de *S. saprophytius* em condições de pH 5,0; 7,0 e 9,0;

2- Identificar proteínas que são diferencialmente expressas entre as diferentes condições de pH;

4. Materiais e métodos

4.1. Manutenção e cultivo de *S. saprophyticus*;

A cepa de *S. saprophyticus* ATCC 15305 foi mantida a 4ºC em Brian Heart Infusion (BHI) sólido (Gibco). Após a obtenção das colônias, foi feito pré-inóculo em 10 ml de meio BHI líquido pH 7,0 com uma colônia por 16-18 horas de incubação a 37ºC a 150rpm. (Al-Qadiri *et al*, 2008). Em seguida, 500 **µ**L deste inóculo foi utilizado para um novo inóculo em 500 mL de meio até a densidade óptica em 600 nm de comprimento (DO 600) de 0,7. Em seguida, as células foram obtidas por centrifugação e incubadas em meio BHI nas diferentes condições: ácida (pH 5,5), neutra (pH7,0) e alcalina (pH 9,0).

4.2. Extração de proteínas totais de *S. saprophyticus*

Para a obtenção do extrato, utilizamos os tubo de extração de 2 ml com perolas de vidro (Sigma Aldrich) de 0,2 a 0,8nm. As células foram lisadas em aparelho de agitação Bead Beater (Biospec) em quatro ciclos de 30 segundos para lisar as células. Após a lise celular, o extrato proteico foi obtido por centrifugação dos restos celulares. As amostras foram dosadas com reagente de Bradford (Sigma Aldrich) em aparelho de ELISA (Thermo Scientific) e em seguida concentrado em dispositivo amicon (Millipore) de 3 kDa para obtenção da concentração mínima de 1 µg/µL de extrato protéico. A integridade do extrato protéico obtido foi avaliada em gel SDS-PAGE contendo 30 µg de extrato de cada condição avaliada.

4.3. Preparação de amostras para espectrometria de massas

Um total de 400 µg de extrato protéico de cada condição avaliada foi utilizado para identificação por espectrometria de massas. As amostras foram tratadas com DTT 10mM (GE Healthcare) por 30 min para redução e 30min com iodoacetamida 10mM (Sigma-Aldrich) para alquilação. Após este tratamento, as proteínas foram incubadas com 20 ng de tripsina (Promega) por 16h a 37 ºC para digestão. As amostras foram então tratadas com ácido trifluoroacétido (TFA) 0.1% (Sigma- Aldrich) e purificadas com resina de C18 ZipTips (Millipore). As resinas foram equilibradas antes do uso com 30 µL de acetonitrila (ACN), seguida de lavagem com 30 µL das seguintes soluções: (1) ACN 80% e TFA 0.1%, (2) ACN 50% e TFA 0.1%, (3) ACN 30% e TFA 0.1% e, por último (4) TFA 0.1%. Os peptídeos foram ligados às ZipTips por 10 pipetagem consecutivas de 10 µL de amostra. Após a ligação dos peptídeos na resina, as impurezas foram retiradas por lavagens com 50 µL de TFA 0.1% e os peptídeos eluídos com 20 µL de ACN 50% e TFA 0.1%, seguida de uma eluição com 20 µL de ACN 80% com TFA 0.1%. Os dois eluatos foram combinados para concentração usando centrífuga de vácuo (Eppendorf).

4.4.Espectrometria de massas para identificação das proteínas de *S. saprophyticus*

As amostras foram analisadas após separação por nano cromatografia líquida (LC) Nano Acquity UPLC (Waters®) por espectrômetro de massas com fonte nano eletrospray (ESI) MS/MS pela aplicação de 1,5 kV e volume de vazão de 1 µL/min em aparelho SYNAPT Q-TOF (Waters®). A análise de homologia foi realizada em bancos de dados utilizando o software ProteinLynx 2.3 com base em banco de dados (Waters®).

5. Resultados e discussão

A Figura 1 mostra a integridade dos extratos protéicos obtidos após incubação de *S. saprophyticus* nas condições ácida, neutra e alcalina. É possível identificar espécies protéicas que são diferencialmente expressas dentre as condições, assinadas com uma seta, na figura. Após avaliação da integridade dos extratos, as amostras foram tripsinizadas e utilizadas para idenficação por espectrometria de massas.

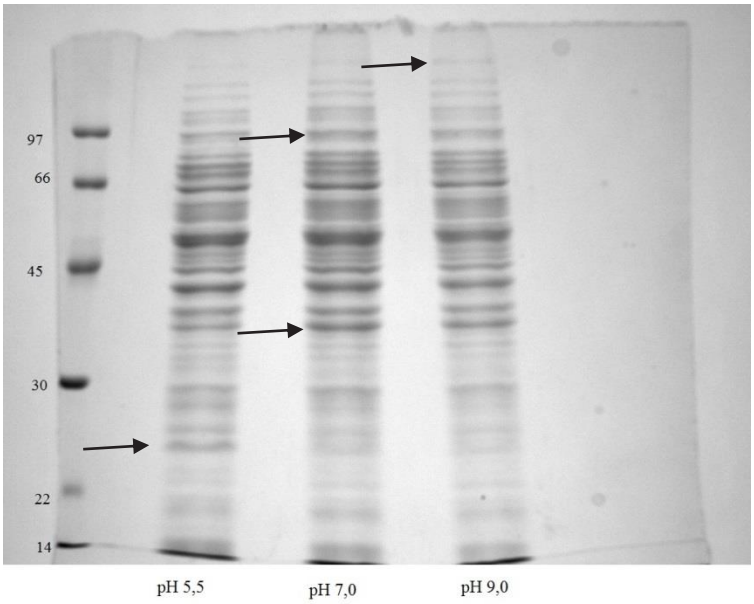


Figura 1 – Extratos protéicos de *S. saprophyticus* obtidos após cultivo em condições de pH 5,5; 7,0 e 9,0. As setas indicam espécies protéicas que apresentaram maior variação de expressão nos tratamentos avaliados.

Os experimentos de espectrometria de massas estão em andamento após padronização. Já foi possível identificar 86 proteínas na condição controle – pH 7,0 – que estão listadas na Tabela 1. Foram identificadas proteínas citoplasmáticas e de compartimentos celulares, tais como: vacúolos, mitocôndria e retículo endoplasmático. Dentre as proteínas identificadas, pode-se citar chaperonas, fatores de alongamento, proteínas ribossomais, e proteínas envolvidas no metabolismo energético, tais como enolase e triose fostato isomerase. Entretanto, novas cromatografias serão realizadas para identificar proteínas menos abundantes. Será realizada também a identificação quantitativa das proteínas para comparação das 3 condições de tratamento realizadas.

Tabela 1 – Proteínas identificadas por espectrometria de massas na condição de pH 7,0.

Número de acesso*	Nome da proteína	Score
ISAA_STAS1	Probable transglycosylase isaA	34425,68
Q49XS7_STAS1	Bacterial nucleoid DNA binding protein	23586,4
Q49VV4_STAS1	Putative uncharacterized protein	19445,79

RL29_STAS1	50S ribosomal protein L29	10212,87
Q49WH3_STAS1	Bifunctional autolysin	8494,323
EFTU_STAS1	Elongation factor Tu	7722,335
Y1056_STAS1	Putative universal stress protein SSP105	6295,022
UAFA_STAS1	Uro adherence factor A	6123,709
DNAK_STAS1	Chaperone protein DnaK	6117,522
Q49VF9_STAS1	Putative uncharacterized protein	5607,132
CH60_STAS1	60 kDa chaperonin	5396,516
Q49VC9_STAS1	Putative uncharacterized protein	4565,873
Q4A0Q6_STAS1	Fructose bisphosphate aldolase class I	4302,479
RS16_STAS1	30S ribosomal protein S16	4266,156
RL5_STAS1	50S ribosomal protein L5	4225,837
Q49WW8_STAS1	Cell division protein ftsZ	4042,708
RS11_STAS1	30S ribosomal protein S11	3918,187
RL7_STAS1	50S ribosomal protein L7 L12	3735,352
RL2_STAS1	50S ribosomal protein L2	3419,051
RL30_STAS1	50S ribosomal protein L30	3351,17
RL11_STAS1	50S ribosomal protein L11	3160,05
Y954_STAS1	UPF0342 protein SSP0954	3081,063
RL15_STAS1	50S ribosomal protein L15	3002,61
EBPS_STAS1	Probable elastin binding protein ebpS	2860,335
RS10_STAS1	30S ribosomal protein S10	2824,865
THIO_STAS1	Thioredoxin	2733,352
Q49VZ9_STAS1	Glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase	2659,156
CLPC_STAS1	ATP dependent Clp protease ATP binding subunit	2465,511
RL4_STAS1	50S ribosomal protein L4	2189,127
RL21_STAS1	50S ribosomal protein L21	2176,189
RL36_STAS1	50S ribosomal protein L36	2096,703
CH10_STAS1	10 kDa chaperonin	2070,837
RRF_STAS1	Ribosome recycling factor	2067,193
Q49XD6_STAS1	Transketolase	2065,104
KPYK_STAS1	Pyruvate kinase	1815,03

RL32_STAS1	50S ribosomal protein L32	1783,675
RS12_STAS1	30S ribosomal protein S12	1711,028
Q49YL0_STAS1	Putative transaldolase	1636,37
Q49ZL8_STAS1	Putative secretory antigen	1631,568
RL10_STAS1	50S ribosomal protein L10	1511,859
ENO_STAS1	Enolase	1482,353
Q49WL9_STAS1	Pyruvate dehydrogenase E1 component beta	1431,992
RS19_STAS1	30S ribosomal protein S19	1416,48
Q4A095_STAS1	Sortase A	1385,325
AHPC_STAS1	Alkyl hydroperoxide reductase subunit	1320,845
EFTS_STAS1	Elongation factor Ts	1319,095
Q49Z72_STAS1	Fructose bisphosphate aldolase	1166,818
Q49UT6_STAS1	Putative uncharacterized protein	1115,229
RS5_STAS1	30S ribosomal protein S5	1087,952
RL13_STAS1	50S ribosomal protein L13	1078,692
LDH_STAS1	L lactate dehydrogenase	1036,853
SLE1_STAS1	N acetylmuramoyl L alanine amidase sle1	1025,074
RS7_STAS1	30S ribosomal protein S7	1023,214
RL6_STAS1	50S ribosomal protein L6	932,4804
LTAS_STAS1	Lipoteichoic acid synthase	929,3826
Q49W42_STAS1	Putative nitroreductase	924,0038
RL27_STAS1	50S ribosomal protein L27	870,2957
Q49V22_STAS1	Cysteine synthase	866,0574
Q49Y87_STAS1	Putative cell shape determining protein	863,8442
Y1897_STAS1	UPF0337 protein SSP1897	843,002
UREG_STAS1	Urease accessory protein UreG	780,6658
Q49X75_STAS1	Putative uncharacterized protein	753,036
Y1834_STAS1	NADH dehydrogenase like protein SSP1834	747,9912
GATB_STAS1	Aspartyl glutamyl tRNA	706,9122
RL22_STAS1	50S ribosomal protein L22	706,2787
EFG_STAS1	Elongation factor G	689,6525
GRPE_STAS1	Protein grpE	687,5987
RS6_STAS1	30S ribosomal protein S6	671,5098

Q49WU3_STAS1	Putative uncharacterized protein	671,1334
HTRAL_STAS1	Serine protease htrA like	668,2086
Q49XC4_STAS1	Putative uncharacterized protein	661,1303
TIG_STAS1	Trigger fator	633,1446
GLYA_STAS1	Serine hydroxymethyltransferase	626,8094
TPIS_STAS1	Triosephosphate isomerase	620,5067
CLPP_STAS1	ATP dependent Clp protease proteolytic subunit	613,087
SUCC_STAS1	Succinyl CoA ligase ADP forming subunit	591,7244
Q49XQ6_STAS1	Penicillin binding protein 2	569,8872
RS8_STAS1	30S ribosomal protein S8	560,7319
Q49XA2_STAS1	Glutamine synthetase	533,3144
Q49YI1_STAS1	D alanine aminotransferase	528,058
Q49ZV2_STAS1	Putative ribose 5 phosphate isomerase	521,5433
RS4_STAS1	30S ribosomal protein S4	490,4045
PGK_STAS1	Phosphoglycerate kinase	485,2016
Q49VW8_STAS1	Integrase	473,4509
RL16_STAS1	50S ribosomal protein L16	472,6261
Q49WB4_STAS1	Putative ATPase subunit	71,6713

* Número de acesso em banco de dados Uniprot (www.uniprot.org)

A identificação de proteínas de *S. saprophuticus* diferencialmente expressas nas condições de pH ácido, básico e neutro será importante para obtenção de informações acerca das adaptações metabólicas desta bactéria que favoreçam o processo infectivo do trato genito-urinário humano.

6. Atividades complementares desenvolvidas no período da bolsa

No período de desenvolvimento do plano de trabalho proposto, foram desenvolvidas também atividades em outro projeto de pesquisa, que visa a identificação de proteínas do fungo *Paracoccidioides* spp. ligantes a zinco e cobre.

O fungo termodiófico *Paracoccidioides spp.* é causador da micose de maior prevalência da América Latina, a paracoccidioidomicose (PCM). Este fungo cresce no solo, na forma miceliana, na temperatura entre 22-25°C (Bagagli *et al*, 1998). A PCM

primeiramente invade o tecido pulmonar, onde ele transita da forma de micélio ou conídio para levedura, sua forma parasitária no hospedeiro, devido a mudança de temperatura 22°C para 37°C, os órgãos e tecido respectivamente. (Marcus *et al*, 2009).

Para o estabelecimento de um microrganismo no hospedeiro, sua virulência está relacionada, principalmente, à sua forma de estabelecimento no hospedeiro e captação de nutrientes, que por sua vez é geralmente cometida em homens do que em mulheres. Sendo assim, a adaptação metabólica bem como sua sobrevivência no hospedeiro depende da ação dos complexos enzimáticos e dos metais como seus cofatores. É importante lembrar que o contagio advém da inalação do fungo, portanto, mesmo que uma pessoa esteja com PCM, ela não será passada de indivíduo para indivíduo (Brummer *et al*, 1993).

Os estudos proteômicos visam estudar em um amplo aspecto as proteínas, suas estrutura e funções. Após a genômica, a proteômica está sendo estudada em larga escala, pois está presente em diversas funções dos seres vivos. E na proteômica está contida a metaloproteômica, que é o estudo de proteínas ligantes de metais. As metaloproteínas são proteínas ligadas a metais, estes essenciais para a formação estrutural, regulatória enzimática da maioria dos sistemas biológicos (Permyakov *et al*, 2009).

O zinco é um íon metal de extrema importância em grande para dos processos biológicos sendo cofator para mais de 300 enzimas e processos bioquímicos. O cobre é um metal que ajuda na transferência de elétrons para oxidação de vários substratos (Permyakov *et al*, 2009).

No desenvolvimento destas atividades, o fungo *Paracoccidioides sp.* foi cultivo *in vitro* em meio BHI (Gibco) contendo 4% de glicose (Sigma Aldrich) por 72 horas e os extratos proteicos totais foram obtidos, conforme descrito acima. O extrato protéico total foi obtido e dosado utilizando método de Bradford, conforme descrito. As proteínas com sítios de ligação a metais foram obtidas por separação em coluna de cromatografia que apresenta afinidade por metais IMAC-Select Affinity Gel (Sigma Aldrich) e analisadas em gel SDS-PAGE. A identificação dessas proteínas purificadas por espectrometria de massas com o aparelho nanoULPC-MS^{E} (Waters) está em andamento.

7. Referências

Al-Qadiri HM; Al-Alami N; Mengshilin Al-Holy M; Anna GC, Barbara AR (2008) Studying of the Bacterial Growth Phases Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Multivariate Analysis. **J Rap Meth Autom Microbiol** 16(1) 73–89.

Bagagli E, Sano A, Coelho KI, Alquati S, Miyajl M, Camargo ZP, Gomes GM, Franco M, Montenegro MR (1998) Isolation Of *Paracoccidioides brasiliensis* From Armadillos (*Dasypus noveminctus)* Captures in an Endemic Area of Paracoccidioidomycosis. **Am. J. Trop. Med. Hyg** 58(4) 505–12.

Brummer E, Castaneda E, Restrepo A (1993) Paracoccidioidomycosis: an update. **Clin Microbiol Rev** 6(2) 89.

Henry D, Ellison W, Sullivan J, Mansfield DL, Magner DJ, Dorr MB, Talbot GH. (1998) Treatment of Community-Acquired Acute Uncomplicated Urinary Tract Infection with Sparfloxacin versus Ofloxacin. **Antimicrob Agents Chemother** 2262–2266.

Gatermann S & Marre R (1989) Cloning and expression of *Staphylococcus saprophyticus* urease gene sequences in *Staphylococcus carnosus* and contribution of the enzyme to virulence. **Infect Immun** 57(10) 2998-3002.

Gupta K, Scholes D, Stamm WE (1999) Increasing Prevalence of Antimicrobial Resistance Among Uropathogens Causing Acute Uncomplicated Cystis in Womem. **JAMA** 281(8) 736-8.

Heikens E, Fleer A, Paauw A, Florijn A, Fluit AC (2005) Comparison of Genotypic and Phenotypic Methods for Species-Level Identification of Clinical Isolates of Coagulase-Negative Staphylococci. **J Clin Microbiol** 43(5) 2286–2290.

King NP, Sakinç T, Ben Zakour NL, Totsika M, Heras B, Simerska P, Shepherd M, Gatermann SG, Beatson SA, Schembri MA (2012) Characterisation of a cell wall-

anchored protein of *Staphylococcus saprophyticus* associated with linoleic acid resistance. **BMC Microbiol**. 12:8.

Kloos WE, Bannerman TL (1994) Update on Clinical Significance of Coagulase-Negative Staphylococci. **Clin Microbiol Rev**, 7(1) 117-140.

Lo DS, Shieh HH, Ragazzi SLB, Koch VHK, Martinez MB, Gilio AE (2013) Infecção urinária comunitária: etiologia segundo idade e sexo. **J Bras Nefrol** 35(2) 93-98.

Teixeira MM, Theodoro RC, de Carvalho MJ, Fernandes L, Paes HC, Hahn RC, Mendoza L, Bagagli E, San-Blas G, Felipe MSS (2009) Phylogenetic analysis reveals a high level of speciation in the Paracoccidioides genus. **Mol Phylogenet Evol** 52 (2009) 273–283

Permyakov EA (2009) Metalloproteomics. USA Wiley 786. 1ª Ed.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

FACULDADE DE DIREITO

HAUNY RODRIGUES PEREIRA[1]

NIVALDO DOS SANTOS[2]

EMPRESAS JUNIORES NO BRASIL: SUA NATUREZA JURÍDICA E REGIME TRIBUTÁRIO

Resumo: Este trabalho possui o objetivo de analisar as chamadas Empresas Juniores fruto do Movimento Empresa Júnior, surgido na França, onde alunos buscavam formação complementar àquilo aprendido em sala de aula. Em um mercado cada vez mais competitivo, as Empresas Juniores ganham cada dia mais espaço. Atualmente, atuam no Brasil a Confederação Brasileira de Empresas Juniores - Brasil Junior, formada por 14 Federações, representando 13 Estados mais o Distrito Federal. Segundo dados da Confederação Brasileira, o Brasil é, hoje, o país com o maior número de Empresas Juniores do mundo. Diante disso, compreender o Movimento Empresa Junior – MEJ, sua origem, história e organização, bem como compreender a Confederação Brasileira de Empresas Juniores e as Federações Estaduais foi um dos objetivos do trabalho. Para tanto, foi necessário analisar o regime jurídico das Empresas Juniores no Brasil, o enquadramento legal e funcionamento dessas empresas, assim como sua tributação e imunidades.

Palavras-chave: Empresa Júnior; Empreendedorismo; Natureza Jurídica; Regime Tributário;

[1] Orientando. Aluno de Graduação em Direito na UFG. Diretor Presidente Fundador da Ex Le Lege – Empresa Júnior Jurídica da UFG. Presidente Executivo da Federação Goiana de Empresas Juniores – Goiás Júnior. Conselheiro de Administração da Confederação Brasileira de Empresas Juniores – Brasil Júnior. Monitor de Direito Penal. Bolsista vinculado à modalidade PIBIC do CNPq. E-mail: haunyy@hotmail.com.

[2] Orientador. Professor Titular da Faculdade de Direito da UFG. Mestre em Direito pela UFG e Doutor em Direito pela PUC/SP. Advogado militante. Professor Orientador da Ex Lege – Empresa Júnior Jurídica da UFG. E-mail: nivaldodossantos@bol.com.br.

REVISADO PELO ORIENTADOR

1. INTRODUÇÃO AO MOVIMENTO EMPRESA JÚNIOR: UMA ABORDAGEM SOBRE SUA ORIGEM, HISTÓRIA E ORGANIZAÇÃO

Ao se falar em Empresa Júnior – instituição da qual falaremos melhor adiante sobre sua natureza jurídica – nos deparamos com um contexto maior, chamado Movimento Empresa Júnior – MEJ.

Sua origem remonta o surgimento da primeira Empresa Júnior - EJ na ESSEC (L'Ecole Supérieure des Sciences Economiques et Commerciales de Paris) no ano de 1967, em Paris – França[3]. Naquela época, alunos daquela instituição de ensino, convictos da necessidade de complementação dos seus conhecimentos por meio da aplicação prática, criaram a Junior-Enterprise, uma associação cujo objetivo era proporcionar uma realidade empresarial antes da conclusão dos cursos que eles estavam realizando.

Decorridos dois anos, em 1969, mais de vinte Empresas Juniores – EJ's, na França, já haviam sido fundadas, o que propiciou àquelas associações iniciarem o processo de fundação da Confederação Francesa de Empresas Juniores (Confédéracion Nationale des Junior-Enterprises – CNJE), objetivando principalmente a representação do Movimento Empresa Júnior na França.

Passados mais de 15 anos, exatamente em 1986, mais de 100 Empresas Juniores já haviam sido fundadas na França, o conceito Empresa Júnior começou a se difundir pelo restante da Europa, alcançando países como a Bélgica, Holanda, Alemanha, Portugal, Itália e Suíça, surgindo novas peculiaridades, ocasionando, em 1990, na fundação da Confederação Europeia de Empresas Juniores, a JADE (Junior Association for Development in Europe).

Países por todo o mundo tais como Canadá, Camarões, África do Sul, Marrocos, Japão, Equador, EUA e etc. também já contam com Empresas Juniores.

Nessa senda, aqui no Brasil, o conceito Empresa Júnior aportou em idos do ano de 1987, por meio do diretor da Câmara de Comércio Franco-Brasileira, João Carlos Chaves.

No entanto, apenas em 1989, na Escola de Administração de Empresas da Fundação Getúlio Vargas - FGV, foi fundada a primeira Empresa Júnior chamada Júnior GV, atual Empresa Júnior Fundação Getúlio Vargas[4].

---

[3] Dados históricos desse tópico foram obtidos em CUNHA. Filippe Apolo Gomes da. *DNA Júnior, versão 1.1.* Brasil Júnior. Disponível em: <http://brasiljunior.org.br>. Acesso em: 09 abril 2013.

[4] Maiores informações disponível em: <http://ejfgv.com.br/site/2-empresa_ja_nior_-_fundaa_a_o_getulio_vargas>.

No ano seguinte, em 1990, já existiam sete EJ's que em união, em junho, fundaram a FEJESP (Federação das Empresas Juniores do Estado de São Paulo)[5]. Entre os seus principais objetivos estavam: representar as Empresas Juniores federadas, manter as empresas fiéis e coerentes ao conceito inicial e garantir a unidade do movimento.

Dessa forma, com algumas EJ's e uma Federação estruturada, o MEJ paulista sediou, em 1993, o primeiro Encontro Nacional de Empresas Juniores - ENEJ, na cidade de São Paulo. Daí em diante diversas Federações foram criadas.

Atualmente, o Brasil é o país que possui o maior número de EJ's, estimadas em torno de 600, em cerca de 23 Estados, conforme dados da Brasil Júnior[6].

Com o intuito de representar em âmbito nacional as EJ's, fora fundada, em agosto de 2003, no XI ENEJ, realizado na cidade de Salvador, a Confederação Brasileira de Empresas Juniores – Brasil Júnior.

O evento contou com a participação de cerca de 1500 empresários juniores que votaram pela fundação da Brasil Júnior e, na mesma oportunidade, elegeram a sua primeira Diretoria Executiva.

No ano seguinte à fundação da Confederação, em julho, realizou-se a primeira Conferência Mundial de Empresas Juniores - COMEJ simultaneamente ao XII ENEJ que reuniu empresários juniores de cinco continentes na cidade de Fortaleza para discutir o empreendedorismo em rede das Empresas Juniores.

Desde então, desempenhando um excelente trabalho, a Brasil Júnior vem mapeando o MEJ nacional.

Dessa forma, em 2012 a Confederação Brasileira realizou a 5ª edição do Censo & Identidade, que é realizada anualmente. Nessa última edição mais de 300 empresas juniores e mais de 4000 empresários juniores responderam o questionário. Este foi o maior índice de participação da história da Brasil Júnior.

Ao fornecer informações sobre as empresas juniores, o censo orienta a atuação da Confederação e suas Federações estaduais na escolha do melhor planejamento a ser traçado para o desenvolvimento das EJ's, traçando o perfil destas e dos empresários juniores.

[5] Disponível em: <http://www.fejesp.org.br/fejesp/empresa-junior-federacao-sao-paulo>. Acesso em 08 ago 2013.

[6] Disponível em: <http://www.brasiljunior.org.br/site/>. Acesso em: 09 de abril 2013.

Outrossim, foi possível constatar na última versão do levantamento que existe um maior número de empresas juniores distribuídas nas regiões sul e sudeste do Brasil, ou seja mais da metade (62,75%). De outro lado, percebeu-se um crescimento do MEJ no país, saltando de 19 Estados em 2011 para 23 Estados com empresas juniores mapeadas. Minas Gerais foi o Estado campeão, com 21,92% de EJ's mapeadas[7].

Outro dado importante foi a constatação da área de atuação das EJ's. Em grande parte pertencem as Engenharias (29,86%), seguida de Ciências Sociais Aplicadas (23,29%). 45% das EJ's são oriundas de cursos de áreas mistas.

Ao buscarmos a origem da iniciativa de fundação da empresas juniores verificamos que 68% derivam de iniciativas de alunos, outros 25% de alunos e professores.

Essas EJ's estão vinculadas na sua maioria em Instituições Federais Ensino Superior - IFES (63,84%), seguida de Instituições Estaduais de Ensino Superior - IEES (23,56%), restando 10,96% vinculadas em Instituições Privadas de Ensino Superior - EPES.

Para a consecução do seu objetivo de realizar projetos as empresas juniores contaram em sua maioria com a orientação do corpo docente das IES. Desses projetos 74,38% foram orientados por professores não remunerados pela associação, outros 21,76% por professores remunerados. Sendo que 27% contaram com orientação dada por ex-membros da empresa, o que mostra a importância desses atores (os pós-juniores) para o MEJ.

Tendo em vista a natureza dos projetos e serviços efetuados pelas empresas juniores, mais de 77% das empresas ligaram suas atividades com os cursos de graduação a que são vinculadas. Outras 10,68% realizam projetos/serviços baseados nas atribuições da categoria profissional a que é vinculada o curso de graduação.

Nesse contexto, o ano 2012 fechou com um PIB Júnior Nacional de R$ R$ 8.652.407,92, com média de faturamento por EJ de R$ 23.705,23 e PIB Júnior per capita de R$ R$ 1.111,42.

Algo preocupante foi a constatação pelo censo do alto grau de concentração de faturamento pelas empresas juniores, 20% delas faturam 81% do PIB Júnior Nacional.

[7] Os dados estatísticos deste artigo foram obtidos por meio do Censo e Identidade da Brasil Júnior. Disponível em: <http://www.brasiljunior.org.br/site/>. Acesso em: 10 de maio 2013.

O Movimento Empresa Júnior nacional se agiganta cada vez mais, o censo de 2012 contabilizou 7785 empresários juniores, sendo em média de 21,33 empresários juniores por empresa.

O número de alunos interessados em participar do MEJ também é animador. Foram registrados 19009 inscritos nos processos seletivos das empresas juniores. Destes, o total de alunos de graduação aprovados nos foi de 5590, ou seja, 29% dos alunos inscritos são aprovados nos processos seletivos.

Algo importante no MEJ é a alta rotatividade dos alunos nas empresas juniores, afinal os curso de graduação possuem duração média de 4 ou 5 anos. Por isso o período médio de permanência dos membros na Empresa Júnior é de 1 ano e 3 meses

Dessa análise geral percebemos que 92% dos respondentes do questionário revelaram estudar em instituições públicas.

O perfil socioeconômico dos empresários juniores também nos mostra uma concentração nas classes mais abastadas. 34% dos respondentes declararam possuir renda familiar de R$ 3.060,00 até R$7.650,00, enquanto 26% possuem renda na faixa de R$ 7.650,00 até R$ 15.300.

A idade média dos empresários juniores gira em torno dos 20 anos. Eles em sua maioria afirmaram ser católicos (51% das respostas válidas), 12% não apresentam religião e 10% afirmam ser Evangélicos.

Quanto as instâncias do Movimento Empresa Júnior, sigamos em um estudo mais aprofundado nos tópicos seguintes.

1.1. A CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS JUNIORES

Como dito linhas acima, a Brasil Junior é a Confederação Brasileira de Empresas Juniores, órgão responsável pela regulamentação, suporte e representação do MEJ em âmbito nacional. É estruturada na forma de pessoa jurídica de direito privado, sendo uma associação civil sem fins lucrativos. É formada atualmente por 14 federações, representando 13 estados, dentre eles Goiás e o Distrito Federal.

Outra linha de atuação da Brasil Júnior é a integração do Movimento, que ocorre em reuniões com as federações e, principalmente, reunindo as empresas juniores na realização

do ENEJ. Em 2013 o evento ocorreu em Porto Alegre – RS, no mês de julho, contando com milhares de empresários juniores envolvidos[8].

Outro importante evento realizado pela Brasil Júnior em 2012 foi o Junior Enterprise World Conference - JEWC, considerado o maior evento de jovens empreendedores do mundo. O JEWC foi o encontro mundial de empresas juniores, passado em Paraty - RJ, no mês de agosto.

Dessa forma, como objeto de investigação do plano de trabalho do PIBIC, a fim de instruir nossos estudos, participamos de ambos os eventos.

É de se dizer que atualmente uma das principais funções da Confederação Brasileira é a concessão do "Selo EJ" que garante o nível mínimo de estruturação do Movimento Empresa Júnior confederado a Brasil Júnior[9].

Foi possível perceber que grande parte das empresas juniores estão de acordo com os requisitos, além de fazer ações para mantê-lo (53,70%). No entanto, parcela significativa (32,33%) não tem conhecimento dos critérios do Selo EJ ou não tem ações para consegui-lo[10].

Outro importante dado é referente a participação dos empresários juniores nas atividades da Brasil Júnior, observando-se que a maioria não possui participação alguma na Confederação Brasileira. O que reflete o distanciamento da Brasil Júnior da base do MEJ: o empresário júnior.

1.2. FEDERAÇÕES ESTADUAIS DE EMPRESAS JUNIORES

Como instância intermediária do MEJ, as federações fazem a ligação entre as empresas juniores e a Brasil Júnior.

Atualmente são totalizadas 14 federações confederadas a Brasil Júnior, sediadas em 13 Estados e no Distrito Federal.

Em Goiás fora fundada em 2011 a Federação Goiana de Empresas Juniores – Goiás Júnior[11] que se intitula como

[8] Maiores informações acesse: <www.enej2013.com.br>.

[9] Maiores informações conferir o Edital do Sele Empresa Júnior 2013. Disponível em < http://brasiljunior.org.br/site/arquivos>. Acesso em 05 maio 2013.

[10] Informação do Censo e Identidade da Brasil Júnior. Disponível em: <http://www.brasiljunior.org.br/site/>. Acesso em: 10 de maio 2013.

> órgão máximo do Movimento Empresa Júnior (MEJ) no estado de Goiás, tendo como missão: representar, regular e potencializar o MEJ no estado, promovendo a integração e o desenvolvimento das empresas juniores e da sociedade goiana.[12]

Através da representação dos interesses das empresas juniores, a Goiás Júnior e as demais federações buscam respaldo frente ao Poder Executivo, mercado e sociedade. Sua principal função é integrar, potencializar e regular as empresas juniores fazendo uso principalmente do Selo EJ da Brasil Júnior que é aplicado primordialmente pelas federações.

Um dado importante que o Censo & Identidade de 2012 nos revelou é que das 365 empresas juniores respondentes, 52,88% são federadas a alguma Federação e, 42,72% não são federadas a nenhuma Federação, mas pretendem se federar ou estão se federando[13].

Quando questionados sobre a participação dos empresários juniores nas atividades da Federação, 65% dos empresários relataram participar de alguma forma, dentre elas reuniões e eventos da Federação. Outros 36% dos respondentes relataram que não participam de nenhuma atividade desenvolvida pela Federação.

2. NATUREZA JURÍDICA DAS EMPRESAS JUNIORES

As Empresas Juniores como visto, são fruto do Movimento Empresa Júnior, surgido na França, onde alunos buscavam formação complementar àquilo aprendido em sala de aula. Portanto, desse movimento deriva o nome “Empresa Júnior”.

Conforme preceitua o artigo 2º do Conceito Nacional de Empresa Junior[14]

> As empresas juniores são constituídas pela união de alunos matriculados em cursos de graduação em instituições de ensino superior, organizados em uma associação civil com o intuito de realizar projetos e serviços que contribuam para o desenvolvimento do país e de formar profissionais capacitados e comprometidos com esse objetivo.

Segundo a Confederação Brasileira de Empresas Juniores, as Empresas Juniores podem ser definidas da seguinte forma

---

[11] Maiores informações acesse: < http://www.goiasjunior.org.br/>.

[12] Disponível em:< http://www.goiasjunior.org.br/index.php?/Institucional.html>. Acesso em: 05 jun 2013.

[13] Informação do Censo e Identidade da Brasil Júnior. Disponível em: <http://www.brasiljunior.org.br/site/>. Acesso em: 10 de maio 2013.

[14] Disponível em: <http://www.unijrba.org.br/site/downloads/ConceitoNacionaldeEmpresaJunior.pdf>. Acesso em: 09 de abril 2012.

> Formalmente, Empresa Júnior é uma associação civil, ou seja, com um objetivo comum e bem definido. Estruturalmente, é um grupo formado e gerido única e exclusivamente por alunos da graduação. Esta associação, para que seja configurada numa EJ, tem que ser declaradamente sem fins econômicos. A receita oriunda dos projetos deve ser reinvestida na própria EJ e não pode ser distribuída entre seus membros. Isto não significa que a EJ não possa remunerar seus membros, mas implica que toda movimentação financeira deva ser justificada. Geralmente, esta justificativa é feita sob a ótica do reembolso das atividades realizadas A EJ deve ainda ser considerada autônoma, respondendo por todos os seus atos. Para tal, a EJ não deve sofrer qualquer intervenção externa na sua gestão, nem do corpo docente nem dos coordenadores dos cursos. É conveniente frisar que interferência é diferente de orientação. Para que as ações fluam normalmente, é imprescindível a presença de alguém (professor ou algum profissional de mercado que atenda às exigências técnicas do momento) no acompanhamento da produção intelectual, sobretudo na confecção dos projetos. Por fim, a EJ tem que ser configurada como política apartidária. Para conciliar interesses, a EJ se relacionará com diversas entidades, demonstrando sua vertente política. No entanto, não podemos confundir o relacionamento político com o envolvimento ideológico de partidos políticos[15].

Não é, portanto, a Empresa Júnior uma empresa propriamente dita, nos moldes da legislação empresarial. Trata-se, pelo contrário, de uma associação civil de direito privado, sem fins lucrativos e com fins educativos.

Na legislação pátria, é assegurado na Constituição Federal de 1988, o direito de associação em seu artigo 5º, incisos XVII, XVIII, XIX, XX, XXI.

Em citação a Pontes de Miranda, sobre o assunto das associações, o professor José Afonso da Silva assim as define: “toda coligação voluntária de algumas ou de muitas pessoas físicas, por tempo longo, com o intuito de alcançar algum fim (lícito), sob direção unificante”. (SILVA, 2012. p 266.).

Da mesma forma, ao falar sobre a liberdade de associação assegura o professor:

> A liberdade de associação de acordo com o dispositivo constitucional em exame, contém quatro direitos: *o de criar associações* (e *cooperativas na forma da lei*), que não depende de autorização; *o de aderir a qualquer associação*, pois ninguém poderá ser obrigado a associar-se; *o de desligar-se da associação*, porque ninguém poderá ser compelido a permanecer associado; e *o de dissolver espontaneamente a associação*, já que não se pode compelir a associação a existir. (...) Quer isso dizer, repita-se, que tanto a criação de associação como de cooperativa independe de autorização. (SILVA, 2012. p 267.)

[15]DNA Júnior. Disponível em: <http://www.brasiljunior.org.br/site/>. Acesso em: 09 de abril 2012.

Ressalvadas as associações que o fim não seja lícito, e as paramilitares, afirma José Afonso da Silva que "No mais têm as associações o direito de existir, permanecer, desenvolver-se e expandir-se livremente". (SILVA, 2012. p 268.)

No entanto, para a existência das associações é necessário o preenchimento de certos requisitos, segundo Silvio Rodrigues "A existência, perante a lei, das pessoas jurídicas de direito privado começa com a inscrição dos seus contratos, atos constitutivos, estatutos ou compromissos em seu registro público peculiar". (RODRIGUES, 2003. p 91).

Afirma ainda o respeitado civilista que as associações podem existir tanto no plano material quanto no jurídico. Vejamos:

> o *material*, representado quer pela associação de pessoas (preexistente), quer por um patrimônio destinado a um fim, e o *jurídico*, constante da atribuição da personalidade, que decorre de uma determinação da lei, e cuja eficácia advém da inscrição dos estatutos no registro peculiar. (RODRIGUES, 2003. p 91).

As associações como percebido, possuem o objetivo de realizarem um fim que não o econômico. No caso da Empresas Juniores, a finalidade é educacional e estritamente acadêmica. Segundo Pablo Stolze,

> As associações são entidades de direito privado, formadas pela união de indivíduos com o **propósito de realizarem fins não econômicos**. (...) O traço peculiar às associações civis, portanto, é justamente a sua finalidade não econômica – podendo ser **educacional**, lúdica, profissional, religiosa e etc. (grifo nosso). (FILHO; GAGLIANO, 2011. p 248).

O fim não econômico das associações, e no caso em análise, das Empresas Júnior, encontra-se expresso na vedação legal e do próprio Conceito Nacional de Empresa Júnior - CNEJ[16], de divisão entre seus membros dos lucros ou dividendos.

No entanto, como é princípio legal e do CNEJ, a associação Empresa Júnior é independente, administrativamente, financeiramente e etc., ou seja, não recebe por parte da Universidade vinculada, recursos financeiros para sua manutenção, sendo necessário, portanto, gerar renda para a manutenção de suas atividades educacionais.

Esta receita deve, por determinação legal e do CNEJ, ser revertida para a própria associação Empresa Júnior, visando à melhoria de suas atividades e na formação complementar de seus membros.

Assim são os ensinamentos do professor baiano Pablo Stolze:

[16] Disponível em: <http://www.brasiljunior.org.br/site/>. Acesso em: 09 de abril 2012.

> Note-se que, pelo fato de não perseguir escopo lucrativo, a associação não está impedida de gerar renda que sirva para a mantença de suas atividades e pagamento de seu quadro funcional. Pelo contrário, o que se deve é observar é que, em uma associação, os seus membros não pretendem partilhar lucros ou dividendos, como ocorre entre os sócios nas sociedades civis e mercantis. A receita gerada deve ser revertida em benefício da própria associação visando à melhoria de sua atividade. (RODRIGUES, 2003. p 249).

Os membros das Empresas Júniores desenvolvem suas atividades voluntariamente, mediante termo de voluntariado, por período compatível com suas demais atividades acadêmicas, sejam elas de ensino, pesquisa, extensão, ou até mesmo um estágio.

Assim sendo, resta esclarecido que as Empresas Juniores são associações civis de direito privado, sem fins lucrativos, com fins educativos. Seu foco é a formação complementar e não o lucro. No entanto, a EJ necessita de subsídios para sua existência, sendo estes obtidos pela eventual cobrança por seus produtos ou serviços. Nesse diapasão, é necessário ressaltar que a cobrança é de valor irrisório, apenas para os custeios de sua manutenção.

Não é raro, e pelo contrário, a existência de projetos sociais nos quais as Empresas Juniores desenvolvem seus trabalhos totalmente gratuitos.

2.1. A IMUNIDADE TRIBUTÁRIA DAS EMPRESAS JUNIORES

Antes de iniciarmos a abordagem a que se propõe esse tópico, devemos nos atentar para o fato de não se constituir a Empresa Júnior em empresa como preceitua o artigo 966 do Código Civil. Essa compreensão é de fundamental importância para o entendimento da tributação das EJ's.

Ao comentar sobre o conceito de empresa e o disposto no Código Civil, André Luiz Santa Cruz Ramos afirma que

> O Código Civil não definiu diretamente o que vem a ser empresa, mas estabeleceu o conceito de empresário em seu art. 966, conforme já mencionado. Empresário é quem exerce profissionalmente atividade econômica organizada para a produção ou a circulação de bens ou de serviços.
> Ora, do conceito de empresário acima transcrito pode-se estabelecer, logicamente, que empresa é uma atividade econômica organizada com a finalidade de fazer circular ou produzir bens ou serviços. (RAMOS, 2013. p.16).

Dessa forma, o exercício da empresa compreende o desenvolvimento de uma atividade: 1) de forma profissional (profissionalmente); 2) econômica; 3) organizada; 4) de produção ou circulação de bens ou serviços.

As EJ's aí não se encaixam em virtude de não desenvolverem essa atividade de forma econômica, pois segunda Ramos

> Ao destacarmos a expressão atividade econômica, por sua vez, queremos enfatizar que empresa é uma atividade exercida com intuito lucrativo. Afinal, conforme veremos, é característica intrínseca das relações empresariais a onerosidade. Mas não é só a ideia de lucro que a expressão atividade econômica remete. Ela indica também que o empresário, sobretudo em função do intuito lucrativo de sua atividade, é aquele que assume os riscos técnicos e econômicos de sua atividade. (RAMOS, 2013. p. 37).

Encerrando os esclarecimentos, pontuamos que embora tenhamos usado a expressão regime comercial no plano de trabalho do presente artigo, referíamo-nos ao regime empresarial e consequentemente ao direito empresarial. Isso se da tendo em vista a pontuação de André Luiz

> Hodiernamente, portanto, o direito comercial não cuida apenas do comércio, mas de toda e qualquer atividade econômica exercida com profissionalismo, intuito lucrativo e finalidade de produzir ou fazer circular bens ou serviços (...) e a mais adequada, diante da definitiva adoção da teoria da empresa pelo nosso ordenamento jurídico, é a expressão direito empresarial. (RAMOS, 2013. p.18).

Feitos os esclarecimentos, seguimos com a abordagem central deste tópico, a imunidade tributária das EJ's.

Alessandro Marques ao tratar do assunto em seu artigo sobre a imunidade tributaria das empresas juniores já defendia o caráter educacional de tais associações. Por isso, em seu tralho afirma que

> a aplicabilidade do instituto da imunidade tributária às entidades de educação foi prevista na Constituição Federal de 1988 com diversos objetivos, entre eles vale destacar: implementar uma democracia participativa, estimulando, principalmente, a sociedade civil a participar no projeto de construção educacional do país; e reconhecer a impossibilidade do estado tutelar e executar, de forma direta, a aplicação em espécie de todos os direitos (destacadamente os sociais). (MARQUES, 2012 p.45).

E prossegue o autor afirmando que

> as associações que se enquadram no Conceito Nacional de Empresas Juniores são contempladas com imunidade, logo que essa abrange não somente a educação formal, como também a educação extracurricular como cursos de idiomas e extensão universitária, além da educação informal. (MARQUES, 2012 p.46).

A imunidade tributária das EJ's encontra seu fundamento na própria Constituição Federal que veda aos Municípios, Estados, Distrito Federal e União, a instituição de impostos sobre entidades com o caráter educacional, senão vejamos:

> Art. 150. Sem prejuízo de outras garantias asseguradas ao contribuinte, é vedado à União, aos Estados, ao Distrito Federal e aos Municípios:
> (...)
> VI - instituir impostos sobre:
> (...)
> c) patrimônio, renda ou serviços dos partidos políticos, inclusive suas fundações, das entidades sindicais dos trabalhadores, das instituições de educação e de assistência social, sem fins lucrativos, atendidos os requisitos da lei;

Essa imunidade, no entanto, é condicionada ao preenchimento de certos requisitos elencados no Código Tributário Nacional[17]. Assim está disposta no referido diploma legal

> Art. 9º É vedado à União, aos Estados, ao Distrito Federal e aos Municípios:
> (...)
> IV - cobrar imposto sobre:
> c) o patrimônio, a renda ou serviços dos partidos políticos, inclusive suas fundações, das entidades sindicais dos trabalhadores, das instituições de educação e de assistência social, sem fins lucrativos, observados os requisitos fixados na Seção II deste Capítulo;
> (...)
> Art. 14. O disposto na alínea c do inciso IV do artigo 9º é subordinado à observância dos seguintes requisitos pelas entidades nele referidas:
> I – não distribuírem qualquer parcela de seu patrimônio ou de suas rendas, a qualquer título;
> II - aplicarem integralmente, no País, os seus recursos na manutenção dos seus objetivos institucionais;
> III - manterem escrituração de suas receitas e despesas em livros revestidos de formalidades capazes de assegurar sua exatidão.
> § 1º Na falta de cumprimento do disposto neste artigo, ou no § 1º do artigo 9º, a autoridade competente pode suspender a aplicação do benefício.
> § 2º Os serviços a que se refere a alínea c do inciso IV do artigo 9º são exclusivamente, os diretamente relacionados com os objetivos institucionais das entidades de que trata este artigo, previstos nos respectivos estatutos ou atos constitutivos.

O exercício do direito à imunidade tributária é imediato, ou seja, gozam essas instituições elencadas pela lei de presunção de imunidade, não necessitando de nenhuma autorização para acesso ao benefício, bastando a observância de não distribuírem qualquer

[17] Lei Federal n.º 5.172, de 25 de outubro de 1966.

parcela de seu patrimônio ou de suas rendas, a qualquer título, aplicando-as integralmente, no país, para a manutenção dos seus objetivos institucionais, devendo manterem escrituração de suas receitas e despesas em livros revestidos de formalidades capazes de assegurar sua exatidão, uma vez que não preenchidos tais requisitos pode o poder público suspender a aplicação do benefício.

Além desses requisitos, a Lei 9532/97 estabelece outros como o dever da instituição conservar em boa ordem, pelo prazo de cinco anos, contado da data da emissão, os documentos que comprovem a origem de suas receitas e a efetivação de suas despesas, bem assim a realização de quaisquer outros atos ou operações que venham a modificar sua situação patrimonial; apresentar, anualmente, Declaração de Rendimentos, em conformidade com o disposto em ato da Secretaria da Receita Federal; recolher os tributos retidos sobre os rendimentos por elas pagos ou creditados e a contribuição para a seguridade social relativa aos empregados, bem assim cumprir as obrigações acessórias daí decorrentes; assegurar a destinação de seu patrimônio a outra instituição que atenda às condições para gozo da imunidade, no caso de incorporação, fusão, cisão ou de encerramento de suas atividades, ou a órgão público; sem prejuízo de outros requisitos, estabelecidos em lei específica.

Por fim, mister ressaltar que a isenção a que se refere a lei aplica-se, exclusivamente, em relação ao Imposto de Renda aa Pessoa Jurídica e à contribuição social sobre o lucro líquido, não estão abrangidos pela isenção do imposto de renda os rendimentos e ganhos de capital auferidos em aplicações financeiras de renda fixa ou de renda variável.

4. METODOLOGIA

Para a consecução do presente trabalho foram necessários estudo e análise das provisões legais sobre o tema, bem como, da doutrina e jurisprudência.

A pesquisa realizada foi descritiva, fundamentada na pesquisa bibliográfica e documental, ocorrendo consultas a profissionais e autoridades de áreas afins, bem como documentos oficiais da Confederação Brasileira de Empresas Juniores e Federações Estaduais.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O empenho observado, e cada vez maior, de estudantes mobilizados na luta para a construção um ensino de qualidade, seja ele público ou privado, reflete uma tendência latente das necessidades dos acadêmicos no Brasil. O ensino hoje é limitado em relação ao que se espera de um estudante recém-formado; o suporte dado pelas Universidades é insuficiente se se quer tornar um profissional completo. O Movimento Empresa Júnior vem ao encontro dessas expectativas de melhoria do ensino, propondo aos acadêmicos uma nova forma de adquirir conhecimento e experiências, aliado à Universidade.

São por questões como estas que o MEJ no Brasil vem se agigantando. A criação da Federação Goiana de Empresas Juniores – Goiás Júnior em 2011 insere-se num contexto muito importante para a história do MEJ em Goiás. O Estado vivencia uma explosão do movimento com o surgimento de inúmeras Empresas Juniores aos moldes do Conceito Nacional de Empresa Júnior, o que leva a cada dia mais estudantes a conhecer, aderir, apoiar e se apaixonar pelo MEJ e pela gama de possibilidades de crescimento, profissional e pessoal, que lhes são proporcionados.

A exata compreensão da natureza jurídica e do regime tributário das Empresas Juniores é de vital importância para o exato entendimento por parte das IES sobre essa vertente do empreendedorismo encabeçada por alunos da graduação. De igual forma, a tributação correta das EJ's possibilita sua sobrevivência no mercado brasileiro deveras onerado com impostos e tributos.

Nessa senda, com o intuito de conhecer melhor as estruturas dessa vertente do empreendedorismo, bem como, ciente do desconhecimento por parte das Instituições de Ensino Superior do MEJ e, ainda, da resistência às empresas juniores, pretendemos analisar a legislação brasileira, a doutrina e jurisprudência sobre o assunto em sede de Iniciação Científica, com novo plano de trabalho aprovado e com vigência para 2013/2014, mas principalmente estudar a forma com que o Brasil pretende regular ou não as empresas juniores, vide o Projeto de Lei n.º 437 que regulamenta o Movimento Empresa Junior, apresentado e em tramite no Senado Federal de autoria do senador José Agripino (Democratas).

REFERÊNCIAS

BRASIL. **Constituição (1988)**. Lex: Presidência da República, Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos, Brasília, DF, 05 out de 1988.

_____. **Código Civil**. Lex: Presidência da República, Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos, Brasília, DF, 11 jan de 2002.

_____. **Código Tributário Nacional**. Lex: Presidência da República, Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos, Brasília, DF, 25 out de 1966.

CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESA JUNIORES (BRASIL JÚNIOR). Disponível em: <http://www.brasiljunior.org.br/site/>. Acesso em: 09 de abril 2012.

CUNHA. Filippe Apolo Gomes da. **DNA Júnior, versão 1.1. Brasil Júnior.** Disponível em: <http://brasiljunior.org.br>. Acesso em: 09 abril 2013.

DRUCKER, Peter F. **Administração de organizações sem fins lucrativos: princípios e Práticas.** São Paulo, Pioneira, 1997.

EMPRESA JÚNIOR FUNDAÇÃO GETÚLIO VARGAS. Disponível em: <http://ejfgv.com.br/site/2-empresa_ja_nior_-_fundaa_a_o_getulio_vargas>. Acesso em: 13 jun 2013.

ENCONTRO NACIONAL DE EMPRESAS JUNIORES (ENEJ). Disponível em: <www.enej2013.com.br>. Acesso em: 13 jun 2013.

FEDERAÇÃO DAS EMPRESAS JUNIORES DO ESTADO DE SÃO PAULO (FEJESP). Disponível em: <http://www.fejesp.org.br/>. Acesso em: 09 de abril 2012.

FEDERAÇÃO GOIANA DE EMPRESAS JUNIORES (GOIÁS JÚNIOR). Disponível em: < http://www.goiasjunior.org.br/>. Acesso em: 09 de abril 2012.

FEDERAÇÃO DAS EMPRESAS JUNIORES DO ESTADO DA BAHIA (UNIJR-BA). Disponível em: <http://www.unijrba.org.br/site/downloads/ConceitoNacionaldeEmpresaJunior.pdf>. Acesso em: 09 de abril 2012.

FILHO, Rodolfo Pamplona, GAGLIANO, Pablo Stolze. **Novo Curso de Direto Civil**. Volume I, parte geral, 13ª ed., São Paulo, Saraiva, 2011.

MARQUES, Alessandro. **Imunidade Tributária das Empresas Juniores**. in: Fredie Didier Jr; Alsessandro Marques. (org.). Empresa Júnior: Aspectos jurídicos, políticos e sociais. 1ª ed. Salvador: Juspodivm, 2012, v. 1, p. 31-52.

_____. Didier Jr, Fredie. **Empresa Júnior: aspectos jurídicos políticos e sociais.** 1ª ed. Salvador: Juspodivm, 2012.

MATOS, Franco de. **A Empresa Júnior: no Brasil e no mundo.** São Paulo, Ed. Martin

Claret, 1997.

OLIVEIRA, Edson Marques. **Trabalhando Como Consultor Júnior: como ser consultor com pouca experiência.** Franca, Ribeirão Gráfica e Editora, 2003.

RAMOS, André Luiz Santa Cruz. **Direito Empresarial Esquematizado.** 3ª ed. São Paulo, Método, 2013.

RODRIGUES, Silvio. **Direito Civil**. Volume I, 34ª ed., São Paulo, Saraiva, 2003.

SANTOS, Nivaldo; PEREIRA, Hauny Rodrigues; PANIAGO, Henrique Fajardo Furtado. **Aspectos Políticos da Implantação de uma Empresa Júnior Jurídica em Instituições ee Ensino Públicas.** in: Fredie Didier Jr; Alsessandro Marques. (org.). Empresa Júnior: Aspectos jurídicos, políticos e sociais. 1ª ed. Salvador: Juspodivm, 2012, v. 1, p. 213-230.

SILVA, José Afonso. **Curso de Direito Constitucional Positivo**. 35ª ed., São Paulo, Malheiros Editores, 2012.

DIREITO E PERFORMANCE: A RETÓRICA JURÍDICA EM CENA[1]

CAPEL, Heloisa Selma Fernandes.
Professora Dra. Orientadora
hcapel@gmail.com
Faculdade de História/FH-UFG

OLIVEIRA, Heitor Moreira de.
heitor.ufg@gmail.com
Faculdade de Direito/FD-UFG

Resumo: A pesquisa desenvolvida possui o escopo de analisar as manifestações dos eventos jurídicos à luz do arcabouço hermenêutico próprio do estudo da performance, notadamente no que tangencia a retórica dos tribunais e audiências judiciárias. Para tanto, preliminarmente foi feito estudo sistemático da performance em suas multifacetadas áreas, mormente a *performance art* e a performance cultural, evidenciando a hodierna compreensão didática que tal expressão comporta no meio universitário brasileiro. Em seguida, passou-se a trabalhar o alargamento hermenêutico proporcionado pelos estudos do teatrólogo Richard Schechner, sobretudo com o desenvolvimento da ferramenta hermenêutica *"como se fosse performance"*. Com efeito, tentou-se a leitura do fenômeno jurídico a partir de seus elementos eminentemente performáticos, tais como a corporeidade, a materialidade, o uso do espaço cênico, o vestuário, o discurso oral e as narrativas. Dessarte, ao longo da pesquisa minudenciou-se os elementos de performance que orbitam nos eventos jurídicos, em suas oralidades e visualidades, *v.g.* uma Sessão de Conciliação, o Plenário da Sessão do Júri, uma Audiência de Instrução e Julgamento, etc. A título de conclusão, o corrente artigo focou, principalmente, nas características performáticas sobressalentes na retórica jurídica, com enfoque no discurso argumentativo e no uso de falácias argumentativas na oratória do convencimento e demais técnicas comumente usadas na praxe judiciária.

Palavras-chave: Direito; Performance; Retórica; Performances Narrativas; Discurso; *"como se fosse performance"*.

1 Trabalho revisado pela Professora Dra. Heloisa Selma Fernandes Capel – Orientadora.

1. INTRODUÇÃO

A análise de um objeto parte da conscientização dos limites impostos pelas influências advindas da carga valorativa que o sujeito carrega consigo de suas experiências vividas. "É impossível tomar um objeto para estudo sem partir da própria origem cultural do observador" (SCHECHNER, 2003). Nenhuma interpretação é, portanto, neutra.

Nessa toada, a hermenêutica jurídica desperta, cada vez mais, o interesse daqueles que pretendem investigar os modos como o Direito se revela em diferentes manifestações. Os estudos jurídico-hermenêuticos contemporâneos[2] já não se pautam, como outrora, na centralidade de debates e formulações acerca do intérprete autêntico do Direito ou qual o melhor resultado a ser alcançado por meio do labor interpretativo. Tais questão ainda resguardam sua importância, mas, hoje em dia se ajustam a um nível secundário, dando lugar à centralidade da análise voltada à essência própria do exercício interpretativo, desenvolvido a partir das diretrizes hermenêuticas. É nesta confluência que Eros Roberto GRAU, ministro aposentado do STF, faz uso da metáfora da *Vênus de Milo* para ponderar que diferentes juristas, certamente, traçarão diferentes interpretações do mesmo texto normativo.

> Suponha-se a entrega, a três escultores, de três blocos de mármore iguais entre si, encomendando-se, a eles, três *Vênus de Milo*. Ao final do trabalho desses três escultores teremos três *Vênus de Milo*, perfeitamente identificáveis como tais, embora distintas entre si: em uma a curva do ombro aparece mais acentuada; noutra as maçãs do rosto despontam; na terceira os seios estão túrgidos e os mamilos enrijecidos. Não obstante, são, definitivamente, três *Vênus de Milo* – nenhuma *Vitória de Samotrácia*. [...] Vê-se, assim, que diferentes intérpretes – qual diferentes escultores "produzem" distintas *Vênus de Milo* – "produzem", a partir do mesmo texto normativo, distintas normas jurídicas (ROBERTO GRAU, 2006, p. 33-34).

O presente trabalho tem como tema, justamente, a proposição da abertura de um novo horizonte hermenêutico à disposição do jurista-interpréte, para que assim possa encontrar novas formulações e respostas. Ou, não sendo possível encontrar novas respostas, que sejam refeitas velhas perguntas, eis que "o verdadeiro problema hoje não é somente não termos respostas, mas, em geral, a maneira de percebermos um problema, a maneira com que formulamos o problema, a maneira como formulamos uma pergunta já é parte do problema" (ŽIŽEK, 2008). O tema é, pois, a proposição dos *estudos da performance* como ferramenta hermenêutica possível de ser aplicada na interpretação jurídica.

Para tanto, mister iniciar o presente trabalho com um estudo histórico-sistemático

2 SALGADO, Ricardo Henrique Carvalho. *Hermenêutica filosófica e aplicação do direito*. Belo Horizonte: Del Rey, 2006, p. 29.

da performance em suas várias expressões, ultrapassando sua semântica vulgar, como sinônimo de desempenho/atuação. Com efeito, o termo *performance*, cuja origem etimológica vem do francês antigo *parfournir* ("realizar, consumar"), combinando o prefixo latino *per-* (indicativo de intensidade: completamente) e fornir, de provável origem germânica, significando "prover, fornecer, providenciar", hodiernamente abarca *lato sensu* várias concepções, tais como *performance artística*, *performance cultural*, *performance antropológica*, etc. É preciso, pois, especificar qual a compreensão que, *in casu*, está sendo adotada em cada contexto. Contudo, importante ressaltar que o estudo da performance parte da *performance art* e depois se estende para as demais vertentes supracitadas.

A *performance art* tem sua gênese, nos primeiros anos do século XX, vinculada aos movimentos vanguardistas europeus, inicialmente o *futurismo*. Desde então, a *performance art* coloca-se enquanto a "arte da ação" e expressão artística de baixo custo pautada pela contestação e pelo ativismo. O objetivo basilar das artes vanguardistas era exatamente deixar para trás a arte conservadora de então, que prendia o artista a determinados padrões estéticos. Tais movimentos foram propositivos, assinalando uma nova forma de se conceber a arte, mas, sobretudo, questionadores, refutando o estatuto artístico vigente.

A performance artística emergeu graças ao momento propício conferido pelo movimento vanguardista e, ao mesmo tempo, contribuiu para impulsionar tal movimento, num fenômeno de retro-alimentação. De fato, a *performance art* se encaixou perfeitamente, tal qual uma luva, às pretensões dos artístas da *avant-garde*, sobretudo por trazer em seu cerne características eminentemente contestatórias. A performance se constituía estilisticamente sobre elementos opostos àqueles que davam suporte ao teatro euro-americano clássico. Enquanto espaço para a contingência, a performance historicamente mostrou afeição aos lugares excêntricos, tais como cabarés, praças, telhados, cafés, ruas.

Também a figura do *performer* contribuiu para a boa aderência da performance aos movimentos vanguardistas, vez que o performer, diferentemente do artista estático do teatro convencional, apresenta identidade absoluta com o que faz. Em situações extremas, a pintura é em seu próprio corpo; ele mesmo é o suporte. Mais do que se importar com a construção do personagem, o performer é o próprio personagem: ele se dá ao personagem e vivencia na pele a arte em construção. Como dito por Gregory Battcock[3]: "Na arte corporal e de performance a figura do artista é ferramenta para a arte. É a própria arte".

A performance alcança sua maturidade científica na década de 70, consolidando-

3 In. PEIXOTO SANTOS, José Mário. *Breve histórico da "Performance Art" no Brasil e no mundo*. Revista Ohun, ano 4, n. 4, p.1-32 , dezembro de 2008.

se como manifestação artística de contestação e como arte fronteiriça, trans-disciplinar, com estatuto artístico caracterizado pelo trato do corpo como suporte da arte, pelo uso do espaço cênico como escopo representativo, pelo interação do *performer* com o público e pela inserção de elementos advindos dos rituais e da teatralização. É o que aponta a historiadora e crítica de arte RosaLee GOLDBERG, *in verbis*:

> A performance passa a ser reconhecida como meio de expressão artística independente na década de 1970. Nessa época, a arte conceptual – que privilegiava uma arte das ideias em detrimento do produto, uma arte que não se destinasse a ser comprada ou vendida –, estava no seu apogeu, e a performance, frequentemente uma demonstração, ou execução, dessas ideias, tornou-se assim a forma de arte mais visível deste período (GOLDBERG, 2007, p. 7).

A grande guinada epistemológica ocorre a partir das contribuições vindas dos estudos desenvolvidos por Richard Schechner, diretor de teatro experimental e professor da New York University. Em seus estudos Schechner parte da análise da *performance art*, conceituando-a como uma manifestação artística liminar que coloca o *performer* numa integração orgânica com a audiência, manipulando seu corpo no espaço cênico, jogando com a teatralidade, apresentando movimentos ritualizados, e envolvendo a materialidade dos objetos e do corpo. Em seguida, o autor aponta que tais características encontradas genuinamente na performance artística também são ordinariamente observadas em muitos outros eventos, para além do campo estritamente artístico. Com efeito, o autor expande este conceito para outros campos de análise, permitindo uma abertura epistemológica e possibilitando a inserção dos estudos da performance nos mais variados campos de estudo, como a antropologia, o teatro, a etnocenologia, a lingüística, etc.

Em sua densa pesquisa científica, com a preciosa contribuição do antropólogo Victor Turner, Schechner estabelece sua compreensão do que seria performance. Na obra *O que é performance?* (2003), aduz o autor que performance é "comportamento restaurado". O autor esclarece que performances artísticas, rituais ou cotidianas são todas feitas de comportamentos duplamente exercidos, isto é, replicados pelo sujeito após reiteradas observações legadas de sua tradição. São ações performadas que as pessoas treinam para desempenhar; que observaram seus pais, irmãos, avós, amigos, parentes, desconhecidos ou até mesmo um transeunte na rua praticar e, em dado momento, restauram-nas.

A vida diária, no entendimento de Schechner, é ritualística e composta por um encadeamento de comportamentos repetidos. Daí não ser possível visualizar qualquer ação humana consistente em um comportamento exercido uma única vez: as ações humanas se

constituem a partir de pedaços de comportamento restaurado, reformulado, repetido.

Schechner arremata o conceito trabalho dizendo: "Comportamentos restaurados são comportamentos vivos tratados como um cineasta trata um pedaço de filme. Esses pedaços de comportamento podem ser rearranjados ou reconstruídos; eles são independentes do sistema causal (pessoal, social, político, tecnológico...) que os levou a existir. Eles têm uma vida própria" (SCHECHNER, 2003, p. 34).

Em outra obra do mesmo autor, é possível depreender que "comportamento restaurado corresponde a sequências de comportamentos [que] não são processos em si, mas coisas, itens, 'material' [...] sequências organizadas de acontecimentos, roteiro de ações, textos conhecidos, movimentos codificados [...] que podem ser mudados no processo de restauração do comportamento" (SCHECHNER, 1985, p. 35-37).

Aprofundando o estudo, Schechner evidencia que nem todo evento é performance, mas que qualquer um poderia ser lido como se fosse uma performance, isto é, interpretado a partir de seus elementos performáticos, da restauração de comportamentos que traz em seu âmago. O que o autor nos oferece é uma nova possibilidade interpretativa.

Schechner cria o instrumental teórico alcunhado *"como se fosse performance"* para representar a possibilidade de leitura de outros eventos à luz dos estudos da performance. Assim, estabelece uma diferenciação entre o que *é* performance (notadamente, a *performance art*) e o que pode ser lido *como se fosse* performance.

> Há muitas maneiras de entender a performance. Qualquer evento, ação ou comportamento pode ser examinado como se fosse performance. O uso deste conceito é vantajoso. [...] **Utilizando a ferramenta conceitual do *como se fosse performance*, podemos examinar coisas que, de outro modo, estariam fechadas à investigação.** Formulamos questões da performance em relação a eventos: Como um evento dispôs do espaço e se revelou ao longo do tempo? Que roupas e objetos especiais foram utilizados? Que papéis foram interpretados e como estes diferem (se é que diferem) daquilo que os performers realmente são? Como os eventos são controlados, distribuidos, recebidos e avaliados? (SCHECHNER, 2003, p. 48). Grifos nossos.

Destarte, conclui-se que dizer que algo *é* performance é uma afirmação ontológica, mas, por outro lado, *performance* também constitui uma "lente metodológica" que permite aos acadêmicos analisar eventos *como* performance, com referenciais novos, até então desconhecidos àquela área, e enfocando em outras questões ainda não analisadas. É o que detalha a autora Diana TAYLOR[4]:

4 TAYLOR, Diana. *Hacia una definición de Performance*. New York University. Tradução de Marcela Fuentes. Disponível em: http://132.248.35.1/cultura/ponencias/ PONPERFORMANCE/Taylor.html.

> Decir que algo es performance equivale a una afirmación ontológica. En outro plano, performance también constituye una lente metodológica que les permite a los académicos analizar eventos como performance. [...] Entender este fenómeno *como* performance sugiere que performance también funciona *como* una epistemología. Como práctica in-corporada, de manera conjunta con otros discursos culturales, performance ofrece una determinada forma de conocimiento. La distinción *es* / *como* (performance) subraya la comprensión de performance como un fenómeno simultáneamente real y construído, como una serie de prácticas que aúnan lo que historicamente ha sido separado y mantenido como unidad discreta, como discursos ontológicos y epistemológicos supuestamente independientes.

O problema que se observa, entretanto, é se realmente é factível a aplicação do instrumental analítico *"como se fosse performance"* aos processos específicos da seara jurídica. A hermenêutica contemporânea ressalva que o exercício de interpretação é influenciado pela subjetividade do próprio intérprete, que por sua vez se influencia com o processo de interpretação, num verdadeiro círculo hermenêutico[5], não podendo a análise se estancar na singela perspectiva de aplicação de uma ferramenta hermenêutica, principalmente por que a hodiernamente voltam-se os intérpretes contra a construção de modelos pré-fixados aplicados genericamente a diferentes objetos cognoscíveis.

Destarte, cinge-se a controvérsia em perquirir a viabilidade de se ler um fenômeno jurídico sob a lente metodológica da performance e a forma como tal leitura pode ser engendrada, sem que se perca o estudioso nos meandros do uso estático de uma ferramenta.

O que é imprescindível compreender é que a *performance* possui potencialidade de proporcionar uma necessária leitura cultural do Direito: é preciso ler culturalmente o evento jurídico, destacando-o pelas noções de verdade *vs.* ficção, em sua linguagem poética.

De fato, a *performance art* possui uma linguagem poética que também pode ser perquirida em muitos outros eventos corriqueiros de nosso dia a dia. Schechner inclusive aponta que, por sua ampla abrangência, a performance sugere uma lente cognitiva capaz de alcançar praticamente tudo. O autor sugere o termo "*performance do cotidiano*" para se referir aos mais típicos acontecimentos da rotina diária e que se estruturam em linguagens performativas. Em suas palavras, "teóricos da performance argumentam que a vida diária é performance, e cursos são ministrados sobre a estética do cotidiano. Hoje, dificilmente existe atividade humana que não seja uma performance para alguém, em algum lugar" (SCHECHNER, 2003, p. 40).

Inegavelmente desponta-se como grande contribuição dos estudos de Schechner a

5 Explica Gadamer que: "[...] compreender é sempre um mover-se nesse círculo, e por isso é essencial o constante retorno do todo às partes e vice-versa". GADAMER, Hans-Georg. *Verdade e método: traços fundamentais de uma hermenêutica filosófica*. Tradução de Flávio Paulo Meuer. Petrópolis, RJ: Vozes, 1997, p. 297.

abertura cognitiva que possibilitou analisar uma infinidade de objetos à luz da perquirição de seus elementos performáticos. Um exemplo é o trabalho de Barbara Kirshenblatt-Gimblett, sua colega na Tisch School of Arts, que propôs uma leitura da culinária como se fosse uma performance. Sobre sua trabalho, comenta Schechner: "Ela [Barbara] diz que performar é agir, exercer um comportamento e mostrar-se. Eu quero ir mais longe. Qualquer comportamento, evento, ação, ou coisa pode ser estudado como se fosse performance e analisado em termos de ação, comportamento, exibição" (SCHECHNER, 2003, p. 40).

Por todo o exposto, o campo de abrangência da performance exsurge amplo o suficiente para que possa ser aplicada a uma vasta gama de objetos. Nesse sentido, o aspecto *líquido* do conceito – performance – é apontado por alguns autores como um trunfo metodológico que encontra guarnição exatamente por seu aspecto permeante. Outros, tentam delimitar a abrangência do conceito, com vias a conferi-lo maior precisão científica, sem, contudo, negar seu caráter amplíssimo. É o que indica Antonio Herculano LOPES:

> A estas alturas, alguns terão perdido a paciência com que me vinham acompanhando e exclamado: "Então, tudo é *performance*!?". Eis o perigo, caro leitor. Não diria que tudo, pois ainda me atenho (com dificuldade) a um critério restritivo: o das relações "ao vivo". Um pastor pregando para seu imenso público pela televisão não cria uma situação de *performance*, porque não constitui a relação imediata de troca que existe mesmo no caso das plateias mais, digamos, passivas [nota do autor: Entretanto, o comportamento de um religioso assentar-se no sofá de sua sala em um domingo de manhã é, sem dúvida, um ato performático. O que o autor questiona é se há ou não performance estabelecida entre o pastor e o espectador.]. Um ator sobre um palco italiano, diante de uma plateia silenciosa e protegida pelo escuro, vibre e sente vibrar, compartilha, é capaz de sentir a maior ou menor receptividade do público para a sua atuação. Toda *performance* se realiza fortemente na compaixão no sentido original – sentir junto. Mas, apesar de tal restrição, concordo que o campo de definição da *performance* ainda fica extremamente amplo (2007, p. 9).

É justamente nesta confluência que se desenvolveu o presente projeto: a tentativa de investigação dos elementos performativos presentes nos eventos jurídicos (tais como a Sessão do Tribunal do Júri e a Audiência de Instrução e Julgamento) *como se fossem* performances, mormente em seus aspectos visuais e orais, notadamente quanto à performatividade narrativa da retórica jurídica.

2. METODOLOGIA

Entendendo método científico como um "conjunto de procedimentos por meio dos quais são propostos os problemas científicos e, a seguir, são colocadas à prova as hipóteses científicas" (BUNGE, 1974), podemos indicar como principal metodologia empregada neste

trabalho a pesquisa documental, isto é, a fundamentação teórica através da investigação bibliográfica das fontes primárias, isto é, leitura e interpretação de livros, artigos científicos, teses e dissertações, notícias de jornais, vídeos e documentários que abordem a temática específica da performance ou intersecções do direito com a arte.

Com efeito, a pesquisa se desenvolveu após preciso levantamento de obras de temáticas que permeiam o objeto em estudo, em acurado trabalho trans-disciplinar, envolvendo artigos e livros da seara jurídica; dissertações de Mestrado e teses de Doutorado de distintas áreas do saber, tais como Ciência Política, Ciências Sociais, Antropologia, Letras, Design de Moda, dentre outros; artigos científicos publicados em diversas Revistas Científicas de variadas áreas; textos publicados em meios eletrônicos, etc. Também foi consultado extensa fonte bibliográfica de autores estrangeiros, notadamente artigos de autoria da Profª. Beverly Stoltje, que desenvolve estudos em Antropologia da Performance e Direito, na Universidade de Indiana (EUA) e trabalhos publicados na revista espanhola E-misférica, do Instituto Hemisférico de Performance & Política, que em sua edição nº 3.1, abordou especificamente a temática "Performance and the Law"[6]. As supracitadas fontes foram indicadas pela Professora Orientadora ao longo das sessões de orientação.

Também foi feita a análise dos meios semiológicos de representação dos quais se vale o processo litigioso (sentenças, súmulas, liminares, leis, regulamentos, acórdãos, portarias, pareceres), e visitas de campo junto ao Tribunal de Justiça do Estado de Goiás.

O caráter da pesquisa é teórico/qualitativo e bibliográfico (GRESSLER, 2001).

Como principal referencial teórico apontam-se os estudos desenvolvidos por Richard Schechner na seara da *performance do cotidiano*, responsável pela abertura hermenêutica da performance e sua aplicação a diversos outros fenômenos por meio da ferramenta metodológica *"como se fosse performance"*.

3. RESULTADOS

Ler um evento jurídico *como se fosse performance* é vê-lo conforme o significado da representação contida nos personagens que interagem naquela situação (*v.g.* o requerente, o Ministério Público, o advogado, o juiz, o Oficial de Justiça, o delegado, o escrivão, a vítima, o promovido, etc.), no espaço cênico onde se desenvolvem suas atividades (por exemplo, a Sala de Audiências Públicas do Supremo Tribunal Federal), a forma de atuação, com enfoque especial para a dinâmica corporal com a qual se apresentam e os objetos (materiais) usados.

6 Disponível em http://hemisphericinstitute.org/journal/3.1/eng/en31_index.html.

Ou seja: tenta-se encontrar subsídios reflexivos a partir da observação de "detalhes" que até então poderiam passar desapercebidos. Desse modo, atenta-se a perguntas como: qual o significado transmitido pelo uso das roupas de um Juiz? O que representa o jargão próprio usado pelos advogados e demais operadores do direito? Como se arranja o espaço *imaginário* consolidado numa audiência? Em síntese, são perguntas como essas que podem emergir da observação de um estudo jurídico à luz da lente performática.

Tomemos o Tribunal do Júri como exemplo. Referido tribunal detém a competência para julgar os crimes dolosos contra a vida e tem sua principiologia regida pelo art. 5º, XXXVIII, da Constituição da República (CF/88), que lhe assegura a plenitude de defesa, o sigilo das votações e a soberania dos veredictos. Justamente por se tratar daqueles crimes que atentam diretamente contra o bem mais precioso da comunidade humana, qual seja, a vida do indivíduo (cf. art. 1º, III, do mesmo diploma legal), o constituinte achou por bem conferir a competência para julgamento a um colegiado de pessoas oriundas do seio da sociedade. O papel simbólico é notável: são as pessoas "do povo" competentes para julgar crimes que afrontam contra a vida humana de seus pares. Destarte, de acordo com o Código Penal (CP) vigente, atualmente são de sua competência os seguintes delitos: homicídio doloso, infanticídio, participação em suicídio, aborto – tentados ou consumados – e seus crimes conexos. Importante ressalvar, contudo, que o processamento do Tribunal do Júri segue um rito especial com certas peculiaridades distantes daquele dispensado aos procedimentos ordinários previstos no Código de Processo Penal (CPP), que acabam por conferir maior solenidade em sua ritualística, com destaque para o papel assumido pelo juiz togado que, apesar de não decidir a causa, mantém sua posição simbólico-mítica de presidente da cerimônia, incumbindo-lhe realizar a dosimetria final da pena em caso de condenação.

No ritual do júri o acusado e o ofendido desempenham um papel social. As testemunhas de defesa e as testemunhas de acusação também desempenham papeis sociais. O réu, antes mesmo de ser formalmente acusado da prática de um crime, é sujeitado ao ato de "indiciamento", poder do delegado de polícia, enquanto autoridade policial, de declarar oficialmente que determinada pessoa é suspeita. O inquérito policial é, em seguida, o ato responsável pelo procedimento investigatório que possibilitará o arcabouço probatório mínimo para que o Ministério Público – instituição incumbida de promover, privativamente, a Ação Penal Pública, nos termos do art. 129, I, da CF/88 – ofereça a Denúncia, que será ou não recebida pelo Juiz de Direito. O ato de receber a peça exordial tem o condão de dar início ao processo, que então se desenrola perante o juiz, até o momento da Pronúncia ou Impronúncia. Sendo pronunciado, o réu finalmente é levado à Sessão de Julgamento perante os jurados

leigos. Em toda essa trajetória há uma *construção progressiva da culpabilidade* do indivíduo, que é conduzida no jogo em termos rituais, num processo de alterações de seu *status*: indiciado, denunciado, réu, pronunciado, condenado.

> Ingressar oficialmente nas malhas da justiça criminal significa submeter-se a um **rito de passagem**. De suspeito a condenado (ou absolvido), o acusado nunca mais se livrará da inscrição que é feita em sua Folha de Antecedentes Criminais (FAC). Submetido – como objeto de investigação – à fase do inquérito policial, o indivíduo, agora indiciado, tem a suspeita formal que recai sobre ele inscrita não apenas nos autos desse inquérito, mas, também, no registro do órgão de identificação criminal da polícia (Instituto Félix Pacheco), encarregado de emitir a FAC. Uma vez inscrita a suspeita formal, e/ou a denúncia do promotor, e/ou a decisão judicial, esses dados jamais serão apagados. São informações indeléveis. Nem mesmo se o acusado for absolvido. Nada apaga esse registro (FIGUEIRA, 2007, p. 64-65).

As sessões de Júri, em regra, por ser uma atividade lúdica, não podem ser interrompidas. É sempre muito complicado interrompê-las, suspendê-las ou até mesmo impugná-las antes do anúncio da sentença. Isto apenas ocorre quando o juiz – o Presidente da sessão, figura que simboliza a autoridade máxima – expressamente justifica-se com base nas "regras do próprio jogo" (estabelecidas pelo legislador no CPP).

O "espaço imaginário lúdico" do Júri é marcado por divisões espaciais que diferenciam os espaços, encobrindo-os com uma "áurea" diferente dos espaços ordinários. O espaço na sessão de Júri marca o local que deve ser ocupado por cada um dos personagens (de acordo com o papel desempenhado) e em qual momento do ritual. O espaço do Júri se mostra como "(...) um círculo mágico, um recinto de jogo no interior do qual as habituais diferenças de categoria entre os homens são temporariamente abolidas" (HUIZINGA, 1980, p. 88). Em todo plenário do Júri, por exemplo, o espaço onde permanecem o juiz, os jurados, o promotor, o defensor e o réu, durante o julgamento, é um "palco" (ou o "círculo sagrado") separado do espaço ordinário destinado aos "assistentes" (os personagens secundários, como estagiários, familiares, curiosos, etc.).

A forma que os personagens atuam no plenário do Júri é eminentemente performática: em atuação, os litigantes restauram comportamentos, estabelecem comunicação a partir da linguagem corporal, contam suas histórias – com vias a convencer o magistrado de sua pretensão – e, em síntese, ritualizam. Seus atos são *performativos* e para exemplificar façamos uso de duas entrevistas[7] a personagens do Júri (um advogado e um defensor público) a respeito de uma das técnicas desse jogo específico: a *mentira ritual*[8], importante elemento

7 As entrevistas aqui reproduzidas foram extraídas da obra FIGUEIRA, 2007, p. 70 e 71.

8 Vale lembrar que o processo penal brasileiro sofreu influências do sistema inquisitorial: por essa razão, não há o crime de perjúrio no Brasil, diferentemente do direito norte-americano, onde se pune criminalmente a "mentira" do réu. O sistema inquisitorial parte do pressuposto de que o acusado sempre mente, a verdade

do ritual judiciário.

> "Eu faço júri sem hipocrisia. É claro que eventualmente eu pego um processo fechado (totalmente desfavorável para a defesa); aí, nesse caso, eu conto uma estória da carochinha para ver se cola" (Entrevista concedida por um advogado).
> "Aí, é a mesma história da mentira... Ah! Dizem: o advogado mente, o advogado mente. Isto é outro mito. Temos que estabelecer o seguinte: que a mentira faz parte do ser humano. Eu nunca vi ser humano que não mentisse na vida. Todos mentem. Os santos mentiram, e muito. A mentira é uma coisa fantástica. **A mentira tem várias performances**. A mentira pode ir da perversidade à generosidade. A mentira pode ser: generosa, perversa, dialética, cínica, sarcástica. Às vezes, quando eu faço conferência, eu começo a dar exemplos de cada uma dessas mentiras; **que na verdade, eu não digo que seja mentira; eu digo que é contextualizar a realidade**; que é o que o advogado faz. Mas, se quiser chamar de mentira, tudo bem. Por que todo mundo mente e contra o advogado todo mundo se revolta!? É pelo seguinte: **a mentira exerce certo fascínio nas pessoas; a mentira faz de nós um pouco Deus, porque a gente altera a verdade**; e como ela mexe com o nosso inconsciente, (...) isso dá um certo prazer íntimo no subconsciente. E, por isso, todo mundo mente. Então, se todo mundo mente, por que a revolta contra o advogado?! É porque o advogado faz isso, autorizado pela lei, e ainda é remunerado por isso, a raiva está aí. Esta raiva é freudiana" (Entrevista concedia por um defensor público).

As falas colacionadas nos reportam a uma cultura de mitos que assolam o imaginário jurídico. Muitos destes mitos permeiam o entendimento das classes menos favorecidas, gerando uma verdadeira aversão ao Judiciário, pois acreditam que ao envolver com a justiça, de uma forma ou de outra, serão marginalizados e no final das contas sofrerão mais prejuízos do que se ficassem inertes. Há, inclusive, aqueles que, mesmo tendo sido vítimas de agressões, temem sair presos de uma Delegacia de Polícia se foram até lá para prestarem uma queixa-crime.

O cotidiano dos tribunais, com seus mitos e imaginações, com suas performances diárias e relações de desigualdade, fica bem evidenciado no trecho a seguir, uma reprodução da fala de uma senhora (leiga quanto aos conhecimentos jurídicos técnicos) que, mediante um conflito jurídico, procurou o auxílio do Núcleo de Prática Jurídica da Faculdade de Direito da Universidade Federal do Pará[9]:

> [...] Sinceramente, doutora, eu não tenho mais para quem apelar. A Justiça custa tempo demais! E nem sempre é justa. Comprei esta casinha e moro nela há mais de vinte anos, e nunca foi ninguém da justiça lá me dizer que era pra me casar de novo, ou pra vender a casa, tivesse que dar a parte dos meus filhos, até porque eu criei sozinha todos os três quando o pai deles foi embora dois meses depois da casa mobiliada com a ajuda do meu falecido pai; as crianças eram muito pequenas, o mais velho tinha 10 anos e era doente; como a casa era grande e boa eu vendi e comprei esta menorzinha. Desde lá tudo que ganhei gastei com a educação deles. Agora que soube que o pai deles morreu no Acre, meu filho do meio me proíbe de casar de novo e quer me tomar a casa falando num tal de quinhão do herdeiro necessário que eu devo pagar pra cada um deles ainda da casa primeira que já não existe há anos. Como, se eu to viva? Fui lá na defensoria me informar, me disseram que eu tenho que pagar advogado senão vou perder a casa. Vim aqui neste escritório

pertence somente ao juiz e tudo que as partes trazem para o processo é por ele questionável.

9 Extraída de FRANCO, 2009. p. 156.

> de Faculdade pra ver o que a sra. pode fazer por mim, como é que vou arranjar onde morar, na minha idade? (*Depoimento de dona D. S. L. no NPJ- FAP-Núcleo de Prática Jurídica da Faculdade do Pará*).

Cada personagem que participa do ritual do litígio exerce uma performance com seu corpo, variando o significado de acordo com o papel que cada um possui na dinâmica do jogo. Assim, o corpo de cada performer possui um sentido diferente na performance do litígio. O corpo do magistrado é o corpo autoritário; o corpo do réu é o corpo subjugado.

O semblante do acusado comumente arredio, disperso, acuado, reprimido. Ele não encara o juiz olhos nos olhos, pelo contrário, mantém sua cabeça abaixada, como num sinal de resignação. O réu apresenta um corpo oprimido, que se mantém inerte, com poucos movimentos, como se estivesse tentando não chamar atenção. Ele se coloca numa condição de inferioridade em relação ao juiz. É, ordinariamente, submisso, acatando as ordens dadas. Sua posição resignada denota que ele parece estar simplesmente esperando a sentença de condenação. Em situação diametralmente oposta, está o juiz, que se mantém reservado em seu espaço de autoridade, o "palco" ou "círculo mágico", com expressão de seriedade, comprometimento, robustez e virilidade.



A imagem acima[10] ilustra a oposição que se mostra expressamente na diferença da postura corporal entre os dois personagens: o corpo do juiz é o *corpo autoritário*, ao passo que o corpo do réu é o *corpo subjugado*, por vezes um *corpo ausente*.

> O corpo autoritário [do juiz] é um corpo tenso, em que não se reconhece a interação do público sob qualquer reação ao repertório e sequência de conteúdos previamente preparados. O corpo autoritário é um corpo rítmico, disciplinado e se contrapõe ao corpo subjugado [do réu], [sentado em sua cadeira, com a cabeça abaixada], e,

10 Gentilmente cedida pelo Departamento de Comunicação Social do Tribunal de Justiça do Estado de Goiás.

> preferencialmente, silente. [...] o corpo ausente [do réu], em gestos, fala e voz é um corpo sem vontade de potência no sentido nietzcheano, um corpo que dorme para o ato, um corpo mecânico. Como o próprio nome diz, o corpo subjugado é, também, um corpo distante, não no sentido da inconsistência, mas no da subserviência. Está nos corpos dóceis daqueles que dormem, de olhos abertos ou fechados, para a experiência do ensinar e aprender em ato, está nos conteúdos reprodutivos e roteirizados em que não há jogo, nem diálogo. Falta o elan vital nos corpos dóceis. O corpo subjugado é um corpo contido e refreado que finge estar, um corpo que mente. O corpo autoritário, por sua vez, é o corpo armado. Há nele uma intencionalidade e uma estética que informa sobre o perigo iminente, a necessidade de auto-proteção. O corpo autoritário é o corpo rígido, normativo, repetitivo, previsível. É um corpo que necessita silêncio para ser focalizado, imitado. Performances com sensibilidades de raiva e repressão, estímulos à fraude, à subversão do instituído (CAPEL, 2011, p. 5-6).

A análise da corporeidade em cena no litígio levado a juízo nos reporta também à discussão acerca da simbologia emanada da indumentária usada pelos operadores do Direito. Neste sentido, merece destaque especial a vestimenta usada pelos juízes e desembargadores. A toga simboliza a justiça na figura dos magistrados, promotores e advogados e, por conseguinte, simboliza o poder. O poder inerente à administração da justiça. A toga exerce uma função de identidade grupal: aqueles que a usam se reconhecem enquanto membros de um mesmo grupo. Opostamente, também realiza a função de segregação social: assemelha-os entre si e distingue-os dos demais, que não possuem o direito (os requisitos necessários) de usar tal vestimenta. A quem não pode usar a toga a sociedade não conferiu a atribuição de representá-la no processo de solução dos conflitos. Ademais, no momento da audiência a toga registra a *transformação* por que passa os magistrados após obterem êxito em concurso público de provas e títulos e serem investidos em seus cargos (cf. art. 37 da CF/88): ao vestirem-na ocorre a passagem de seres "comuns" a seres "especiais". A toga, tal como outras roupas, guarda consigo a referência simbólica à Tradição, aos valores do passado, atualizados no dia-a-dia a cada uso da roupa. A toga personifica o legado da "cultura jurídica".

A leitura dos elementos performativos em jogo na processualística do litígio nos reporta à conclusão de que interagem formando códigos culturais que legitimam determinadas posturas, nos advertindo para a necessidade de desnaturalizar o fato: é preciso entender que tais elementos são colocados naquela trama para gerar um sentido. Assim como as sessões do Júri Popular, as Audiências de Julgamento possuem um espaço liminar, com regras próprias.

Afinal, por quê estudar a performance interessaria ao jurista? Ora, porque nos dramas sociais – e o litígio é, pois, um drama social – existe uma teatralização que nos ajuda a entender as ações que se desenrolam no cotidiano. Performar é jogar a *tradição* com a *ação*: em cena, o indivídio restaura comportamentos legados de sua tradição para guiá-lo no presente momento. É a função da performance enquanto *ação reparadora*: estar em juízo

representa a possibilidade de se fazer ouvir, de buscar resolver os conflitos nos quais se vê envolvido. Entretanto, para se fazer ouvir, o litigante joga com as regras procedimentais previstas. Só assim, restaurando comportamentos, lhe é dada a chance de perseguir a justiça.

O conflito social é, dentro do Tribunal, transformado em narrativa performática. Seguindo as regras, alcança-se a negociação da resolução de um litígio. É precisamente nesta dinâmica que se insere a retórica, como instrumento municiador das performances narrativas tendentes a persuadir a plateia quanto à veracidade (ainda que ficcional) da história contada.

O grande paradoxo que se apresenta é que, não obstante em sua processualística o litígio seja resolvido por meio de ficções jurídicas, seu tratamento processual transpassa o universo simbólico das imaginações sobre ele construídas, e alcança o "real", vez que o imaginário é uma transfiguração que tem como bússola a realidade.

> Assim, os juízos realizados no âmbito deste universo ficcional diferem daqueles feitos a respeito da realidade propriamente dita, a ponto de se poder denominá-los, como o fez Roman Ingarden, "quase-juízos", inaptos a serem considerados "verdadeiros" ou "falsos", pois a "realidade" da ficção é uma simulação da realidade, enquanto ficcional, mas o mesmo não se pode dizer dos juízos em outros âmbitos, como em Direito, que se referem a um possível "estado de coisas" (*state of affairs, Sachverhalte*). Este não é de se considerar uma simulação da realidade, mas uma outra realidade, de uma outra natureza – deontológica, no caso do Direito, do âmbito do dever ser, e não puramente ontológica, do ser (ontos, em grego antigo) –, humanamente construída, sim, tal como a ficção, mas de modo coletivo, difuso, e dotada de um caráter vinculante, que a impõe a nós COMO SE realidade fosse, na qual devemos acreditar – e não apenas podemos, se quisermos –, **e isso para evitar que, em razão do descrédito, se venha a sofrer conseqüências, bem reais, como são as sanções jurídicas** (GUERRA FILHO, 2010, p. 25-26).

4. DISCUSSÃO

A performance, na clássica definição de BAUMAN (1977, p. 11), é compreendida como um *modo de comunicação verbal* que consiste na tomada de *responsabilidade*, de um *performer*, para uma audiência, através da manifestação de sua *competência* comunicativa. Para o autor, a competência comunicativa do performer apóia-se no *conhecimento* e na *habilidade* que ele possui para *falar nas vias socialmente apropriadas*. Quanto mais conhecer do jargão comunicativo e do discurso próprio de seu meio, dominando a técnica e as estratégias de convencimento, mais o performer poderá *intensificar a experiência*, aumentando o *prazer* proporcionado pelo ato de expressão à sua audiência.

No cotidiano forense, a linguagem e sua relação com o corpo dos sujeitos ganha especial contorno. No meio-ambiente jurídico o poder da palavra torna-se extremamente importante, sobretudo porque as engrenagens do universo jurídico se movimentam pelos

discursos persuasivos. Ao propor uma queixa-crime o ofendido deve persuadir o delegado de modo a convencê-lo da necessidade de tal propositura. Numa sessão de julgamento, a história contada por autor e réu nunca será idêntica à história realmente ocorrida, pois numa narrativa histórica o passado nunca pode ser revivido, apenas poderá ser preenchido em seu "rastro histórico" pelo imaginário ficcional criado sobre as experiências vividas.

Tratando-se do processo de resolução de um conflito, as pretensões de cada parte dependem das narrativas orais por elas performadas, reforçando ainda mais a ideia de LARROSA de que "o sentido do que somos depende das histórias que contamos e das que contamos a nós mesmos [...], em particular das construções narrativas nas quais cada um de nós é, ao mesmo tempo, o autor, o narrador e o personagem principal" (1994, p.48).

O que autor e réu enquanto contadores de histórias devem fazer é explorar o potencial de suas narrativas, estabelecendo uma comunicação pautada no reconhecimento identitário entre o ouvinte – a audiência: o juiz, o promotor de justiça, o advogado, os serventuários, etc. – e o contador. A máxima potencialidade de sua narrativa só poderá se dar na *performance oral*, que se traduz por meio de vários mecanismos, tais como a entonação da voz, os gestos, mímicas, pausas, ruídos, imitações, a mudança do timbre da voz, as pausas, o olhar fixo no horizonte, os gestos com os ombros, a mudança de discurso – que demarca na narrativa a sua fala ou a fala do outro. De acordo com ZUMTHOR,

> o intérprete varia espontaneamente o tom ou o gesto, modula a enunciação, segundo a expectativa que ele percebe; ou, de modo deliberado, modifica mais ou menos o próprio enunciado [...] ainda que os costumes reinantes lhe favoreçam de modo desigual as alterações (1997, p. 246).

Autor e réu assumem a função de *narradores*: o modo como eles contam suas histórias (suas versões sobre o acontecimento do litígio) os faz serem reconhecidos, de modo particular, pelos outros membros da sociedade e habilita-os aos papeis que exerceram dali em diante no cotidiano "não forense". Serão inocentes ou condenados, pessoas livres ou encarceradas? Isto dependerá do poder de persuasão/convencimento que tiverem em suas performances narrativas/orais. Segundo FERNANDES, o contador de histórias:

> desempenha uma tripla função na cultura oral: narra, é o performer sensível ao auditório, já que incorpora a voz da comunidade; ouve, troca experiências com outros narradores e absorve as histórias que lhe contam; e cria, torna-se o responsável por constituir um sentido para o que ouviu, bem como para atualizar isso com significantes e significados diferenciados (2007, p. 56).

Nas performances narrativas desenvolvidas pelos atores reais do litígio, que atuam

no espaço cênico jurídico, ganha destaque a questão da retórica.

A retórica foi utilizada pelos gregos, mormente pelos sofistas, como objeto de linguagem para o convencimento e para a persuasão da plateia que acompanhava os debates em praça pública. Já naquela época consolidou-se como instrumento fundamental para o desenvolvimento da vida em sociedade, sobretudo pelo papel que o discurso passou a simbolizar no seio social, estrategicamente voltado para o exercício da cidadania.

Contudo, a retórica sofreu intensa repúdia por parte do discurso platônico, até mesmo com o filósofo Aristóteles questionando os sofistas como discursadores para quem o objetivo maior não era alcançar o Bem, mas apenas o prazer da discussão. Historicamente, os sofistas herdaram o rótulo de inescrupulosos, que se transferiu para a retórica, enquanto instrumento discursivo por eles utilizado. Foi dessa forma que os sofistas receberam o título de hábeis oradores, não se importando com a tese defendida, mas em vencer o debate.

Os sofistas ensinavam aos seus discípulos que toda tese possuía uma correspondente antítese e o bom orador era aquele que possuía habilidades para defendê-las igualmente, sendo que a prática política e forense da pólis grega era destinada especialmente a tais oradores. A defesa ou o ataque da tese era importante para se atingir a máxima persuasão do auditório alvo. Em suma, para os sofistas "também a arte, como qualquer outra forma de racionalidade, tem uma verdade sua".

A questão da "verdade" retórica permeia o discurso judicial atual, eis que comumente a realidade processual não coincide com a realidade de fato, sendo a única preocupação do orador-advogado a adesão do auditório à tese defendida, para tornando-a o mais verossímil possível. É a busca da chamada "verdade processual", existente nos estritos limites do "círculo imaginário" do espaço cênico judicial. Existente, pois, em dado processo.

O advogado não tem compromisso com a realidade factual, apenas com a processual, que deve ser estruturada da forma mais verossímil possível, por meio de uma construção argumentativa minuciosamente relacionada ao seu retórico, isto é, a construção de um texto bem articulado processualmente. Ele utiliza de ferramentas legais e jurídicas para promover 'as verdades' de forma processualmente consistente e consubstanciada em provas. Para tanto, em cena, utiliza-se de mecanismos ritualísticos, teatrais e performáticos, sobretudo para conferir à sua contação narrativa a espera recepção do público, sobretudo do julgador.

> Trata-se sim da retórica como arte/técnica do discurso argumentativo. A relação social e política que caracteriza a democracia e o Estado de direito é aquele em que a violência foi substituída pela regra do melhor argumento. Só no discurso persuasivo há verdadeiramente "interlocutores". Porque só quando renunciam à violência, real ou simbólica, e se reconhecem mutuamente a capacidade de serem convencidos pelo

> melhor argumento é que verdadeiramente se constituem os sujeitos da relação social, como interlocutores e não apenas locutores de uma mensagem que não reconhece no destinatário mais do que um posto de recepção. [...] A racionalidade jurídica, fundada na argumentação e no seu princípio de apenas aceitar **a regra do melhor argumento, propõe uma aproximação da verdade (verosimilhança) que não a inscreve no mundo ideal** das formas platónicas mas antes na inter-relação humana contextual e situada (BORGES, 1992, p. 2). Grifo nosso.

As técnicas retóricas que consubstanciam o discurso jurídico somente encontram respaldo quando voltadas a conferir factibilidade às teses desenvolvidas no texto jurídico e estabelecer a adesão ao discurso desenvolvido. Ao final do processo, o sucesso do embate dependerá quase que exclusivamente da atuação dos atores-advogados e do promotor de justiça, que assumem papeis retóricos cuja eficácia dependerá da regra de justiça permeia o argumento invocado, pautado na composição das provas e na verossimilhança contextual.

5. CONCLUSÕES

Mais do que o desenvolvimento de uma ferramenta hermenêutica, o que, *per si*, poderia inclusive sofrer severas críticas da hermenêutica contemporânea, voltada para a discussão do próprio processo de interpretação, a contribuição proporcionada pelos estudos do professor Richard Schechner reside sobretudo na abertura de novos horizontes hermenêuticos capaz de ampliar a visão do intérprete para novas metodologias de análise do objeto cognoscente. Dessa forma, o próprio Schechner, bem como outros autores, passaram a interpretar uma gama de acontecimentos como manifestações performativas. É o que se observa na passagem abaixo transcrita:

> Quando o Presidente Americano assina um documento importante, seus assessores encenam o ato no Salão Oval da Casa Branca, onde o Presidente pode performar sua autoridade. (...) Hoje em dia, todo mundo sabe que esses tipos de situações são planejadas em seusmínimos detalhes. A presidência norte-americana hoje é – pelo menos na sua face pública, uma *performance totalmente roteirizada*. As palavras do Presidente são escritas por redatores profissionais de discursos, as bandeiras e objetos cênicos, cuidadosamente confeccionados para obter o máximo efeito, o Chefe do Executivo deve estar sempre bem ensaiado. O *teleprompter* irá garantir que o Presidente pareça estar falando de improviso quando, na verdade, está lendo cada palavra (...). O objetivo disso é *fazer crenças* – primeiro, construindo as bases para a fé pública no Presidente e, segundo, sustentando a fé do Presidente em si mesmo. Suas performances convencem a ele próprio na medida em que ele luta para convencer a outros (SCHECHNER, 2003, p. 43).

Também na passagem abaixo, retirada da obra de Antonio Herculano Lopes, visualizamos a abrangência da análise performativa, *litteris*:

> Quando negros e brancos juntos iam a uma farmácia pedir uma taça de café enquanto sentavam-se lado a lado onde (no sul dos Estados Unidos) aquilo era contra a lei, esse *sentar junto* (como essas ações eram chamadas) demonstrava a incoerência e a injustiça da lei que eles conheciam e que estavam quebrando. Tudo isso constituía muito fortemente uma *performance* da vida cotidiana – *performance* que significa mais do que algo que é encenado. Nós não estávamos particularmente com sede; nós não queríamos uma taça de café. Nós queríamos desafiar o costume e a legalidade da segregação. E isso nós fizemos por intermédio de um teatro público. (LOPES, 2010, p. 32)

Dessa forma, sem qualquer tentativa de esgotamento do tema, justamente na afã de apontar a perspectiva da abertura científica a um novo campo de estudo jurídico, também os eventos jurídicos mostram-se abertos à sua investigação quanto aos seus elementos performativos, principalmente a corporeidade, representação, simbologia, imaginários, visualidades, e, notadamente, a retórica, enquanto expressão máxima das performances narrativas que permeiam o universo judicial, construído com base no discurso argumentativo inserto na lógica processual.

Precedendo a qualquer crítica, *ab initio* é preciso conhecer e entender a dinâmica pela qual regem os fenômenos judiciais, isto é, sua linguagem. A perspectiva que se aponta é, exatamente, a leitura do Direito em sua linguagem poética, na intersecção com as artes; o que é visto, por exemplo, no discurso do advogador-orador num plenário do Tribunal do Júri.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudar performance nos dias atuais demanda, inicialmente, a compreensão de que trata-se de um conceito intrinsecamente líquido, permeável, que foge a qualquer tentativa de delimitação rígida. É um conceito cambiente, que flutua entre diferentes áreas do saber.

A performance, ao longo de anos de estudos advindos de diferentes áreas, ultrapassou os limites originais e expandiu seu espaço de abrangência, saindo do campo artístico e alcançando uma série de outros eventos. Hoje, caracteriza-se como um saber trans-disciplinar, ou, antidisciplinar, eis que não se prende tão facilmente a delimitações científicas.

> O conceito de performance adquire formas variadas, cambiantes e híbridas. Há algo de não resolvido nesse conceito que resiste às tentativas de definições conclusivas ou delimitações disciplinares. Aquém ou além de uma disciplina, ou até mesmo de um campo interdisciplinar, os estudos de performance se configuram como uma espécie de **antidisciplina**. Com base em diferentes campos do saber e da expressão artística – desde o teatro e as artes performativas à antropologia, sociologia, psicanálise, lingüística, a pesquisas sobre folclore e aos estudos de raça e gênero –, formula-se o conceito de performance (DAWSEY, 2007, p. 530-531).

O que mostra-se inconteste é certamente a natureza multifacetada da performance, desenvolvida a partir da interação entre várias manifestações artísticas e eventos cotidianos. A

performance não encontra barreiras, ocupando um lugar estratégico capaz de apontar diferentes rumos hermenêuticos ao intérprete. Com efeito, "contemporaneamente a performance se converte em um termo 'mutante e nômade' ao combinar diferentes genealogias e definições, segundo se fale a partir das artes plásticas, do teatro, da música, da antropologia ou da literatura" (DINIZ, 2002, p. 2).

Exatamente por se compor em estrutura fragmentada, sincrética e híbrida, a performance é empregada pelos autores de forma especialmente importante. O seu aspecto eminentemente líquido, ao invés de representar empecilho científico, é visto como o grande triunfo dos estudos performáticos, já que possibilita abarcar uma vasta gama de objetos e proporcionar uma leitura diversificada.

> A performance torna-se, portanto, não apenas mais um objeto de pesquisa, mas "o" objeto de pesquisa privilegiado para dar conta do universo multifacetado, fragmentado, processual e dialógico da cultura (HARTMANN, 2005, p. 135).

Outros autores, contudo, ainda se põem no afã de delimitar certos caracteres eficazes na condução do leitor mais desavisado acerca do que poderia ou não ser encarado como performance. Objetivam, assim, estabelecer limites tendentes a estruturar uma composição mínima de estatuto artístico performático. Um considerável limite aduzido por COHEN é a expressão cênica. O autor dispõe que toda performance envolve, ainda que minimamente, elementos cênicos, nestes compreendidos sua teatralidade e espetacularidade.

> Apesar de sua característica anárquica e de, na sua própria razão de ser, procurar escapar de rótulos e definições, a performance é antes de tudo uma **expressão cênica**: um quadro sendo exibido para uma platéia não caracteriza uma performance; alguém pintando esse quadro, ao vivo, já poderia caracterizá-la (2002, p.28).

Ao término da pesquisa desenvolvida ao longo de mais de um ano, contudo, concluímos em coadunar com a opinião do brasileiro Antonio Herculano Lopes, que ultrapassa a árida discussão acerca dos limites técnicos da performance para indicar que mais importante ainda é perquirir quanto à viabilidade do estudo aplicado da performance. Isto é: qual é a contribuição dada pela leitura de determinado objeto *como se fosse* performance?

> O que me resta dizer é que, se quase tudo pode ser *performance*, nem sempre interessa estudar tal ou qual fenômeno por esse prisma. E, mesmo quando interessar, muitas vezes pode ser apenas um dos prismas que nos ajudam a construir um objeto de observação e análise. (...) o chavismo na Venezuela não precisa ser entendido por meio da *performance*, e provavelmente esta não seria a ferramenta principal de análise abrangente do fenômeno (...). (2007, p. 9-10).

Nesta toada, o cerne do estudo desenvolvido foi precisamente a investigação acerca dos contributos propiciados pela pesquisa do evento jurídico à luz da performance, principalmente em sua linguagem jurídica retórica.

A discussão permanece, ainda com questões a serem porventura mais dissecadas em pesquisas mais aprofundadas, eventualmente uma dissertação de Mestrado. O objetivo não foi esgotar o tema, sobretudo porque a bibliografia ainda é aquém, o que nos exigiu a pesquisa em fontes estrangeiras. O objetivo, suficientemente alcançado, foi, isto sim, lançar as bases para a discussão do litígio jurídico à luz das linguagens artísticas, com enfoque em sua interpretação como evento performático.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORGES, Hermenegildo Ferreira. *Retórica, Direito e Democracia. Sobre a Natureza e Função da Retórica Jurídica*. Separata do Boletim do Ministério da Justiça nº 418, Lisboa, 1992. Disponível em: http://bocc.ubi.pt/pag/borges-ferreira-retorica-direito-democracia.html.

CAPEL, Heloisa Selma Fernandes. *Entre Materialidades e Sentidos: a sala de aula como evento performático*. 2011. Disponível em: http://eiap2011.files.wordpress.com/2011/05/heloisa-capetl-gt-2.pdf.

COHEN, Renato. Performance como linguagem: criação de um tempo-espaço de experimentação. São Paulo: Editora Perspectiva, 2002.

DAWSEY, John Cowart. Sismologia da performance: Ritual, drama e *play* na teoria antropológica. **Revista de Antropologia**, USP, V. 50, Nº 2. São Paulo: 2007.

FIGUEIRA, Luiz Eduardo. *O Ritual Judiciário do Tribunal do Júri: O caso do ônibus 174*. Tese apresentada para a obtenção do título de Doutor em Antropologia. Universidade Federal Fluminense, 2007. Disponível em: http://www.necvu.ifcs.ufrj.br/images/Tese%20LUIZ%20EDUARDO%20FIGUEIRA.pdf.

FRANCO, Evanilde Gomes. *Da Fala das Ruas à Fala dos Tribunais. A Retórica Jurídica e seus Impactos nas Relações Sociais.* Tese apresentada para a obtenção do título de Doutor em Ciências Sociais. Universidade Federal do Pará, 2009.

GOLDBERG, RoseLee. *A Arte da Performance. Do futurismo ao presente*. 1ª Edição Portuguesa. Orfeu Negro. Lisboa, 2007.

GUERRA FILHO, Willis Santiago. Por uma Poética do Direito: Introdução a uma Teoria Imaginária do Direito (e da Totalidade). In: **Panóptica**, ano 3, Nº 19, jul./out. 2010. p. 19-68.

HARVEY, John. *Homens de Preto*. São Paulo: Editora UNESP, 2003.

HEMISPHERIC INSTITUTE OF PERFORMANCE POLITICS. **e-misférica. #3.1 – Performance and the law**. Editor: Diana Taylor. June, 2006.

LOPES, Antonio Herculano (org.). **Religião e performance ou as performances das religiões brasileiras**. Edições Casa de Rui Barbosa, Coleção FCRB Aconteceu. Rio de Janeiro: 2007. 228 pgs.

_____. *Performance e história (ou como a onça, de um salto, foi ao Rio do princípio do século e ainda voltou para contar a história)*. Fundação Casa de Rui Barbosa, 1994.

SCHECHNER, Richard. *O que pode a Performance na Educação?* Uma entrevista com Richard Schechner. Tradução: Marcelo de Andrade Pereira. Revisão da tradução: Gilberto Icle. **Revista Educação & Realidade**, n. 35 (2), maio/agosto, 2010.

_____. O que é performance?. In **O Percevejo**, ano 11, 2003, n. 12, p. 25 a 50.

SCHRITZMEYER, Ana Lúcia Pastore. *Controlando o poder de matar. Uma leitura antropológica do Tribunal do Júri – ritual lúdico e teatralizado.* Tese apresentada para a obtenção do título de Doutor em Antropologia Social. Universidade de São Paulo, 2001.

STOELTJE, Beverly J. The Performance of Litigation. **Research Review**. New Series, vol. 22. Nº.1. Institute of African Studies. University of Ghana, Legon. 2006.

_____. Asante Queenmothers: Precolonial Authority in a Postcolonial Society. **Research Review**. New Series. Institute of African Studies. University of Ghana. Vol. 19: (2). 1-19. 2003._____. *Introdução à poesia oral*. São Paulo: Hucitec, 1997.

INFLUÊNCIA DO HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO NA PROLIFERAÇÃO CELULAR DO SARCOMA EXPERIMENTAL

Ananda Christiny Silvestre Morais[1], Helmuth Soares Goetz[2], Letícia Cardoso Alves[3], Maraiza Silva Gomes[3], Flávia Aparecida Oliveira[4]

[1]Orientanda – Acadêmica de Medicina – Setor de Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG) – anandacsm@gmail.com

[2] Acadêmico de Medicina – Setor de Patologia – IPTSP/UFG

[3] Acadêmica de Biomedicina – Setor de Patologia – IPTSP/UFG

4Orientadora – Profa. Drª. – Setor de Patologia – IPTSP/UFG – faoliveiraufg@yahoo.com.br

RESUMO

O objetivo do estudo foi descrever as características morfológicas e avaliar a influência de diferentes esquemas monoterápicos do hidróxido de alumínio no crescimento do sarcoma 180 em camundongos BALB/c. Vinte e oito camundongos foram divididos em quatro grupos de sete animais, sendo um controle e os demais que receberam doses de 90µg, 180µg e 270µg de hidróxido de alumínio, em intervalos de sete dias. Após a eutanásia dos animais, a área neoplásica foi processada e as lâminas coradas por hematoxilina-eosina para a análise morfológica. A obtenção da densidade da proliferação celular foi realizada por imunoistoquímica, utilizando o anticorpo anti-ciclina D1. Todas as lâminas foram previamente escaneadas no Aperio ScanScope XT, em seguida 10 campos de cada lâmina correspondente a cada animal de cada grupo de tratamento foram aleatoriamente selecionados no programa Aperio ImageScope. A contagem das células positivas para ciclina D1 foi realizada no aumento de 20x por meio do programa Image J (National Institutes of Health). Todos os grupos, controle e tratados, apresentaram positividade para a ciclina D1 e características morfológicas típicas de neoplasia, dentre elas necrose, infiltrado inflamatório, figuras de mitose, pleiomorfismo celular e nuclear e nucléolo evidente. Entretanto, não foi verificada neste estudo diminuição significativa da densidade celular nos diferentes tratamentos com o hidróxido de alumínio ($p<0,05$). Portanto, a morfologia do Sarcoma 180 experimental observada está de acordo com a literatura. Além disso, nas concentrações utilizadas, o hidróxido de alumínio não influenciou significativamente a diminuição da proliferação celular da neoplasia em camundongos BALB/c.

Palavras chave: Adjuvante. Imunoterapia. Hidróxido de alumínio. Sarcoma 180.

Revisado pela Orientadora.

1. INTRODUÇÃO

Desde o século XX, foi observado um intenso processo de mudança demográfica no Brasil relacionado ao declínio nas taxas de mortalidade e natalidade (CHAIMOWICZ, 1997), ao aumento da renda média familiar, e ainda, com a crescente participação da mulher na força de trabalho. Com a melhoria contínua das condições de vida, a ocorrência das doenças infecciosas começou a declinar, paralelamente ao aumento na esperança de vida, que em 2010 foi de 73,48 anos em ambos os sexos (IBGE, 2010). Essas mudanças formam um contexto em que a neoplasia tem emergido como um importante tema na agenda de saúde pública. A Organização Mundial de Saúde (OMS) fez uma projeção de 27 milhões de novos casos de neoplasia para o ano de 2030 em todo o mundo e 17 milhões de mortes pela doença (WHO, 2011). Segundo o Inca, os países em desenvolvimento serão os mais afetados, entre eles o Brasil, onde as estimativas para 2012 apontam a ocorrência de 518.510 casos novos de neoplasias (INCA, 2012).

O controle da multiplicação celular normal é feito por meio de um equilíbrio permanente entre fatores de ativação e fatores inibitórios. Qualquer alteração deste equilíbrio ou homeostase pode levar a um desequilíbrio nesta balança para um dos lados. Assim, a célula poderá sofrer apoptose ou ter uma ativação de crescimento descontrolada (HANAHAN; WEINBERG, 2000). O surgimento da neoplasia é um processo composto por diversos fatores, incluindo a desregulação de oncogenes, supressores de tumor e sinais pró-apoptóticos (KUPER; ADAMI; TRICHOPOULOS, 2000).

Os sarcomas são neoplasias raras, derivados das camadas germinativas, mesodérmica ou ectodérmica, que podem surgir em qualquer parte do corpo. Alguns sarcomas podem exibir características que lembram tecidos como: osso, gordura, cartilagem ou músculo (MACKALL; MELTZER; HELMAN, 2002). Este tipo de neoplasia tem sido usado como modelo em experimentos in vivo (GUO et al., 2005) e in vitro (HAKALA, 1965) a fim de se estabelecer novas estratégias terapêuticas para as neoplasias. Foram observadas muitas semelhanças no desenvolvimento de neoplasias em camundongos e seres humanos, o que confirma o camundongo como um bom modelo para o estudo de neoplasias humanas (BALMAIN; HARRIS, 2000).

O sarcoma 180, também conhecido como tumor de Crocker, foi uma das primeiras neoplasias experimentais a serem transplantadas em animais, sendo descrita em 1914 por Woglom no Crocker Laboratory. Cresce rapidamente na maioria dos animais em que ele é inoculado, mas possui taxa de regressão do tamanho em 8 a 10%, podendo ser aumentada por tratamento com certas substâncias químicas ou produtos biológicos. São observadas

características específicas na morfologia do Sarcoma 180 em vários estudos que utilizam este modelo experimental. Na microscopia de luz, as células são organizadas em cordões e ninhos. Na microscopia eletrônica, as regiões intercelulares apresentam contatos estreitos. A presença dessas especializações são características de células periféricas, o que permitiu a identificação do sarcoma 180 como um carcinoma (ZUCKERBERG, 1973).

No ciclo celular, há um conjunto de proteínas que regulam a passagem de células da fase G1 para a S e alterações na sua expressão podem contribuir para a carcinogênese. Em células normais, ciclinas D, E e A se juntam com ciclina quinase dependende (cdk) 2, 4 e 6 para regular essa atividade. A atividade do complexo ciclina D1/cdk pode ser regulada por vários mecanismos de inibição, como por exemplo, a via mediada pelo gene supressor de tumor p53. A p53 regula positivamente a transcrição de p21WAF1/CIP1, um inibidor do complexo ciclina/cdk. A ciclina D1 é abundante em uma variedade de neoplasias humanas como o resultado da amplificação do gene, indicando sua importância na proliferação celular (QI et al., 1998; GOTO; SAKAMOTO; MACHINAMI, 2001). Esta proteína foi descrita como um oncogene em 1991 por Motokura, o qual observou que sua superexpressão desregula o ciclo celular e contribui para a gênese tumoral, acelerando a passagem da fase G1 para a fase S, causando um aumento da proliferação celular. (MOTOKURA et al., 1991).

Cada célula do organismo humano requer oxigênio e nutrientes para sua sobrevivência e desenvolvimento. O fornecimento eficiente de substâncias é sustentado pela densa rede de vasos sanguíneos (FOLKMAN, 1995; HANAHAN; WEINBERG, 2000). O crescimento da neoplasia depende da formação de vasos, os quais desenvolvem-se a partir de vasos pré-existentes ou de células precursoras endoteliais, angioblastos, derivadas da medula óssea (CARMELIET; JAIN, 2000). Alguns fatores que podem desencadear a angiogênese são estresse mecânico, resposta inflamatória e mutações genéticas. Mas, o fator mais importante é o estresse metabólico, especialmente a falta de oxigênio dentro das células neoplásicas (KERBEL, 2000). A pressão de oxigênio baixa em células neoplásicas induz a síntese de várias proteínas, entre as quais, o VEGF, que desempenha papel significativo na etapa inicial da angiogênese, estimulando a migração e proliferação das células endoteliais (HANAHAN; WEINBERG, 2000; RADZIKOWSKI; OPOLSKI; WIETRZYK, 1998).

O microambiente inflamatório da neoplasia é caracterizado pela presença de macrófagos, células dendríticas, mastócitos e linfócitos T, entre o estroma e as células neoplásicas (COUSSENS; WERB, 2002). Tem sido relatado que uma diminuição da expressão de antígenos Human Leucocyte Antigen (HLA) de classe I contribui para a evasão de células tumorais da vigilância imunológica e consequentemente, um maior crescimento da

neoplasia (MIILLER; HAMMERLING, 1992). A perda de antígenos de histocompatibilidade, que às vezes pode ser acompanhada de perda de algumas moléculas de adesão, aumenta o comportamento agressivo da neoplasia maligna que pode representar um marcador de progressão neoplásico (ADAMS, 1977; CARPENTER; KING; COHEN, 1979).

Os adjuvantes podem ser uma forma de terapia em neoplasias, pois eles influenciam na resposta imune do indivíduo, no equilíbrio das respostas T helper 1 (Th1) e T helper 2 (Th2) e consequentemente na troca de isotipos de anticorpos a serem produzidos e ainda na extensão da hipersensibilidade tardia. Deste modo, uma das funções do adjuvante imunomodulador pode ser o aumento da regulação positiva da célula apresentadora de antígenos (APC). Função que imunologicamente é mediada pela IL-1, secretada pela APC, a qual atrai células com receptores de células T (TCR) complementares ao complexo MHC-II para a APC, resultando na ativação e consequentemente expansão clonal destas células com aumento da resposta imunológica (COX; COULTER, 1997). Algumas substâncias usadas como adjuvantes são sais de Alumínio, vitaminas e hormônios (CLEMENTS; GRIFFITHS, 2002). Durante os últimos 80 anos, os adjuvantes têm sido desenvolvidos e amplamente utilizados em situações experimentais. No entanto, até alguns anos atrás, os únicos adjuvantes aprovados para a utilização clínica em seres humanos eram os compostos de alumínio, que apresentam um nível de toxicidade aceitável (BRUNNER; JAROLIM; SCHÖLL, 2010).

O hidróxido de alumínio é habitualmente usado para uma variedade de fins, dentre os quais, como parte da formulação de vacinas, com o objetivo de provocar uma memória imunológica suficiente para proteger contra agentes infecciosos. Possibilita a quebra da tolerância antígeno específico, ou seja, é capaz de provocar um reconhecimento das células neoplásicas pelas APCs. Além de ser usado na pesquisa biomédica para induzir títulos elevados de anticorpos com respostas específicas melhores (anticorpos policlonais ou monoclonais) (DUHARTE; LINDBLAD; ORTA, 2011). Ele aumenta a captação de antígenos, por meio da interação entre macrófagos e célula T, nas fases iniciais da resposta imune. Foi usado como um sistema modelo para examinar o efeito de um adjuvante na resposta de células mononucleares humanas para um antígeno comumente usado, o toxóide tetânico (MANNHALTER et al., 1985). O Alume, MF 59 e ASO4 são adjuvantes usados em formulação de vacinas para uso em seres humanos, mas requerem regimes de dose múltiplas.

Por fim, deve-se considerar a grande importância das neoplasias no contexto da saúde pública, o uso de adjuvantes para potencializar a resposta imune, possibilitando o desenvolvimento de estratégia imunoterapeutica e ainda, o fato de ter sido encontrado na literatura poucos estudos relacionados à avaliação morfológica do efeito dos adjuvantes no

crescimento neoplásico do sarcoma experimental. Dessa maneira, o objetivo foi avaliar a influência do hidróxido de alumínio no crescimento do sarcoma 180 experimental em camundongos BALB/c e descrever as características morfológicas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Animais

Foram obtidos vinte e oito camundongos BALB/c fêmeas do biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG) e acondicionados em gaiolas e em sala própria, quatorze dias antes do experimento. Os animais foram mantidos no regime de luz e umidade natural com ração e água ad libitum. Foi realizado o experimento utilizando diferentes concentrações de hidróxido de alumínio, contendo sete animais em cada grupo.

2.2. Adjuvantes

Foi utilizado o adjuvante hidróxido de alumínio (Peptgel – Laboratório Teuto Brasileiro S/A) nas concentrações, intervalos e número de doses, conforme quadro 1 descritas no apêndice A. O uso dessas concentrações foi testado e adaptado conforme outro estudo (NUNES et al. 2009).

Quadro 01: - Utilização de diferentes esquemas de tratamento com hidróxido de alumínio.

Grupos	Inóculo/ Dose/ Tratamento
1 Controle	1º dia: 2x107 células de S180/cdg
2	1º dia: 2x107 células de S180/cdg 15º dia: 90µg de hidróxido de alumínio/cdg 22º dia: 90µg de hidróxido de alumínio/cdg 29º dia: 90µg de hidróxido de alumínio/cdg
3	1º dia: 2x107 células de S180/cdg 15º dia: 180µg de hidróxido de alumínio/cdg 22º dia: 180µg de hidróxido de alumínio/cdg 29º dia: 180µg de hidróxido de alumínio/cdg
4	1º dia: 2x107 células de S180/cdg 15º dia: 270µg de hidróxido de alumínio/cdg 22º dia: 270µg de hidróxido de alumínio/cdg 29º dia: 270µg de hidróxido de alumínio/cdg

cdg= camundongo

2.3. Manutenção do Sarcoma 180 (S180)

Uma alíquota de células S180 foi gentilmente doada pela Profª Dra Elisângela de Paula Silveira Lacerda do Laboratório de Genética Molecular e Citogenética do Instituto de Ciências Biológicas da UFG.

As células do sarcoma 180 foram cultivadas in vivo por meio da inoculação intraperitoneal na concentração de 1,0 x 105 células, sendo os repiques realizados a cada dez dias.

2.4. Inoculação do S180 nos grupos de camundongos e avaliação da atividade antitumoral

Os camundongos com neoplasia intraperitoneal foram eutanasiados e o líquido ascítico aspirado com seringa e uma alíquota retirada para contagem em câmara de Neubaer com corante azul de Trypan. Um inóculo com concentração de 2 x 107 células tumorais foi ajustado ao tamanho e inoculado no subcutâneo da região dorsal (Yu et al., 2007), dos camundongos dos grupos experimentais. Essa foi uma das concentrações previamente testadas e a que melhor apresentou desenvolvimento neoplásico.

2.5 Análise morfológica

Após a dissecção da região neoplásica, o material de cada camundongo foi fixado em formaldeído tamponado a 3,4%. Foi seccionado metade ou um terço do total da neoplasia para o processamento histopatológico, conforme o tamanho da neoplasia. Após o processamento, o fragmento foi incluído em parafina. Os cortes histológicos foram seccionados em micrótomo, obtendo-se de cada bloco, cinco cortes consecutivos de 5µm para realização de histoquímica e cinco de 3µm para realização de imunoistoquímica em lâminas silanizadas. Os cortes histológicos foram corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE) para análise morfológica e morfométrica das características da neoplasia, como pleiomorfismo nuclear e celular, presença de células com nucléolo evidente, células em mitose, células hipercromáticas e necrose. A análise das características morfológicas na lâmina corada em HE foi realizada com objetiva de 40x.

Para verificar se os diferentes tratamentos imunoterápicos influenciaram no crescimento neoplásico, realizou-se a técnica de imunoistoquímica para identificação de proliferação celular, utilizando o anticorpo primário anti-ciclina D1 (Monoclonal Rabbit Anti-Human Cyclin D1 Clone SP4 Ready-to-Use – Dako). Após a obtenção dos cortes histológicos, estes foram desparafinizados em xilol, três banhos de 10 minutos cada, sendo o

primeiro xilol morno. Seguidos de rehidratação em quatro banhos em álcool em concentrações decrescentes, começando com etanol absoluto, 90, 80 e 70% por 2 minutos cada. A seguir, os cortes foram lavados em água corrente por 5 minutos. A recuperação antigênica foi realizada por calor em banho-maria por 40 minutos em solução de EDTA/Tris (pH 9 a 96°C), conforme as especificações do anticorpo, e depois novamente lavadas em água corrente por 5 minutos.

Após a recuperação dos sítios antigênicos, procedeu-se o bloqueio da peroxidase endógena com 1 ml de H_2O_2 diluída 7,33 ml de em TBS. Após 5 minutos de incubação, as lâminas foram lavadas duas vezes com TBS. A incubação com anticorpo primário, pronto para uso, foi realizada à temperatura ambiente em câmara úmida, por 20 minutos (100µl por lâmina). Em seguida, as lâminas foram lavadas duas vezes com TBS. Foi usado o polímero (DAKO flex) por 20 minutos também em câmara úmida e a revelação pelo método da peroxidase (DAKO- Substrate Buffer) e cromógeno diaminobenzidina (DAB), 100µl por lâmina por 5 minutos. As lâminas foram contracoradas com hematoxilina de Harris por 40 segundos e em seguida lavadas em água corrente por 5 minutos. Seguidas de desidratação em concentrações crescentes de etanol (80%, 90% e puro, respectivamente) por um minuto cada diluição e em xilol por 2 minutos. Por fim, a montagem das lâminas foi realizada em meio permanente com Entelan.

A análise morfométrica foi realizada no grupo controle e nos grupos tratados com 90µg, 180µg e 270µg de Hidróxido de Alumínio, que eram formados por 6, 5, 3 e 5 animais em cada grupo, respectivamente. A quantidade de animais diminuiu devido à morte de alguns camundongos. As lâminas foram previamente digitalizadas utilizando o "Scanner Aperio ScanScope XT". Foram obtidos 10 campos, aleatoriamente, de cada um dos animais que compõe os grupos, usando o programa "Aperio Image Scope" com aumento de 20x. Em seguida, a morfometria foi realizada com o programa analisador de imagens "Image J" (1.46r Java 1.6.0_20 - National Institutes of Health USA). Foi considerada célula em proliferação aquela com núcleo imunomarcado para ciclina D1, que foi então, marcada pelo observador para obtenção da densidade das células em proliferação por campo analisado.

2.6 Análise estatística

Realizou-se uma análise quantitativa e os casos apresentaram distribuição não normal quando avaliadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Assim, as variáveis foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis (H). Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p<0,05$.

O Projeto de Pesquisa do presente trabalho foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética local da UFG, conforme protocolo 044/11.

3. RESULTADOS

De modo geral as características morfológicas encontradas, no grupo controle e nos tratados, foram células neoplásicas apresentando nucléolo evidente único e múltiplo, pleiomorfismo nuclear e celular, além da presença de figuras de mitose típicas e atípicas (Figura 1A). Também foram encontradas em todos os animais, hemorragia e presença de vasos com distribuição variável (Figura 1B). Observou-se a formação de fibrose delimitando a neoplasia na maioria dos casos analisados dentro de cada grupo, formando uma cápsula, com o predomínio de mononucleares, compondo o infiltrado inflamatório (Figura 1C). Necrose foi observada em grande parte da área neoplásica (Figura 1D). Além disso, foram encontradas células com núcleos hipercromáticos.

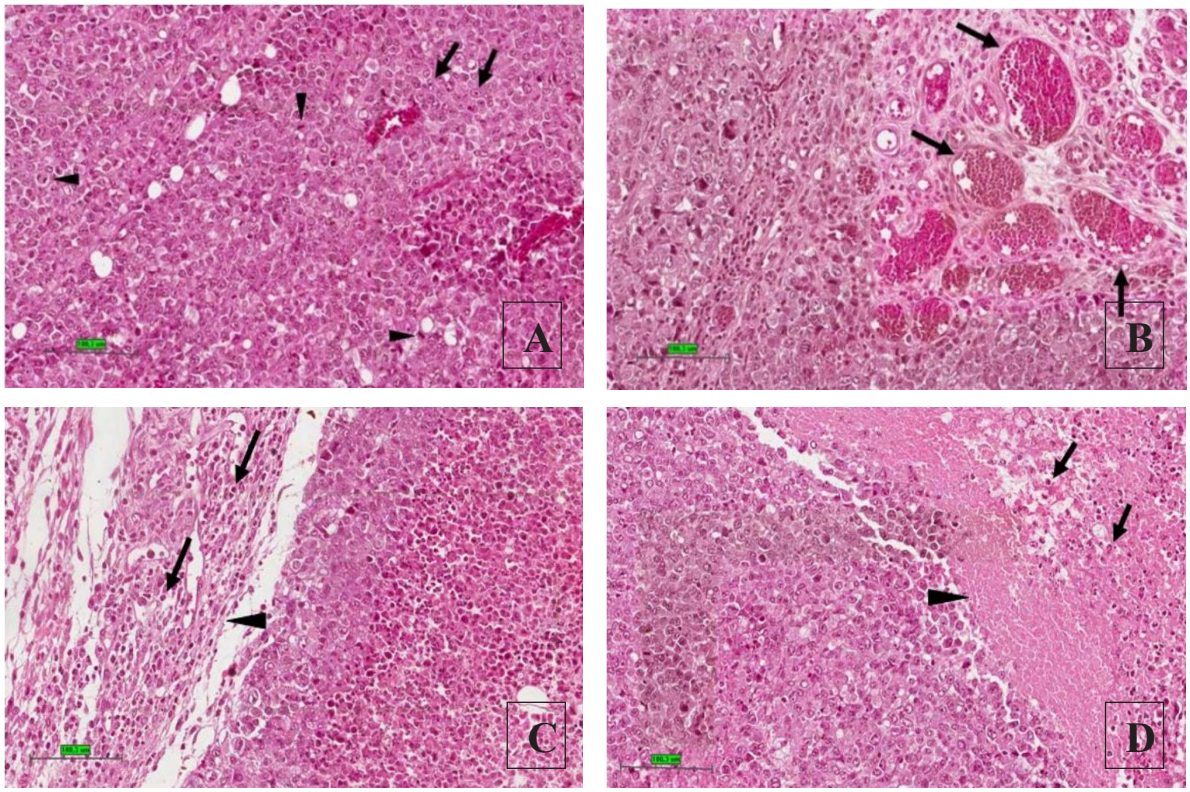


Figura 1: Em A observa-se área neoplásica do grupo de animais tratados com 270µg de hidróxido de alumínio. Observa-se nucléolo evidente (setas), células em figura de mitose (pontas de setas) e pleiomorfismo nuclear e celular em todo o campo. Em B, observa-se grupo controle de animais sem tratamento com hidróxido de alumínio. As setas indicam os vasos sanguíneos. Em C, observa-se área com infiltrado inflamatório (setas), além da cápsula de

tecido fibroso (ponta de seta). Em D, grupo de animais tratados com 180µg de hidróxido de alumínio, onde se observa necrose (ponta de seta) associada a neutrófilos (setas) (Hematoxilina-Eosina, objetiva de 20x).

A ciclina D1 foi positiva em todos os casos analisados. A presença da proteína no núcleo da célula pode ser observada nas Figuras 2A, 2B, 2C e 2D, que representam o grupo controle e cada um dos diferentes esquemas monoterápicos utilizados, respectivamente.

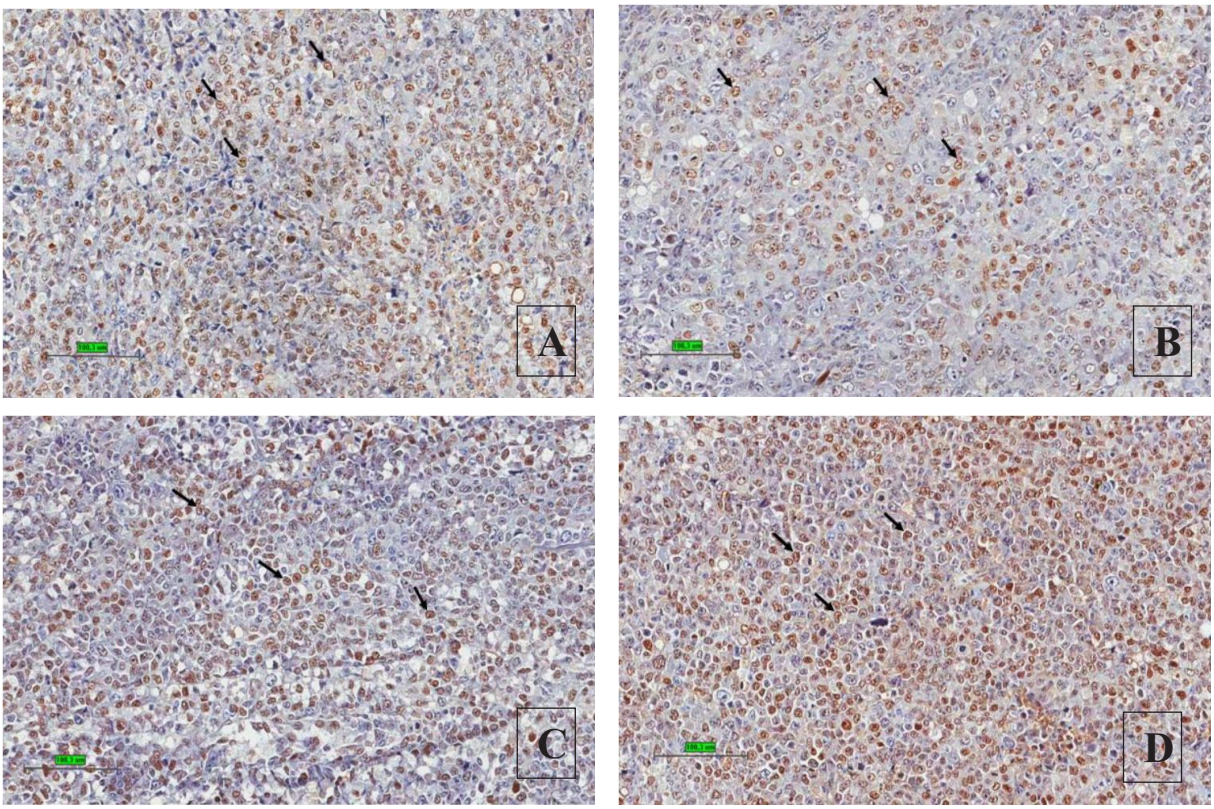


Figura 2: Em A, observa-se o Sacoma 180 no grupo controle de animais sem tratamento com hidróxido de alumínio. As setas indicam células positivas para o anticorpo ciclina D1. Em B, observa-se.área neplásica do grupo de animais tratados com 90µg de hidróxido de alumínio. As setas indicam células positivas para o anticorpo ciclina D1. Em C, observa-se a área neoplásica do grupo de animais tratados com 180µg de hidróxido de alumínio. As setas indicam células positivas para o anticorpo ciclina D1. Em D, área neoplásica do grupo de animais tratados com 270µg de hidróxido de alumínio. As setas indicam células positivas para o anticorpo ciclina D1. (Imunoistoquímica, Objetiva de 20x).

Não houve diferença estatísticamente significativa entre as medianas da densidade celular dos grupos controle e tratados com 90µg, 180µg e 270µg de Hidróxido de Alumínio, respectivamente como se observa no Gráfico 1.

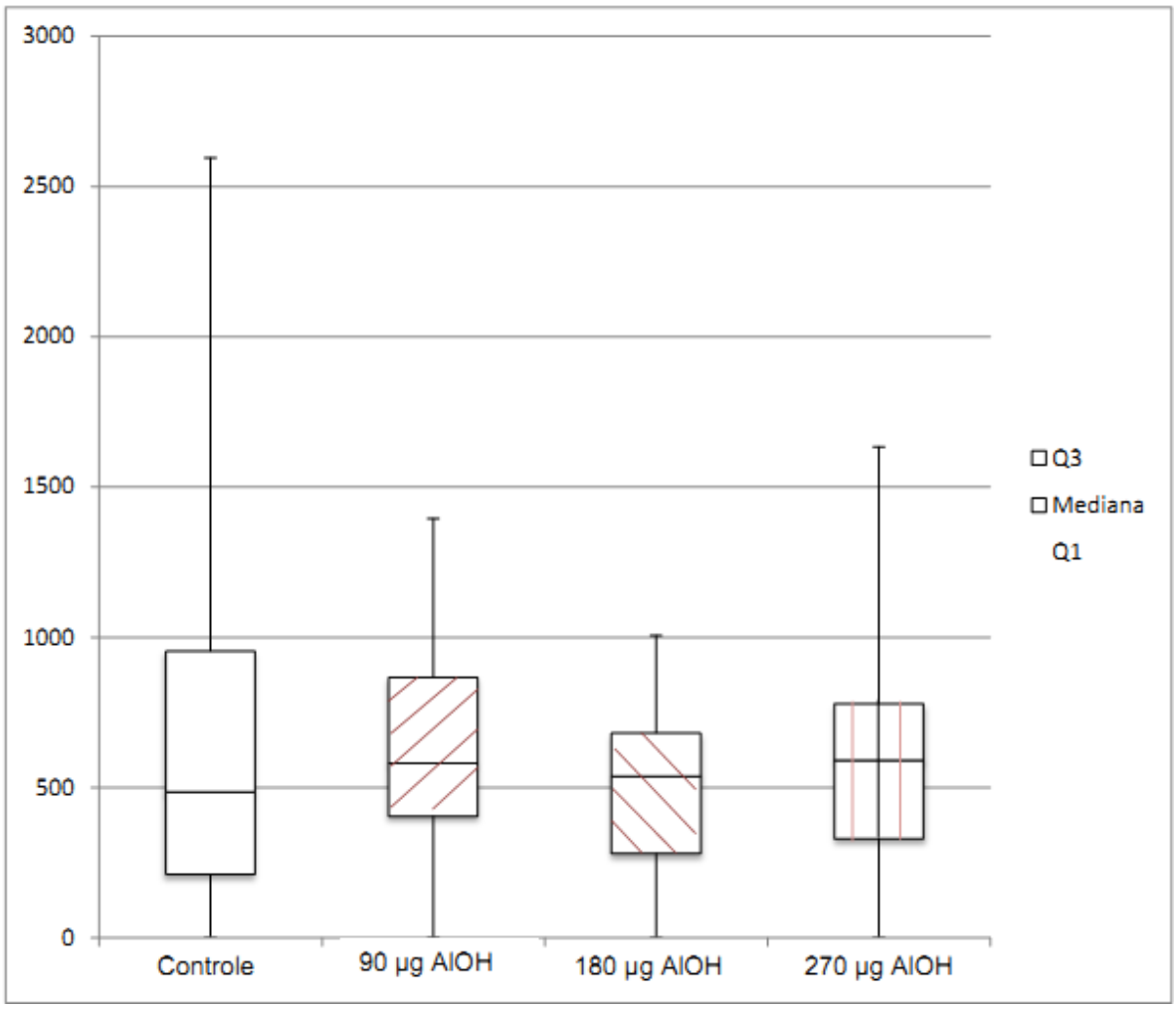


Gráfico 1: Mediana da densidade de células positivas para ciclina D1 em sarcoma 180 de camundongos BALB / c do grupo controle (1) e dos tratados com 90 µg (2), 180 µg (3) e 270 µg (4) de hidróxido de alumínio ($p > 0,05$).
Q1=1° quartil (corresponde a 25% dos dados); Q3= 3° quartil (corresponde a 75% dos dados).

4. DISCUSSÃO

Neste estudo, as características morfológicas observadas estão de acordo com outro estudo que também utilizou o modelo experimental sarcoma 180. No qual pesquisadores concluem que a presença de necrose e infiltrado inflamatório sugere que o sistema imunitário foi estimulado, proporcionando um aumento da resposta imune contra a neoplasia (ZUCKERBERG, 1973).

Foram encontradas características histológicas como, células atípicas binucleadas ou multinucleadas com citoplasma eosinofílico, bem como vasos sanguíneos em contato com células tumorais. A importância de neovascularização para o crescimento de células neoplásicas e metástase tem sido amplamente estudada. Novos vasos são necessários para fornecer nutrientes necessários para o desenvolvimento destas células. Também foi visto fibrose ao redor da neoplasia, delimitando-a nos animais tratados. Além disso, foi observado infiltrado inflamatório, tal fato sugere que a proteção contra o sarcoma experimental pode resultar da resposta imune melhorada do hospedeiro (ASSEF et al., 2002; SATO et al., 2005).

Leucócitos e outras células fagocíticas, induzem dano ao DNA nas células em proliferação, por meio da geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que são produzidos normalmente por estas células para combater a neoplasia (MAEDA; AKAIKE, 1998). As características morfológicas acima descritas também foram observadas por outros autores que utilizaram Canova e em outro estudo, que usou um polissacarídeo do líquen Ramalina celastri no tratamento do sarcoma 180. Critérios morfológicos mostram significância estatística quanto ao prognóstico da evolução das neoplasias, além de avaliar a eficácia de tratamentos específicos (ASSEF et al., 2002; SATO et al., 2005).

Não foi observada diferença estatisticamente significativa das medianas da densidade celular nas diferentes concentrações do hidróxido de alumínio utilizadas. Entretanto, não foram encontrados, na literatura, outros estudos que avaliaram o crescimento neoplásico neste modelo terapêutico. Embora atualmente, existam estudos que buscam tratamentos de baixa toxicidade como terapêutica anti-neoplásica. Assim, outros autores descreveram o crescimento neoplásico pancreático em camundongos, após 35 dias de tratamento com o extrato de graviola. Foi observada a diminuição da expressão da ciclina D1, o que, após análise, indicou parada do ciclo celular na fase G1, mostrando que esta proteína é reguladora do ciclo celular. Eles relataram que a substância diminuiu significativamente o crescimento neoplásico, indicando a eficácia de um produto natural. Além disso, a avaliação por hematoxilina-eosina mostrou células necróticas em 20 a 50% da neoplasia em comparação

com o grupo controle. Este dado demonstra que aquela substância reduziu a viabilidade celular neoplásica pela indução de necrose (TORRES et al., 2012).

No presente estudo não foi verificada a influência da diminuição da densidade celular com o uso do hidróxido de alumínio, o que pode ser devido ao fato deste adjuvante ser um bom estimulador da resposta Th2 e na neoplasia ser mais eficiente uma resposta citotóxica, do tipo Th1 (TCD8). Este mecanismo de adjuvanticidade do hidróxido de alumínio foi encontrado por outros autores que realizaram um estudo com células dendríticas. Eles descreveram pela primeira vez, a capacidade dos adjuvantes de alumínio induzirem a ativação da caspase-1 e consequentemente a liberação de IL-1β e IL-18. Em particular, a IL-1β foi encontrada promovendo especificamente a resposta de células TCD4, mas não TCD8. Além disso, a IL-1 β pode ativar as células Th2 e aumentar a produção de anticorpo. Ressaltando que, o alumínio é notoriamente um estimulador deficiente de respostas citotóxicas enquanto ele sustenta com sucesso respostas tipo Th2 (LI; NOOKALA; RE, 2007). Embora o alumínio seja considerado seguro, existem vários efeitos potenciais secundários, como a indução de resposta imune Th2 em seres humanos, representando uma desvantagem quando se tratam de alergia (SPAZIERER et al., 2009).

Como já citado, não foi observada diminuição da proliferação neoplásica no tratamento com hidróxido de alumínio, fato contrário ao observado em um estudo com o ácido imunoterápico polyuridylic. Esta substância é um ssRNA sintético que tem se demonstrado promissora como um agente na imunoterapia de neoplasias, mostrando atividade antitumoral em um modelo de camundongo com sarcomas de tecidos moles. Esse ácido pode induzir a apoptose em células de sarcoma, ativando caspases ou outras proteínas pró-apoptóticas que funcionam independentes de caspases, como também, promove a diminuição da proliferação celular, o peso e o volume da neoplasia. Com este tratamento, não foram observados sinais de toxicidade nos grupos tratados (ADEPOJU, GEIGER, 2010).

Por outro lado, não foi encontrado na literatura estudos utilizando o hidróxido de alumínio no modelo experimental sarcoma 180. Entretanto, outros imunomoduladores são estudados neste modelo. O que pode ser visto em estudo que utilizou heteropolissacarídeos solúveis em água, ramificados de Rhizoma panacis Japonici, e concluiu-se que essa substância pode estimular a proliferação de células T e induzir a apoptose em células do Sarcoma 180. Percebeu-se que o polissacarídeo RPS1 inibiu o crescimento do tumor, preferencialmente, pelo efeito citotóxico direto enquanto RPS5 o inibiu principalmente através de imunomodulação, com poucos efeitos colaterais nos órgãos dos animais. Este é um

pré-requisito fundamental para qualquer agente imunoterápico usado no tratamento de neoplasias ou para a utilização clínica em seres humanos (HUANG et al, 2012).

Diferente do proposto no presente estudo, o hidróxido de alumínio parece não ter sido usado ainda, em modelos de sarcoma ou de neoplasias e grande parte dos estudos que o utilizam é para avaliar sua função na ativação da resposta imune. Diante disso, geralmente sua atividade é avaliada em vacinas. Estes estudos demonstram que o hidróxido de alumínio é um potente regulador positivo das células apresentadoras de antígenos (APCs), consequentemente da resposta imune. Tal fato, o torna eficaz na terapêutica antitumoral, pois é capaz de provocar um reconhecimento das células neoplásicas pelas APCs (CLEMENTS; GRIFFITHS, 2002; DUHARTE; LINDBLAD; ORTA, 2011). A maioria dos adjuvantes de uso parenteral, como nas vacinas, causa algum tipo de reação no local de administração, por exemplo, inflamação, úlceras e granulomas. O aparecimento de necrose e granuloma são devido a emulsões de óleo que são administradas juntamente com o hidróxido de alumínio. Isso acontece devido à cadeia curta de hidrocarboneto com efeito detergente, que dissolve a bicamada lipídica das células, causando a lise celular e consequentemente necrose (DUHARTE; LINDBLAD; ORTA, 2011).

Assim como o hidróxido de alumínio, outros imunomoduladores realizam a regulação positiva das APCs. Diante disso, há estudos experimentais que usam proteínas de choque térmico ou IL-2 como adjuvantes imunoterápicos, já que esta, ativa células dendríticas, as quais atuam como apresentadoras de antígenos. As células dendríticas são muito usadas em vacinas imunoterápicas. As proteínas de choque térmico são potentes estimuladores imunológicos, que podem melhorar o processamento e a apresentação de antígenos, além de ter demonstrado que protegem contra o estabelecimento da neoplasia (FRANCESCUTTI; SKITZKI, 2012). Em outro estudo, onde foi usada injeção peritumoral de adjuvantes a base de saponina após a crioablação de tumores in situ em camundongos, resultou no aumento da imunidade anti-tumoral devido a função moduladora de células dendríticas (MARTIJN et al., 2006).

A não diminuição do crescimento neoplásico do sarcoma 180 neste estudo está de acordo com outro estudo, que utilizou uma vacina derivada de uma linhagem de células autólogas de neoplasias. No mesmo, foi demonstrada a viabilidade da criação de uma cultura em curto prazo de células de sarcoma humano, seguido por irradiação e criopreservação, para utilização numa vacina por via subcutânea. As reações foram monitoradas durante o período de vacinação, que consistiu em injeções semanais durante três semanas, seguidas pelas injeções mensais de cinco meses. Este ensaio foi gerado com êxito em 56% dos pacientes, e

as respostas de hipersensibilidade do tipo tardia, foram observadas em metade dos pacientes vacinados por 3 semanas. Apesar de não serem observadas respostas antitumorais, este estudo forneceu resultados encorajadores em relação à geração de vacinas, a segurança, e potenciais leituras imunes em pacientes com sarcoma (DILLMAN et al., 2003).

5. Conclusão

Por fim, embora a diminuição do crescimento neoplásico do sarcoma S180 em camundongos BALB/c não tenha sido observada nos diferentes esquemas terapêuticos com hidróxido de alumínio, este parece ter sido o primeiro estudo na literatura a analisar morfologicamente esta possível estratégia terapêutica. Portanto, o hidróxido de alumínio nas concentrações utilizadas não influenciou significativamente na diminuição da proliferação celular da neoplasia em camundongos BALB/c, contudo, a morfologia do sarcoma 180 experimental observada está de acordo com o que se tem descrito na literatura.

5. REFERÊNCIAS

1. ADAMS, C.W. Pathology of multiple sclerosis: progression of the lesion. British Medical Bulletin, v. 33, p. 15-20, 1977.
2. ADEPOJU, L.J.; GEIGER, J.D. Antitumor Activity of Polyuridylic Acid in Human Soft Tissue and Bone Sarcomas. Journal of Surgical Research, v. 164, p. 107–114, 2010.
3. ASSEF, M.L.M. et al. de F. Histological and immunohistochemical evaluation of sarcoma 180 in mice after treatment with an α-D-glucan from the lichen ramalina celastri. Brazilian Journal of Morphological Sciences, p. 49-54, 2002.
4. BALMAIN, A.; HARRIS, C.C. Carcinogenesis in mouse and human cells: parallels and paradoxes. Carcinogenesis, v. 21, p. 371-377, 2000.
5. BRUNNER, R.; JAROLIM, J.E.; SCHÖLL, P.I. The ABC of clinical and experimental adjuvants- A brief overview. Immunology Letters, v. 128,p. 29-35, 2010.
6. CARMELIET, P.; JAIN, R.K. Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature, v. 407, p. 249–57, 2000.
7. CARPENTER, G.; KING, L.J.R.; COHEN, S. Rapid enhancement of protein phosphorilation in A431 cell membrane preparations by epidermal growth factor. Journal of Biological Chemistry, v. 254, p. 4884-4891, 1979.
8. CHAIMOWICZ, F.A. Health of the Brazilian elderly just before of the 21st century: current problems, forecasts and alternatives Revista Saúde Pública, v. 31, p. 184–200, 1997.
9. CLEMENTS, C.J., GRIFFITHS, E. The global impact of vaccines containing aluminium adjuvants. Vaccine, v. 20, p. 24–33, 2002.
10. COUSSENS, L.M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. Nature, v. 420, p. 860–867, 2002.
11. COX, J.C.; COULTER, A.R. Adjuvants-a classification and review of their modes of action. Vaccine, v. 15, p. 246-256, 1997.
12. DILLMAN, R.O. et al. Interferon-gamma or granulocytemacrophage colony-stimulating factor administered as adjuvants with a vaccine of irradiated autologous tumor cells from short-term cell line cultures: a randomized phase 2 trial of the cancer biotherapy research group. Journal of Immunotherapy, n. 26, v. 4, p. 367–73, 2003.
13. DUHARTE, A.B.; LINDBLAD, E.B.; ORTA, E.O. Progress in understanding adjuvant immunotoxicity mechanisms. Toxicology Letters, v. 203, p. 97–105, 2011.

14. FOLKMAN, J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other diseases. Nature Medicine, v. 1, p. 27–31, 1995.
15. FRANCESCUTTI, V.; SKITZKI, J.J. Sarcomas and the Immune System: Implications for Therapeutic Strategies. Surgical Oncology Clinics of North America, v. 21 p. 341–355, 2012.
16. GOTO, A.; SAKAMOTO, A.; MACHINAMI, R. An Immunohistochemical Analysis of Cyclin D1, p53, and p21waf1/cip1 Proteins in Tumors Originating from the Follicular Epithelium of the Thyroid Gland. Pathology Research and Practice, v. 197, p. 217–222, 2001.
17. GUO, W. et al. Synthesis, characterization of novel injectable drug carriers and the antitumor efficacy in mice bearing Sarcoma-180 tumor. Journal of Controlled Release, v.107, p.513–522, 2005.
18. HAKALA, M.T. On the nature of permeability of sarcoma-180 cells to Amethopterin in vitro. Biochimica et biophysica acta, v. l02, p. 210- 225, 1965.
19. HANAHAN, D.; WEINBERG, R.A. The hallmarks of cancer. Cell, v. 100, p. 57–70, 2000.
20. HUANG, Z. et al. Novel highly branched water-soluble heteropolysaccharides as immunopotentiators to inhibit S-180 tumor cell growth in BALB/c mice. Carbohydrate Polymers, v. 87, p. 427– 434, 2012. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, (IBGE) 2010.
21. Instituto Nacional do Câncer/ Ministério da Saúde (INCA). Estimativa 2012, Incidência de Câncer no Brasil, 2012. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/estimativa20122111.pdf> Acesso em: 23 jan. 2012.
22. KUPER, H.; ADAMI, H.O.; TRICHOPOULOS, D. Infections as a major preventable cause of human cancer. Journal of Internal Medicine, v. 248, p. 171-183, 2000.
23. LI, H.; NOOKALA, S.; RE, F. Aluminum Hydroxide Adjuvants Activate Caspase-1 and Induce IL-1 and IL-18 Release. Journal of Immunology, v. 178 p. 5271-5276, 2007.
24. MACKALL, C.L.; MELTZER, P.S.; HELMAN, L.J. Focus on sarcomas. Cancer cell, v. 2, p. 175-78, Set. 2002.
25. MAEDA, H.; AKAIKE, T. Nitric oxide and oxygen radicals in infection, inflammation, and cancer. Biochemistry, v. 63, p. 854-65, 1998.

26. MANNHALTER, J.W. et al. Modulation of the human immune response by the non-toxic and non-pyrogenic adjuvant aluminium hydroxide: effect on antigen uptake and antigen presentation. Clinical Experimental Immunology, v. 61, p. 143-151, 1985.
27. MARTIJN, H.M.G.M.D.B. et al. Synergy between In situ Cryoablation and TLR9 Stimulation Results in a Highly Effective In vivo Dendritic Cell Vaccine. Cancer Research; v. 66, p. 7285-7292, 2006.
28. MIILLER, P.; HAMMERLING, G.J. The role of surface HLAA, B,C molecules in tumor immunity. In: Cancer Surveys: A New Look at Tumor. Immunology, p. 101-127, 1992.
29. MOTOKURA, T. et al. A novel cyclin encoded by a bcl1-linked candidate oncogene. Nature, n. 350, p. 512-515, 1991.
30. NUNES, M.V.O. et al. Comparação do perfil de anticorpos antiimunoglobulina g em murinos imunizados com igg humana associada a diferentes adjuvantes. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 6, n. 1, p. 44-50, 2009.
31. QI, C-F. et al. Expression of cyclin D1 in mouse B cell lymphomas of different histologic types and differentiation stages. Leukemia Research, v. 22 p. 395-404, 1998.
32. RADZIKOWSKI, C.; OPOLSKI, A.; WIETRZYK, J. Znaczenie angiogenezy w dynamice wzrostu nowotworu The importance of angiogenesis in tumor growth dynamics. Postepy Higieny Medycyny Doswiadczalnej, v. 52, p. 553–76, 1998.
33. SATO, D. et al. Histopathological and immunophenotyping studies on normal and sarcoma 180-bearing mice treated witha complex homeopathic medication. Homeopathy, v. 94, p.26–32, 2005.
34. SPAZIERER, D. et al. T helper 2 biased de novo immune response to keyhole limpet hemocyanin in humans. Clinical Experimental Allergy, v. 39 p. 999-1008, 2009.
35. TORRES, M. P. et al. Graviola: A novel promising natural-derived drug that inhibits tumorigenicity and metastasis of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo through altering cell metabolism. Cancer Letters, v. 323 p. 29-40, 2012.
36. YU, F. et al. Effects of Hydrocotyle sibthorpioides extract on transplanted tumors and immune function in mice. Phytomedicine, n. 14, p. 166–171, 2007.
37. ZUCKERBERG, C. Ultrastructure of Sarcoma 180. Cancer Research, v. 33, p. 2278-2282, 1973.

Prevalência de toxoplasmose em gestantes atendidas em duas maternidade pública de Goiânia-GO

Heloisa Ribeiro Storchilo[1], Juliana Boaventura Avelar[1], Hânstter Hállison Alves Rezende[1] & Ana Maria de Castro[1].

1-Laboratório de Estudos da Relação Parasito Hospedeiro (LAERPH) – Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia (DIMPP) do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Endereço eletrônico: lo_storchilo@hotmail.com

Resumo: Contexto e objetivos: a toxoplasmose congênita pode causar aborto e danos neurológicos e/ou oculares ao feto. Os objetivos deste trabalho, foram avaliar a prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes, comparar a sorologia de amostras maternas com seus respectivos recém-nascidos pela técnica IFI e confirmar a infecção congênita de recém-nascidos de mães infectadas cronicamente pelo *Toxoplasma gondii* (IgG positiva) durante a gravidez. **Metodologia:** o estudo incluiu gestantes que possuíam exames prévios positivos para toxoplasmose e que foram atendidas na maternidade do Hospital das Clínicas-UFG e na Maternidade Nossa Senhora de Lourdes, Goiânia-GO. A sorologia dos recém-nascidos e das mães foi realizada pela técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI) e a confirmação de infecção congênita foi realizada através da técnica de PCR e inoculação experimental em camundongos. **Resultados:** a prevalência de soropositividade para toxoplasmose das amostras das mães estudadas foi de 81,7 %. Em 14,8 % das amostras, a sorologia foi negativa e em oito amostras não foi possível fazer o exame, devido à quantidade de material insuficiente. Do total de recém-nascidos, 188 apresentaram títulos para IgG igual ou inferior ao da mãe e 42 apresentaram títulos para IgG maior do que da mãe. Nas amostras de recém-nascidos que apresentaram titulação por IFI maior que o da mãe, apresentou resultados negativos através da técnica de PCR. **Conclusão:** os dados demonstram que há uma alta prevalência de soropositividade nas gestantes na população estudada no estado de Goiás, e que há necessidade do acompanhamento dos recém-nascidos que apresentam maior concentração de anticorpos contra o *T. gondii* que os da mãe.

Palavras - chave: Toxoplasmose congênita, *Toxoplasma gondii*, Pré-natal.

Revisado pela orientadora – Profa. Dra. Ana Maria de Castro

1 Introdução

A toxoplasmose é uma doença infecciosa que ocorre em todo o mundo, sendo que sua prevalência varia conforme regiões geográficas, características climáticas, fatores culturais e hábitos alimentares. Foi observada uma prevalência de 10,9% na Noruega, 14,0% em Estocolmo, 18,8% em Londres, 20,3% na Finlândia e 32,0% em Nova Iorque. Em Paris, esta proporção já atingiu 70,0% das gestantes; após medidas de prevenção primária, ela foi reduzida para 65,0% (VARELLA et al., 2003). O causador dessa zoonose é o protozoário *Toxoplasma gondii*, do filo *Apicomplexa*, pertencente à família *Soncocystidiae*, da classe *Sporozoa*, subclasse *Coccidia*, subordem *Eimereina*. Possui três formas evolutivas ao longo de seu ciclo: taquizoítos, bradizóitos e esporozoítos (HINRICHSEN, 2005).

O *T. gondii* é um parasito intracelular freqüente em várias espécies de animais: mamíferos (principalmente carneiro, cabra e porco) e aves. O gato e alguns outros felídeos são os hospedeiros definitivos ou completos e o homem e os outros animais são os hospedeiros intermediários ou incompletos (NEVES et al., 2005). As formas de infecção para toxoplasmose são através da ingestão de bradizoítos presentes nos cistos teciduais nas carnes, crua ou mal cozida. Os esporozoítos, presentes nos oocistos que contaminam alimentos crus e água não tratada, logo que estes são eliminados em grande quantidade pelos felídeos. A infecção por taquizoítos está envolvida principalmente na transmissão vertical, logo que esta forma do parasito é capaz de atravessar a placenta (COSTA, 2012). O ciclo da toxoplasmose está representado na **Figura 1.**

Revisado pela orientadora – Profa. Dra. Ana Maria de Castro

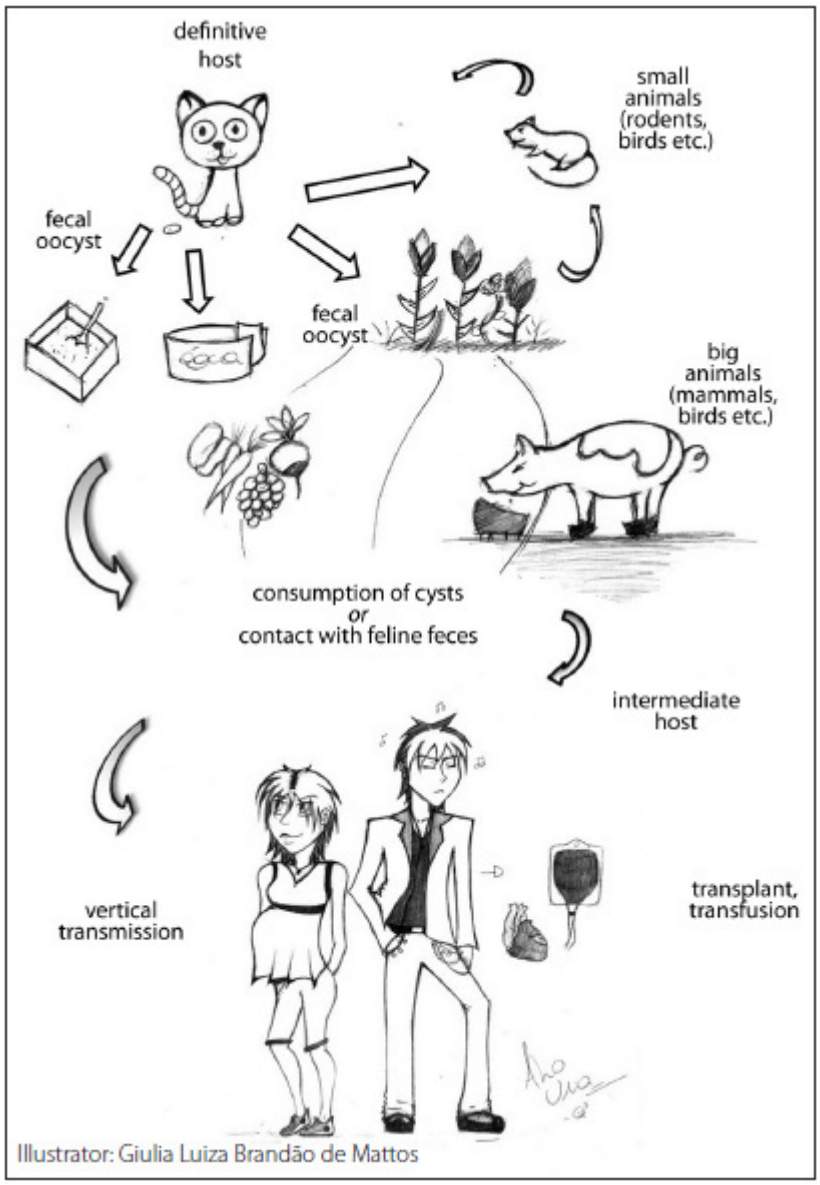


Figura 1. Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii.*

Fonte: Brandão de Mattos et al., 2011, figura 1 – p. 262.

A toxoplasmose é caracteristicamente assintomática, em sua maioria no paciente imunocompetente, sendo que após a resolução da fase ativa ainda há infecção pela forma cística do parasito. Já a forma ocular da toxoplasmose, está relacionada com a presença de formas císticas na retina e no imunocomprometido determina quadros graves e se infecta a gestante, pode afetar de maneira variada o feto, sendo que apenas 15% a 20% das crianças com toxoplasmose congênita têm evidência da doença ao nascer (AVELINO et al., 2003). Além da retinocoroidite, os sinais clínicos mais comuns encontrados em crianças com toxoplasmose congênita são: hidrocefalia, com macro ou microcefalia, calcificações cerebrais e retardo mental ou perturbações neurológicas (COSTA, 2012).

Revisado pela orientadora – Profa. Dra. Ana Maria de Castro

O risco de contaminação do feto e a gravidade das seqüelas dependem do estágio da gravidez em que a gestante foi infectada, porém esse não é o único fator responsável pelo quadro clínico da doença. Quando a infecção ocorre nos primeiros meses da gestação as conseqüências são mais graves, entretanto esse quadro não é muito comum devido à dificuldade de o parasito atravessar a barreira placentária. No final da gravidez, os bebês apresentam sintomas leves ou assintomáticos no momento do nascimento (BRANDÃO DE MATTOS et al., 2011). O efeito nocivo da toxoplasmose em mulheres em idade fértil depende também da prevalência da doença na comunidade, da vulnerabilidade da mulher ao protozoário, da sua incidência entre os animais que servem de alimento ao homem, da virulência da cepa do *T. gondii* e do contato da gestante susceptível com as fontes de infecção (AVELINO et al., 2003).

O Brasil não tem um programa nacional de acompanhamento dos recém-nascidos de mulheres que tiveram uma gravidez de risco para doenças infecto-contagiosas, apesar da alta prevalência da infecção. Dessa forma, há uma grande dificuldade de realizar o diagnóstico da toxoplasmose, pois a doença pode ser clinicamente silenciosa e em alguns casos não há detecção de IgM devido às falsas reações negativas, e pela ausência de técnicas laboratoriais com alta sensibilidade e especificidade (REMINGTON et al. 2001, RODRIGUES et al. 2009).

O diagnóstico da toxoplasmose depende principalmente dos testes sorológicos, entretanto pode-se constar a presença de *T. gondii* por isolamento em culturas de tecidos por biópsia ou necropsia ou de líquidos corporais, testes de inoculação em camundongos, o qual é o método mais tradicional que utiliza o sangue do paciente, de preferência a camada leucocitária, ou sedimento de líquido cefalorraquiano, líquido amniótico, lavado brônquico-alveolar, suspensão de triturados de biópsia ou de placenta, são inoculados por via intraperitoneal em camundongos. A positividade é indicada pela soroconversão do animal e/ou confirmada pela presença de taquizoítas no líquido peritoneal ou de microcistos no cérebro e em outros órgãos (FERREIRA, 2001). Diante da complexidade do diagnóstico e consequentemente confirmação da infecção congênita, é de suma importância que todos os recém-nascidos de mulheres previamente infectadas pelo *T. gondii* tenham acompanhamento clínico e sorológico.

Revisado pela orientadora – Profa. Dra. Ana Maria de Castro

2 Objetivos

Avaliar a prevalência de soropositividade em um grupo de gestantes atendidas na maternidade do Hospital das Clinicas-UFG e na Maternidade Nossa Senhora das Lourdes de Goiânia, Goiás.

Comparar a sorologia obtida de amostras maternas com seus respectivos recém-nascidos pela técnica Imunofluorescência Indireta.

Confirmar a infecção congênita de recém-nascidos de mães infectadas cronicamente pelo *T. gondii* (IgG positiva), que se infectaram durante a gravidez testando a técnica de PCR e a inoculação experimental do sangue dos recém-nascidos.

3 Metodologia

3.1 Seleção de pacientes

O critério de inclusão foram as grávidas que possuíam exames prévios positivos para toxoplasmose (presença de IgG anti-*T.gondii*), diagnosticadas por exames feitos durante o pré-natal e que deram à luz na Maternidade do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e na Maternidade Nossa Senhora de Lourdes. As mulheres envolvidas neste projeto foram esclarecidas quanto aos objetivos do mesmo, e dele participaram somente aquelas que concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da UFG, Goiânia, GO com o número de protocolo 142/2009. Após a assinatura as gestantes foram entrevistadas por meio de um questionário onde os dados foram utilizados para análise epidemiológica (fatores de risco para contaminação/transmissão), dados não mostrados neste trabalho.

3.2 Amostras de sangue

Após o preenchimento do questionário, foram coletadas 104 amostras de sangue periférico das mães e seus RN, no serviço de ginecologia e obstétrica do HC e 126 amostras de sangue periférico das mães e seus respectivos RN, na MNSL, 230 pares mães e recém nascidos, totalizando 460 amostras analisadas, nas duas maternidades. A sorologia dos recém-nascidos e das mães foi realizada pela técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI) para as imunoglobulinas IgM e IgG no Laboratório de Estudos da Relação Parasito Hospedeiro no IPTSP-UFG.

Revisado pela orientadora – Profa. Dra. Ana Maria de Castro

3.2.1 Imunofluorescência Indireta IgM e IgG

O protocolo utilizado foi o de Camargo (1964). A IFI é uma técnica de alta especificidade e sensibilidade. As lâminas foram confeccionadas no Laboratório de Estudos da Relação Parasito Hospedeiro (LAERPH) do IPTSP-UFG a partir da Cepa RH mantida no biotério do IPTSP-UFG, com diluição na razão de dois, até o encontro da titulação final.

3.3 Reação em cadeia da Polimerase

Extração do DNA: O DNA foi extraído de 200 µl de soro com a utilização do kit comercial BioPur®, com extração sempre em duplicata e a utilização de controles positivos (lavado peritoneal de camundongos isogênicos da linhagem BALB/c com taquizoítos da cepa RH) e controles negativos (lavado peritoneal de camundongos isogênicos da linhagem BALB/c não infectado). Amplificação do DNA: As reações em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas em um volume final de 25µL contendo para cada reação: 17,3 µl de H_2O, 1,0 µl de $MgCl_2$; 2,5 µl de tampão, 0,5µl do MIX dNTP 10mM (promega),0,5 µl dos iniciadores B5 e B6 a 25 pmoles, 0,2 µl de *Taq* DNA Polimerase (Invitrogen) e 2,5 µL de DNA testado. As reações foram realizadas no termociclador Mastercycler personal da Eppendorf®. O programa de amplificação foi constituído de uma desnaturação inicial a 94ºC (5 min), 94ºC (1 min), anelamento a 55ºC (1 min) e extensão a 72ºC (1 min) que foi repetida em 35 ciclos de desnaturação seguida de extensão final a 72ºC por 10 minutos. Os pares de primers que foram utilizados são: Toxo-B5 (5'-TGA AGA GAG GAA ACA GGT GGT CG-3'), Toxo-B6 (5'-CCG CCT CCT TCG TCC GTC GTA-3') (CRISTINA et al., 1991). Os produtos amplificados pela PCR foram visualizados por eletroforese em géis de poliacrilamida a 6% revelados pela prata.

3.4 Inoculação experimental

Foi inoculado o creme leucocitário, obtido do sangue periférico dos recém-nascidos que apresentaram títulos maiores que os das mães pela técnica de IFI. O inoculo do material acima descrito foi realizado por via intraperitoneal. Foram utilizados camundongos da linhagem BALB/c com intuito de isolar as cepas de *T. gondii*. Estes animais foram oriundos do biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás. Os animais foram acompanhados diariamente, em caso de manifestação de sintomas tais como pêlo arrepiado e letargia e foi realizada lavagem peritoneal à procura de formas taquizoítas de *T. gondii*. Os animais que não apresentavam nenhuma manifestação

Revisado pela orientadora – Profa. Dra. Ana Maria de Castro

clínica em 30 dias foram eutanasiados por deslocamento cervical e seu sangue foi coletado para confirmar e/ou excluir a infecção pelo *T. gondii*, utilizando a técnica de IFI.

4 Resultados e Discussão

Pode-se confirmar em 188 (81,7%) das amostras das gestantes, a presença de anticorpos anti *T. gondii* (IgG), refletindo alta prevalência para toxoplasmose na população estudada de 230 amostras obtidas na Maternidade do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e da Maternidade Nossa Senhora de Lourdes. Em 34 (14,8%) amostras, a sorologia foi negativa e em oito não foi possível fazer o exame, devido à quantidade de material insuficiente. Do total de recém-nascidos, 188 apresentaram títulos para IgG igual ou inferior ao da mãe e 42 apresentaram títulos para IgG maior do que da mãe.

A prevalência de gestantes soropositivas neste estudo foi maior que os resultados apresentados por Varella (2003), o qual demonstrou prevalência de soropositividade para toxoplasmose de 59,8% nas gestantes estudadas na maternidade do Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre (RS). Anticorpos anti-*T.gondii* também foram identificados em 64,4% das amostras de soro das mães e seus bebês obtidos no Hospital de Base de São José do Rio Preto (SP), (Brandão de Mattos CC et al., 2011). Outro trabalho que chama a atenção da soroprevalência para anticorpos IgG anti-*T. gondii,* foi desenvolvido em Palotina e Jesuítas no Paraná, em que apresentaram resultados de 59,8% (213/356) e 60,6% (40/66), respectivamente. Neste trabalho foi possível identificar anticorpos para classe IgM anti-*T.gondii*, o qual apresentou 1,1% (4/356) das gestantes no município Palotina e nenhuma gestante em Jesuítas, como ocorreu na população estudada em nossa pesquisa (Bittencout LHFB et al.,2011). Em um estudo feito em Caxias do Sul (RS), foram analisadas 1080 amostras, sendo que a prevalência de soropositividade entre aquelas que estavam grávidas foi de 31,0% (Detanico & Basso, 2006). O trabalho apresentado por Pôrto (2005) constatou que das 503 gestantes atendidas em uma maternidade-escola do Recife, 22,5% eram susceptíveis a sorologia positiva para toxoplasmose e 2,8% apresentavam possível infecção ativa, diferentemente do nosso estudo, no qual não foram verificados resultados com presença de anticorpos IgM.

Não foi possível detectar a presença do *T. gondii*, em nenhuma das 42 amostras de sangue dos recém-nascidos que apresentaram titulação por IFI, maior que de suas mães, provando que sua presença era devida à transmissão placentária de anticorpos maternos e salientando a importância do acompanhamento clínico nestas crianças.

Revisado pela orientadora – Profa. Dra. Ana Maria de Castro

Quando se compara a prevalência encontrada nesse estudo com os dados da literatura mencionada, constata-se uma alta prevalência nas gestantes atendidas no HC Goiás e na MNSL, em relação à várias regiões do país. Reforçando assim a necessidade programas de atenção primária que também abranja as mulheres soropositivas, e não somente as soronegativas, que atualmente são consideradas de risco pra transmissão congênita.

5 Conclusão

Os dados demonstram que há uma alta prevalência de soropositividade nas gestantes na população estudada no estado de Goiás, e que há necessidade do acompanhamento dos recém-nascidos que apresentam maior concentração de anticorpos contra o *T. gondii* que os da mãe. Dessa forma, é essencial uma assistência pré-natal de qualidade, visando promover a saúde de forma integral, principalmente em comunidades carentes, onde prevalecem os fatores de risco.

6 Referências bibliográficas

AVELINO, M. M.; CAMPO, J. D,; CASTRO A. M. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v. 108, n. 1, p. 19-24, 2003.

BITTENCOURT, L. H. F. B.; LOPES-MORI, F. M. R.; MITSUKA-BREGANÓ, R.; VALENTIM-ZABOTT, M.; FREIRE, R. L.; PINTO, S. B., NAVARRO, I. T. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gestantes a partir da implantação do Programa da Vigilância da Toxoplasmose Adquirida e Congênita em municípios da região oeste do Paraná. **Ver Bras Ginecol Obstet,** v. 34, n. 2, p. 63-68, 2012.

BOUGHATTAS, S.; BEN-ABDALLAH, R.; SIALA, E.; SOUISSI, O.; MAATOUG, R.; AOUN, K.; BOURATBINE, A. Case of fatal congenital toxoplasmosis associated with I/III recombinant genotype. **J Trop Biomed**, v. 28, n. 3, p. 615-619, 2011.

BRANDÃO DE MATTOS, C. C.; SPEGIORIN, L. C. J. F.; MEIRA, C. S.; SILVA, T. C.; FERREIRA, A. I. C.; NAKASHIMA, F.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L. Anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women and their newborn infants in the region of São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil. **São Paulo Med J**, v. 129, n.4, p. 261-266, 2011.

CAMARGO, M. E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, São paulo, v. 6, p. 117-118, maio/jun. 1964.

COSTA, J. G. L. **Diagnóstico e quantificação de *Toxoplasma gondii* através de PCR em tempo real em sangue periférico de recém-nascidos com toxoplasmose congênita no estado de Minas Gerais**. 86 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

Revisado pela orientadora – Profa. Dra. Ana Maria de Castro

CRISTINA, N.; LIAUD, M. F.; SANTORO, F.; OURY, B.; AMBROISE-THOMAS, P. A Family of Repeated DNA Sequences in Toxoplasma gondii: Cloning, Sequence Analysis, and Use in Strain Characterization. **Exp parasitol**, v. 73, n. 1, p. 73-81, 1991.

DUBEY, J. P.; GAMBLE, H. R.; HILL, D.; SREEKUMAR, C.; ROMANDS, S.; THUILLIEZ, P. High prevalence of Toxoplasma gondii infection in market weight pigs from a farm in Masachusetts. **J Parasitol**, v. 88, n. 6, p. 1234-1238, dec. 2002.

FERREIRA, A.; WALTER, A.; SANDRA, L. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto – Imunes**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 443, 2001.

HINRICHSEN, S. L. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 1. ed. Rio de janeiro: Guanabara Koogan, p. 1136, 2005.

HOWE, D. K.; SIBLEY, L. D. Toxoplasma gondii comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. **J. Infect. Dis**, v. 172, n. 6, p. 1561-1566, 1995.

PÔRTO, A. M. F. **Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes atendidas no ambulatório pré-natal de uma maternidade-escola do Recife, Recife, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Saúde Materno-Infantil) – Instituto Materno Infantil de Pernambuco, Recife, 2005.

REMINGTON, J. S.; MCLEOD, R.; THULLIEZ, P.; DESMONTS, G. **Toxoplasmosis**. In: Remington JS, Klein JO, eds. Infectious diseases in the fetus and newborn infant. 5 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 205-346, 2011.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINNARDI, P. M.; VITOR R. W. A. **Parasitologia Humana**. 11. ed. São Paulo: Athenew, p. 494, 2005.

VARELLA, I. S.; WAGNER, M. B.; DARELA, A. C.; NUNES, L. M.; MULLER, R. W. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 1, p. 69-74, dez. 2003.

Revisado pela orientadora – Profa. Dra. Ana Maria de Castro

Eventos adversos em sedação odontológica fora do centro cirúrgico: utilização da ferramenta World SIVA

[Adverse events in dental sedation outside of the operating room: Using the World SIVA Reporting Tool]

Higor Costa Gomes[1]
Paulo Sérgio Sucasas da Costa[2*]
Luciane Rezende Costa[3]
Vanessa Milani[4]
Daniele Regozino Muniz[5]

[1]Bolsista PIBIC. Acadêmico do Curso de Medicina, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás; higorcgomes@hotmail.com
[2] Orientador PIBIC. Professor Associado, Departamento de Pediatria e Puericultura, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás; paulosucasas@medicina.ufg.br
[3]Professora Associada, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Goiás; lsucasas@odonto.ufg.br
[4] Acadêmica do Curso de Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Goiás; vanessamilani.cbio@hotmail.com
[5]Médica Residente de Anestesiologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás; dani_rmuniz@yahoo.com.br

***Autor Correspondente:**
Paulo Sérgio Sucasas da Costa
Departamento de Pediatria e Puericultura, Faculdade de Medicina, Primeira Avenida, sem número, Setor Universitário, Goiânia-GO, Brasil, 74605-220
Phone: 55-62-3209-82-18
Email: paulosucasas@medicina.ufg.br

Relatório Final PIBIC - Revisado pelo Orientador

Resumo:

Uma nova ferramenta para o monitoramento de eventos adversos em sedação foi desenvolvida e deve ser parte do acompanhamento das crianças e adolescentes tratados sob sedação para procedimentos odontológicos. O objetivo deste estudo foi relatar os eventos adversos que ocorreram durante a sedação de pacientes para tratamento odontológico. Foram selecionados pacientes atendidos no NESO (Núcleo de Estudos em Sedação Odontológica) em Goiânia, Brasil, recebendo tratamento odontológico sob sedação mínima ou moderada. Sedativos orais foram administradas por um médico, e óxido nitroso por dentistas certificados. Os pacientes foram acompanhados de perto por uma equipe. Qualquer evento adverso que ocorresse durante a sessão ou na área de recuperação foi registrada em um formulário impresso da Ferramenta World SIVA. Os dados foram tabulados e analisados por estatística descritiva. Um total de 98 casos foram incluídos, representando pacientes com idades compreendidas entre 2,3-47,1 anos de idade, ASA I (n = 78), II (n = 10) ou III (n = 10). Eles receberam midazolam exclusivamente (n = 76), midazolam / cetamina (n = 6) ou o óxido nitroso para sedação por inalação oral (n = 16). Os eventos adversos ocorreram em 8 casos (8,1%). Eventos adversos estiveram relacionados a risco mínimo: vômito / esforço para vomitar (n = 3), agitação de recuperação (n = 2), e falha na sedação (n = 1). A dessaturação de oxigênio (75-90%) em <60 s ocorreu em 1 paciente, que necessitou de oxigênio suplementar. Nenhuma evolução desfavorável foi observada em nenhum dos 8 casos. Os eventos adversos foram ocasionais e em um nível mínimo / menor, não resultando em resultado preocupante. A ferramenta de relatórios da World SIVA é útil para documentar a segurança de procedimentos odontológicos sob sedação.

Palavras-chave: Sedação Consciente; Evento Adverso; Midazolam; Ketamina; Óxido Nitroso.

Abstract: A new tool for monitoring adverse events in sedation has been developed and should be part of the monitoring of children and adolescents treated under sedation for dental procedures. The aim of this study was to report adverse events occurring during sedation of patients for dental treatment. Patients attending the Dental Sedation Center in Goiania, Brazil, receiving dental treatment under minimal or moderate sedation were selected. Oral sedatives were administered by one physician, and nitrous oxide by certified dentists. Patients were closely monitored by a staff. Any adverse event occurring during the session or in the recovery area was registered in a printed form of the World SIVA Reporting Tool. Data were tabulated and analyzed by descriptive statistics. A total of 98 cases were included, representing patients aged 2.3 to 47.1 years old, ASA physical status 1 (n=78), 2 (n=10) or 3 (n=10). They received oral midazolam exclusively (n=76), oral midazolam/ ketamine (n=6) or nitrous oxide inhalational sedation (n=16). Adverse events occurred in 8 cases (8.1%). Minimal risk adverse events were related to vomiting/retching (n=3), recovery agitation (n=2), and failed sedation (n=1). Minor risk adverse events were vomiting/retching and failed sedation (n=1) and oxygen desaturation (75–90%) for <60 s (n=1), which required supplemental oxygen. No adverse outcome was observed in any of the 8 cases. Adverse events were occasional and at a minimal/minor level, not resulting in worrisome outcome. The World SIVA Reporting Tool is useful for documenting the safety of dental procedures under sedation.

Descriptors: Conscious Sedation; Adverse Drug Reaction Reporting Systems; Midazolam; Ketamine; Nitrous Oxide.

INTRODUÇÃO

A cárie dentária apresenta elevada prevalência entre crianças e adolescentes, gerando impacto negativo no crescimento e desenvolvimento, e quando não tratada, se constitui na causa mais comum de dor dentária crônica na população pediátrica, tanto em países desenvolvidos quanto subdesenvolvidos (YEE; SHEIHAM, 2002; WATER et al, 2008).

Devido à incapacidade das crianças em perceber as vantagens e colaborar com o tratamento dentário, a American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD) indica medidas não farmacológicas e farmacológicas como meios de intervenção para promover cuidados de saúde oral para crianças. Dentre as medidas não farmacológicas elencadas estão o controle da voz, a comunicação não verbal e a distração. Por diversos motivos, tais técnicas podem não ser eficazes. A AAPD indica, nestes casos, a estabilização protetora, a sedação ou a anestesia geral (AAPD, 2008-2009).

Em qualquer grau ou nível de sedação, todos os pacientes estão sujeitos a apresentar eventos adversos em relação às drogas utilizadas. Tais eventos podem ser variados, com uma tendência a evoluir para depressão respiratória, manifestada por queda na saturação de oxigênio ou apneia e flutuações hemodinâmicas (MASON et al, 2012). Os eventos adversos graves no campo sedação pediátrica geral, como aspiração, intubação não planejada ou parada cardíaca, foram relatados entre 0,9% (LIGHTDALE et al, 2010) a 2,3% (MALLORY et al, 2011). Na sedação em odontopediatria, alucinação foi o evento adverso mais comumente observado (3,9%) com o uso de midazolam ou hidrato de cloral por via oral (COSTA et al, 2012).

A detecção adequada dos eventos adversos e identificação de sua frequência e gravidade na sedação de crianças e adolescentes é um marcador de melhoria da qualidade e segurança do serviço. Novas ferramentas de monitorização de eventos adversos em sedação, como a preconizada pela Sociedade Mundial de Anestesia Intravenosa (World SIVA), tem sido desenvolvidas e devem fazer parte dos protocolos de crianças e adolescentes tratados sob sedação para procedimentos odontológicos (CRAVEIRO; HAVIDICH, 2011; MASON et al, 2012). O objetivo deste estudo foi relatar os eventos adversos que ocorrem durante a sedação de pacientes para tratamento odontológico utilizando-se a nova ferramenta da World SIVA (figura 1) para monitorar eventos adversos em sedação.

MÉTODOS

Este estudo retrospectivo incluiu pacientes atendidos no Núcleo de Estudos em Sedação Odontológica da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia, Goiás, Brasil (NESO), os quais receberam tratamento odontológico sob sedação mínima ou moderada no período de Agosto/2012 a Junho/2013. O protocolo de sedação adotado em NESO utiliza os padrões da American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD 2012) e da Academia Americana de Pediatria (AAP; AAPD, 2008-2009), entre outros. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFG.

Os sedativos utilizados foram: midazolam oral (1,0 mg/kg, no máximo 20 mg), midazolam (0,5 mg/kg, no máximo 20 mg), associado à ketamina (3 mg/kg, no máximo, 50 mg) ou óxido nitroso inalatório (máximo 70%) e oxigênio . Os sedativos orais foram administrados por um médico (pediatra ou anestesista) e o óxido nitroso por dentistas certificados. Os pacientes foram acompanhados de perto por um membro da equipe a partir do momento de entrada na clínica odontológica até a alta hospitalar. Qualquer evento adverso ocorrido durante a sessão, ou imediatamente após, na área de recuperação anestésica, foi registado num formulário impresso a ser transferida para a base de dados on-line do World SIVA (MASON et al, 2012).

Os dados foram tabulados e analisados por meio de estatística descritiva e bivariada realizados no IBM SPSS 19.0. O nível de significância foi fixado em 5%.

RESULTADOS

Um total de 98 sessões de sedação foram incluídos, representando 54 pacientes com idades compreendidas entre 2,3 a 47,1 anos de idade, com estado físico ASA 1 (n=78), 2 (n=10) ou 3 (n=10). Foi administrado midazolam oral exclusivamente (n=76), a combinação de midazolam e ketamina oral (n = 6) ou óxido nitroso inalatório (n=16).

Os eventos adversos ocorreram em 8 casos (8,1%) e estavam relacionados a risco mínimo: vômito ou esforço para vomitar (n=3), agitação durante a recuperação (n=2) e falha na sedação (n=1). Eventos adversos de riscos menores foram: vômito/esforço para vomitar e falha na sedação (n=1) ou queda na saturação de oxigênio (75-90%) durante menos de 60 segundos (n=1); neste caso, a intervenção necessária foi a administração de oxigênio suplementar, com recuperação adequada. Nenhuma evolução desfavorável foi observada em

nenhum dos 8 casos. Soluços foram relatados em quatro outros casos e alucinação em um caso.

Casos que tiveram ou não qualquer evento adverso não diferiram quanto à idade, peso, classificação ASA e sedativo (tabela 1).

Os oito casos que apresentaram eventos adversos estavam relacionados com sete doentes (um deles em duas sessões) que receberam 18 mg (n=2) ou 20 mg (n=6) de midazolam exclusivamente como sedativo oral. Comparando-se as doses de midazolam, os pacientes que não apresentaram qualquer evento adverso receberam um total de 17,9 ± 12,6 mg de midazolam, ao passo que aqueles que evoluíram com evento adverso receberam 19,5 ± 0,9 mg (p = 0,089).

DISCUSSÃO

Este estudo mostram que os eventos adversos relacionados à sedação dental foram ocasionais e em um nível considerado mínimo a menor, não resultando em evolução não satisfatória. Do nosso conhecimento, este foi o primeiro relato no cenário odontológico utilizando-se a ferramenta de monitorização de eventos adversos da World SIVA.

A baixa ocorrência de eventos adversos observados encontrado por nós está em consonância a outros relatos similares em odontopediatria (LALWANY; KITCHIN; LAX, 2007; PANDEY et al, 2011; COSTA et al, 2012; CHICKA et al, 2012). No entanto, deve-se ressaltar que o não cumprimento das diretrizes de sedação reconhecidas, incluindo o monitoramento e treinamento de pessoal, pode levar a maior risco de eventos adversos, e esses eventos podem ter resultados mais graves (COTÉ et al, 2000; PITETTI et al, 2006; CHICKA et al, 2012).

Os sedativos investigados neste estudo têm um histórico de segurança em diferentes procedimentos além do tratamento dentário (LANE; SCHUNK, 2008; THORP; BROWN; GREEN, 2009; ZIER; LIU, 2011). Óxido Nitroso, midazolam ou ketamina podem ser utilizado em consultório odontológico, desde que os recursos mínimos de segurança sejam garantidos.

É interessante ressaltar que os eventos adversos descritos foram restritos ao midazolam administrado por via oral em crianças ASA I ou pacientes com doença sistêmica (ASA III), o que alerta os profissionais de saúde para a anamnese e treinamento adequados com foco na prevenção e manejo de eventos adversos neste grupo de pacientes. Talvez se

tivéssemos um maior número de casos poderíamos ter uma diferença significativa comparando diferentes doses de midazolam. Isso deve ser investigado em estudos futuros.

A ferramenta de relato de eventos adversos da World SIVA (MASON et al, 2012) foi útil para documentar a segurança de procedimentos odontológicos sob sedação, mas os eventos adversos pós-operatórias que podem ocorrer nas primeiras 24 horas em domicílio não são incluídas (COSTA et al, 2012).

Este estudo tem as limitações de sua natureza retrospectiva. No entanto, como um evento adverso relacionado com a sedação dentária pediátrica é raro, o tamanho da amostra de um estudo prospectivo necessária para estimar o risco relativo é demasiado grande para ser viável.

O midazolam oral, associado ou não a ketamina, para sedação odontológica, bem como o óxido nitroso/oxigênio inalatórios, causaram baixa ocorrência de eventos adversos, sendo todos de risco menor ou baixo.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores certificam de que não têm nenhum interesse comercial ou associativo que represente conflito de interesse em relação ao presente manuscrito.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao apoio financeiro das agências brasileiras de fomento: CAPES, CNPq e FAPEG por subsidiarem parcialmente este estudo.

REFERÊNCIAS

AMERICAN ACADEMY ON PEDIATRIC DENTISTRY. CLINICAL AFFAIRS COMMITTEE-BEHAVIOR MANAGEMENT SUBCOMMITTEE; AMERICAN ACADEMY ON PEDIATRIC DENTISTRY COUNCIL ON CLINICAL AFFAIRS. Guideline on behavior guidance for the pediatric dental patient. **Pediatr Dent**, Chicago-US, v. 30, suppl. 7, p. 125-133, 2008-2009.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY. CLINICAL AFFAIRS COMMITTEE – SEDATION AND GENERAL ANESTHESIA SUBCOMMITTEE. Guideline on use of anesthesia personnel in the administration of office-based deep sedation/general anesthesia to the pediatric dental patient. **Pediatr Dent**, Chicago-US, v. 34, n. 5, p. 170-172, Sep.-Oct. 2012.

AMERICAN ACADEMY ON PEDIATRICS; AMERICAN ACADEMY ON PEDIATRIC DENTISTRY. Guideline for monitoring and management of pediatric patients during and after sedation for diagnostic and therapeutic procedures. **Pediatr Dent**, Chicago-US, v. 30, suppl. 7, p. 143-159, 2008-2009.

CHICKA, MC; DEMBO, JB; MATHU-MUJU, KR; NASH, DA; BUSH, HM. Adverse events during pediatric dental anesthesia and sedation: a review of closed malpractice insurance claims. **Pediatr Dent**, Chicago-US, v. 34, n. 3, p. 231-238, May-June 2012.

COSTA, LR; COSTA, PS; BRASILEIRO, SV; BENDO, CB; VIEGAS, CM; PAIVA, SM. Post-discharge adverse events following pediatric sedation with high doses of oral medication. **J Pediatr**, St. Louis, v. 160, n. 5, p. 807-813, May 2012.

COTÉ, CJ; NOTTERMAN, DA; KARL, HW; WEINBERG, JA; MCCLOSKEY, C. Adverse sedation events in pediatrics: a critical incident analysis of contributing factors. **Pediatrics**, Evanston-US, v. 105, n. 4, p. 805-814, Apr. 2000.

CRAVERO, JP; HAVIDICH, JE. Pediatric sedation--evolution and revolution. **Paediatr Anaesth**, Paris-FR, v. 21, n. 7, p. 800-809, Jul. 2011.

LALWANI, K; KITCHIN, J; LAX, P. Office-based dental rehabilitation in children with special healthcare needs using a pediatric sedation service model. **Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia-US, v. 65, n. 3, p. 427-433, Mar. 2007.

LANE, RD; SCHUNK, JE. Atomized intranasal midazolam use for minor procedures in the pediatric emergency department. **Pediatr Emerg Care**, Baltimore-US, v. 24, n. 5, p. 300-303, May 2008.

LIGHTDALE, JR; VALIM, C; MAHONEY, LB; SHARON, W; DINARDO, J; GOLDMANN, DA. Agitation during procedural sedation and analgesia in children. **Clin Pediatr (Phila)**, Philadelphia, v. 49, n. 1, p. 35-42, Jan. 2010.

MALLORY, MD; BAXTER, AL; YANOSKY, DJ; CRAVERO, JP; PEDIATRIC SEDATION RESEARCH CONSORTIUM. Emergency physician-administered propofol sedation: a report on 25,433 sedations from the pediatric sedation research consortium. **Ann Emerg Med**, Lansing-US, v. 57, n. 5, p. 462-468, May 2011.

MASON, KP; GREEN, SM; PIACEVOLI, Q; INTERNATIONAL SEDATION TASK FORCE. Adverse event reporting tool to standardize the reporting and tracking of adverse events during procedural sedation: a consensus document from the World SIVA International Sedation Task Force. **Br J Anaesth**, Altrincham-UK, v. 108, n. 1, p. 13-20, Jan. 2012.

PANDEY, RK; BAHETWAR, SK; SAKSENA, AK; CHANDRA, G. A comparative evaluation of drops versus atomized administration of intranasal ketamine for the procedural sedation of young uncooperative pediatric dental patients: a prospective crossover trial. **J Clin Pediatr Dent**, Birmingham-US, v. 36, n. 1, p. 79-84, Jan. 2011.

PITETTI, R; DAVIS, PJ; REDLINGER, R; WHITE, J; WIENER, E; CALHOUN, KH. Effect on hospital-wide sedation practices after implementation of the 2001 JCAHO procedural sedation and analgesia guidelines. **Arch Pediatr Adolesc Med**, Chicago-US, v. 160, n. 2, p. 211-216, Feb. 2006.

THORP, AW; BROWN, L; GREEN, SM. Ketamine-associated vomiting: is it dose-related? **Pediatr Emerg Care**, Baltimore-US, v. 25, n. 1, p. 15-18, Jan. 2009.

WATER, E; DAVIS, E; NICOLAS, C; WAKES, M; LO, SK. The impact of childhood conditions and concurrent morbidities on child health and well being. **Child Care Health Dev**, Oxford-UK, v. 34, n. 4, p. 418-429, Apr. 2008.

YEE, R; SHEIHAM, A. The burden of restorative dental treatment for children in Third World Countries. **Int Dent J**, London-US, v. 52, n. 1, p. 1-9, Feb. 2002.

ZIER, JL; LIU, M. Division of Pediatric Critical Care, Children's Hospitals and Clinics of Safety of high-concentration nitrous oxide by nasal mask for pediatric procedural sedation: experience with 7802 cases. **Pediatr Emerg Care**, Baltimore-US, v. 27, n. 12, p. 1107-1112, Dec. 2011.

Tabela 1. Caracterização dos casos associados ou não a eventos adversos

Características	Eventos Adversos		P
	Não	Sim	
Idade, anos (média±DP)	9.4±10.1	8.8±2.5	0.780[a]
Peso, kg (média±DP)	27.5±18.4	30.6±20.3	0.289[a]
ASA, n (%)			
1	73 (81.1%)	5 (62.5%)	0.327[b]
2	8 (8.9%)	2 (25.0%)	
3	9 (10.0%)	1 (12.5%)	
Sedativo, n (%)			
Midazolam	68 (75.6%)	8 (100%)	0.283[b]
Midazolam + ketamina	6 (6.7%)	0	
Oxido Nitroso/oxigênio	16 (17.8%)	0	

[a]Mann Whitney

[b]Chi square

FERRAMENTA DE MONITORIZAÇÃO DOS EFEITOS ADVERSOS DA SEDAÇÃO ODONTOLÓGICA (NESO)

IDENTIFICAÇÃO PRONTUÁRIO NESO:_____
Nome: _____Peso:_____ Sexo: ☐ M ☐ F
Nascimento: ___/___/___ Data do atendimento: ___/___/___ : ☐ Retorno ☐ 1ª consulta
Pai: _____; Mãe: _____
Telefones de Contato: _____ Falar com :_____

MEDICAÇÃO
Medicação: _____ Dose:_____Horário:_____

Passo 1: Houve um ou mais eventos adversos associados com esta sedação:
☐ Não: Formulário está completo. ☐ Sim: Preencher o restante do formulário.

Passo 2: Marque todos EVENTOS ADVERSOS apresentado pelo paciente:

Fatores de riscos mínimos:
☐ Vômitos/Náuseas;
☐ Depressão respiratória subclínica;
☐ Mioclonia;
☐ Hipersalivação;
☐ Resposta Paradoxal (inquietação);
☐ Recuperação Agitada (choro, delírios, etc);
☐ Recuperação Prolongada (> 2horas);

Fatores de Risco Baixo:
☐ Saturação de oxigênio: 75-90% - 60s;
☐ Apneia – não prolongada;
☐ Obstrução das vias aéreas;
☐ Sedação falhou;
☐ Reação alérgica – sem anafilaxia;
☐ Bradicardia; ☐ Taquicardia;
☐ Hipotensão; ☐ Hipertensão; ☐ Convulsão;

Fatores de Risco Alto/Sentinela:
☐ Saturação de Oxigênio grave - <75% ou prolongada (<90% , > 60s);
☐ Apneia prolongada (>60)s; ☐ Choque cardiovascular; ☐ Parada cardíaca/pulso ausente; ☐ Outros: _____.

Passo 3: INTERVENÇÕES realizadas para o tratamento dos eventos adversos:

Risco Mínimo:
☐ Nenhuma Intervenção Realizada;
☐ administração de:
☐ Sedativo adicional; ☐ Anti-emético; ☐ Anti-histmínico;

Risco baixo:
☐ Reposicionamento das vias aéreas;
☐ Estimulação tátil/administração de:
☐ O2 suplementar (novo/aumentado);
☐ Antisialagogo;

Risco moderado:
☐ Máscara de ventilação assistida;
☐ CPAP ou a administração de agentes de reversão:
☐ Máscara laríngea; ☐ Oral/nasal das vias aéreas; ☐ Fluídos rápidos I.V.; ☐ Anticonvulsivantes I.V.;

Intervenção Sentinela:
☐ Compressões torácicas;
☐ Intubação traqueal ou a administração de:
☐ Bloqueio neuromuscular; ☐ Adrenalina ☐ Atropina (Bradicardia); Outros: _____.

Passo 4: RESULTADO dos eventos adversos:

Risco mínimo:
☐ Nenhum resultado adverso;

Risco moderado:
☐ Hospitalização não planejada ou escala de cuidados;

Sentinela:
☐ Morte; ☐ Déficit neurológico permanente; ☐ Síndrome de aspiração pulmonar; ☐ Outros: _____.

Passo 5: Classificar a GRAVIDADE dos eventos adversos associada a sedação:
☐ Evento adverso Sentinela: se houve alguma opção marcada nas colunas sentinelas acima;
☐ Evento adverso de Risco Moderado: se a opção marcada acima mais grave é a de risco moderado;
☐ Evento adverso de Risco baixo: se a opção marcada acima mais grave é a de risco baixo;
☐ Evento adverso de Risco mínimo: se a opção marcada acima mais grave é a de risco mínimo;

Figura 1. Ferramenta de eventos adversos da World SIVA.

Influência da seca em parâmetros fisiológicos e frutanos de *Ichthyothere terminalis* (Spreng) Blake (Asteraceae – Millerieae)*

Honório Vieira Neto[1], Lorrayne V. Almeida[2], Taíza M. Silva[2] & Moemy Gomes de Moraes[3]

1 Bolsista PIBIC/CNPq, Bacharelando em Agronomia, UFG. honorio-neto@hotmail.com
2 Discente do Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal, UFG.
3 Orientadora, Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, UFG. moemy@icb.ufg.br

Resumo

O Cerrado é caracterizado por sua vegetação rica e fisionomicamente diversa e pela sazonalidade climática. Neste trabalho foram avaliadas a eficiência fotoquímica, as variações nas dimensões estomáticas e o teor de carboidratos solúveis no sistema subterrâneo de *Ichthyothere terminalis* (Spreng.) Blake (Asteraceae – Millerieae) em diferentes épocas do ano. Foram realizadas quatro coletas em diferentes épocas do ano, com períodos secos e chuvosos, nos quais as plantas estavam em diferentes fases fenológicas. Os índices de eficiência fotoquímica (Ef) variaram de 0,765 a 0,840. O maior índice ocorreu em janeiro, mês com elevada precipitação pluviométrica. A densidade de estômatos na face abaxial foi maior no mês de outubro. A área dos poros estomáticos foi maior em maio nas duas faces epidérmicas. Os teores de carboidratos solúveis variaram nas diferentes épocas de coleta. *I. terminalis* acumula frutanos no sistema subterrâneo, que são utilizados para os processos com alta demanda energética. As variações no conteúdo de frutanos confirmam sua função como carboidrato de reserva, que contribui para seu ciclo fenológico e para sobrevivência nas condições adversas de restrição hídrica sazonal do cerrado.

Palavras chave: Carboidratos solúveis, Cerrado, fluorescência da clorofila, inulina, sazonalidade, restrição hídrica

Introdução

O Cerrado é caracterizado por sua vegetação rica e fisionomicamente diversa e pela sazonalidade climática, com duas estações bem definidas: verão úmido e inverno seco (COUTINHO, 2002). Em ambientes sazonais, o sucesso de uma espécie depende, dentre outros fatores, de sua capacidade em manter o balanço hídrico favorável durante o período da seca (FRANCO, 2002).

O gênero *Ichthyothere* Mart. pertencente à família Asteraceae tribo Millerieae, e possui 19 espécies distribuídas por todas as regiões do Brasil. *Ichthyothere terminalis*

* Revisado pelo orientador

*(*Spreng.) S.F. Blake encontrada nos domínios da Amazônia, Caatinga e Cerrado (NAKAJIMA *et al.*, 2013). Esta espécie possui hábito herbáceo e ocorre no cerrado rupestre, numa fitofisionomia em que as plantas estão sujeitas a condições extremas, com variação de temperatura, escassez de substrato, limitação no suprimento hídrico e de nutrientes (ABDALLA, 2012).

É característico da *Ichthyothere terminalis* (Spreng.) S.F. Blake entrar em senescência da parte aérea no período seco do ano. Como a seca afeta a fotossíntese, consequentemente há redução na produção de carboidratos e sua mobilização para os órgãos dreno, é essencial que se determine as relações entre os parâmetros que podem inferir na eficiência da fotossíntese e na dinâmica dos carboidratos solúveis nas diferentes estações do ano.

Nas espécies de Asteraceae os frutanos constituem o principal carboidrato de reserva e são armazenados em grandes concentrações nos órgãos subterrâneos (HENDRY, 1993). Nesse grupo de plantas os frutanos são polímeros de frutose lineares originados a partir da sacarose (HENDRY; WALLACE, 1993). São armazenados quando a produção de fotoassimilados na fotossíntese excede a demanda e são metabolizados quando a planta requer energia (RITSEMA; SMEEKENS, 2003).

A estação seca no cerrado resulta em déficit hídrico sazonal para as plantas que, associada aos altos níveis de radiação solar, limitam a produtividade fotossintética (MATTOS, 1998). A análise do rendimento quântico do fotossistema II (PSII), obtido a partir da fluorescência da clorofila a, pode revelar o nível energético de excitação dos pigmentos fotossintéticos. Desse modo, a habilidade em manter elevadas razões Fv/Fm sob estresse hídrico pode ser um indicativo de eficiência no uso da radiação pela etapa fotoquímica e, consequentemente, a assimilação de carbono.

Este trabalho teve por objetivo analisar a eficiência fotoquímica, as variações nas dimensões estomáticas e o teor de carboidratos solúveis no sistema subterrâneo de *Ichthyothere terminalis* (Spreng.) Blake (Asteraceae – Millerieae) em diferentes épocas do ano.

Material e Métodos

As plantas foram amostradas em área de cerrado rupestre, na Reserva Biológica da Universidade Federal de Goiás "Prof. José Ângelo Rizzo", situado no Parque Estadual da Serra Dourada (PESD), localizado nos Municípios de Mossâmedes, Goiás e Buritis de Goiás. A altitude da Serra Dourada varia desde 726 a 1080 m de altitude, nas coordenadas geográficas de 16º06′02″-16º03′52″ S e 50º10′59″-50º10′12″ W.

As médias mensais de temperatura máxima, média e mínima, precipitação e umidade relativa do ar (UR) foram obtidas da estação meteorológica 83374, município de Goiás, disponibilizados no *site* www.inmet.gov.br.

Foram realizadas quatro coletas no final dos meses: Outubro/2012, quando as plantas iniciaram a brotação após a seca; janeiro/2013, época em que as plantas estavam em fase reprodutiva; março/2013, período em que as plantas já tinham dispersado seus frutos; maio/2013, no início da senescência da parte aérea e da dormência do sistema subterrâneo.

A unidade do solo foi analisada em março (estação chuvosa) e em maio (inicio do período seco). Foram coletadas 04 amostras em profundidade de 0 a 20 cm no perfil do solo, de forma aleatória no campo na área de ocorrência das plantas. As amostras foram pesadas após coleta, e levadas à estufa (50 ºC) até massa constante.

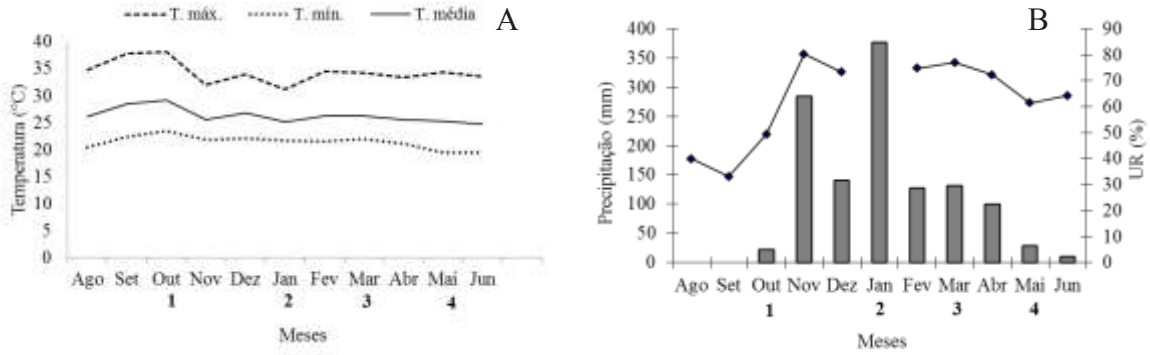


Figura 1. Médias mensais de temperatura (A), precipitação total e umidade relativa do ar (B), de agosto de 2012 a junho de 2013, na estação meteorológica do município de Goiás, GO. Fonte: Inmet.

Coleta do material vegetal

Para avaliação dos níveis de carboidratos foram coletados os sistemas subterrâneos de cinco indivíduos de *I. terminalis*. Foram realizadas quatro coletas ao longo de um ano, sendo a primeira em outubro de 2012 (fim do período seco), a segunda em janeiro de 2013 (período chuvoso), a terceira em março de 2012 (fim do período chuvoso) e a quarta coleta em maio de 2012 (início do período seco). As coletas foram padronizadas de acordo com o número de ramos por planta e a fase fenológica, a fim de coletar indivíduos em mesmo estágio de desenvolvimento. Os órgãos subterrâneos foram levados para o laboratório da Reserva Ecológica, lavados em água corrente com o auxílio de uma escova macia para retirada das particulas de solo, e secos com flanela limpa. Fragmentos da região mediana do sistema subterrâneo foram cortados e pesados. Alíquotas de aproximadamente 2 g foram separadas

para a extração de carboidratos e para determinação da massa seca, após secagem em estufa a 80°C até massa constante.

Para avaliação de parâmetros fisiológicos e anatômicos foram coletadas duas folhas totalmente expandidas, do terceiro nó de cinco indivíduos. As coletas ocorreram entre 11h e 15h. Após análise de fluorescência as amostras foliares foram imediatamente fixadas solução FAA (70%) (formaldeído, ácido acético e álcool etílico (70%) por 48 h e transferidas para solução de álcool etílico (70%).

Parâmetros fisiológicos

Após a coleta, as folhas foram colocadas no escuro por 30 minutos. A fluorescência foi determinada com fluorômetro portátil (PEA – Plant Efficiency Analyser, Hansatech). Foram registrados os valores da Fluorescência inicial (F0), máxima (Fm), variável (Fv), e eficiência fotoquímica (Fv/Fm). Após otimização para análise, o aparelho foi configurado nas condições de Status, Time: 05s, Light: 50%, Auto: data.

O teor relativo de água foi determinado em março/2013 (estação chuvosa) e em e maio/2013 (início do período seco). Foram coletadas folhas de cinco plantas que tiveram a massa fresca determinada. Em seguida foram colocadas em água destilada por 24h e pesadas novamente para determinação de massa túrgida. Posteriormente o material foi levado à estufa até massa constante para a determinação da massa seca (BARR; WEATHERLEY, 1962).

Dimensões dos estômatos

Porções da região mediana do limbo de cinco indivíduos foram destacadas para diafanização. O material foi mantido em solução de hidróxido de sódio (5%) por 3 horas, lavado em água destilada três vezes por um período de 5 minutos cada. A clarificação foi realizada em hipoclorito de sódio por 40 minutos, seguido de lavagem em água destilada, como na etapa anterior. Para melhorar a translucidez, as porções foliares, foram imersas em solução de cloral hidratado por 24 horas, lavadas em água destilada. O material foi corado em solução de safranina alcoólica (1%) durante 24h (SHOBE; LERSTEN, 1967).

As lâminas foram confeccionadas com uso de glicerina 50% e vedação com esmalte sintético. Em cada lâmina foram dispostas separadamente as superfícies adaxial e abaxial para análise dos estômatos, pois as folhas são anfiestomáticas.

As superfícies epidérmicas foram analisadas em Microscópio Zeiss Axioskop com câmara clara acoplada. De cada indivíduo, foram amostrados 20 campos aleatoriamente de cada face, para determinação da densidade estomática, comprimento das células guarda, diâmetro equatorial dos estômatos, comprimento e largura do poro estomático. A área do poro

estomático foi calculada com o produto da metade da largura do poro pela metade do comprimento do poro, multiplicado por 3,14 (ROSSATTO; HOFFMANN; FRANCO, 2009).

Extração de carboidratos

As alíquotas dos fragmentos foram fervidas em etanol 80% (15 min.) para inativação das enzimas e depois homogeneizadas. A suspensão foi filtrada e o resíduo extraído duas vezes em etanol 80% em banho-maria (80ºC) por 5 min. cada vez. Os sobrenadantes das três etapas de extração foram reunidos. Os resíduos foram submetidos à extração com água destilada em banho-maria (60ºC) por 30 min. Todos os sobrenadantes (etanólico e aquoso) foram reunidos e filtrados, constituindo o extrato bruto. A massa seca foi determinada após secagem em estufa (80°C) até se tornar constante (CARVALHO; PINTO; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1998).

Análise dos carboidratos

A quantificação de frutose total foi realizada pelo método de antrona de em 620 nm (JERMYN, 1956). As concentrações foram estimadas com base em uma curva padrão ajustada a partir de concentrações crescentes de frutose. Os carboidratos solúveis totais foram quantificados pelo método fenol-sulfúrico a 490 nm (DUBOIS *et al.*, 1956), utilizando curva padrão obtida com glicose.

A análise qualitativa para avaliar o perfil dos carboidratos solúveis foi realizada por cromatografia de troca aniônica de alto desempenho com detecção por pulso amperométrico (HPAEC-PAD) em cromatógrafo Dionex ICS 5000, utilizando a coluna CarboPac PA-100. As amostras purificadas em coluna de troca iônica e foram filtradas em membranas 0,45 µm previamente à injeção no HPAEC-PAD. Após injeção dos extratos, os açúcares foram separados num gradiente de acetato de sódio em hidróxido de sódio (100mM). O programa de eluição (1 cm^3 $.min^{-1}$) foi: 5 a 50 mM (0-10 min), 50 a 375 mM (10-35 min), 375 a 500 mM (35 a 40 min) e 5 mM (40-45 min), de acordo com recomendação do fabricante. A identificação dos carboidratos solúveis foi feita pela comparação com padrões cromatografados nas mesmas condições.

Análise estatística

Os dados obtidos nas diferentes análises foram verificados quanto à normalidade. Dados que atendiam a esse requerimento foram submetidos à análise de variância (um critério), com as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p<0,05$), utilizando o software Assistat. Os dados de fluorescência não atenderam os requisitos paramétricos e foram analisados submetidos à análise de variância por Kruskal-Wallis, seguido pelo método de Dunn para comparações ($p<0,05$).

Resultados

As plantas foram coletadas em diferentes épocas características da sazonalidade climática do cerrado. O teor de umidade do solo e na época de seca 2,03% ± 0,99 e na época de chuva foi de 15,66 % ± 1,95. O teor relativo de água das folhas na época seca foi de 60,02% ± 16,03 e na época de chuva foi de 69,79 % ± 18,11.

A análise da fluorescência possibilitou verificar que os índices de eficiência fotoquímica (Ef) variaram de 0,765 a 0,840 (Tabela 1). O maior índice ocorreu no mês de janeiro, mês com elevada precipitação, e o menor índice ocorreu em outubro, quando a precipitação ocorreu em baixos níveis.

Tabela 1. Parâmetros da fluorescência da clorofila em folhas de *Ichthyothere terminalis* em diferentes épocas do ano. Letras diferentes após as médias ($\bar{x}$) e desvio padrão (s) na coluna indicam diferenças significativas no teste de Kruskal-Wallis ($p<0,05$).

Coletas	Fm	Fv	Ef
26/out	1,659 ± 0,255 b	1,279 ± 0,244 c	0,765 ± 0,043 d
29/jan	1,974 ± 0,185 a	1,766 ± 0,164 a	0,840 ± 0,006 a
28/mar	1,636 ± 0,149 c	1,307 ± 0,127 b	0,827 ± 0,007 b
29/mai	1,340 ± 0,272 d	1,237 ± 0,257 d	0,776 ± 0,06 c

A densidade de estômatos foi maior na face abaxial no mês de outubro. Nos outros períodos não houve diferença. A face adaxial possui menor densidade estomática, que não apresentou diferenças entre as coletas (Tabela 2).

Tabela 2. Densidade de estômatos (estômatos.mm^{-2}) em *Ichthyothere terminalis* coletadas em diferentes épocas do ano. Letras diferentes após as médias ($\bar{x}$) e desvio padrão (s) na coluna indicam diferenças significativas ($n=5$; $p<0,05$).

Coletas	Adaxial		Abaxial	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	S
Outubro	39,0 ±	17,8 a	289,9 ±	55,2 a
Janeiro	43,7 ±	8,1 a	202,7 ±	10,1 b
Março	11,9 ±	11,9 a	197,9 ±	17,5 b
Maio	10,1 ±	10,1 a	227,2 ±	5,8 b

Em ambas as faces epidérmicas, a maior área do poro estomático ocorreu em maio, no início do período seco, enquanto que a menor ocorreu em março, em plena época chuvosa. As Nas outras datas, a abertura do poro apresentou valores intermediários (Figura 2).

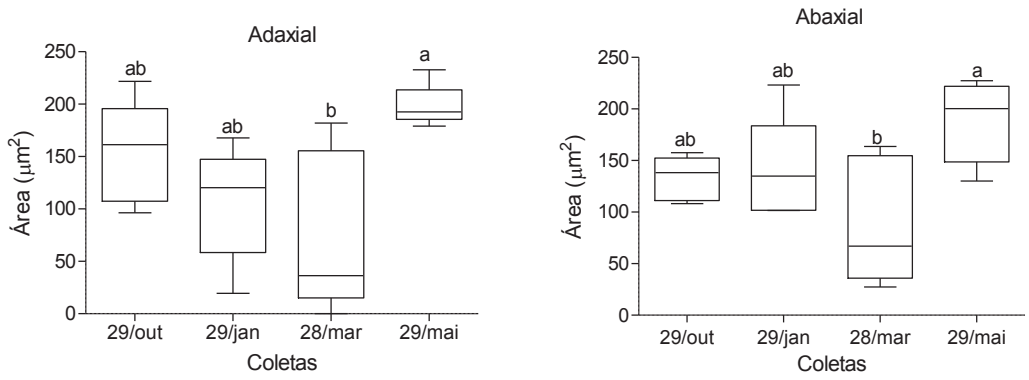


Figura 2. Área do poro estomático (µm^2) nas faces adaxial e abaxial da epiderme foliar de *Ichthyothere terminalis* em diferentes épocas do ano. Médias distintas são indicadas por letras diferentes ((n=5; p<0,05).

Com relação às medidas dos estômatos na face abaxial da epiderme de *I. terminalis*, verificou-se o maior comprimento das células guarda em maio, contrastando com o menor comprimento ocorrido em outubro. Já a largura das células guarda não apresentou diferenças entre as épocas de coleta. Quanto ao poro desses estômatos, a largura foi maior em maio, enquanto o comprimento foi maior em janeiro (Figura 3).

Na face adaxial, o menor comprimento das células guarda ocorreu em outubro, não havendo diferenças neste parâmetro nas outras épocas. A largura das células guarda não diferiu. O comprimento do poro estomático apresentou maiores médias no período chuvoso, enquanto a largura apresentou maiores valores nas coletas em época seca (Figura 4).

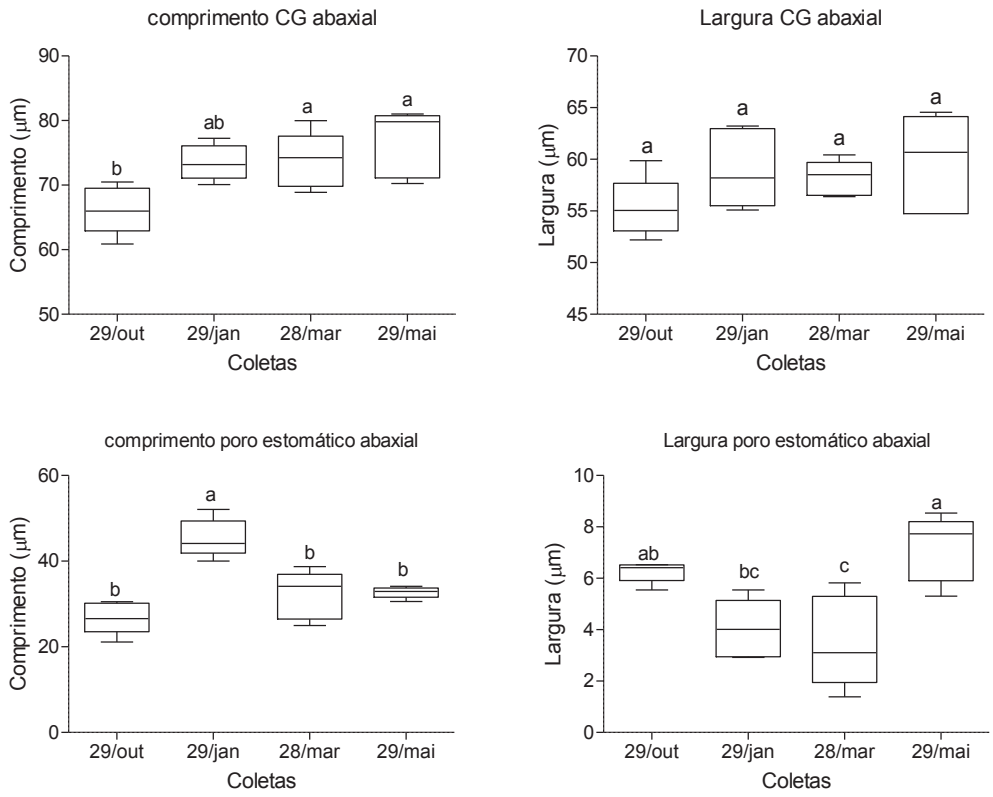


Figura 3. Medidas do comprimento e largura das células guarda (CG) e dos poros estomáticos na face abaxial da epiderme de *Ichthyothere terminalis* coletadas em diferentes épocas do ano. Médias distintas são indicadas por letras diferentes ((n=5; p<0,05).

O sistema subterrâneo de *I. terminalis* apresentou até a média de 40% de carboidratos solúveis e destes, cerca de 65% é constituída por frutose livre e combinada. O maior teor de carboidratos solúveis ocorreu em outubro (início da brotação) e em março, época de dispersão de frutos. Em janeiro ocorreu a menor média (Figura 5 A). Não houve diferença significativa entre as médias dos teores de frutose total nas diferentes épocas analisadas (Figura 5 B).

Ichthyothere terminalis apresenta frutanos da série da inulina, como verificado pela comparação com a série homóloga extraída de rizóforos de *Vernonia herbacea*. Em outubro de 2012 (brotação) e janeiro de 2013 (floração) observaram-se os maiores picos de frutose livre, glicose, sacarose e 1-cestose. Em outubro, a altura dos picos de oligossacarídeos foi menor do que nos outros meses. Março e maio marcam o final do período de reprodução e o início do processo de senescência da parte aérea, respectivamente, nesse período encontramos altos picos de oligossacarídeos com GP acima de quatro e a presença de polissacarídeos. Em maio foram observados picos além dos 35 minutos de eluição, indicando a presença dos frutanos com maior grau de polimerização (Figura 6).

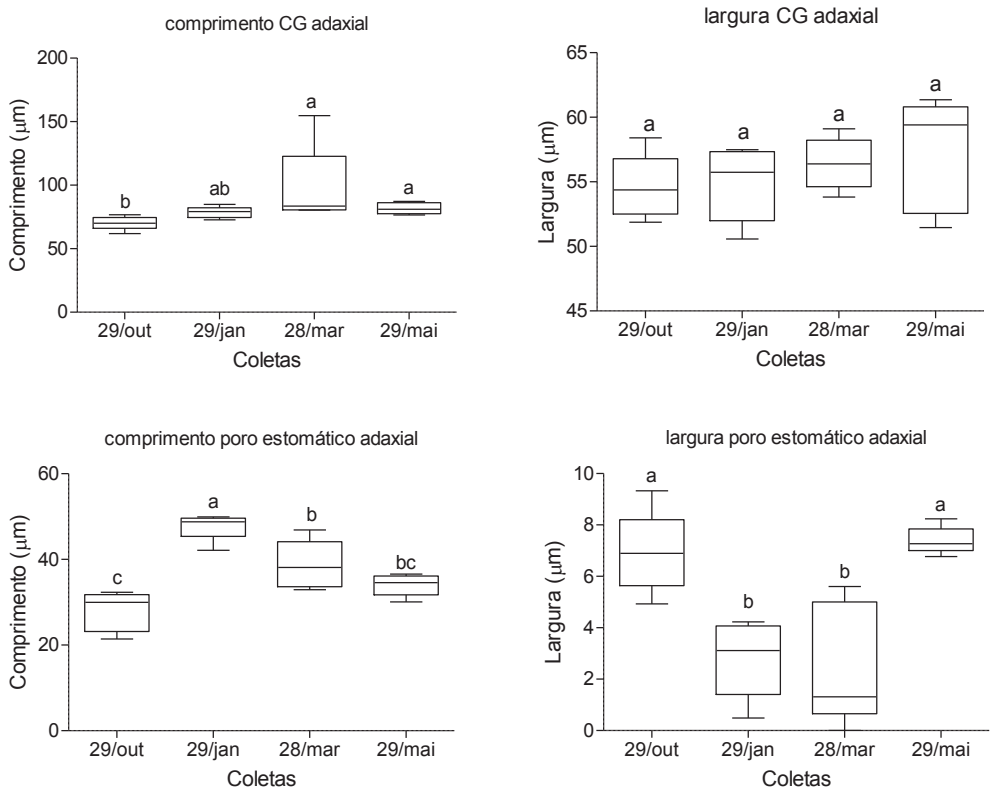


Figura 4. Medidas do comprimento e largura das células guarda e dos poros estomáticos na face adaxial da epiderme de *Ichthyothere terminalis* coletadas em diferentes épocas do ano. Médias distintas são indicadas por letras diferentes (n=5; p<0,05).

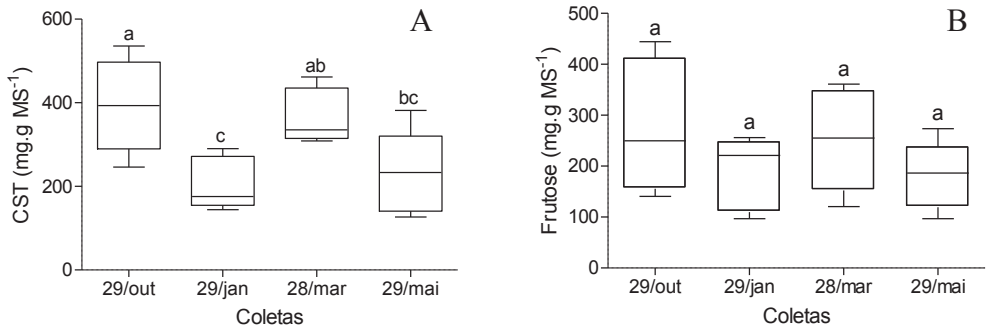


Figura 5. Teores de carboidratos solúveis totais, CST (A) e de frutose total (B) no sistema subterrâneo de *Ichthyothere terminalis* em diferentes épocas do ano. Médias distintas são indicadas por letras diferentes (n=5; p<0,05).

Discussão

Ichthyothere terminalis é uma espécie com crescimento sazonal, que inicia a brotação no final da estação seca e início das chuvas (Figura 1), como observado para outras espécies

do cerrado (BATALHA; ARAGAKI; MANTOVANI, 1997). Em seguida ocorre crescimento vegetativo intenso, floração e frutificação na época de chuvas, para em sequência ocorrer a senescência da parte aérea e a dormência do sistema subterrâneo, como acontece com outras espécies herbáceas geófitas e hemicriptófitas do cerrado (MANTOVANI; MARTINS, 1988).

Quando as plantas retomaram seu crescimento em Outubro de 2012, ocorreram as maiores médias de temperatura (Fig. 1A), baixa precipitação e iniciou o aumento da umidade relativa do ar (Fig. 1B). Nessa condição as plantas apresentaram a maior densidade estomática na face abaxial (Tab. 2), entretanto o menor comprimento das células guarda tanto na face adaxial (Fig. 3) quanto na abaxial (Fig. 4), sugerindo que nessa época, não havia água o suficiente para completar a expansão celular, que foi verificada em janeiro/2013.

Em outubro verificou-se o menor índice de eficiência fotoquímica (Tabela 1), embora seja menor comparado às outras épocas, esse índice encontra-se na faixa 0,75 - 0,85, que indica a integridade do aparato fotossintético (BOLHAR-NORDENKAMPF *et al.*, 1989). Entretanto, em espécies nativas tropicais, valores abaixo de 0,8 podem indicar fotoinibição (LÜTTGE *et al.*, 1998). Como as menores médias de eficiência fotoquímica foram observadas na época seca (outubro e maio), é provável que ocorra fotoinibição em *I. terminalis*, assim como ocorre em *Eugenia dysenterica* e em *Campomanesia adamantium* (LEMOS-FILHO, 2000).

A área dos poros estomáticos foi maior em maio nas duas faces epidérmicas (Fig. 2), relacionada à maior largura e menor comprimento dos poros estomáticos (Figs. 3 e 4). Nessa época as plantas estavam no início da senescência da parte aérea e apresentaram baixa eficiência fotoquímica comparada à estação chuvosa, indicando que, apesar dos estômatos terem maior grau de abertura, a eficiência fotoquímica foi reduzida por outros fatores, como a seca e/ou a senescência, visto que esses fatores podem interferir nesse parâmetro (MAXWELL; JOHNSON, 2000).

Os teores de carboidratos solúveis variaram nas diferentes épocas de coleta (Fig. 5A). Apesar da frutose livre e combinada constituir a maior parte dos carboidratos solúveis totais, as médias não diferiram nas diferentes fases (Fig. 5B). Em *V. herbacea* os frutanos constituem até 80% da massa seca dos rizóforos e sua maior concentração ocorre na fase vegetativa e na dormência (CARVALHO; DIETRICH, 1993). Durante o crescimento reprodutivo ocorre a redução nos teores de frutanos em órgãos subterrâneos de Asteraceae do cerrado (FIGUEIREDO-RIBEIRO *et al.*, 1991).

As variações no conteúdo de frutanos indicam processos de síntese e despolimerização destes compostos nas raízes tuberosas de *I. terminalis* e sugerem seu papel como carboidrato

de reserva. Na fase vegetativa a planta acumula maior quantidade de reserva, que é utilizada para a floração (baixo valor desses carboidratos em janeiro) e depois é novamente estocada durante a senescência a fim de proporcionar a manutenção do metabolismo vital durante a dormência e manter reserva suficiente para a rebrota quando as condições climáticas forem favoráveis. A reserva acumulada em órgãos subterrâneos de indivíduos da família Asteraceae é uma estratégia adaptativa que permite escape à seca por dormência e rebrota vigorosa na primavera seguinte (CARVALHO; DIETRICH, 1993; ISEJIMA, E. M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO; ZAIDAN, 1991; MANTOVANI; MARTINS, 1988), além de ser importante fonte de carbono pós-distúrbios na vegetação, como a ocorrência do fogo que é um fato comum no cerrado. As plantas que ocorrem no Cerrado investem no acúmulo de carboidratos de reservas em órgãos subterrâneos, o que permite rápida reposição de tecidos que foram perdidos pela ação do fogo, contribuindo assim para a sobrevivência dos indivíduos (HOFFMANN, 1998).

Os altos picos de mono e dissacarídeos nos meses de outubro e janeiro indicam que nos períodos com alta demanda energética como a brotação e a floração, os frutanos armazenados são despolimerizados, indicando alta atividade de frutanos exohidrolases (ASEGA; CARVALHO, 2004; GARCIA *et al.*, 2011; VAN DEN ENDE *et al.*, 2001). Em maio foram identificados os frutanos com maior grau de polimerização, que pode ser consequência da fase fenológica. Estudos com outras espécies do cerrado mostram que frutanos com maior grau de polimerização podem ser encontrados no estado vegetativo ou no início da dormência, relacionados à fase de maior síntese desses polímeros (CARVALHO; DIETRICH, 1993; ISEJIMA; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993; VIEIRA, 1993).

Desse modo nossos dados sugerem que a biossíntese de frutanos com maior massa molecular nas plantas do cerrado ocorre no outono, fim da fase vegetativa e início da dormência, assim como ocorre em *Viguiera discolor* (ISEJIMA; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993). O fato de os frutanos com maior grau de polimerização não serem encontrados no mês de janeiro, indica que esses polímeros são utilizados pela planta nas fases de maior demanda energética, nesse caso a floração. Sendo assim, os frutanos constituem importantes reservas para *I. terminalis* que contribui para seu ciclo fenológico e para sobreviver nas condições adversas de restrição hídrica sazonal do cerrado.

Conclusões

Ichthyothere terminalis possui fenologia modulada pela sazonalidade climática do cerrado, como outras espécies herbáceas. O início de seu desenvolvimento ocorre no final da estação seca, entretanto as folhas e suas estruturas não alcançam sua completa expansão. A eficiência fotoquímica é menor nas épocas secas, possivelmente por fotoinibição. No início da

época seca a área dos poros estomáticos é maior, evidenciada por sua maior largura. Os carboidratos solúveis totais variam nas diferentes épocas, sendo utilizados principalmente nas épocas de maior demanda. Os frutanos da série da inulina são a principal reserva nos órgãos subterrâneos de *I. terminalis* e ocorrem variações na proporção dos elementos com diferentes graus de polimerização nas diferentes épocas, constituindo importante estratégia adaptativa dessa espécie para viver nas condições adversas na época seca no Cerrado.

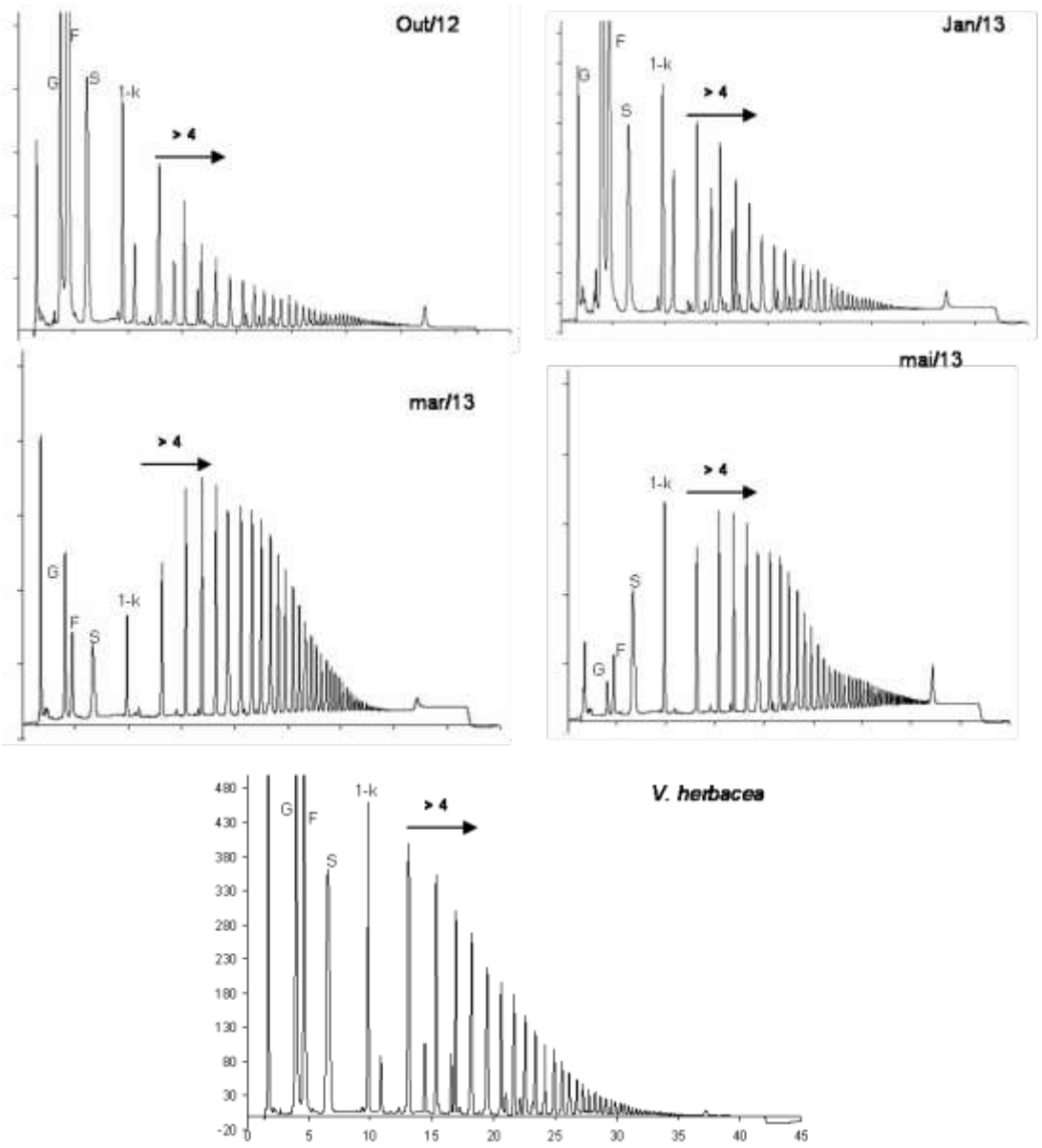


Figura 6. Perfil de carboidratos solúveis obtidos por HPAEC-PAD em sistema subterrâneo de *Ichthyothere terminalis* coletada em diferentes épocas do ano. Glicose (G), frutose (F), sacarose (S), 1-cestose (1-K). A seta seguida de >4 indica graus de polimerização maiores que quatro.

Referências bibliográficas

ABDALLA, D. F. *Morfoanatomia e metabólitos de órgãos vegetativos de Apopyros warmingii (Baker) G. L. Nesom e Ichthyothere terminalis (Spreng.) S.F.Blake (Asteraceae): estratégias adaptativas ao cerrado rupestre*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Goiás, 2012.

ASEGA, A. F.; CARVALHO, M. A. M. Fructan metabolising enzymes in rhizophores of Vernonia herbacea upon excision of aerial organs. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 42, n. 4, p. 313–319, abr. 2004.

BARR, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, v. 15, p. 413–428, 1962.

BATALHA, M. A.; ARAGAKI, S.; MANTOVANI, W. Variações fenológicas das espécies do cerrado em Emas (Pirassununga, SP). *Acta Botanica Brasilica*, v. 11, n. 1, p. 61–78, 1997.

BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R. *et al.* Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology*, p. 497–514, 1989.

CARVALHO, M. A. M.; DIETRICH, S. M. C. Variation in fructan content in the underground organs of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby at different phenological phases. *New Phytologist*, v. 123, n. 123, p. 735–740, 1993.

CARVALHO, M. A. M.; PINTO, M. M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Inulin production by Vernonia herbacea as influenced by mineral fertilization and time of harvest. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 21, n. 3, p. 1–8, dez. 1998.

COUTINHO, L. M. O bioma do cerrado. In: Klein, A. (ed.) *Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois*. São Paulo: Editora UNESP, 2002. p. 77–91.

DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, v. 28, p. 350–356, 1956.

FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. *et al.* The Physiological significance of fructan accumulation in Asteraceae from the cerrado. *Ciência e Cultura*, v. 43, p. 443–446, 1991.

FRANCO, A. C. Ecophysiology of Woody Plants. In: OLIVEIRA, P. S.; MARQUIS, R. J. (Org.). *The Cerrados of Brazil: Ecology and natural history of a Neotropical Savanna*. New York: Columbia University Press, 2002. p. 178–198.

GARCIA, P. M. A *et al.* Effect of drought and re-watering on fructan metabolism in Vernonia herbacea (Vell.) Rusby. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 49, n. 6, p. 664–670, jun. 2011.

HENDRY, G. A. F.; WALLACE, R. K. The origin, distribution, and evolutionary significance of fructans. In: SUZUKI, M.; CHATTERTON, N. J. (Org.). *Science and Technology of Fructans*. Boca Raton: CRC Press, 1993. p. 119–139.

HENDRY, G. A. F. Evolutionary origins and natural functions of fructans - a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal. *New Phytologist*, v. 123, n. 1, p. 3–14, abr. 1993.

HOFFMANN, W. A. Post-burn reproduction of woody plants in a neotropical savanna: the relative importance of sexual and vegetative reproduction. *Journal of Applied Ecology*, v. 35, n. 3, p. 422–433, jun. 1998.

ISEJIMA, E M; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Fructan variations in tuberous roots of *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae): The influence of phenology. *Plant and Cell Physiology*, v. 34, p. 723–727, 1993.

ISEJIMA, E. M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L.; ZAIDAN, L. B. P. Fructan composition in adventitious tuberous roots of Viguiera discolor Baker (Asteraceae) as influenced by daylength. *New Phytologist*, v. 119, n. 1, p. 149–154, set. 1991.

JERMYN, M. A. A new method for the determination of ketohexoses in the presence of aldohexoses. *Nature*, v. 177, p. 39, 1956.

LEMOS-FILHO, J. P. Fotoinibição em três espécies do cerrado (*Annona crassifolia* , *Eugenia dysenterica* e *Campomanesia adamantium*) na estação seca e na chuvosa. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 1, n. 1993, p. 45–50, 2000.

LÜTTGE, U. *et al.* Photosynthesis of mistletoes in relation to their hosts at various sites in tropical Brazil. *Trees*, v. 12, n. 3, p. 167, 1998.

MANTOVANI, W.; MARTINS, F. R. Variações fenológicas das espécies do cerrado da Reserva Biológica de Moji-Guaçu, Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 11, p. 101–112, 1988.

MATTOS, E. A. Perspectives in comparative ecophysiology of some brazilian vegetation types: Leaf CO2 and gas exchange, chlorophyll a fluorescence and carbon isotope discrimination. In: SCARANO, F. R.; FRANCO, A. C. (Org.). *Oecologia Brasiliensis - Ecophysiological strategies of xerophytic and amphibious plants in the neotropics*. Rio de Janeiro: UFRJ, 1998. p. 1–22.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence--a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, v. 51, n. 345, p. 659–68, abr. 2000.

NAKAJIMA, J. *et al.* *Asteraceae*. Disponível em: <(http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB55>. Acesso em: 10 abr. 2013.

RITSEMA, T.; SMEEKENS, S. Fructans: beneficial for plants and humans. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 6, n. 3, p. 223–230, jun. 2003.

ROSSATTO, D. R.; HOFFMANN, W. A.; FRANCO, A. C. Características estomáticas de pares congenéricos de cerrado e mata de galeria crescendo numa região transicional no Brasil Central. *Acta Botanica Brasilica*, v. 23, n. 2, p. 499–508, 2009.

SHOBE, W. R.; LERSTEN, N. R. A technique for clearing and staining gymnosperm leaves. *Botanical Gazette*, v. 128, n. 2, p. 150–152, 1967.

VAN DEN ENDE, W. *et al.* Defoliation induces fructan 1-exohydrolase II in Witloof chicory roots. Cloning and purification of two isoforms, fructan 1-exohydrolase IIa and fructan 1-exohydrolase IIb. Mass fingerprint of the fructan 1-exohydrolase II enzymes. *Plant physiology*, v. 126, n. 3, p. 1186–95, jul. 2001.

VIEIRA, C. C. J.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Fructose-containing carbohydrates in the tuberous root of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. (Amaranthaceae) at different phenological phases. *Plant, Cell & Environment*, v. 16, p. 919–928, 1993.

Utilização de óleo bruto de plantas do cerrado como aditivos na ração de frangos de corte

Hyara Paula Fleuri Xavier[1]; Heloisa Helena de Carvalho Mello[2]; Nadja Susana Mogyca Leandro[3]; Raiana Almeida Noleto[3]

[1]Orientanda – Escola de Veterinária e Zootecnia- UFG –hyarapaula@hotmail.com
[2]Orientadora – Escola de Veterinária e Zootecnia -UFG – heloisamello@gmail.com
[3] Escola de Veterinária e Zootecnia –UFG- mogyca@vet.ufg.br, raianazoo@hotmail.com

Resumo: Foi conduzido um experimento na Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, com o objetivo de avaliar a utilização de óleo bruto de Copaíba e de Sucupira branca como promotores de crescimento em substituição ao uso de antibióticos em rações para frangos de corte. Seiscentos (600) pintos de corte, de um dia de idade foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos, 6 repetições e 25 aves por repetição. Os tratamentos estudados foram: ração basal, ração basal + avilamicina, ração basal + óleo bruto de Copaíba e ração basal + óleo bruto de sucupira branca. As rações experimentais foram fornecidas durante todo o experimento, e as necessidades nutricionais das aves foram ajustadas de acordo a fase de criação, seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2011). Foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho: ganho de peso, conversão alimentar e consumo de ração nas fases inicial (1 a 21 dias de idade) e total (1 a 40 dias de idade). A mortalidade foi anotada diariamente e apresentada como viabilidade (%). Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5%. O óleo de Sucupira elevou a conversão alimentar na primeira fase do experimento e reduziu o consumo de ração e o ganho de peso nas duas fases estudadas. Conclui-se que o óleo de Copaíba pode ser utilizado como antimicrobiano promotor de crescimento em rações para frangos de corte.

Palavras – chave: aves; Copaíba; óleo bruto; promotores de crescimento; ração; Sucupira Branca

Revisado pelo Orientador

Introdução

O Cerrado é o segundo maior bioma da América do Sul, ocupando uma área de 2.036.448 km2, cerca de 22% do território nacional (Ministério do Meio Ambiente, 2013).

O cerrado possui mais de 7000 espécies de plantas (Klink & Machado, 2005). Segundo Klink & Machado (2005), um dos principais desafios na conservação do Cerrado será demonstrar a importância que a biodiversidade desempenha no funcionamento dos ecossistemas. Portanto, o conhecimento sobre a biodiversidade, a viabilidade da utilização de bioprodutos provenientes de plantas do cerrado na nutrição animal implica em ações de desenvolvimento sustentável e conservação das espécies do cerrado.

Os antibióticos podem ser utilizados nas rações de frangos de corte com o intuito de melhorar o desempenho e reduzir a mortalidade das aves, sendo chamados nessa situação, de promotores de crescimento. Porém, atualmente há a necessidade da busca por produtos alternativos aos antibióticos promotores de crescimento, devido à preocupação dos consumidores quanto à seleção de algumas cepas resistentes à esses antibióticos e à proibição da União Europeia quanto a utilização desses aditivos.

Neste contexto, os óleos de plantas do cerrado têm sido estudados pelas suas propriedades antimicrobianas e podem representar uma alternativa para ser utilizado como aditivos promotores de crescimento nas rações de aves. De acordo com Brenes e Roura (2010), os óleos essenciais melhoram a produção de secreções digestivas, estimulam a circulação sanguínea, exercem propriedades antioxidantes, reduzem os níveis de bactérias patogênicas e podem melhorar o estado imunológico.

O objetivo foi avaliar a utilização de óleo bruto de plantas do cerrado - Copaíba (*Copaifera langsdorffii Desf.* (Fabaceae) e Sucupira Branca (*Pterodon emarginatus Vogel* (Fabaceae)- como aditivos antimicrobianos, em rações de frangos de corte, nas fases inicial (1 a 21 dias de idade) e total (1 a 40 dias de idade).

Metodologia

O experimento foi realizado no Aviário Experimental da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Foram utilizados 600 pintos machos, de um dia de idade, da linhagem Coob. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos, 6 repetições e 25 aves por repetição. Os tratamentos foram: ração basal sem aditivo; ração basal + antibiótico (0,005% de avilamicina); ração basal + óleo de Copaíba (0,2%); e ração basal + óleo de Sucupira (0,05%). Os tratamentos foram fornecidos às aves durante todo o período experimental.

O nível de antibiótico utilizado foi o recomendado pelo fabricante. Os níveis de óleo de copaíba e de sucupira branca foram determinados previamente em experimentos (dados não publicados).

O óleo de copaíba e o óleo de sucupira foram adicionados à ração em substituição parcial ao amido de milho, utilizado como ingrediente inerte na formulação.

As aves foram adquiridas com 1 dia de idade e foram alojadas em galpão dividido em 24 boxes de alvenaria, providos com bebedouros e comedouros pendulares e com cama de casca de arroz, reutilizada para aumentar o desafio sanitário. O galpão possuía sistema de ventilação negativa e nebulizadores, que foram acionados automaticamente sempre que necessário.

As rações foram formuladas a base de milho e farelo de soja e atenderam a exigência nutricional das aves, de acordo com cada fase de criação, seguindo recomendação de Rostagno et al. (2011).

Alimentação e água foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental, que teve duração de 40 dias.

O manejo das aves foi realizado de acordo com o manual da linhagem.

O ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar foram avaliados nas fases inicial (1 a 21 dias de idade) e total (1 a 40 dias de idade). A mortalidade foi avaliada diariamente e os dados foram apresentados como viabilidade (100-%mortalidade).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade. Utilizou-se o software estatístico SAS.

Resultados e Discussão

Os resultados de consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, viabilidade e peso final dos frangos de corte de 1 a 21 dias de idade estão apresentados na Tabela 1.

O consumo de ração foi reduzido com a utilização de óleo de sucupira na ração em comparação com a ração basal e o óleo de copaíba. O ganho de peso e o peso final das aves foi reduzido com a utilização de óleo de sucupira na ração, possivelmente como consequência do menor consumo de ração.

A viabilidade das aves não diferiu com a utilização de óleo de copaíba, óleo de sucupira, antibiótico ou ração basal.

Observou-se que a utilização de antibiótico avilamicina ou óleo de copaíba não melhoraram o desempenho das aves em comparação com a ração basal, sem aditivos. Este fato não era esperado, visto que os promotores de crescimento são utilizados com a finalidade de melhorar o desempenho das aves e têm sua eficácia comprovada (Haese & Silva, 2004).

Tabela 1- Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), viabilidade (V) e peso final (PF) de frangos de corte de 1 a 21 dias de acordo com os tratamentos

Tratamentos	1-21 dias de idade				
	CR (kg)	GP (g)	CA	V(%)	PF (g)
Ração basal	1253,83 a	835,86 a	1,512 a	97,3	884,10a
Ração basal + avilamicina	1267,18ab	821,50 a	1,554ab	97,6	869,90a
Ração basal + Copaíba	1269,33a	830,77 a	1,542 ab	98,0	879,09a
Ração basal + Sucupira	1192,64b	733,34 b	1,630 b	98,7	781,58b
Valor P	0,0239	0,0001	0,0132	0,8590	0,0001
CV(%)	3,53	4,20	3,66	2,87	3,97

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem estatisticamente pelo teste Tukey (P<0,05)

Os resultados de consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, viabilidade e peso final dos frangos de corte de 1 a 40 dias de idade estão apresentados na Tabela 2.

Houve redução no consumo de ração com a utilização do óleo de Sucupira, em comparação a ração basal e a ração basal + Copaíba.

Houve redução no ganho de peso e no peso final com a utilização do óleo de Sucupira, em comparação à utilização de ração sem aditivos, possivelmente devido à redução no consumo de ração com óleo de Sucupira. A utilização de óleo de sucupira resultou em ganho de peso e peso final das aves semelhante àquelas que receberam óleo de copaíba e avilamicina na ração.

Não houve diferenças estatísticas na conversão alimentar e viabilidade entre os tratamentos.

Tabela 2- Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), viabilidade (V) e peso final (PF) de frangos de corte de 1 a 40 dias de acordo com os tratamentos

Tratamentos	1-40 dias de idade				
	CR (kg)	GP (kg)	CA	V(%)	PF (kg)
Ração basal	4040,00a	2255,89a	1,828	94,7	2304,14a
Ração basal + avilamicina	3969,56ab	2185,28ab	1,846	96,0	2233,67ab
Ração basal + Copaíba	4004,42a	2205,37ab	1,858	93,3	2253,70ab
Ração basal + Sucupira	3767,08b	2074,73b	1,838	96,0	2122,97b
Valor P	0,0132	0,027	0,8026	0,6907	0,027
CV(%)	3,51	4,39	2,93	4,60	4,30

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($P<0,05$)

A utilização de óleo de Copaíba na ração de frangos de corte resulta em consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar satisfatórios, quando comparado à utilização de antibiótico Avilamicina, podendo ser utilizado como antimicrobiano promotor de crescimento em rações para frangos de corte. Segundo Aguilar et al. (2013), o consumo de ração, a conversão alimentar e a viabilidade das aves, assim como o rendimento de carcaça, cortes comerciais e peso dos órgãos internos não são afetados pelo uso de óleo de Copaíba. O óleo essencial de copaíba pode ser utilizado na ração até o nível de 0,15 mL kg-1 sem afetar o desempenho das aves (Aguilar et al., 2013).

O óleo de Sucupira resultou em maior conversão alimentar na primeira fase do experimento (1 a 21 dias de idade) e redução do consumo de ração e menor peso final nas duas fases do experimento (1 a 21 dias de idade e 1 a 40 dias de idade), sendo ineficiente seu

uso. Ainda não existe na literatura dados precisos sobre a utilização de óleo de Sucupira como promotor de crescimento em rações para frangos de corte.

Conclusão

Conclui-se que o óleo de Copaíba pode ser utilizado como antimicrobiano promotor de crescimento em rações para frangos de corte.

Referências Bibliográficas

AGUILAR et al. Effect of copaiba essential oil on broiler chickens' performance. **Acta Scientiarum. Animal Sciences** Maringá-PR, v. 35, n° 2, p. 145-151, 2013.

BORLAUG, N.E. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. In: R. Bailey (ed.). **Global warming and other eco-myths**. Competitive Enterprise Institute, Roseville, EUA. p. 29-60, 2002.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology,** v. 158, p. 1-4, 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. O Bioma Cerrado. Brasília, 2013. Disponível em:<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado/comiss%C3%A3o-nacional-do-programa-cerrado-sustent%C3%A1vel>. Acesso em: 5 Ago. 2013.

HAESE, D.; SILVA, B. A.N. Antibióticos como promotores de crescimento em monogástricos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.1, n°1, p.07-19, 2004.

ROSTAGNO,H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa-MG:UFV. Departamento de Zootecnia, 2011, 252p.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n° 1, p. 147-155, 2005.

Estudo do efeito de obstruções sobre a cobertura de telefonia móvel celular na cidade de Pirenópolis com emprego de conformação de feixe

Iara Lima Barbosa Guimarães, Rodrigo Pinto Lemos
Escola de Engenharia Elétrica Mecânica e Computação, Universidade Federal de Goiás
Goiânia – GO, 09/2013, Brasil
E-mail: iara970@hotmail.com, lemos@emc.ufg.br

Resumo

Avalia-se o nível de sinal da cobertura celular, utilizando-se simulação em computador da propagação eletromagnética, sobre um mapa digital da região de Pirenópolis. O efeitos de obstruções sobre a cobertura celular foi avaliado usando modelos de difração e de Okumura-Hata para antenas omnidirecionais. Identificaram-se as regiões de sombra na cobertura obtida, propondo-se o uso de arranjo de antenas e conformação de feixe para irradiar mais potência para essas regiões. O comprometimento do sinal recebido no arranjo devido às reflexões no terreno foi avaliado usando-se traçado de raios e a lei de Snell para ondas eletromagnéticas. As simulações indicaram que a conformação de feixe melhorou o nível de sinal na área coberta e que as reflexões no solo não foram significativas.

Palavras-chave: Antenas inteligentes, Arranjo de Antenas, Conformação de Feixe, Obstrução de sinal, Reflexão de Ondas Eletromagnéticas, Ondas Refratadas, Telecomunicações

1 Introdução

O crescimento da demanda por novos terminais telefônicos móveis vem aumentando o interesse por soluções que incrementem a capacidade dos atuais sistemas celulares (OSÓRIO, ATTUX, CASTRO E ROMANO,2009). Além disso, devido à grande quantidade de antenas implantadas, a interferência co-canal compromete a capacidade de expansão. Juntando-se a isso, a atenuação do sinal devido a obstruções

Revisado pelo Orientador

físicas muitas vezes impede o atendimento das demandas em alguns locais (YACOUB, 1993).

O planejamento de cobertura de nível de sinal em uma região geográfica é fundamental para garantir a operabilidade do serviço móvel celular. Entretanto, o nível de sinal recebido pelas estações móveis depende das condições de propagação eletromagnética nessa região. Basicamente, a potência da onda eletromagnética recebida pela estação móvel depende diretamente da potência empregada na transmissão e dos ganhos das antenas envolvidas, sendo inversamente proporcional ao quadrado da distância entre as estações base e móvel. Como o aumento da potência transmitida envolve a elevação do consumo de energia, a redução do alcance restringe a oferta do serviço e reduz o faturamento e, dado que não se tem controle sobre os ganhos das antenas das estações móveis, a única alternativa viável para aumentar a potência recebida é adequar o ganho da antena da estação base. Além da atenuação promovida por obstáculos, fatores como absorção, reflexão no solo e difração devem ser considerados na previsão do nível de sinal recebido.

Recentemente, Queiroz e Deus Jr. (QUEIROZ, 2010) realizaram um estudo de previsão da cobertura celular no município de Pirenópolis, Goiás, comparando diferentes modelos de propagação. Esse estudo levou em conta os fatores de degradação do sinal, mas adotou apenas antenas isotrópicas de ganhos fixos, portanto não ajustadas ao cenário de cobertura. Atualmente, mesmo com o uso da tecnologia 4G, que utiliza WCDMA, tornando-se robusta ao ruído, ainda há um déficit na robustez à interferência. Ou seja, quanto maior a quantidade de usuários, maior a degradação (PUTTINI, 2006). Assim, técnicas de filtragem espacial tornam-se alternativas interessantes, à medida que promovem a conformação de feixes de alto ganho do diagrama de radiação de antenas para cada usuário dentro de uma mesma área de cobertura. O projeto de filtros espaciais usualmente emprega arranjos de antenas, aliados a algoritmos de processamento na estação base (PUTTINI, 2006). Queiroz, Lemos e Deus Jr (QUEIROZ, 2011), avaliaram o emprego de conformação de feixe através de arranjos de antenas para melhorar a cobertura celular obtida no trabalho anterior. Observou-se que, além de proporcionar o aumento do alcance do sinal, esse emprego permite anular sinais interferentes ou até mesmo contornar obstruções, incrementando a relação sinal-ruído de recepção. Entretanto, não foi possível considerar fatores como reflexão ou difração. Além disso,

Revisado pelo Orientador

os algoritmos utilizados exigiam o conhecimento prévio da direção azimutal do móvel em relação à estação base.

O presente trabalho se propõe a analisar os efeitos do ambiente de propagação sobre a cobertura provida pelos arranjos de antenas, bem como avaliar o uso de algoritmo adaptativo para conformação de feixe, o qual não requer o conhecimento prévio das direções das fontes de sinal, mas se ajusta ao ambiente de propagação à medida que aperfeiçoa alguma característica do sinal de interesse. Para tanto o presente artigo foi organizado da seguinte maneira. A seção 3 apresenta a metodologia utilizada, a seção 4 apresenta os vários modelos matemáticos utilizados para se fazer a modelagem do ambiente de simulação, a seção 5 discorre sobre algoritmos adaptativos utilizados para a conformação de feixe, a seção 6 detalha os resultados obtidos com a simulação. E por fim a conclusão obtida através do estudo relatado no presente artigo.

2 Metodologia

A metodologia adotada foi analítica, utilizando simulação, modelagem matemática e controlada pela reprodução de resultados conhecidos na literatura. Para tanto fez-se:

- levantamento bibliográfico, para identificação dos modelos e métodos matemáticos de referência que auxiliam nos cálculos das perdas de potência;
- uso da ferramenta de simulação gráfica Matlab, para o desenvolvimento de experimentos computacionais;
- estudado do efeito de obstáculos naturais sobre a propagação de ondas eletromagnéticas;
- a modelagem desses obstáculos no cálculo da potência do sinal recebido;
- inclusão dessa modelagem no programa Matlab já desenvolvido;
- uso de dados de relevo da cidade de Pirenópolis disponíveis na ANATEL;
- identificação das maiores cotas na vizinhança da rota entre a estação móvel e a estação base para considerar a presença de barreiras,;
- uso de traçado de raios para avaliação das direções de incidência das ondas sobre o arranjo;

Revisado pelo Orientador

- comparação dos desempenhos dos algoritmos estudados, considerando o cálculo da potência de sinal recebido na estação móvel, para avaliação dos resultados obtidos.

3 Modelagem para Propagação de Ondas Eletromagnéticas

Para se modelar o ambiente de simulação foi feito um estudo matemático sobre os diversos fatores que influenciam a propagação das ondas eletromagnéticas

A Fórmula de Friis expressa na equação (1) mostra que a potência P_{rec} recebida por uma antena é diretamente proporcional à potencia transmitida P_{trans}, ao ganho G_{trans} da antena transmissora e à área da antena receptora A_{rec}, porém é inversamente proporcional à distancia r entres as antenas.

$$P_{rec} = \frac{P_{trans}\, G_{trans}\, A_{rec}}{4\pi r^2} \tag{1}$$

A equação (2) representa melhor a Fórmula de Friss em termos das perdas, ganhos e potências em decibéis (dB).

$$P_{rec.dB} = P_{trans.dB} + G_{trans.dB} - L_{espaço-livre.dB} + G_{rec.dB} \tag{2}$$

O Modelo Hata-Okumura é um modelo de perdas empírico que foi utilizado para a modelagem da propagação uma vez que representas as perdas no ambiente urbano.

$$\begin{aligned} L = {} & 69{,}55 + 26{,}16 \log(f_c) - 13{,}82 \log(h_{te}) - A(h_{re}) \\ & + [44{,}9 - 6{,}55 \log(h_{te})] \log(r) \end{aligned} \tag{3}$$

onde:

- f_c, é a frequência;
- h_{te}, altura da antena;
- r, distância entre o transmissor e o receptor;
- $A(h_{re})$, fator de correção em dB para a altura da antena do móvel.

Além das perdas no espaço livre e perdas devido à sensibilidade ao ambiente urbano considerado por Hata-Okumura, considera-se também as perdas causadas pelas

Revisado pelo Orientador

difrações e reflexões. A figura 1 possui os parâmetros necessários para equacionar as perdas devido à difração tipo Gume de Faca.

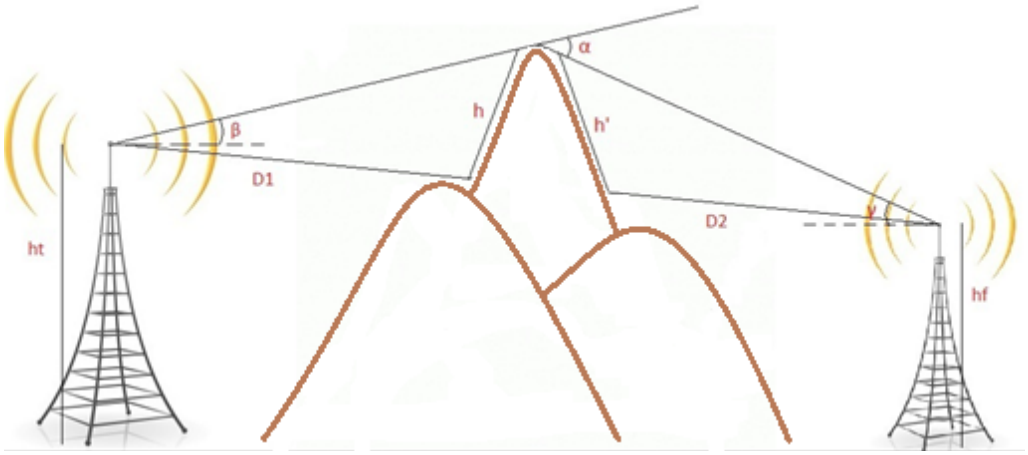


Figura 1: Representação gráfica da refração tipo "Gume de Faca".

A intensidade do campo elétrico E_d de uma onda difratada em gume de faca é dada pela equação (4), onde E_0 é a intensidade do campo no espaço livre na ausência do gume de faca, e $F(v)$ é a integral de Fresnel complexa.

$$\frac{E_d}{E_0} = F(v) = \frac{(1+j)}{2}.\int_v^{\infty} e^{\frac{-j\pi t^2}{2}} dt \tag{4}$$

onde v representa o parâmetro de difração adimensional de Fresnel-Kirchoff:

$$v = h\sqrt{\frac{2.(D1+D2)}{\lambda D1.D2}} \tag{5}$$

e, à partir de $F(v)$, define-se o ganho:

$$G_d(dB) = 20\log|F(v)| \tag{6}$$

Soluções aproximadas para a equação (6) são dadas para diferentes valores de v, conforme as expressões a seguir, representando as perdas devido ao efeito Gume de Faca.

$$G_d(dB) = 0 \qquad v \leq -1$$

$$G_d(dB) = 20\log(0{,}5 - 0{,}62.v) \qquad -1 \leq v \leq 0$$

$$G_d(dB) = 20\log(0{,}5.\exp(-0{,}95.v)) \qquad 0 \leq v \leq 1$$

Revisado pelo Orientador

$$G_d(dB) = 20\log\left(0{,}4 - \sqrt{0{,}1184 - (0{,}38 - 0{,}1.v^2)}\right) \qquad 1 \leq v \leq 2{,}4$$

$$G_d(dB) = 20\log(0{,}225/v) \qquad v > 2{,}4$$

Por fim, analisa-se o efeito da reflexão no solo sobre a potência recebida.

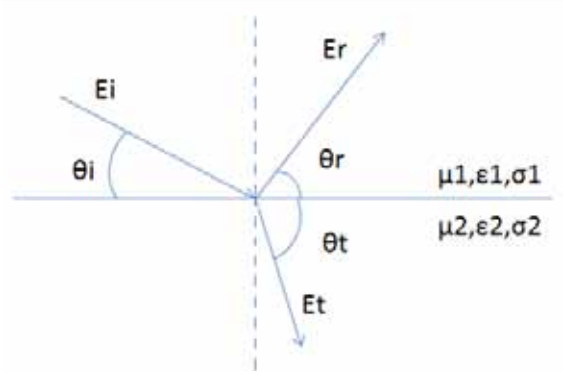


Figura 2: O feixe E_i é refletido em E_r e transmitido em E_t.

Pode-se determinar a potência refletida através da lei de Snell. O coeficiente de reflexão Γ é dado pela equação (7).

$$\Gamma = \frac{Er}{Ei} = \frac{\eta_2 sen\theta t - \eta_1 sen\theta i}{\eta_2 sen\theta t + \eta_1 sen\theta i} \tag{7}$$

onde η é a impedância intrínseca do meio.

Para o caso que o primeiro meio ser o espaço livre, $\eta_1 = \eta_2$. Desta forma a equação (7) pode ser simplificada para a equação (8):

$$\Gamma = \frac{-\varepsilon_r sen\theta i + \sqrt{\varepsilon_r - cos^2\theta i}}{\varepsilon_r sen\theta i + \sqrt{\varepsilon_r - cos^2\theta i}} \tag{8}$$

onde, ε_r é a permissividade elétrica relativa do meio.

Após descoberto o coeficiente de reflexão através da equação 4.8, tem-se a potência refletida.

$$Er = \Gamma . Ei \tag{9}$$

4 Antenas Adaptativas

As antenas adaptativas consistem em arranjos de antenas que podem ser utilizadas na estação base para ajustar o diagrama de radiação ao ambiente e à demanda de acesso ao sistema de comunicação. A figura 3 ilustra esse arranjo, onde os ganhos complexos p_i, i = 1,..., N, de cada antena são ajustados para que o diagrama de radiação

do conjunto concentre mais potência nas direções radiais de interesse, associadas às frentes de onda eletromagnéticas originadas pelos usuários móveis.

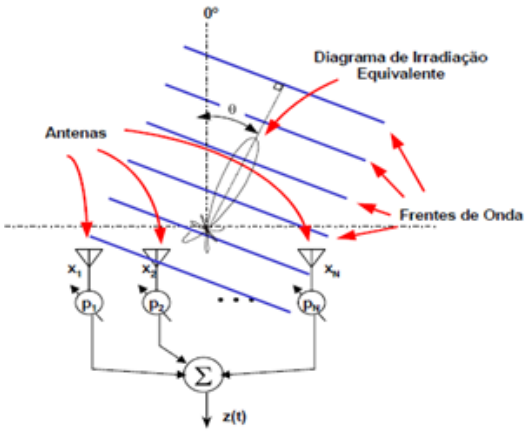


Figura 3: Esquema de adaptação das antenas inteligentes.

Os ganhos são otimizados através de algoritmos de processamento de sinais que estimam os ângulos de incidência das frentes de onda e efetuam conformação de feixe do diagrama de radiação nessas direções. Neste trabalho utilizou-se o conformador clássico (ou de atraso-e-soma, DS).

Considera-se que o sistema está sob a influência de ruído branco Gaussiano aditivo, inerente ao meio e inserido em cada elemento do arranjo. Sendo $n_M(t)$ o valor do ruído referente ao n-ésimo elemento e, em se tratando de um arranjo uniforme, sob efeitos de sinal originado por uma única fonte, as envoltórias complexas poderão ser modeladas conforme a equação 10.

$$\begin{bmatrix} x_1(t) \\ x_2(t) \\ \vdots \\ x_N(t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & \cdots & \cdots\ 1 \\ e^{-j\varphi_1} & e^{-j\varphi_2} & \cdots & e^{-j\varphi_K} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ e^{-j(N-1)\varphi_1} & e^{-j(N-1)\varphi_2} & \cdots & e^{-j(N-1)\varphi_K} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} y_1(t) \\ y_2(t) \\ \vdots \\ y_K(t) \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} n_1(t) \\ n_2(t) \\ \vdots \\ n_N(t) \end{bmatrix} \qquad \text{Equação 10}$$

Na equação 11 tem-se a representação da expressão anteriormente dada. X_N representa as frentes de ondas incidentes, $A_{NK}(\theta)$ é a matriz dos vários ângulos de chegada e sucessivas defasagens, $Y_K(t)$ juntamente com a matriz de ângulos formam as envoltórias complexas.

$$X_N = A_{NK}(\theta).Y_K(t) + N_N \qquad \text{Equação 11}$$

Revisado pelo Orientador

O vetor de dados resultante da amostragem ocorrida em cada elemento do arranjo, num dado instante de tempo, recebe o nome de matriz de *snapshots*. A equação matricial do arranjo linear uniforme com M snapshots consecutivos origina, então a equação 12.

$$Z_{NM} = A_{NK}(\theta).Y_{KM} + N_{NM} \qquad \text{Equação 12}$$

De posse das equações é possível verificar como se dá a saída do arranjo.

$$Z_M = P^H.X_N = \sum_{ii=1}^{N} p_{ii} *. x_{ii}(t) = x_1(t).\sum_{ii=1}^{N} p_{ii} *. e^{-j(ii-1).\varphi} \qquad \text{Equação 13}$$

O DS é a forma mais simples de implementação com arranjos de sensores, uma vez que todos os pesos são mantidos com valores constantes, para todas as condições de sinais incidentes. As fases atribuídas para os pesos são escolhidas de modo a direcionar a antena para uma dada posição de interesse, conhecida como direção de visada θ_0. Se designarmos $a(\theta_0)$ como sendo o vetor diretor na direção de visada, então o vetor de pesos assumirá a forma $W_{\text{cte}} = \frac{a(\theta 0)}{N}$, onde $_{\text{N}}$ é o numero de sensores.

5 Simulações

Através de modelagem matemática, foi possível criar um ambiente de simulação que se adequa às características do local escolhido (cidade de Pirenópolis). A primeira analise se deu sobre as perdas causadas pelas obstruções, e as perdas causadas pela propagação no espaço livre. Através da modelagem foi possível somar à potência de visada direta parte da potência que foi difratada devido à presença de obstáculos. Caso não houvesse o estudo do fenômeno da difração, teríamos regiões inteiras do mapa sem cobertura de sinal.

A tabela 1 apresenta os parâmetros que foram fixados para torna-se possível à simulação. Os parâmetros escolhidos se adequam perfeitamente ao ambiente escolhido, enfatizando o objetivo deste estudo, que é a máxima aproximação da realidade.

Revisado pelo Orientador

Tabela 1: Parâmetros utilizados para a simulação com perdas por difração.

Parâmetros fixados	
Coordenada Geodésica de Instalação da antena transmissora	Latitude = 15º51'09.07'' S Longitude = 048º57'29.48'' W
Altura da Antena (m)	30,00
Altura do Móvel (m)	1,50
Frequência (MHz)	900
Potência transmitida (dBm)	42,00
Perda nos conectores e cabos (dB)	5,00
Ângulos de chegada	10° 60° -80°
Quantidade de antenas	10

A figura 4 apresenta o relevo da cidade de Pirenópolis e entorno. A cor vermelha representa os pontos mais elevados da região que são em sua maioria, montes e montanhas e os pontos em azul escuro representam as menores altitudes.

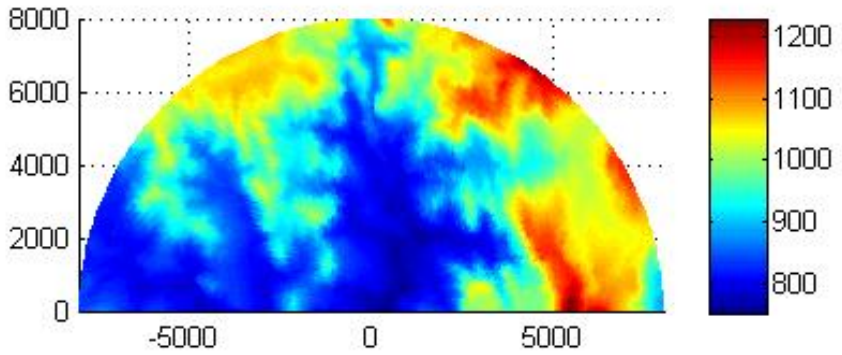


Figura 4: Relevo da cidade de Pirenópolis e entorno.

Através da simulação do relevo foi possível fixar uma antena omnidirecional no ponto central da circunferência (localização geodésica dada na tabela 1), a qual irradia a mesma potencia em todas as direções, para avaliar os pontos em que o nível de sinal recebido é mais baixo.

Revisado pelo Orientador

A figura 5 representa como se dá a cobertura de sinal promovida por uma antena omnidirecional considerando-se as perdas por obstrução e as perdas devido à propagação no espaço livre.

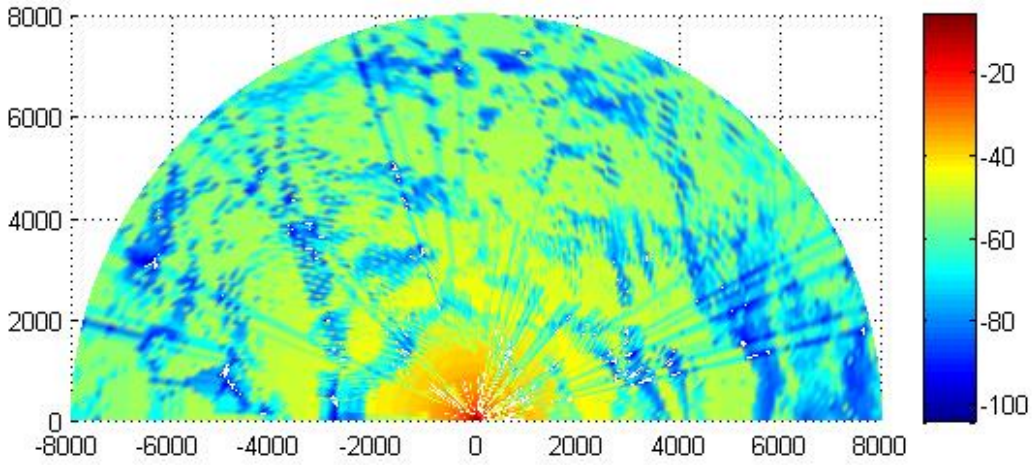


Figura 5: Sinal transmitido por uma antena isotrópica.

As manchas azuis são locais onde há uma menor intensidade de potência, e as em vermelho são onde há uma maior intensidade de potência. Identificou-se que as regiões de pior cobertura localizam-se nos azimutes 10°, 60° e -80°. O que ocorre nessas direções é que há uma grande perda de potência, que são mais afetadas pelo relevo montanhoso. Assim, para cobrir melhor essas regiões, propõe-se o uso de um arranjo de 10 antenas (ver tabela 1), configurado para conformação de feixes de maior potência nos azimutes citados.

A figura 6 representa o diagrama de radiação do arranjo de antenas para a situação estabelecida. Na verdade, com este arranjo é possível efetuar o processamento do sinal recebido na estação base, identificando as direções de incidência de frentes de onda, denominadas de ângulos de chegada (ver tabela 1). Após a identificação desses ângulos, efetua-se a conformação de feixe de maior potência nas direções por eles indicadas, as quais recebem uma quantidade maior de radiação. Novas simulações foram realizadas com o arranjo de antenas e a cobertura obtida pode ser vista na Figura 7.

Revisado pelo Orientador

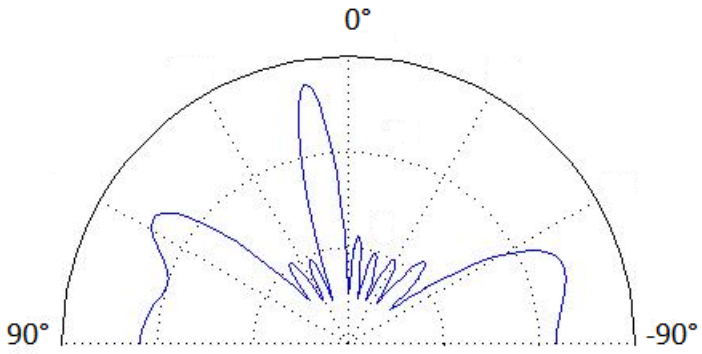


Figura 6: Diagrama de radiação do arranjo de antenas. Os ganhos são maiores nas direções de -80° 10° e 60°.

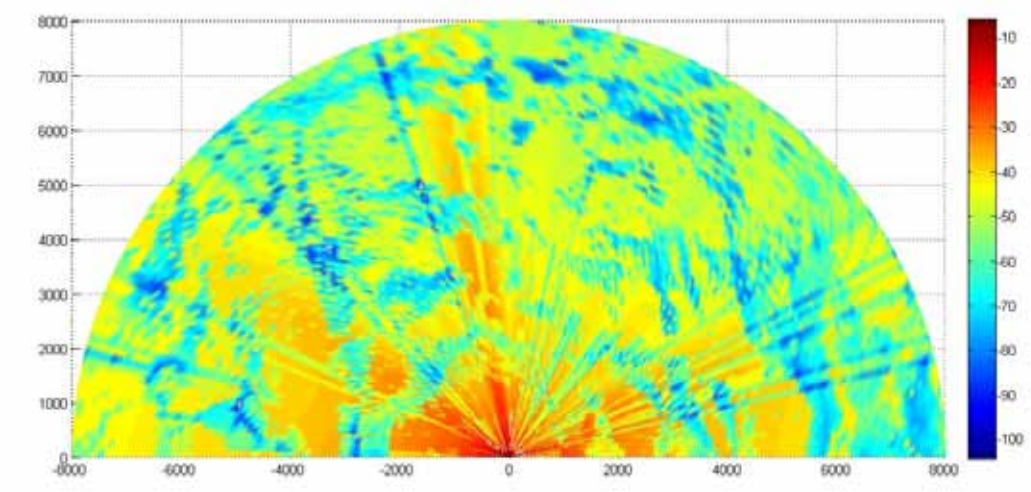


Figura 7: Cobertura da cidade de Pirenópolis utilizando o arranjo de antenas proposto.

Para avaliar a direção de incidência das frentes de ondas sobre o arranjo de antenas, efetuou-se uma segunda análise, medindo-se a potência recebida pela antena devido a reflexões no solo e em obstáculos entre o móvel e a antena. Esses sinais refletidos podem confundir a estimação dos ângulos de chegada e, consequentemente, produzir a conformação de feixe em direções erradas. O móvel foi posicionado a uma distância de 3,477 Km da estação base, irradiando uma potência de 29dB. A intenção do estudo é que o arranjo de antenas identifique a presença de um móvel, e direcione maior ganho para sua posição. Porém a única potência a ser reconhecida é a que sofre reflexão e converge para estação base.

A simulação feita pode ser vista na figura 8. A potência das ondas refletidas que chegam à estação base é da ordem de -150 dBm. Porém, neste valor é impossível a detecção da presença do móvel, sendo necessária uma potência de no mínimo -110 dBm.

Revisado pelo Orientador

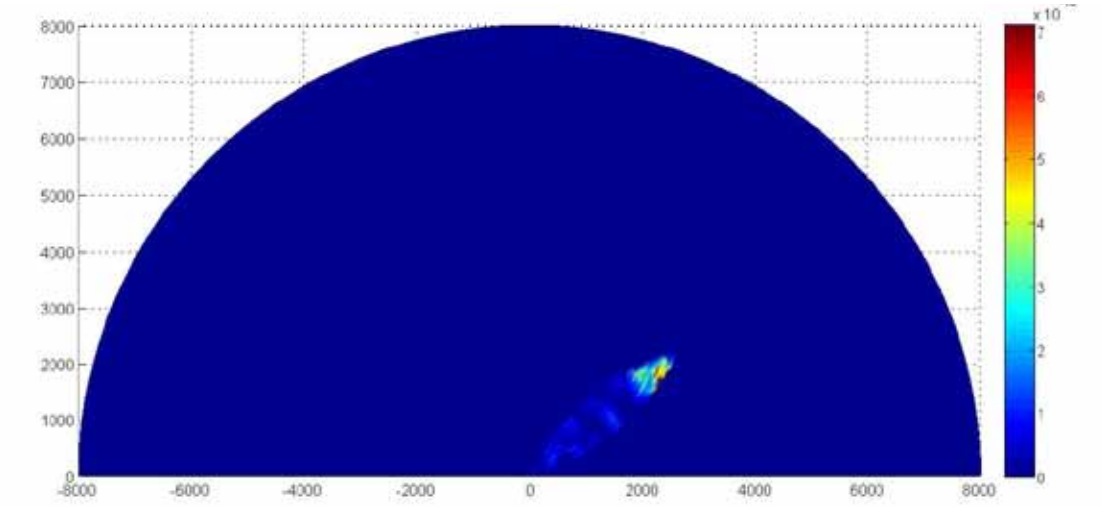


Figura 8: Pontos de reflexão entre móvel e antena e respectivo nível de sinal.

Para o cenário em questão, o principal refletor é o solo, pois os dados da ANATEL não incluem os edifícios da zona urbana. À partir dos gráficos de cobertura apresentados, observa-se que a potência de visada direta é muitíssimo superior à refletida. Com isso, observou-se que esse tipo de refletor afetou pouco a direção de incidência das frentes de onda sobre o arranjo. Caso este mesmo estudo fosse feito em uma região urbana adensada, com inúmeros prédios, e com um mapa digital que os levasse em conta, poder-se-ia encontrar um resultado diferente, com maior potência refletida que influenciasse na estimação da direção de chegada.

A figura 9 representa a potência recebida na antena, acumulada a cada azimute e normalizada pela potência máxima. Observa-se que a máxima potência incidente está no azimute do móvel, indicando ser a potência de visada direta a mais significativa e que a direção de chegada estima o azimute de localização do móvel para fins de conformação de feixe.

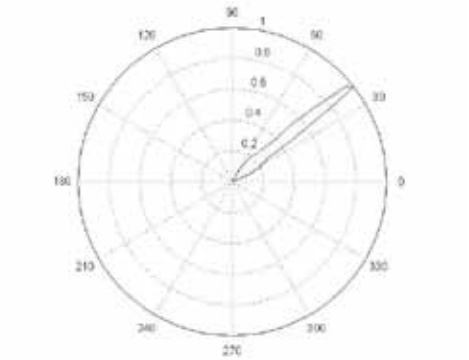


Figura 9: Diagrama de recepção da potência refletida

Revisado pelo Orientador

6 Conclusões

Com o grande desenvolvimento da tecnologia de comunicação sem fio, o interesse nas antenas adaptativas aumentou muito nos últimos anos. A partir desse fato foi feito um estudo utilizando antenas adaptativas nos ambientes urbano e rural. As simulações utilizando arranjo de antenas evidencia a melhoria de sinal promovida por este mecanismo inteligente de adaptação.

Grande parte das antenas empregadas são omnidirecionais, que são ineficientes e ineficazes para dadas situações. As antenas diretivas não só concentram maior radiação para determinada direção, como também, dependendo do algoritmo de processamento utilizado na estação base, podem promover nulos de radiação na direção dos sinais interferentes.

O ponto forte desta análise se dá pelo algoritmo utilizado que calcula as perdas no espaço livre, perdas promovidas pelo ambiente urbano e principalmente as perdas causadas pelos obstáculos naturais. O algoritmo para o cálculo da refração proporcionou o aspecto real da propagação das ondas eletromagnéticas transmitidas pela estação base. E a utilização da reflexão para medir a relevância da potência refletida.

Como continuidade deste estudo propõe-se sua aplicação a ambientes urbanos, com prédios e corredores. Um ponto sensível desta análise foi a não exploração máxima da reflexão, uma vez que os principais pontos refletores se davam no solo. Em um ambiente urbano teríamos reflexões em superfícies planas, aumentando assim a significância da potência refletida, o que poderia ser usado para contornar obstáculos.

Referências Bibliográficas

[1] AGÊNCIA NACIONAL DE TELECOMUNICAÇÕES. *Sítio da Agência Nacional de Telecomunicações*. Disponível em: http://www.anatel.gov.br. Data de acesso: 23 de outubro. 2012.

[2] PUTTINI, S. B. *Emprego de Antenas Adaptativas Para Estimação de Dados em Ambientes CDMA*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Elétrica, Departamento de Engenharia Elétrica, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2006.

Revisado pelo Orientador

[3] QUEIROZ, C. R.; JÚNIOR, G. A.. *Predição de Cobertura Celular na Cidade de Pirenópolis Utilizando os Modelos de Propagação Hata e Espaço Livre*. Universidade Federal de Goiás.

[4] QUEIROZ, C. R.; LEMOS R.P.; JÚNIOR, G. *A..Emprego de Conformação de Feixe na Cobertura de Telefonia Móvel Celular na cidade de Pirenópolis*. Universidade Federal de Goiás.

[5] RAPPAPORT, Theodore S. *Comunicações sem fio: Princípios e Práticas* 2° ed. 2009. Tradução Daniel Vieira (Wireless communications : principles and practice).

[6] BOAVENTURA, A. M. S. *Avaliação de Metódos de Estimação da direção de Chegada de Sinais em Sistemas de Comunicações Celulares*. Departamento de Engenharia Elétrica da PUC-RJ, 1998.

[7] ALVES, C. A. *Análise Teórica e Experimental de Métodos de Estimação de DOA e de Estimação de Freqüência com Alta Resolução*. Tese de Doutorado em Engenharia Elétrica, Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2004.

[8] FERREIRA, Y. R.; LEMOS, R. P. *A New DOA Estimation Algorithm Based on Angle Search Through the Difference Between the Principal Singular Values*, Int. Symp. on Sig. Proc. and Its App. 2005 (ISSPA 2005), Sydney-Australia, vol. 1. p. 283-286, 2005.

[9] GODARA, L. C., *Application of Antenna Arrays to Mobile Communications, Part II: Beamforming and Direction-of-Arrival Considerations*, Proc of IEEE, vol 85, No. 8, Agosto 1997.

[10] H. V. L. e SILVA, R. P. LEMOS, Y. R. FERREIRA e L. G. R. GUEDES, "*A Branch-and-Cut Based Technique to Improve the Computational Efficiency of DOA Estimation*", *Signal Processing*, Elsevier, 2012 (submetido).

[11] P. STOICA e K. SHARMAN, "*Maximum Likelihood Methods for Direction of Arrival Estimation*", *IEEE Transaction on Acoustics, Speech and Signal Processing*, vol. 38, pp. 1132-1143, Julho1990.

Revisado pelo Orientador

VALIDANDO MODELOS DE DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES EM ÁREAS DE CERRADO

Igor Cesar Caliman[1]; Paulo De Marco Júnior[2];

[1]igorccaliman@hotmail.com [2]pdemarco@pq.cnpq.br;

Instituto de Ciências Biológicas - Departamento de Ecologia

Palavras Chave: Odonata, Modelos de Distribuição de espécies, Validação

Revisado pelo Orientador

INTRODUÇÃO

A modelagem de distribuição potencial de espécies (MDE) representa um conjunto de técnicas e algoritmos desenhados para predizer a distribuição geográfica de espécie a partir de pontos conhecidos de sua ocorrência e das variáveis ambientais nesses pontos (DE MARCO JR & SIQUEIRA, 2009). É geralmente reconhecido que a MDE tem se desenvolvido de forma extraordinária nos últimos 6-7 anos principalmente devido à disponibilidade de dados ambientais em largas escalas e a disponibilidade de bancos de dados de distribuição de espécies. No entanto, uma das principais razões do avanço das técnicas e da frequência de seu uso está em sua extrema utilidade para predizer a ocorrência de espécies raras ou ameaçadas em estudos de biologia de conservação ou de completar vazios de conhecimento biogeográfico em áreas pouco conhecidas como a Amazônia ou partes do Cerrado brasileiro (DE MARCO JR, 2012).

Dos avanços recentes importantes destaca-se uma maior preocupação na acurácia das estimativas desses modelos e uma busca de validação com dados independentes dos que foram usados para a construção do modelo (KAMINO et al., 2011). Apesar de relatado várias vezes na literatura, esses procedimentos não foram muitas vezes avaliados sob esse ponto de vista. Algumas dificuldades nesse tipo de avaliação estão na necessidade de levantamentos padronizados e comparáveis, além de uma especial preocupação na detectabilidade das espécies. De fato, se a presença das espécies é algo bem definido, a ausência estimada em uma localidade é sujeita a grandes erros de estimativa.

O Cerrado é uma vegetação do tipo savânica com fitofisionomias campestres, savânicas e florestais, caracterizada por um clima sazonal com fortes chuvas durante

curtos períodos e intensas secas (RIBEIRO; WALTER, 1998). Os mesmos autores acrescentam que os solos do cerrado são na sua maioria pobres em nutrientes e que o bioma ocupa aproximadamente 22% do território brasileiro, ocupando as regiões centro-oeste, sudeste e nordeste (RIBEIRO; WALTER, 1998). Com isso possuímos uma ótima oportunidade para analisar os padrões de distribuição espacial da biodiversidade, possibilitando testar como essa biodiversidade responde a efeitos de variáveis identificáveis em diferentes escalas geográficas, visto que a teoria ecológica prediz que diferentes variáveis devem ter papel importante na organização das comunidades em escalas geográficas locais, regionais e globais.

As espécies da ordem Odonata são muito diversas em sistemas tropicais com muitas espécies associadas a riachos, e incluindo duas subordens -- Anisoptera e Zygoptera -- com diferentes capacidades de dispersão ligadas a seus padrões ecofisiológicos. Os representantes da subordem Anisoptera apresentam maior tamanho corporal e consequentemente maior capacidade de dispersão que os da subordem Zygoptera (CORBET 1999). Essa separação reflete diferenças ecológicas importantes e que podem afetar sua detecção em levantamentos padronizados.

O conhecimento atual da distribuição de Odonata no Brasil é pouco conhecido, onde aproximadamente 29% do território brasileiro apresentam dados sobre a riqueza. Com isso é sugerido um maior esforço amostra para Odonata (DE MARCO JR & VIANA, 2005). Além disso, a existência de levantamentos padronizados de comunidades de Odonata é um fato muito recente com os primeiros estudos desse tipo iniciando em áreas amazônicas na década de 90 (DE MARCO JR 1998), e uma série de estudos na Mata Atlântica com utilizando sempre uma metodologia similar (PAIVA; DE MARCO JR e RESENDE, 2009).

Apenas nos últimos anos temos levantamentos similares em áreas de Cerrado que permitem uma avaliação desses modelos (CARVALHO; SILVA-PINTO, N.; OLIVEIRA JUNIOR; JUEN, 2013). Portanto, só agora seria possível utilizar desses levantamentos para uma avaliação mais completa e que permita ter estimativas de ausência local com esforço conhecido.

OBJETIVOS

Nesse estudo avaliei a acurácia na predição da presença de espécies de Odonata em riachos a partir de um algoritmo de MDE mais comumente usado na literatura. As principais hipóteses foram: 1) espécies com maior número de registros, ou seja, com seu nicho ecológico possivelmente mais bem descrito, apresentarão melhores níveis de predição e 2) Modelos melhores ajustados, produzem predições melhores. Além disso, buscamos interpretar os erros de omissão e sobreprevisão que foram observados buscando avaliar se diferenças entre espécies podem ajudar a entender essas diferenças.

MÉTODOS

Procedimentos de modelagem

Os dados de ocorrência das espécies foram retirados do banco de dados de distribuição de Odonata do Laboratório de Ecologia Teórica e Síntese (LETS – Universidade Federal de Goiás). Esse banco de dados foi utilizado em artigos recentes (NÓBREGA & DE MARCO JR, 2011) e inclui os registros de ocorrência advindos da literatura e de vários museus e coleções particulares brasileiras. Além disso, incluímos nessa análise, novos dados de ocorrência de projetos recentes ainda não publicados em

áreas Amazônicas e no Cerrado de Goiás e Mato Grosso. . Assim, esse banco de dados compreende registros de distribuição de praticamente todas as espécies conhecidas no Brasil para todo o terrtório nacional.

As espécies escolhidas foram aquelas que possuíam registros em cinco ou mais pontos, de acordo com os registros no banco de dados. No final do processo foram modeladas 377 espécies de Odonata registradas no banco de dados.

Os dados ambientais foram retirados do WordCLIM, e incluem 19 variáveis climáticas comumente utilizadas nos estudos de modelagem recente. Um problema, no entanto, é que esse conjunto de variáveis preditoras contém uma grande quantidade de colinearidade que pode ter um efeito negativo no ajuste dos modelos. Por isso, de acordo com um trabalho recente DE MARCO JR & NÓBREGA (em processo de submissão), utilizamos uma análise de componentes principais desses dados ambientais seguindo procedimento padrão baseados em matriz de correlação. Os primeiros seis eixos foram selecionados para as análises e representam pouco mais de 95% da variação nas variáveis originais. Os escores desses eixos foram utilizados como variáveis ambientais para a modelagem.

O método utilizado nesse estudo foi o MAXENT, que tem sido considerado dentro os mais efetivos em MDE (ELITH et al. 2006). MAXENT é uma técnica que necessita apenas dos dados de ocorrência das espécies para a formulação do modelo (ELITH et al. 2011). Consiste na estimativa da distribuição de probabilidades sob a restrição de que os valores esperados para cada variável ambiental estejam de acordo com o observado nos pontos de ocorrência. Isso equivale a encontrar uma função das variáveis ambientais de máxima entropia, mas próxima da distribuição uniforme, sob a

restrição gerada pela distribuição das variáveis ambientais nos pontos de ocorrência (ELITH et al. 2011).

Para converter a adequabilidade em presença/ausência, utilizamos o limite com conhecido na literatura especializada como LPT (Least-presence training – menor valor observado nos dados de treino) que visa minimizar a taxa de omissão do modelo. Essa escolha se justifica no presente estudo visando maximizar as taxas de acerto comparando com os inventários de campo. Para avaliação dos modelos do MAXENT, foi utilizada a técnica ROC, para que a sensibilidade do modelo fosse definida pela proporção de ausências geradas aleatoriamente (pseudo-ausências) em relação às ausências preditas. A área abaixo dessa curva é conhecida como AUC e serve para avaliar o modelo independente do limite escolhido. Um valor igual a 0,5 para o AUC significa que o modelo não é eficaz (DE MARCO JR & SIQUEIRA, 2009). E valores superiores a 0,7 comumente considerados aceitáveis. Considerando algumas críticas existentes ao AUC (LOBO et al 2008), nós também utilizamos o TSS (True Skill Statistics) que é considerado um eficiente método dependente dos limites de decisão binária por ser menos sensível à prevalência (ALLOUCHE 2006).

Inventário local de fauna

Amostras quantitativas da comunidade de Odonata em locais de Niquelândia e Barro Alto. Foram amostrados 41 locais (Tabela 1) utilizando uma metodologia padronizada já utilizada em outros estudos (DE MARCO JR 1998; SILVA, DE MARCO, RESENDE 2010; JUEN & DE MARCO JR 2011). O procedimento consiste em selecionar um trecho de riachos de primeira a terceira ordem, normalmente com

menos de 1,5m de largura, que é dividido em 20 segmentos de 5m. Varreduras contando o número de indivíduos de cada espécie são feitas a intervalos de 15 minutos no período de 10:00 às 15:00. Esse período foi selecionado por representar o horário de pico de atividade da maioria das libélulas. A varredura é feita por coletores já experientes com a fauna local, mas indivíduos de espécies de difícil identificação (frequentemente espécies de menor tamanho corporal dentre o grupo Zygoptera, mas também vários gêneros de Libellulidae) são coletados e identificados em laboratório por comparação com a coleção de referência do Laboratório.

Análises estatísticas

Considerando a variedade de possibilidades de métodos de validação de modelos, foi utilizado aqui o método mais simples e direto conhecido em estatística inferencial como reta de calibração. Essa análise consiste simplesmente de uma regressão simples entre o observado e o esperado de acordo com o modelo. No entanto, como nosso objetivo consistia também em avaliar as diferenças de eficiência entre espécies, nós calculamos a proporção dos pontos originais em que a espécie foi coletada em nosso estudo de campo como estimativa do "observado" e a mesma proporção para os resultados da modelagem como estimativa do "predito" para cada espécie. Uma relação linear entre esses dois componentes significa que o modelo prediz corretamente a ocorrência relativa das espécies. Espécies que se afastarem de uma reta de regressão podem ser interpretadas em relação à intensidade em que são omitidas ou sobre-preditas pelo modelo.

Tabela 1 – Localidade dos pontos onde foram realizadas as coletas.

Município	Localidade	Ambiente	Longitude	Latitude
Parque Chapada dos Viadeiros	Buritis_Papagaios	Campo	-47,631389	-14,076667
Parque Chapada dos Viadeiros	Fadinha	Campo	-47,641389	-14,185556
Parque Chapada dos Viadeiros	Fundo	Campo	-47,731667	-14,114167
Niquelândia	Barro Altorreiro_Projeto_12	Cerrado	-48,696667	-14,397778
Parque Chapada dos Viadeiros	Buraquinho	Cerrado	-47,651667	-14,151111
Parque Chapada dos Viadeiros	Cachoeira_Cristais	Cerrado	-47,494722	-14,098889
Niquelândia	N14_Ponte_Rosariana	Cerrado	-48,355000	-14,181111
Parque Chapada dos Viadeiros	Pouso_Alto	Cerrado	-47,230556	-14,031111
Parque Chapada dos Viadeiros	Preguica	Cerrado	-47,833056	-14,160000
Parque Chapada dos Viadeiros	Raizama	Cerrado	-47,837500	-14,202500
Parque Chapada dos Viadeiros	Rio_Preto	Cerrado	-47,520833	-14,001111
Barro Alto	S24	Cerrado	-48,963889	-15,050556
Parque Chapada dos Viadeiros	V_Lua	Cerrado	-47,787778	-14,185000
Parque Chapada dos Viadeiros	Alianca	Mata	-47,632500	-14,212778
Parque Chapada dos Viadeiros	Barro Altorro_Vermelho	Mata	-47,775833	-14,163333
Niquelândia	JJ	Mata	-48,707500	-14,434722
Niquelândia	Lage	Mata	-48,700000	-14,378056
Niquelândia	Lagoa_Sta._Luzia_VI	Mata	-48,719722	-14,447778
Niquelândia	Recanto	Mata	-48,345278	-14,130833
Barro Alto	S08	Mata	-48,973889	-15,088333
Barro Alto	S23	Mata	-48,954167	-15,033056
Barro Alto	S03	Mineração	-49,027500	-15,111667
Barro Alto	S07	Mineração	-48,991944	-15,089167
Parque Chapada dos Viadeiros	Assentamento	Pasto	-47,595000	-14,321667
Parque Chapada dos Viadeiros	Dimas	Pasto	-47,534444	-14,286944
Parque Chapada dos Viadeiros	Fazenda_S_Bento	Pasto	-47,585556	-14,159722
Niquelândia	Nascente_Castelo_X	Pasto	-48,716944	-14,278056
Parque Chapada dos Viadeiros	Nilmar	Pasto	-47,873889	-14,206667
Parque Chapada dos Viadeiros	Buritis_Papagaios	Campo	-47,631389	-14,076667
Niquelândia	Pasto	Pasto	-48,733611	-14,510833
Niquelândia	Pasto_II	Pasto	-48,523611	-14,463611
Niquelândia	Pasto_III	Pasto	-48,710556	-14,513611
Barro Alto	S04	Pasto	-48,986111	-15,068611
Barro Alto	S17	Pasto	-48,949167	-15,070833
Barro Alto	S25	Pasto	-48,950556	-15,015278
Parque Chapada dos Viadeiros	Estiva	Vereda	-47,716111	-14,136389
Parque Chapada dos Viadeiros	Ingleses	Vereda	-47,765278	-14,134722
Parque Chapada dos Viadeiros	Mulungu	Vereda	-47,649167	-14,111111
Barro Alto	S12	Vereda	-48,926389	-15,085000
Barro Alto	S15	Vereda	-49,039722	-15,096944
Niquelândia	Vereda	Vereda	-48,753333	-14,407500

RESULTADOS

Foram utilizados 22468 registros dentro de 377 espécies para uma melhor predição do modelo. Para testar nosso primeiro objetivo que dizia que espécies com maior número de registros teriam melhores níveis de predição do modelo, foi montado um gráfico expondo a relação entre o número de ocorrência da espécie e o valor do AUC que indica a eficácia do modelo.

Para todas as observações das espécies, mesmo com número de ocorrências distintos, os resultados de AUC foram superiores ao limiar aceitável (0,70; Fig. 1). Isto sugere que o modelo apresenta resultados satisfatórios, mesmo diante de um número de ocorrências pequeno.

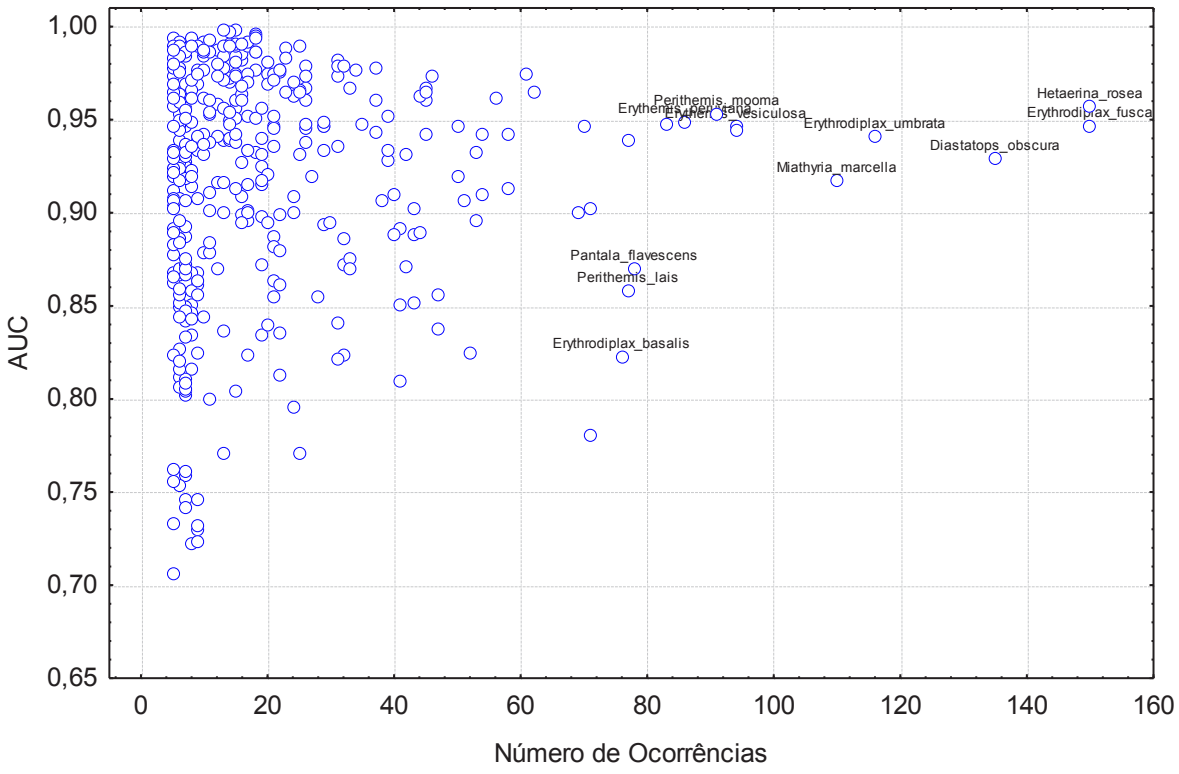


Figura 1 – Relação entre o número de ocorrência de cada espécie e o valor do AUC estimado para os modelos produzidos pelo Maxent.

Com um modelo confiável podemos então comparar os registros das espécies observadas com os valores que o modelo indicou. Com essa comparação, ressaltamos a ocorrência de erros por sobprevisão e também por sobreprevisão, ou seja, o modelo não previu a espécie onde essa foi observada e previu espécies onde não foram observadas, respectivamente (Fig. 2).

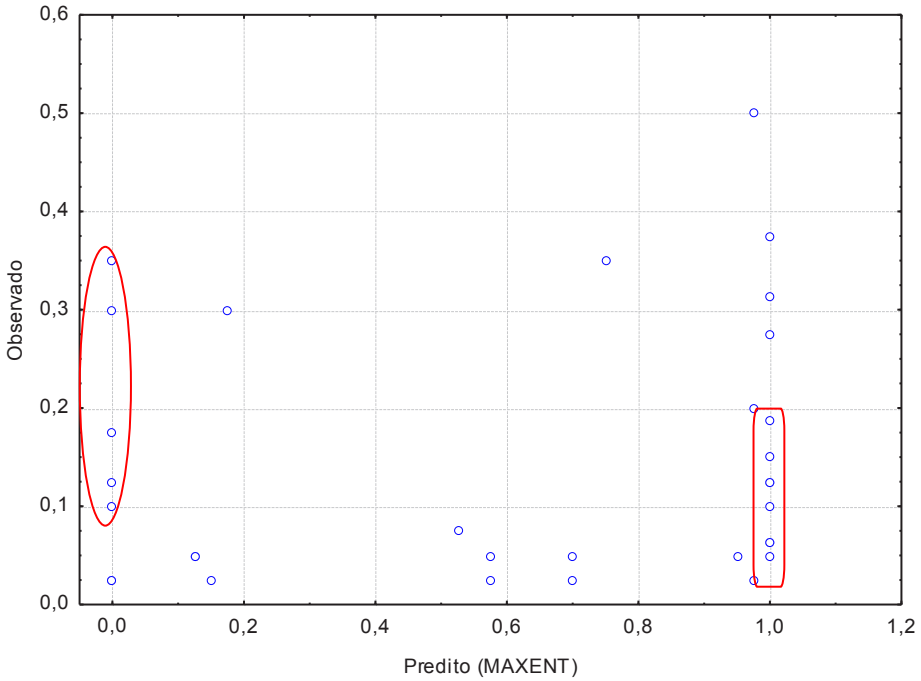


Figura 2 – Análise de calibração dos modelos gerados mostrando a relação entre a proporção de locais onde as espécies foram observadas e essas mesmas proporções predita pelo modelo Maxent. Cada ponto representa uma das espécies modeladas. Apenas espécies observadas em nossos estudos de campo foram apresentadas nessa figura.
modelo.

Como o modelo tende a apresentar vícios de sobreprevisão ou sobprevisão, devemos confrontá-lo com os dados empíricos (dados coletados) e o AUC, que é a medida de quão bem ajustado ao mundo real um dado modelo é (Fig. 3).

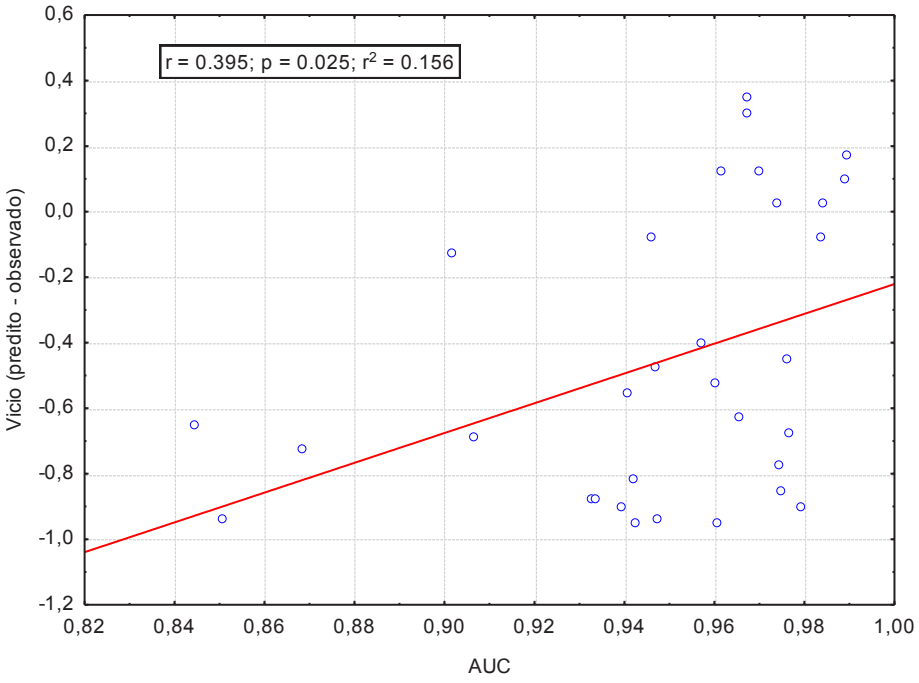


Figura 3 – Gráfico mostrando a relação do vicio do modelo e o AUC.

Quando observamos os erros de sobprevisão, que ocorrem quando o valor observado é maior que o predito pelo modelo, encontramos valores negativos para o vicio. Nos erros de sobreprevisão, observamos valores positivos para o vicio,pois o número de ocorrências predito pelo modelo é maior que os dados observados em campo. A alta variação do vicio para os modelos com um AUC próximo de um tem explicação no número de ocorrências observadas das espécies (Fig. 4). Como a figura ilustra, os valores do vicio apresentam alta variação quando o número de ocorrências da espécie é relativamente baixo. Isso sugere que bons e maus modelos estão sendo produzidos com um número de ocorrência relativamente semelhantes. A única maior diferenã entre o conjunto de espécies com valores de vício próximos de zero para aqueles com vícios negativos está na maior quantidade de espécies de Odonata de maior tamanho corporal do grupo Libellulidae no último grupo (e.g. *Orthemis discolor*, *Erythrodiplax juliana*, *E. latimaculata*). Todas essas espécies são, no entanto, muito mais associadas a lagos ou poças do que a riachos.

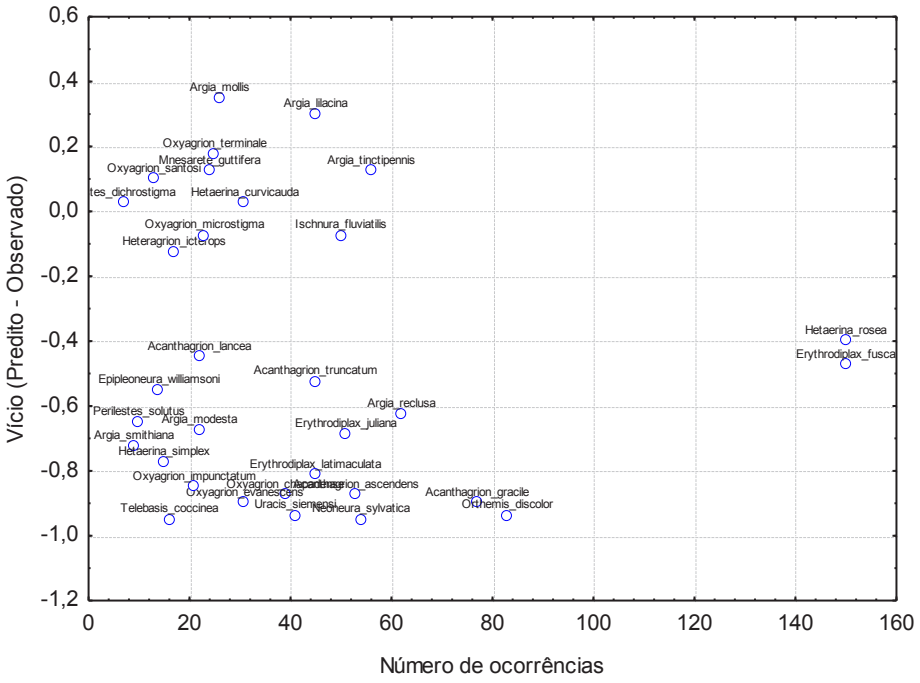


Figura 4 – Gráfico mostrando a relação do vicio do modelo com o número de ocorrência das espécies.

DISCUSSÃO

O modelo apresentou ajuste positivo e maior poder de predição quando o número de observações empíricas aumentou. De acordo com os resultados observados, o poder de previsão aumenta proporcionalmente ao aumento de registros, ou seja, em relação ao conhecimento da distribuição de uma dada espécie. Entretanto, quando os dados de distribuição são poucos ou a história natural da espécie é relativamente menos conhecida, a capacidade de previsão do modelo muda substancialmente, diminuindo a capacidade de prever corretamente as ocorrências.

A utilização de dados amostrais permite, ao ser relacionado com os valores do AUC, encontrar a eficácia do modelo ecológico. Com tudo, a baixa qualidade dos dados

pode acabar prejudicando as estimativas do modelo (WARREN & SEIFERT, 2011). Como observamos no modelo trabalhado, onde a baixa ocorrência de algumas espécies acarretou um vicio para o modelo.

Parte dos erros de sobre-previsão podem ser explicados com base na história natural das espécies. As espécies de Libellulidae *O. discolor*, *E. juliana* e *E. latimaculata* e mesmo *E. fusca*, são espécies características de lagos, e só vão ocorrer em riachos se esses tiverem remansos. Essas espécies são de águas lênticas e não lóticas. Por isso, podem ter sido sub amostradas em alguns riachos onde as regiões com água represada fossem escassas. O conhecimento sobre história natural e seleção de habitats para espécies de Cerrado é, no entanto, ainda muito incipiente para se desenvolver argumentos semelhantes para a maioria das outras espécies avaliadas.

Os resultados mostram um desempenho fraco dos modelos distribuição. No entanto, é possível que parte deste desempenho seja resultado de (a) erros amostrais (b) efeitos de alterações ambientais locais afetam a construção da comunidade local, excluindo espécies presentes regionalmente, mas que não conseguem colonizar o local. No primeiro caso, a amostragem de espécies que usam outros horários de atividade e não os da amostragem (e.g espécies da família Gomphidae tendem a voar apenas no final da tarde) pode ser viciada. Da mesma forma, algumas espécies de pequeno tamanho corporal ou com comportamento menos conspícuo podem ser sub-amostradas localmente. No entanto, o esforço de coleta foi padronizado nesse estudo e a repetição das coletas nos mesmos locais tende a retirar esse tipo de vício (Almeida, Silva & De Marco, dados não publicados). Por fim, o efeito das alterações ambientais pode ter um impacto importante em algumas áreas amostradas próximo a mineração em Niquelândia e Barro Alto, mas pequeno efeito nas áreas mais preservadas do Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros.

Para que o modelo apresente um desempenho melhor, novas áreas com coletas padronizadas precisam ser adicionadas para aumentar a abrangência da validação desses modelos. Nossos resultados sugerem que aumentando os dados de ocorrência das espécies representando com mais eficiência os locais de coleta, vão diminuir os vícios do modelo. Em especial. São necessários mais levantamentos em áreas bem conservadas para que se possa desenvolver uma validação que sofre menos os efeitos das perturbações ambientais no ambiente atual.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLOUCHE, O; TSOAR, A; KADMON, R. (2006) Assessing the Accuracy of Species Distribution Models: Prevalence, Kappa and the Skill Statistic (TSS). *Journal of Applied Ecology, v. 43, p. 1223-1232.*

CARVALHO, F; SILVA-PINTO, N; OLIVEIRA JUNIOR, JMB; JUEN, L. (2013) Effects of Marginal Vegetation Removal on Odonata Community. *Acta Limnológica Brasiliensia, v. 25, p. 0000.*

CORBET, PS. (1999) Dragonflies: Behavior and Ecology of Odonata. *1 st ed. Comstock Publ. Assoc. Ithaca, NY.*

ELITH, J; GRAHAM, CH; ANDERSON, RP; et al.(2006) Novel Methods Improve Prediction of Species' Distributions From Occurrence Data. *Ecography v. 29, p. 129-151.*

ELITH, J; PHILLIPS, SJ; HASTIE, T; et al. (2011) A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and Distributions v. 17, p.43–57.*

DE MARCO JR, P. (1998) The Amazonian Campina Dragonfly Assemblage: Patterns In Microhabitat use and Behaviour. *Odonatologica, v. 27, p. 239-248.*

DE MARCO JR, P. (2012) Exploring Current Challenges for Models of Species Distribution and Ecological Niches. *Natureza & Conservação, v. 10(2), p. 99-101.*

DE MARCO JR, P; DE SIQUEIRA, Marinez Ferreira. (2009) Como determinar a distribuição de espécies sobre uma abordagem conservacionista. *Megadiversidade (Belo Horizonte), v. 5, p. 65-76.*

DE MARCO JR, P; VIANNA, Dana Moiana. (2005) Distribuição do esforço de coleta de Odonata no Brasil: subsídios para escolha de áreas prioritárias para levantamentos faunísticos. *Lundiana, Belo Horizonte, v. 6, n.supplement, p. 13-26.*

JUEN, L. & DE MARCO JR, P. (2011) Odonate biodiversity in terra-firme forest streams in Central Amazonia: On the relative effects of neutral and niche drivers at small geographical extents. *Insect Conservation and Diversity.*

KAMINO, LHY; Stehmann, JR; Amaral, S; De Marco Jr, P; Rangel, TF; de Siqueira, MF; De Giovanni, R; Hortal, J. (2011) Challenges and Perspectives for Species Distribution Modelling In The Neotropics. *Biology Letters , v. 24, p. 0-00.*

LOBO, JM; JIMÉNEZ-VALVERDE, A; REAL, R. (2008) AUC: A Misleading Measure of the Performance of Predctive Distribution Models. *Global Ecology and Biogeography, v. 18, p. 145-151.*

NÓBREGA, Caroline C; DE MARCO JR, P. (2011) Unprotecting The Rare Species: A Niche-Based Gap Analysis for Odonates In a Core Cerrado Area. *Diversity and Distributions, v. 17, p. 491-505.*

RIBEIRO, JF; WALTER, BMT. (1998) Fitofisionomias do Bioma Cerrado. *SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de. (Ed.). Cerrado: ambiente e flora, p. 87-166.*

SILVA, DP; DE MARCO JR, P; RESENDE, DC. (2010) Adult Odonate Abundance and Community Assemblage Measures as Indicators of Stream Ecological Integrity: A Case Study. *Ecological Indicators, v. 10, p. 744-752.*

WARREN, DL; SEIFERT, SN. (2011) Ecological Niche Modeling in Maxent: The Importance of Model Complexity and the Performance of Model Selection Criteria. *Ecological Applications, v. 21(2), p. 335-342.*

Modelagem por Homologia de Septinas do Grupo I

Oliveira, I. M.[1]; Marques, I. A.[2]

Universidade Federal de Goiás, Instituto de Física, Goiânia, GO, Brasil

Igor.oliviera.1992@hotmail.com (Orientado)[1]; ivo@if.ufg.br (Orientador)[2]

Resumo

Septinas constituem uma conservada família de proteínas de ligação a nucleotídeos de guanina. Existem pelo menos catorze genes conhecidos para septinas de mamífero. As proteínas desta família podem, genericamente, ser divididas em três domínios distintos: um domínio N-terminal variável, um domínio central GTPase e um domínio C-terminal, o qual em geral apresenta uma região em *coiled-coil*. Baseado na similaridade seqüencial das proteínas, os membros da família podem ser divididos em quatro grupos. Particularmente, o Grupo I (septinas 3, 9 e 12), ao contrário dos outros grupos, tem predição de não possuírem região de *coiled-coil*. Atualmente, existe um baixo conteúdo de estudos biofísicos com septinas reportados na literatura científica. É importante também enfatizar a não existência de estruturas cristalográficas de septinas à alta resolução (abaixo de 2,5Å). Uma vez que existe apenas uma estrutura cristalográfica para septinas do grupo I, a estrutura da septina 3, usamos esta como molde e obtivemos modelos por homologia para as septinas 9 e 12. Observamos nos modelos o dobramento característico das proteínas da família, 6 α-hélices empacotadas ao redor de uma folha β de 6 fitas. Em ambos os modelos, os resíduos da parte central apresentaram bom alinhamento estrutural com o molde, enquanto que os resíduos das regiões próximas aos loops mostraram um pouco de distorção. Convém destacar que os loops dos dois modelos apresentam diferenças posicionais relevantes. Embora pequenas, as diferenças podem estar associadas à especificidade de montagem dos filamentos de septinas.

Palavra-chave: estruturas proteicas, modelagem por homologia, septinas.

Revisado pelo orientador.

1. Introdução

Septinas definem uma conservada família de proteínas de citoesqueleto, as quais pertencem à superclasse das P-loop GTPases. Assim, essas proteínas podem se ligar e hidrolisar nucleotídeos trifosfatados de guanina. Essas proteínas foram identificadas primeiramente em levedura *Saccharomyces cerevisiae* na forma de hetero-filamentos, sendo encontradas posteriormente em vários eucariotos, com exceção das plantas [1,2]. As seqüências dos membros desta família podem ser divididas em três domínios diferentes: um domínio N-terminal variável, um domínio central conservado e um domínio C-terminal variável, que às vezes inclui seqüências características de *Coiled coils* [3].

O grupo de genes de septinas identificado em levedura revelou sua importância para o processo normal de brotamento. Na atualidade sabe-se que essas proteínas estão relacionadas a vários processos celulares, por exemplo, exocitose, citocinese, tráfico de vesículas, segregação cromossômica e motilidade de células. Nos seres humanos, além de seu papel fisiológico, algumas septinas estão relacionadas a casos de patologia, como câncer e doenças neurodegenerativas. Por exemplo, a septina humana SEPT2 em conjunto com as septinas SEPT1 e SEPT4 tem relação com a doença de Alzheimer, sendo detectadas na forma de depósitos filamentosos. Até o momento, foram descobertos pelo menos catorze genes para septinas de mamíferos, alguns dos quais produzem múltiplas cadeias poli-peptídicas através do "splicing" alternativo [4].

De maneira geral, o processo de divisão celular em *S. cerevisiae* segue a seguinte seqüência: A- aumento da massa e volume da célula, B- inicio da síntese de DNA e emergência de um broto de célula, C- divisão celular, D- separação de duas células. De maneira particular os genes CDC3, CDC10, CDC11 e CDC12 revelam sua importância no estagio final de divisão celular, estando relacionados ao anel de septo, responsável pelo estrangulamento no final da divisão, separando em duas partes o conteúdo citoplasmático. Tais genes estão relacionados evolutivamente, definindo a família de proteínas [5].

A estrutura primária das septinas pode ser dividia em três regiões (domínios): um domínio N-terminal variável, um domínio central invariante (de atividade GTPásica) e um domínio C-terminal variável, figura 1. O domínio central possui atividade GTPásica, sendo que cada proteína apresenta afinidades especificas para a ligação e hidrólise GTP/GDP [6]. Os

Revisado pelo orientador.

domínios N- e C-terminal são variáveis, tendo que a maior parte das septinas tem uma predição de estrutura *coiled coils* no domínio C-terminal, onde possa relacionar a interação proteína-proteína [3].



Figura 1 – Divisão genérica em domínios para as septinas humanas.

As catorze septinas humanas são divididas em quatro grupos [7], figura 2. Em nosso trabalho, consideraremos apenas os membros do grupo I, o qual é composto pelas septinas 3, 9 e 12. Na figura 3, mostramos as sequências primárias das três septinas da grupo I, indicando, em cores diferentes, os três domínios característicos. Convém destacar que as septinas o grupo I se caracterizam por possuírem domínios C-terminal curtos [3]. A septina 9 tem o maior domínio N-terminal da família. Até o momento, existe apenas uma estrutura de septina do grupo I, a estrutura cristalográfica da construção GC (domínio GTPase mais domínio C-terminal) da septina 3 (septina 3GC).

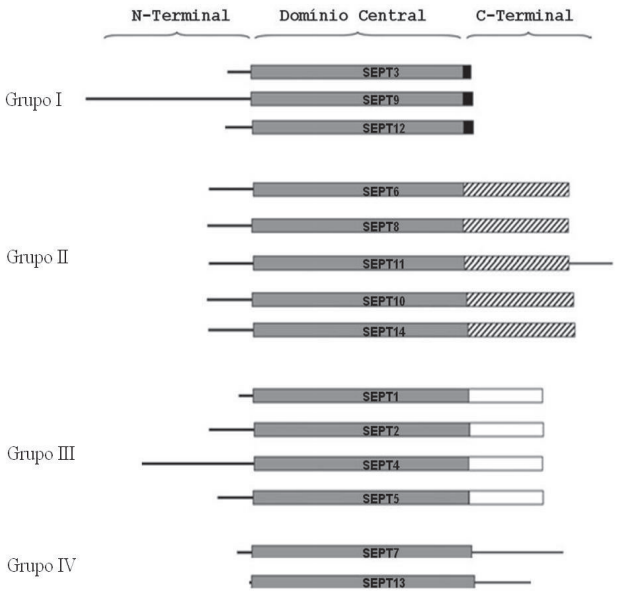


Figura 2 – Divisão em grupos das septinas humanas.

Revisado pelo orientador.

SEPTIN 3:

MSELVPEPRPKPAVPMKPMSINSNLLGYIGIDTIIEQMRKKTMKTGFDFNIMVVGQSGLGKSTLVNTLFKSQVSRKASSWNREEKIPK
TVEIKAIGHVIEEGGVKMKLTVIDTPGFGDQINNENCWEPIEKYINEQYEKFLKEEVNIARKKRIPDTRVHCCLYFISPTGHSLRPLD
LEFMKHLSKVVNIIPVIAKADTMTLEEKSEFKQRVRKELEVNGIEFYPQKEFDEDLEDKTENDKIRQESMPFAVVGSDKEYQVNGKRV
LGRKTPWGIIEVENLNHCEFALLRDFVIRTHLQDLKEVTHNIHYETYRAKRLNDNGGLPPVSVDTEESHDSNP
(337 resíduos)

SEPTIN 9:

MERDRISALKRSFEVEEVETPNSTPPRRVQTPLLRATVASSTQKFQDLGVKNSEPSARHVDSLSQRSPKASLRRVELSGPKAAEPVSR
RTELSIDISSKQVENAGAIGPSRFGLKRAEVLGHKTPEPAPRRTEITIVKPQESAHRRMEPPASKVPEVPTAPATDAAPKRVEIQMPK
PAEAPTAPSPAQTLENSEPAPVSQLQSRLEPKPQPPVAEATPRSQEATEAAPSCVGDMADTPRDAGLKQAPASRNEKAPVDFGYVGID
SILEQMRRKAMKQGFEFNIMVVGQSGLGKSTLINTLFKSKISRKSVQPTSEERIPKTIEIKSITHDIEEKGVRMKLTVIDTPGFGDHI
NNENCWQPIMKFINDQYEKYLQEEVNINRKKRIPDTRVHCCLYFIPATGHSLRPLDIEFMKRLSKVVNIVPVIAKADTLTLEERVHFK
QRITADLLSNGIDVYPQKEFDEDSEDRLVNEKFREMIPFAVVGSDHEYQVNGKRILGRKTKWGTIEVENTTHCEFAYLRDLLIRTHMQ
NIKDITSSIHFEAYRVKRLNEGSSAMANGVEEKEPEAPEM
(568 resíduos)

SEPTIN 12:

MDPLRRSPSPCLSSQPSSPSTPPCEMLGPVGIEAVLDQLKIKAMKMGFEFNIMVVGQSGLGKSTMVNTLFKSKVWKSNPPGLGVPTPQ
TLQLHSLTHVIEEKGVKLKLTVTDTPGFGDQINNDNCWDPILGYINEQYEQYLQEEILITRQRHIPDTRVHCCVYFVPPTGHCLRPLD
IEFLQRLCRTVNVVPVIARADSLTMEEREAFRRRIQQNLRTHCIDVYPQMCFDEDINDKILNSKLRDRIPFAVVGADQEHLMNGRCVL
GRKTKWGIIEVENMAHCEFPLLRDLLIRSHLQDLKDITHNIHYENYRVIRLNESHLLPRGPGWVNLAPASPGQLTTPRTFKVCRGAHD
DSDDEF
(358 resíduos)

Figura 3 – Estruturas primárias dos três membros do grupo I das septinas humanas. Tendo em verde os domínios centrais, sendo o restante os domínios N- e C-terminais.

2. Objetivos

Dado o conhecimento bioquímico/biofísico atual sobre septinas e disponibilidade do uso de ferramentas de bioinformática, como Modeller e ClustalX, propomos como objetivo do presente trabalho a elaboração de modelos, via modelagem por homologia, para as septinas humanas do grupo I que não possuem estrutura cristalográfica, ou seja, as septinas 9 e 12.

3. Metodologia

Para a construção dos modelos utilizamos o programa Modeller V. 9.10. Tal programa gera modelos tridimensionais de estruturas proteicas a partir da satisfação de conjuntos de restrições espaciais [8]. Uma vez que o dobramento proteico é altamente conservado durante a

Revisado pelo orientador.

evolução das espécies, utiliza-se a estrutura de uma proteína homóloga, que já tenha sido resolvida experimentalmente, para gerar o conjunto de restrições utilizado. Para os alinhamentos das sequências primárias utilizamos o programa ClustalX 2.1.

3.1 Estrutura primária da septina molde

Para a modelagem das septinas 9 e 12 usamos como molde a única estrutura existente de uma septina do grupo I, a estrutura cristalográfica da construção 3GC (código PDB 3SOP). Tal estrutura apresenta duas cadeias polipeptídicas idênticas (cadeias A e B) na unidade assimétrica do cristal. Optamos por trabalhar com a cadeia A para a construção dos modelos. A figura 4 apresenta a estrutura primária da construção 3GC, indicando quais são os resíduos de aminoácidos que são "observados" no cristal.

```
SEPTIN 3GC:
MGFDFNIMVVGQSGLGKSTLVNTLFKSQVSRKASSWNREEKIPKTVEIKAIGHVIEEGGVKMKLTVIDTP
GFGDQINNENCWEPIEKYINEQYEKFLKEEVNIARKKRIPDTRVHCCLYFISPTGHSLRPLDLEFMKHLS
KVVNIIPVIAKADTMTLEEKSEFKQRVRKELEVNGIEFYPQKEFDEDLEDKTENDKIRQESMPFAVVGSD
KEYQVNGKRVLGRKTPWGIIEVENLNHCEFALLRDFVIRTHLQDLKEVTHNIHYETYRAKRLNDNGGLPP
VSVDTEESHDSNP
(293 resíduos)
```

Figura 4 – Estrutura primária da septina 3GC. Os resíduos de aminoácidos "observados" no cristal estão marcados em verde.

3.2 Obtenções dos Modelos

Para obtenção dos modelos primeiramente utilizamos o programa ClustalX para fazer os alinhamentos das sequências alvo com a sequência da septina 3GC. Desta forma, obtivemos quais as posições dos resíduos homólogos em relação ao nosso molde. Adequamos os alinhamentos para a forma que é compatível ao Modeller, juntamente com a estrutura tridimensional da cadeia A da septina 3GC. Utilizamos a opção do Modeller onde ele considera

Revisado pelo orientador.

todos resíduos do molde e seus respectivos ligantes, proporcionando um modelo para as proteínas alvo. Como exemplo, apresentamos na figura 5 o conteúdo do arquivo de instruções para o programa Modeller no caso da septina 9 como alvo.

```
# Homology modeling with ligand transfer from the template
from modeller import *              # Load standard Modeller classes
from modeller.automodel import *    # Load the automodel class

log.verbose()    # request verbose output
env = environ()  # create a new MODELLER environment to build
this model in

# directories for input atom files
env.io.atom_files_directory = ['.', '../atom_files']

# Read in HETATM records from template PDBs
env.io.hetatm = True

a = allhmodel(env,
          alnfile  = 'alignment.ali',  # alignment filename
          knowns   = 'SEPT3',          # codes of the templates
          sequence = 'SEPT9')          # code of the target
                      # (determines how many models to
calculate)
a.make()                    # do the actual homology modeling
```

Figura 5 – Exemplo de conteúdo do arquivo de instruções do Modeller.

4. Resultados e Discussões

A figura 6 apresenta o alinhamento das estruturas primárias das septinas 3GC, 9 e 12. Chama a atenção o tamanho do domínio N-terminal da septina 9. Visto que a estrutura de 3GC é composta basicamente pelo domínio central, para a construção dos modelos trabalhamos apenas com as sequências dos domínios centrais de 9 e 12. A figura 7 mostra o alinhamento entre septina 3GC e o domínio central da septina 9 e o domínio central da septina 12, separadamente.

Revisado pelo orientador.

```
>P1;3GC
------------------------------------------------------------
------------------------------------------------------------
------------------------------------------------------------
------------------------------------------------------------
-----------------------------------MGFDFNIMVVGQSGLGKSTLVNTL
FKSQVSRKASSWNREEKIPKTVEIKAIGHVIEEGGVKMKLTVIDTPGFGDQINNENCWEP
IEKYINEQYEKFLKEEVNIARKKRIPDTRVHCCLYFISPTGHSLRPLDLEFMKHLSKVVN
IIPVIAKADTMTLEEKSEFKQRVRKELEVNGIEFYPQKEFDEDLEDKTENDKIRQESMPF
AVVGSDKEYQVNGKRVLGRKTPWGIIEVENLNHCEFALLRDFVIRTHLQDLKEVTHNIHY
ETYRAKRLNDNGGLPPVS--VDTEESHDSNP--------------------
*
>P1;9
MERDRISALKRSFEVEEVETPNSTPPRRVQTPLLRATVASSTQKFQDLGVKNSEPSARHV
DSLSQRSPKASLRRVELSGPKAAEPVSRRTELSIDISSKQVENAGAIGPSRFGLKRAEVL
GHKTPEPAPRRTEITIVKPQESAHRRMEPPASKVPEVPTAPATDAAPKRVEIQMPKPAEA
PTAPSPAQTLENSEPAPVSQLQSRLEPKPQPPVAEATPRSQEATEAAPSCVGDMADTPRD
AGLKQAPASRNEKAPVDFGYVGIDSILEQMRRKAMKQGFEFNIMVVGQSGLGKSTLINTL
FKSKISRKSVQPTSEERIPKTIEIKSITHDIEEKGVRMKLTVIDTPGFGDHINNENCWQP
IMKFINDQYEKYLQEEVNINRKKRIPDTRVHCCLYFIPATGHSLRPLDIEFMKRLSKVVN
IVPVIAKADTLTLEERVHFKQRITADLLSNGIDVYPQKEFDEDSEDRLVNEKFR-EMIPF
AVVGSDHEYQVNGKRILGRKTKWGTIEVENTTHCEFAYLRDLLIRTHMQNIKDITSSIHF
EAYRVKRLNEGSSAMANG--VEEKEPEAPEM--------------------
*
>P1;12
------------------------------------------------------------
------------------------------------------------------------
------------------------------------------------------------
-------------------------------------------------MDPLRRSP-S
PCLSSQPSSPSTPPCEMLGPVGIEAVLDQLKIKAMKMGFEFNIMVVGQSGLGKSTMVNTL
FKSKVWK-SNPPGLGVPTPQTLQLHSLTHVIEEKGVKLKLTVTDTPGFGDQINNDNCWDP
ILGYINEQYEQYLQEEILITRQRHIPDTRVHCCVYFVPPTGHCLRPLDIEFLQRLCRTVN
VVPVIARADSLTMEEREAFRRRIQQNLRTHCIDVYPQMCFDEDINDKILNSKLR-DRIPF
AVVGADQEHLMNGRCVLGRKTKWGIIEVENMAHCEFPLLRDLLIRSHLQDLKDITHNIHY
ENYRVIRLNESHLLPRGPGWVNLAPASPGQLTTPRTFKVCRGAHDDSDDEF
*
```

Figura 6 – Alinhamento das estruturas primárias das septinas 3GC, 9 e 12, realizados com o uso do *software* ClustalX.

Revisado pelo orientador.

```
>P1;SEPT3
structureX:SEPT3:60   :A:341   : A: Septin3:Homo sapiens: :
-FDFNIMVVGQSGLGKSTLVNTLFKSQV-----------IPKTVEIKAIGHVIEK----
MKLTVIDTP--GDQINNENCWEPIEKYINEQYEKFLKEEVNIARKKRIPDTRVHCCLYFI
SPTGHSLRPLDLEFMKHLSKVVNIIPVIAKADTMTLEEKSEFKQRVRKELEVNGIEFYPQ
KEFLEDKTE---NDKIRQESMPFAVVGSDKEYQVNGKRVLGRKTPW-IIEVENLNHCEFA
LLRDFVIRTHLQDLKEVTHNIHYETYRAKRL..*

>P1;SEPT9
sequence:SEPT9:1   : :268   : :Septin9:Homo sapiens: :
GFEFNIMVVGQSGLGKSTLINTLFKSKISRKSVQPTSEERIPKTIEIKSITHDIEEKGVR
MKLTVIDTPGFGDHINNENCWQPIMKFINDQYEKYLQEEVNINRKKRIPDTRVHCCLYFI
PATGHSLRPLDIEFMKRLSKVVNIVPVIAKADTLTLEERVHFKQRITADLLSNGIDVYPQ
KEFDEDSEDRLVNEKFR-EMIPFAVVGSDHEYQVNGKRILGRKTKWGTIEVENTTHCEFA
YLRDLLIRTHMQNIKDITSSIHFEAYR----..*
```

```
>P1;SEPT3
structureX:SEPT3:60   :A:341   : A: Septin3:Homo sapiens: :
-FDFNIMVVGQSGLGKSTLVNTLFKSQVI----------PKTVEIKAIGHVIE----KM
KLTVIDTP--GDQINNENCWEPIEKYINEQYEKFLKEEVNIARKKRIPDTRVHCCLYFIS
PTGHSLRPLDLEFMKHLSKVVNIIPVIAKADTMTLEEKSEFKQRVRKELEVNGIEFYPQK
EFLEDKTE---NDKIRQESMPFAVVGSDKEYQVNGKRVLGRKTPW-IIEVENLNHCEFAL
LRDFVIRTHLQDLKEVTHNIHYETYRAKRL..*

>P1;SEPT12
sequence:SEPT12:1   : :267   : :Septin12:Homo sapiens: :
GFEFNIMVVGQSGLGKSTMVNTLFKSKVWKSNPPGLGVPTPQTLQLHSLTHVIEEKGVKL
KLTVTDTPGFGDQINNDNCWDPILGYINEQYEQYLQEEILITRQRHIPDTRVHCCVYFVP
PTGHCLRPLDIEFLQRLCRTVNVVPVIARADSLTMEEREAFRRRIQQNLRTHCIDVYPQM
CFDEDINDKILNSKLR-DRIPFAVVGADQEHLMNGRCVLGRKTKWGIIEVENMAHCEFPL
LRDLLIRSHLQDLKDITHNIHYENYR----..*
```

Figura 7 – Alinhamentos entre septina 3GC e o domínio central da septina 9 (acima) e o domínio central da septina 12 (abaixo), realizados com o uso do *software* ClustalX e modificado para uso no programa Modeller.

Uma vez realizados os alinhamentos, passamos para a etapa de construção dos modelos tridimensionais. As figuras 8A e 9A mostram os modelos obtidos para as septinas 9 e 12, respectivamente. Vemos o dobramento característico das proteínas da família, 6 α-hélices empacotadas ao redor de uma folha β de 6 fitas. As figuras 8B e 9B mostram os alinhamentos da estrutura cristalográfica da construção 3GC com os modelos obtidos para as septinas 9 e 12,

Revisado pelo orientador.

respectivamente. Em ambos os casos, observamos bom alinhamento para a parte central e pequenos desvios para os resíduos de aminoácidos próximos das regiões de loop.

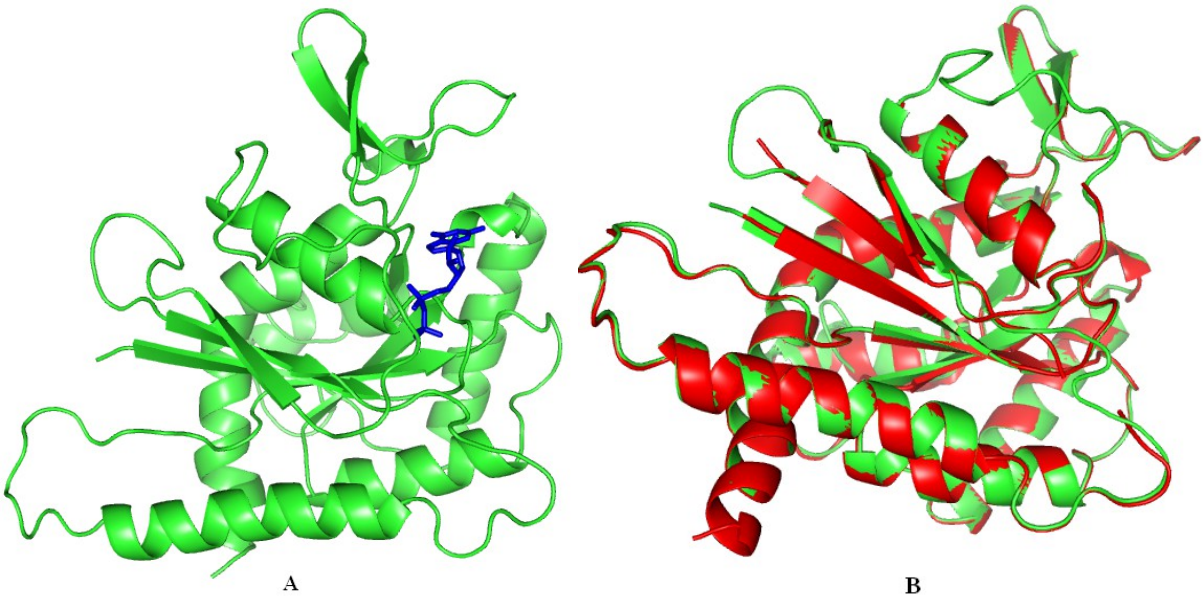


Figura 8 – A - Modelo tridimensional da septina 9. B – Alinhamento entre o modelo da septina 9 (verde) e a estrutura cristalográfica da construção 3GC (vermelho).

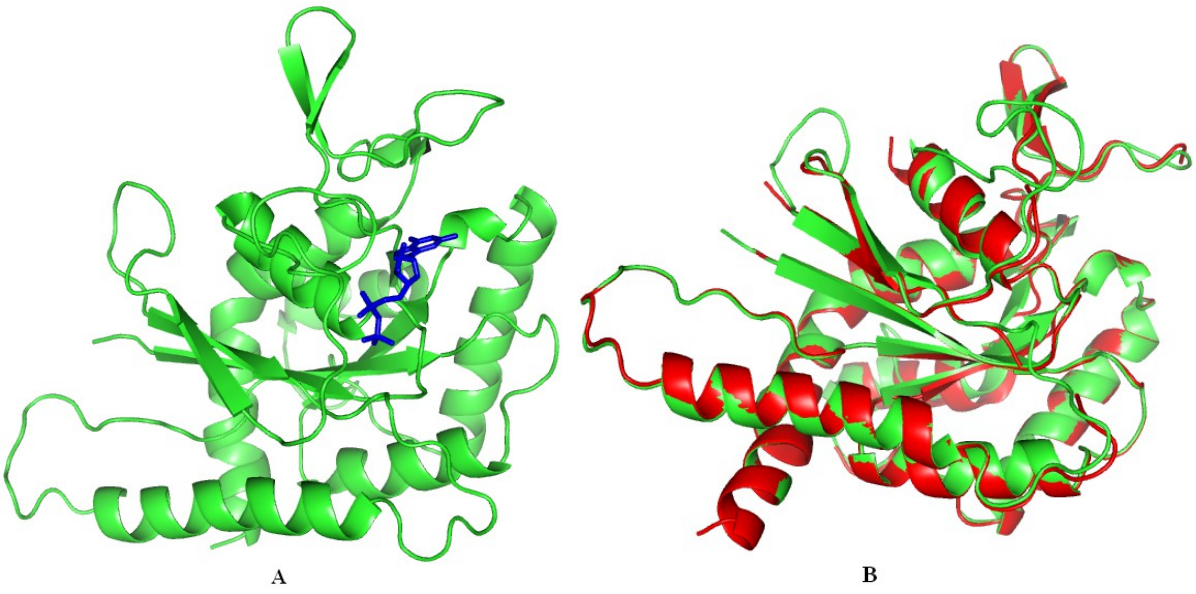


Figura 9 – A - Modelo tridimensional da septina 12. B – Alinhamento entre o modelo da septina 12 (verde) e a estrutura cristalográfica da construção 3GC (vermelho).

Revisado pelo orientador.

A figuras 10 mostram o alinhamento entre os dois modelos obtidos. Observamos bom alinhamento para a parte central e pequenos desvios para os resíduos de aminoácidos das regiões de loop. Por fim, a figura 11 mostra o alinhamento das moléculas de GDP. Vemos que as duas bases apresentam bom alinhamento, enquanto que os açúcares e os fosfatos mostram pequena discrepância de posicionamento no sítio de ligação.

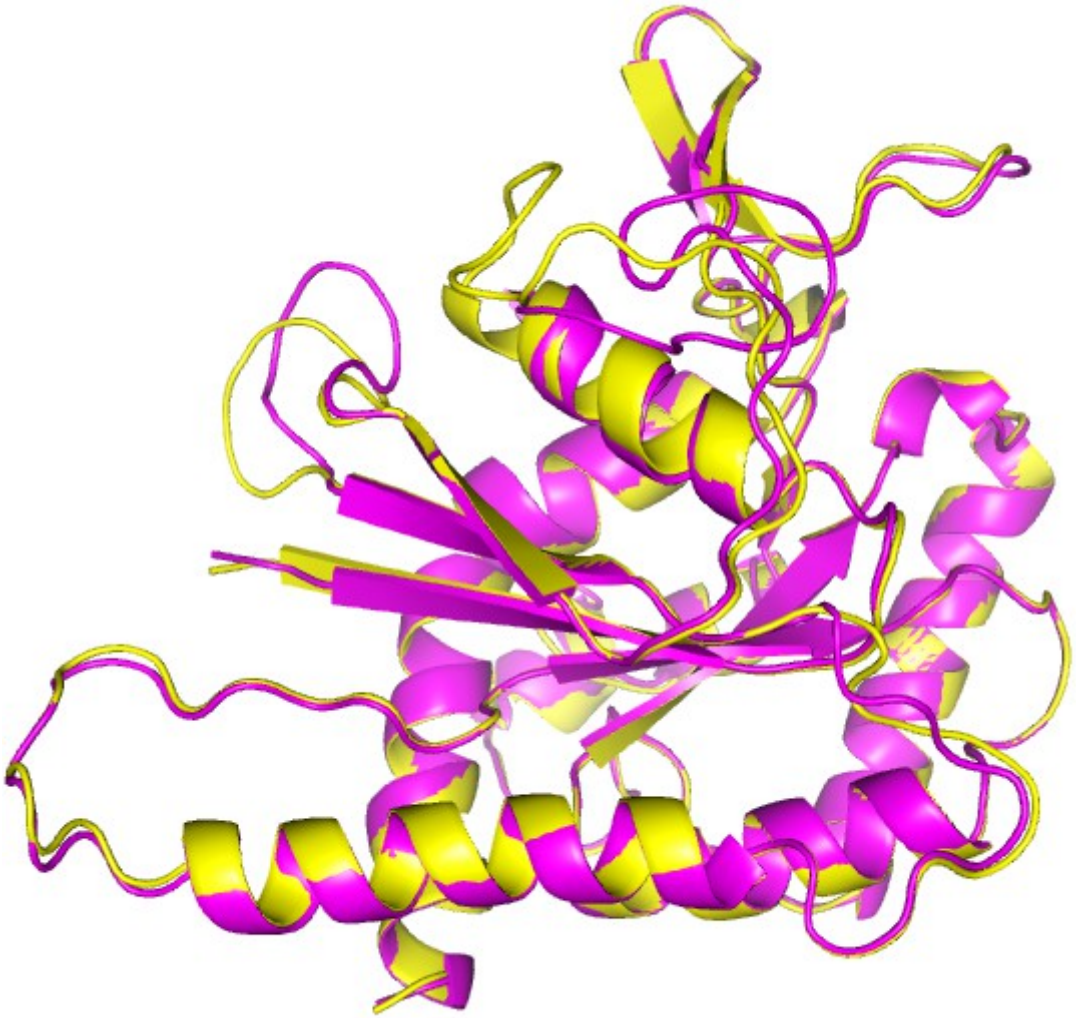


Figura 10 – Alinhamento entre os dois modelos obtidos. O modelo da Septina 9 é mostrado em amarelo e o da septina 12 em magenta.

Revisado pelo orientador.

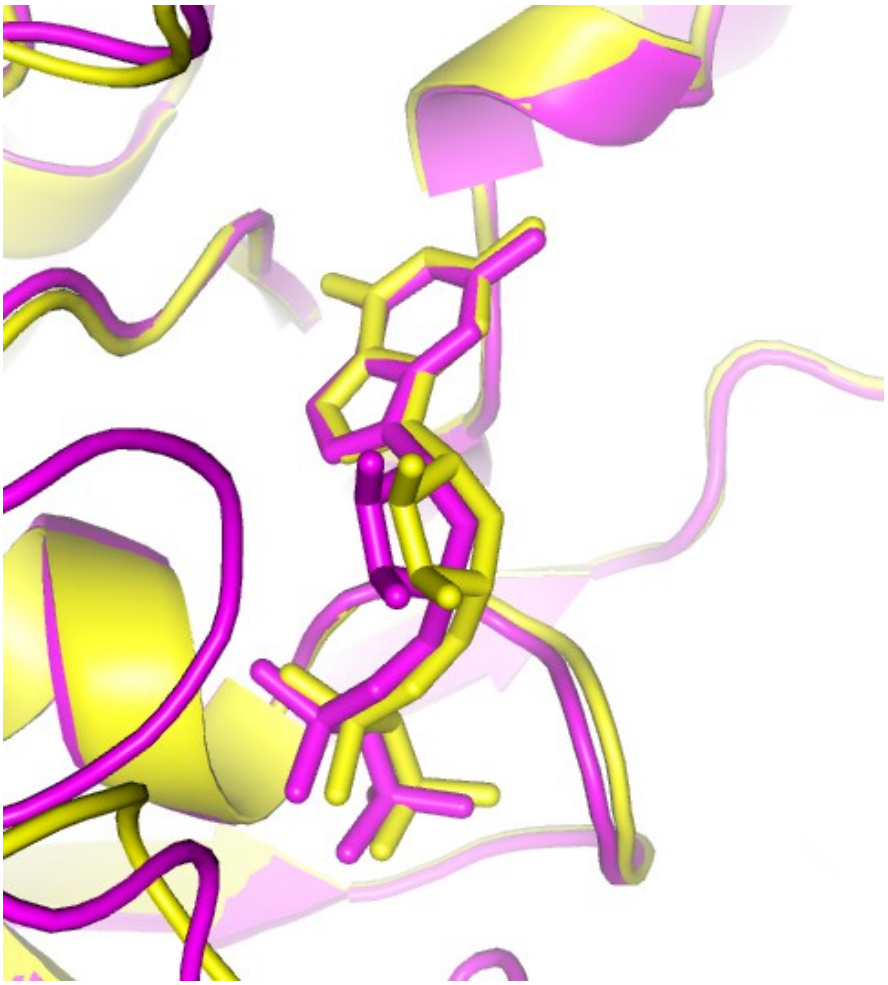


Figura 11 – Alinhamento entre os GDT´s dos dois modelos obtidos. O modelo da Septina 9 é mostrado em amarelo e o da septina 12 em magenta.

5. Conclusão e considerações finais

Ao longo do trabalho realizamos os alinhamentos entre a construção 3GC e as sequências das septina 9 e 12. Tais alinhamentos lançaram luz na identificação da região conservada entre as três proteínas analisadas, o domínio central. Então utilizamos o programa Modeller para a construção dos modelos dos domínios centrais das septinas 9 e 12, tomando por molde a estrutura cristalográfica de 3GC. Os modelos obtidos apresentaram dobramento característico das proteínas da família, 6 α-hélices empacotadas ao redor de uma folha β de 6 fitas. Em ambos os modelos, os resíduos da parte central apresentaram bom alinhamento estrutural com o molde 3GC, enquanto que os resíduos das regiões próximas aos loops

Revisado pelo orientador.

mostraram um pouco de distorção. Convém destacar que os loops dos dois modelos apresentam diferenças posicionais relevantes, figura 10. Embora pequenas, as diferenças podem estar associadas à especificidade de montagem dos filamentos de septinas.

Esperamos que ao longo da continuação do presente trabalho obtenhamos modelos estruturais para todas as septinas humanas. Tendo então os modelos em mãos, analisaremos os modelos e tentaremos associar os dados obtidos com o mecanismo de montagem de filamentos de septinas por grupos diferentes, lançando luz sobre o papel fisiológico de tais proteínas e suas relações em casos patológicos. Os resultados obtidos poderão também ser utilizados como ponto de partida para simulações de dinâmica molecular.

6. Referências

[1] Frazier, J. A., M. L. Wong, M. S. Longtine, J. R. Pringle, M. Mann, T. J. Mitchison and Field, C. (1998). ***J. Cell Biol***. 143, 737-749.

[2] Kinoshita, M. (2003). ***Genome Biol***. 4, 236.

[3] I. A. Almeida; ***Tese de doutorado***: "Estudos estruturais de septinas: explorando interações entre subunidades de filamentos de septinas humanas", 2010.

[4] Kartmann, B. and Roth, D. (2001). ***Journal of Cell Science*** 114, 839-844.

[5] HARTWELL, L. H. Genetic control of the cell division cycle in yeast: IV genes controlling bud emergence and cytokinesis. ***Experimental cell research***, v. 69, n. 2, p. 265-276, 1971.

[6] NEUFELD, T. P.; RUBIN, G. M. The drosophila peanut gene is required for cytokinesis and encodes a protein similar to yeast putative bud neck filament protein. ***Cell***, v. 77, n.3, p. 371-379, 1994.

[7] MARTÍZES, C. et al. Human septin-septin interactions as a prerequisite for targeting septin complexes in the cytosol. ***Biochemistry journal***, v. 382, n. 382, p. 783-791, 2004

[8] A. Sali and T. L Blundell. (1993). ***J. Mol. Biol***. 234,779-815.

Revisado pelo orientador.

Avaliação do consumo alimentar de pacientes obesos graves: sub-relato da ingestão energética total e prevalência na inadequação de ingestão de nutrientes

Isabela Alves Carneiro Viana[1], Cristiane Cominetti[2]
isabela_alvesviana@hotmail.com
cristiane.cominetti@gmail.com

[1] Acadêmica da Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás; Orientanda
[2] Profª Adjunta da Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás; Orientadora

"revisado pelo orientador"

RESUMO

O sub-relato na ingestão de alimentos pode afetar sobremaneira a avaliação e a prescrição nutricional, de forma ainda mais significativa em indivíduos obesos. O objetivo do estudo foi avaliar o consumo alimentar de obesos graves, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e determinar a prevalência de sub-relato na ingestão energética total, bem como de inadequação de ingestão de alguns micronutrientes. Foram utilizados recordatórios alimentares de 24 horas e registros alimentares de três dias não consecutivos, aplicados em 30 pacientes. Os dados foram analisados com o software Avanutri®. A porcentagem de sub-relato da ingestão energética foi determinada pela relação entre os valores energéticos estimados e Necessidade Estimada de Energia. A prevalência de ingestão inadequada dos micronutrientes foi avaliada com o método do ponto de corte da EAR. A análise estatística foi realizada com os softwares Statistica versão 8.0 e SPSS versão 20.0. A média (±DP) de idade dos indivíduos foi de 37,3 (± 10,6) anos e a média (±DP) do Índice de Massa Corporal, foi de 48,1 (± 8,1) kg/m². Os resultados revelaram que 90% dos pacientes sub-relataram o consumo alimentar, sendo que destes, 56,7% foram classificados como sub-relato importante. Os percentuais de inadequação da ingestão foram superiores a 80% para vitamina E, vitamina B6, cálcio, magnésio e selênio. Para as vitaminas B1, B2, B12, C e para o zinco, foram inferiores a 60%. Verificou-se, portanto, que houve um percentual significativo de sub-relato na ingestão alimentar e prevalência elevada de inadequação no consumo da maioria dos micronutrientes.

Palavras-chave: consumo alimentar; sub-relato; obesidade grave; micronutrientes

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada uma epidemia mundial, configurando importante problema de saúde pública. É uma doença crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal e pode ser detectada entre todos os gêneros, raças e faixas etárias. Sua origem é multifatorial, abrangendo fatores genéticos, metabólicos, fisiológicos e relacionados ao estilo de vida. É fortemente associada à alimentação inadequada que resulta no balanço energético positivo, e também à inatividade física. Nos dias atuais é notória a prevalência de um padrão de alimentação ocidentalizado em vários países do mundo, composto basicamente por grande proporção de gorduras (principalmente as saturadas), açúcares, alimentos industrializados, e quantidades reduzidas de carboidratos complexos e fibras, contribuindo para a instalação da doença (FRANCISCHI, et al., 2000; HORVATH, 2005; MELO; TIRAPEGUI; RIBEIRO, 2008; MONTEIRO, et al., 1995; POPKIN; DOAK, 1998; WHO, 2003).

A intervenção dietoterápica é comprovadamente reconhecida como tratamento isolado ou coadjuvante de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como a obesidade, as doenças cardiovasculares, a hipertensão arterial sistêmica, o diabetes melito, a osteoporose e o câncer. Visando a busca por subsídios para o desenvolvimento e a implantação de planos alimentares adequados, a avaliação do consumo alimentar é considerada etapa primordial. O método escolhido deve fornecer informações necessárias para que o profissional possa orientar o indivíduo/paciente quanto aos aspectos de uma alimentação e estilo de vida saudáveis na busca pela promoção da saúde e redução do risco de DCNT (FISBERG; MARCHIONI; COLUCCI, 2009).

Os inquéritos alimentares são ferramentas amplamente utilizadas na estimativa da ingestão energética de indivíduos ou grupos. São técnicas capazes de fornecer dados essenciais para o desenvolvimento de planos nutricionais. Dentre eles, podem-se citar o recordatório alimentar de 24 horas (R24h) e os registros alimentares (RA), os quais são métodos quantitativos. Quanto aos métodos qualitativos, podem ser citados o questionário de frequência alimentar (QFA) e a história alimentar. Entretanto, todos os métodos que avaliam o consumo alimentar apresentam algum tipo de falha inerente às avaliações dietéticas (FISBERG; MARCHIONI; COLUCCI, 2009; HOLANDA; FILHO, 2006).

O R24 h é uma entrevista realizada pelo nutricionista no qual o entrevistado define e quantifica todos os alimentos e bebidas consumidos nas 24 horas anteriores. Já o RA consiste em um formulário próprio, onde o entrevistado anota de forma detalhada os alimentos

consumidos ao longo do dia. Assim como os demais, estes métodos possuem algumas limitações, como necessidade de maior cooperação do entrevistado. O R24h não reflete a ingestão habitual, mas a principal dificuldade está na omissão do consumo de determinados alimentos (FISBERG; MARCHIONI; COLUCCI, 2009; HOLANDA; FILHO, 2006).

No momento da avaliação do consumo, a "consciência alimentar" influencia no autorrelato, ou seja, a percepção do que se considera uma alimentação adequada pode levar os indivíduos à omissão de alimentos considerados pobres nutricionalmente ou à superestimação da ingestão de alimentos considerados bons para a saúde. Os inquéritos alimentares com pelo menos três dias de registro, evidenciam que inicialmente existe veracidade nas informações, já com o passar dos dias, os indivíduos tendem a modificar a alimentação, ocultar algumas informações que julgam não se adequar a uma alimentação saudável (HORVATH, 2005).

Foi constatado em estudos empregando diferentes técnicas de inquérito alimentar que existe a subestimação nos relatos de consumo, tanto em homens quanto em mulheres. Estudos mostram ainda que indivíduos obesos tendem a subestimar sua ingestão alimentar sistematicamente (DRUMMOND et al., 1998; PRYER et al., 1997; SLATTERY; EDWARDS; CAAN, 2002).

Do ponto de vista fisiológico e metabólico, outra característica importante relacionada ao padrão alimentar de indivíduos obesos é a frequente inadequação no consumo de micronutrientes. Evidências demonstram que indivíduos obesos muitas vezes apresentam concentrações sanguíneas reduzidas de uma série destes micronutrientes, o que tem interferência direta no estado de saúde (ASTRUP; BÜGEL, 2010). Por meio da avaliação do consumo alimentar, também é possível determinar a prevalência de inadequação do consumo de alguns destes micronutrientes. Esta avaliação pode nortear a intervenção nutricional destes pacientes, contribuindo para a melhora geral do estado nutricional.

Neste sentido, considerando a importância da avaliação criteriosa da ingestão alimentar, no intuito de obter resultados que possam permear uma melhor adequação na elaboração dos planos alimentares e na instituição de programas de educação nutricional, o presente projeto teve como objetivos avaliar a sensibilidade de dois métodos distintos de inquéritos alimentares na mensuração do nível de sub-relato de ingestão de indivíduos com obesidade grave (Índice de Massa Corporal – IMC – ≥ 35 kg/m^2), atendidos no ambulatório de obesidade do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC-UFG) e determinar os percentuais de inadequação de ingestão dos seguintes micronutrientes: cálcio, magnésio, selênio, zinco, vitaminas B1, B2, B6, B12, C e E.

2 METODOLOGIA

O estudo foi realizado no Ambulatório de Nutrição e Obesidade do HC/UFG, com 30 pacientes adultos (≥ 19 anos de idade), de ambos os gêneros, obesos graves (IMC ≥ 35 kg/m^2). Depois que os pacientes manifestaram intenção em participar do estudo, assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e foram avaliados quanto a antropometria (peso e estatura) e ao consumo alimentar. Para tal, foram aplicados dois métodos: (1) Recordatório de 24 horas (R24h) e (2) Registro Alimentar de três dias (R3d). O R24 h foi aplicado por nutricionistas capacitados, que questionavam sobre os alimentos consumidos no dia anterior, desde o desjejum até a ceia. As porções eram estimadas pelo entrevistado, com auxílio dos nutricionistas, quando necessário. O R3d foi preenchido pelos próprios pacientes em formulário padronizado, com as devidas orientações de preenchimento. Aos pacientes, foram detalhadas todas as informações que deveriam ser anotadas, inclusive noções de medidas caseiras para a quantificação dos alimentos consumidos. Deveriam ser anotados alimentos consumidos ao longo de três dias não consecutivos, sendo que um deles deveria ser um dia de final de semana. Quando devolvidos, os formulários eram devidamente conferidos ainda no momento da consulta.

Para aferir o peso atual, utilizou-se balança mecânica tipo plataforma, com capacidade de 300 kg, nível de precisão de 100 g. Para determinar a estatura utilizou-se estadiômetro acoplado às balanças mecânicas, com precisão de 0,1 centímetros. Com os dados de peso e estatura foi calculado o IMC, que é a razão entre o peso e a estatura elevada ao quadrado.

A porcentagem de sub-relato foi determinada pela relação entre os valores de EER (Necessidade Estimada de Energia), ou seja, quantas calorias o indivíduo necessita para manter suas necessidades fisiológicas e atividades diárias, e a ingestão estimada (IE) na avaliação do consumo alimentar (IE/EER). A EER foi calculada de acordo com Institute of Medicine (2005), por meio das equações para indivíduos com sobrepeso e obesidade. Para homens: **EER = 1086 – (10.1 x idade [a]) + coeficiente de atividade física (13.7 x peso [kg] + 416 x estatura [m]),** e para mulheres **EER = 448 – (7.95 x idade [a]) + coeficiente de atividade física (11.4 x peso [kg] + 619 x estatura [m]).** Foi considerado o coeficiente de atividade física para indivíduos sedentários (1,0).

Quando esta relação apresentou-se inferior a 1,0 foi considerada sub-relato. O nível de sub-relato foi categorizado em quatro níveis: 1,0 ⊢---⊣ 0,90 (sub-relato aceitável); 0,89 ⊢---⊣ 0,80 (sub-relato leve); 0,79 ⊢---⊣ 0,70 (sub-relato moderado); < 0,7 (sub-relato importante).

Para determinar a prevalência de ingestões inadequadas dos micronutrientes aplicou-se o método do ponto de corte da EAR (Estimated Average Requirement) (BEATON, 1994), removendo-se a variação intraindividual, de acordo com Slater; Marchioni; Fisberg (2004).

A análise estatística dos dados foi realizada com auxílio dos softwares Statistica versão 8.0 e SPSS versão 20.0. Os dados dos inquéritos alimentares foram digitados em dupla entrada para a checagem da consistência e posterior limpeza do banco de dados. Para comparação dos resultados obtidos por meio dos dois diferentes métodos de inquéritos alimentares aplicados, utilizaram-se testes de comparação de médias para amostras dependentes, de acordo com a presença/ausência de distribuição normal dos dados.

Com o objetivo de descrever aspectos de consumo alimentar independentes da ingestão de energia, os valores de ingestão de alguns nutrientes foram ajustados ao valor energético. Este procedimento foi realizado de acordo com o método residual (JAIME et al., 2003). Para isto, os valores de ingestão destes nutrientes foram testados quanto a sua distribuição normal por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Foi determinada a correlação linear de Pearson para verificar se havia correlação estatisticamente significativa entre os valores de ingestão de cada nutriente e de energia. Em seguida realizaram-se testes de regressão linear simples, com a energia sendo considerada a variável independente e cada nutriente, as variáveis dependentes. Com os valores de $\beta 0$ e $\beta 1$ determinaram-se os valores dos nutrientes estimados, residuais, constantes e ajustados. Ao final, a média dos valores de ingestão destes nutrientes em suas formas ajustadas foi igual a média dos valores em suas formas brutas, e os desvios-padrão dos nutrientes ajustados foram reduzidos.

Para a aplicação do método de ponto de corte da EAR, foi realizada a remoção da variação intraindividual nos dados de consumo de alguns micronutrientes. Inicialmente, foi testada a distribuição normal dos dados com o teste de Kolmogorov-Smirnov. Quando as variáveis não apresentavam distribuição normal foram transformados em seus logaritmos naturais. A seguir, realizou-se o teste de One-Way ANOVA para determinar as variabilidades intra e interindividuais e a variância total da distribuição. Em seguida, realizou-se a remoção da variabilidade intraindividual e a distribuição do nutriente ajustado. Para determinar a prevalência de ingestões inadequadas comparou-se o valor obtido de "z" a uma tabela de distribuição normal padrão em que para cada valor de "z" há um valor de "P" correspondente, o qual determina a porcentagem de inadequação (CENTENO, 2002). O nível de significância de 5% foi adotado como padrão.

3 RESULTADOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO

O estudo foi finalizado com a participação de 30 voluntários que apresentaram idade média (±DP) de 37,3 (±10,6) anos. O valor médio (±DP) de peso foi de 127,0 (±24,4) kg. A média (±DP) de estatura foi 1,6 (±0,1) m. A partir destes dados foram calculados os valores de IMC, os quais foram em média (±DP) 48,1 (±8,1) kg/m². A tabela 1 mostra os valores de idade (anos), peso (kg), estatura (m) e IMC dos voluntários.

Tabela 1. Características dos participantes

Dados	**Gênero (n = 30):**	Feminino – 76,7%	Masculino – 23,3%	
	Idade (anos)	**Peso (kg)**	**Estatura (m)**	**IMC* (kg/m²)**
Média	37,3	127,0	1,6	48,1
Mediana	37,0	121,0	1,6	46,1
DP[a]	10,6	24,4	0,1	8,1
CV[b]	28,5	19,5	5,8	16,9
V mín.[c]	21,0	27,5	1,40	35,1
V max.[d]	62,0	175,0	1,80	69,4

*IMC: Índice de Massa corporal;

a- DP: desvio padrão
b- CV: coeficiente de variação de Pearson
c- V mín: valor mínimo
d- V Max: valor máximo

3.2 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

Para avaliar a adequação na ingestão de macro (carboidratos, proteínas e lipídios) e micronutrientes (cálcio, magnésio, selênio, zinco, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, vitamina C e vitamina E), os participantes do estudo preencheram registros alimentares de três dias, incluindo um dia de final de semana, além do recordatório de 24 horas aplicado pelas nutricionistas do Ambulatório de Nutrição e Obesidade do HC. Verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os dois métodos apenas para carboidratos, lipídios (incluindo ácidos graxos saturados e monoinsaturados) e vitamina C. Cabe destacar que o sub-relato na ingestão energética foi observado com a utilização de ambas as metodologias.

3.2.1 Energia, Macronutrientes e Fibras Alimentares

A tabela 2 mostra os resultados referentes à Necessidade Estimada de Energia (EER), energia, ingestão de macronutrientes, ácidos graxos saturados, poli-insaturados, monoinsaturados, colesterol e fibras. Os valores de ingestão de lipídios referentes ao método registro alimentar de três dias foram ajustados pelo valor de energia total, pois as variáveis apresentaram correlação significativa.

Tabela 2. Valores de ingestão de macronutrientes, gorduras saturadas, monoinsaturadas, poli-insaturadas, colesterol e fibra, além dos valores de Necessidade estimada de Energia (EER) e energia (kcal), calculados por meio de registro alimentar de três dias e recordatório de 24 horas.

Dados	EER	Energia (kcal)		CHO (%)		PTN (%)		LIP (%)		G. Sat (g)		G. Mono (g)		G. Poli (g)		Colesterol (mg)		Fibras (g)	
Método	-	1§	2§	1	2*	1	2	1†	2*	1	2**	1	2*	1†	2	1	2	1	2
Média	2736,7	1716,4	1708,7	54,4	49,1	18,8	18,3	26,9	32,6	14,7	19,7	12,3	20,7	7,1	11,7	214,8	233,7	14,5	12,4
Mediana	2583,6	1643,8	1623,6	55,1	47,0	18,6	18,0	25,8	33,7	12,8	15,3	11,1	18,0	5,4	7,6	172,9	171,3	14,1	10,4
DP[a]	532,5	613,0	715,1	6,5	12,1	3,1	4,4	5,3	9,9	8,0	11,9	6,9	12,7	6,2	12,4	166,5	166,0	6,8	7,7
CV[b]	19,5	35,7	41,8	12,0	24,7	16,4	24,4	19,6	30,6	54,1	60,5	55,9	61,5	86,4	105,8	77,5	71,0	46,7	62,0
V mín[c].	2026,0	804,5	533,7	42,9	31,5	14,1	9,9	16,3	5,5	0,5	0,3	0,5	0,4	1,1	0,9	23,8	0,0	5,5	3,6
V máx[d]	3927,1	3408,2	3340,1	73,2	83,4	25,7	31,7	37,2	52,3	36,1	50,8	29,7	54,0	35,0	56,0	789,2	558,5	36,5	38,9

Método 1: registro alimentar de três dias; Método 2: recordatório de 24 horas; EER: Necessidade Estimada de Energia; CHO: carboidrato; PTN: proteína; LIP: lipídio; G. Sat: gordura saturada; G. Mono: gordura monoinsaturada; G. Poli: gordura poli-insaturada
† Valores ajustados pela energia
* Diferença estatisticamente significativa em relação ao método de registro de três dias, teste t de Student ($p<0,05$)
** Diferença estatisticamente significativa em relação ao método de registro de três dias, teste de Wilcoxon ($p<0,05$)
§ Diferença estatisticamente significativa em relação à EER, teste de Wilcoxon ($p<0,05$)
a- DP: desvio padrão
b- CV: coeficiente de variação de Pearson
c- V mín: valor mínimo
d- V Max: valor máximo

3.2.2 Micronutrientes

A tabela 3 detalha os valores de ingestão das vitaminas A, C, B1, B2, B6, B12, E e ácido fólico, obtidas através dos dois métodos estudados. Os valores de ingestão de vitamina C, vitamina E, vitaminas B2, B6, B12, e ácido fólico, referentes ao método Registro Alimentar de três dias foram ajustados pelo valor de energia total, pois as variáveis apresentaram correlação significativa.

Tabela 3. Valores de ingestão de vitaminas calculados por meio de Registro Alimentar de três dias e Recordatório de 24 horas.

Dados	Vit. A (ER)		Vit.C (mg)		Vit. B1 (mg)		Vit. B2 (mg)		Vit. B6 (mg)		Vit. B12 (mcg)		Vit. E (mg)		Ác. Fólico (µg)	
Métodos	**1**	**2**	**1†**	**2***	**1**	**2**	**1†**	**2**	**1†**	**2**	**1†**	**2**	**1†**	**2**	**1†**	**2**
Média	898,6	1198,6	139,8	88,9	1,2	0,9	1,1	1,2	1,1	1,2	7,7	10,0	8,0	13,5	98,0	102,6
Mediana	320,3	326,3	91,5	40,0	1,0	0,8	1,0	0,9	1,2	1,1	1,9	1,9	7,9	7,1	84,7	68,3
DP[a]	1954,6	2562,7	135,7	130,2	0,7	0,4	0,6	1,0	0,6	0,7	14,5	26,5	3,5	19,1	83,8	95,3
CV[b]	217,5	213,8	97,1	146,4	60,4	47,5	57,9	83,9	55,8	61,7	187,7	264,4	43,7	141,6	85,5	92,9
V. mín[c]	119,1	0,0	3,0	0,1	0,4	0,2	0,2	0,2	-0,2	0,1	0,2	0,0	3,3	0,3	-14,2	1,4
V. máx[d]	10687,9	10452,4	534,5	671,7	4,2	1,7	2,8	4,5	2,6	3,6	54,0	106,8	15,2	89,6	356,7	408,0

Método 1: registro alimentar de três dias; Método 2: recordatório de 24 horas
†Valores ajustados pela energia
*Diferença estatisticamente significativa em relação ao método de registro de três dias, teste de Wilcoxon ($p<0,05$)

a- DP: desvio padrão
b- CV: coeficiente de variação de Pearson
c- V mín: valor mínimo
d- V Max: valor máximo

A tabela a seguir, mostra os valores de ingestão de cálcio, magnésio, ferro, zinco, cobre, selênio, e manganês, também obtidos por meio dos dois métodos estudados. Os valores de ingestão de cálcio, magnésio, zinco, cobre, selênio e manganês, referentes ao método registro alimentar de três dias, foram ajustados pelo valor de energia total, pois as variáveis apresentaram correlação significativa.

Tabela 4. Valores de ingestão de minerais calculados por meio de Registro Alimentar de três dias e Recordatório de 24 horas.

Dados	Ca (mg)		Mg (mg)		Fe (mg)		Zn (mg)		Cu (mg)		Se (µg)		Mn (mg)	
Métodos	**1†**	**2**	**1†**	**2**	**1**	**2**	**1†**	**2**	**1†**	**2**	**1†**	**2**	**1†**	**2**
Média	325,1	388,5	166,8	177,3	20,6	11,4	9,8	11,1	1,0	2,2	51,4	54,9	1,6	1,4
Mediana	280,2	350,6	146,9	165,6	11,5	10,6	9,3	8,9	1,0	0,8	48,5	49,1	1,5	1,3
DP[a]	156,0	251,8	70,8	78,9	47,5	5,0	5,2	7,7	0,7	6,3	21,2	36,2	0,9	0,6
CV[b]	48,0	64,8	42,5	44,5	230,6	44,3	53,2	69,4	63,1	286,4	41,2	65,9	54,1	45,9
V mín[c]	81,5	2,8	80,9	68,0	4,6	4,4	-0,8	1,2	0,3	0,3	13,9	2,1	0,4	0,2
V máx[d]	630,7	934,9	409,1	356,9	271,2	21,5	29,2	35,4	3,0	35,4	116,8	125,5	3,8	2,6

Método 1: registro alimentar de três dias; Método 2: recordatório de 24 horas
†Valores ajustados pela energia

a- DP: desvio padrão
b- CV: coeficiente de variação de Pearson
c- V mín: valor mínimo
d- V Max: valor máximo

3.3 PERFIL DE SUB-RELATO E INADEQUAÇÃO DE CONSUMO

Para a determinação do percentual de sub-relato foi verificada a relação entre os valores energéticos estimados na avaliação do consumo alimentar (IE) e a EER de cada paciente, ou seja, a quantidade de calorias indispensáveis para manter as necessidades fisiológicas e as atividades do dia-a-dia. De acordo com a categorização do sub-relato em diferentes níveis, apenas 6,7% dos avaliados obtiveram relação superior a 1,0, ou seja, ausência de sub-relato; 3,3% apresentaram nível de sub-relato aceitável (1,0 ⊢---⊣ 0,90); 13,3% apresentaram sub-relato leve (0,89 ⊢---⊣ 0,80); 20% dos voluntários apresentaram sub-relato moderado (0,79 ⊢---⊣ 0,70); e a maioria apresentou um nível de sub-relato importante, já que 56,7% foram categorizados com relação inferior a 0,7 (Figura 1). Estes valores não foram estatisticamente diferentes entre as duas metodologias aplicadas.

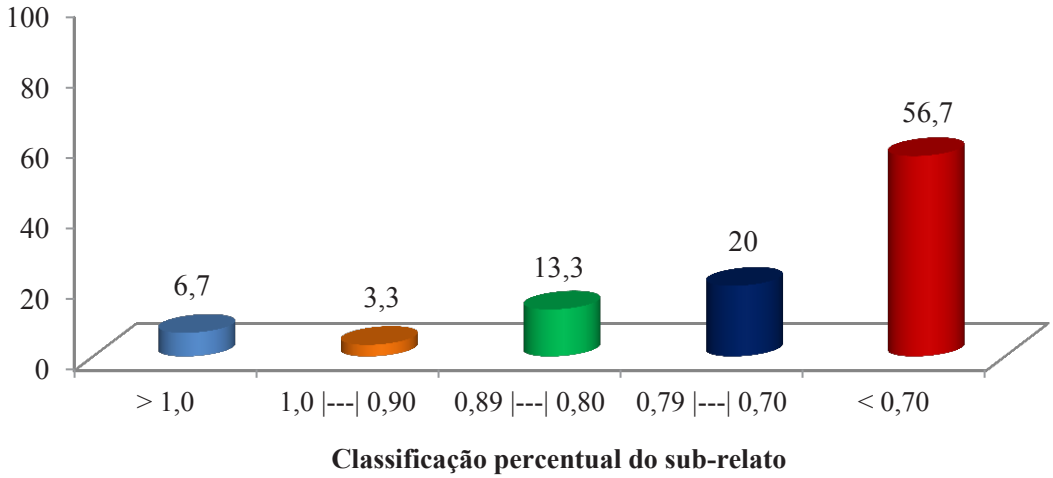


Figura 1. Percentual de sub-relato obtido através da relação entre Ingestão Estimada (IE) e Necessidade Estimada de Energia (EER), categorizados de acordo com os intervalos determinados

3.3.1 Inadequação de ingestão de micronutrientes

Conforme demonstra a figura 2, constatou-se alta prevalência de inadequação de ingestão da maioria dos micronutrientes.

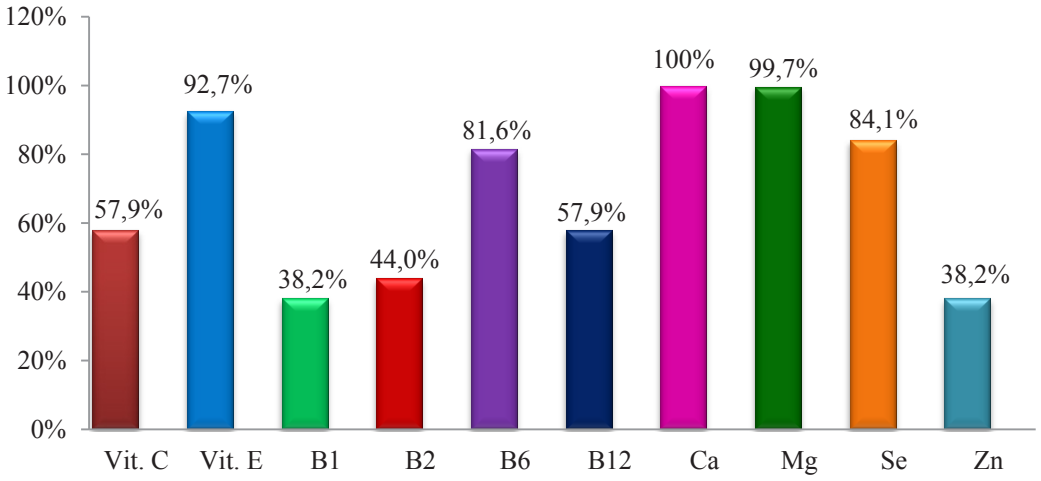


Figura 2. Percentual de inadequação de ingestão de vitamina C, vitamina E, vitamina B1, B2, B6, B12, cálcio, magnésio, selênio e zinco, de acordo com o método do ponto de corte da EAR

4 DISCUSSÃO

Informações acuradas sobre o consumo energético e de nutrientes são pré-requisito para a realização adequada de avaliação e prescrição nutricional. Nesse sentido, o conhecimento do possível sub-relato praticado por indivíduos obesos e da prevalência de ingestões inadequadas de micronutrientes é essencial. Neste trabalho observaram-se altas prevalências tanto de sub-relato no consumo energético, quanto de inadequação de ingestão de micronutrientes. Cabe ressaltar que o percentual elevado de inadequação no consumo de micronutrientes pode ter ocorrido também em consequência do sub-relato praticado.

Além da constatação de que, fisiologicamente, um consumo energético inferior a energia necessária para que se mantenha o metabolismo basal é improvável, valores inferiores a um (1,0) na relação IE/EER associam-se a subestimação do consumo alimentar, o que provavelmente não se trata da realidade do indivíduo (GOMES; LEÂO, 2011).

O estudo foi realizado utilizando-se dois métodos de avaliação do consumo alimentar, para comparação dos resultados obtidos em relação ao sub-relato. As médias de energia obtidas por meio de R3d e R24 h quando comparadas, não foram significativamente diferentes, mas quando comparadas à EER, foram significativamente menores, indicando sub-relato na ingestão independente do método utilizado.

Quanto aos valores médios de ingestão de micronutrientes obtidos com ambos os métodos de avaliação, foi detectada diferença estatisticamente significativa apenas na avaliação da ingestão de vitamina C, indicando que ambos os métodos podem refletir resultados semelhantes. Entretanto, como mais de 50% dos pacientes relataram menor consumo alimentar em relação às suas necessidades energéticas, há certa dificuldade em se realizar uma análise comparativa satisfatória dos dados e seus valores de referência.

Um estudo feito por Gomes e Leão (2001), com 428 pacientes do Ambulatório de Nutrição do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG) no Rio de Janeiro, mostrou que os pacientes com IMC elevado sub-relataram o consumo alimentar avaliado por meio de R24 h. Foi possível detectar que o excesso de peso é um forte determinante para o sub-relato, o que também foi observado no presente estudo, pois mais da metade dos pacientes sub-relataram o consumo alimentar de maneira importante.

Scagliusi et al (2008), analisaram o sub-relato no consumo energético em mulheres, por meio de três métodos de avaliação do consumo alimentar. Verificaram que o QFA foi o método no qual houve maior sub-relato, mas que também os R24h e R3d revelaram sub-relato

importante quando comparados à necessidade energética avaliada pela técnica da água duplamente marcada. Estes pesquisadores também verificaram que as mulheres com obesidade apresentaram sub-relato significativamente maior em relação aquelas com sobrepeso ou peso eutrófico.

Segundo Scagliusi e Lancha Júnior (2003), o comportamento envolvido no sub-relato da ingestão alimentar é um processo complexo, envolvendo componentes perceptivos, emotivos e cognitivos, além de fatores como insatisfação com a imagem corporal e o desejo de ajuste social, que certamente contribuem para o aumento do sub-relato em pessoas obesas.

O sub-relato pode ser consequência da maior consciência sobre alimentação saudável, resultante de intervenções nutricionais ou de políticas públicas de saúde (GOMES; LEÂO, 2011). Os sujeitos incluídos no presente estudo, participam constantemente de reuniões em grupos, com profissionais Nutricionistas, que juntamente com a equipe ambulatorial, promovem reeducação alimentar para redução de peso. Portanto, os pacientes avaliados tem conhecimento sobre alimentação adequada e saudável.

Com relação a inadequação de ingestão de micronutrientes, pode-se observar que o percentual de inadequação foi elevado para a maioria dos micronutrientes analisados, sendo que cálcio e magnésio atingiram os maiores percentuais de inadequação no consumo. Santos et al. (2007), avaliaram 96 adolescentes, com idade média de 16 anos e constataram menor consumo de cálcio entre aqueles com obesidade. O mesmo estudo verificou que a ingestão de cálcio foi inversamente associada com a gordura corporal e a resistência à insulina, principalmente entre as adolescentes com excesso de peso. A associação do consumo de magnésio com excesso de peso ainda não foi comprovada, mas seu consumo é essencial, pois está diretamente ligado na geração de energia (ATP) no organismo humano (LEÃO; SANTOS, 2012; ROCHA, 2009).

Estudos realizados em todas as regiões brasileiras por Pinheiros et al. (2009), demonstraram que o padrão de ingestão de vitaminas e minerais é, geralmente, inadequado. Foram observados percentuais elevados de inadequação de ingestão, como de 80% de para vitamina C e 99% para vitaminas E. No presente estudo, percebeu-se que também houve inadequação elevada no consumo de vitamina E e magnésio, conforme já citado. O consumo inadequado de vitamina C não apresentou níveis tão expressivos de inadequação quando comparado ao percentual de inadequação de vitamina E, vitamina B6, cálcio, magnésio e selênio, todos superiores a 80%.

As vitaminas B1, B2, B12 e zinco apresentaram percentuais de inadequação inferiores a 60%, mas ainda são valores considerados insatisfatórios, já que o consumo inadequado de

micronutrientes está entre os principais fatores de risco para a carga total global de doenças em todo o mundo, além disso, é considerado um importante fator para a prevenção de agravos gerados por doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (WHO, 2002).

O sub-relato da ingestão energética total e a prevalência na inadequação de ingestão de nutrientes podem também estar associados às constantes mudanças ocorridas nos padrões de vida da população em geral. Ao longo dos últimos anos têm ocorrido modificações nos padrões alimentares, na frequência de atividade física, além das mudanças econômicas, sociais e demográficas decorrentes do processo de modernização. No que se refere a alimentação, verificou-se aumento da consumo energético, em consequência da elevada ingestão de alimentos com alta densidade energética, o que também promove prevalências elevadas de inadequação no consumo de micronutrientes (WHO, 2003).

A avaliação do consumo alimentar de indivíduos, apesar de extremamente necessária e importante, não é tarefa simples e, muitas vezes, não é realizada da maneira mais adequada. Em se tratando de indivíduos obesos, a tarefa torna-se ainda mais difícil, dados todos os possíveis fatores associados já relatados anteriormente. Os dados obtidos no presente trabalho destacam a urgência na melhor aplicação e avaliação dos dados de consumo alimentar.

5 CONCLUSÕES

Pode-se concluir que houve elevada prevalência de sub-relato de ingestão energética total independente do método de avaliação do consumo alimentar utilizado, assim como elevados percentuais de inadequação no consumo de micronutrientes. O sub-relato é um fenômeno complexo que envolve vários aspectos, entre eles emocionais, físicos, sociais e cognitivos. É um fato que interfere na veracidade das informações coletadas pelos diferentes métodos de inquéritos alimentares.

Por todos estes fatores, conclui-se também que é necessária a adoção de medidas para a promoção de hábitos alimentares saudáveis por meio de práticas educativas, assim como a conscientização da população sobre a avaliação do consumo alimentar e seus benefícios, além da aplicação e avaliação correta dos métodos de avaliação do consumo alimentar por parte dos profissionais Nutricionistas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo foi, com dificuldades, desenvolvido no Ambulatório de Nutrição e Obesidade do HC/UFG, com apenas 30 pacientes, pois houve uma séria de dificuldades técnicas ao longo do desenvolvimento do estudo.

Houve um período em que as pesquisas praticamente ficaram paradas, pois várias questões burocráticas somente poderiam ser resolvidas pela coordenadora, a qual esteve em licença médica por um longo período. A falta de organização atrapalhou o andamento das pesquisas, já que diversas vezes pacientes não eram encaminhados para o ambulatório.

Além disso, o atendimento aos pacientes era dificultado pela falta de consultórios disponíveis em determinados dias da semana. Após alguns entraves com outras áreas médicas, o ambulatório de obesidade foi realocado, entretanto, para um espaço ainda menor, o que dificultou sobremaneira a comunicação com os pacientes.

A greve dos servidores da Universidade Federal de Goiás foi, sem dúvida, a maior dificuldade enfrentada durante o estudo, pois os atendimentos só foram normalizados nos meses finais da greve, totalizando um intervalo nos atendimentos de aproximadamente três meses.

Com relação aos pacientes, estes muitas vezes não retornavam com os registros alimentares de três dias, seja por falta de entendimento das instruções ou por faltarem aos retornos de consulta, ou mesmo por falta de interesse. Muitas vezes foi necessário realizar contato individual com os pacientes para reforçar a importância do preenchimento dos registros alimentares, bem como para verificar se eles estavam com dúvidas e confirmar o retorno das consultas.

Por outro lado, mesmo diante de todas as dificuldades, os objetivos propostos foram alcançados e os resultados foram de extrema importância tanto para o aprendizado pessoal, quanto para a melhora no atendimento, avaliação e prescrição nutricional dos pacientes.

REFERÊNCIAS

ASTRUP, A.; BÜGEL, S. Micronutrient deficiency in the aetiology of obesity. **International Journal of Obesity**, London, v. 34, n. 6, p. 947-948, 2010.

BEATON, G.H. Approaches to analysis of dietary data: relationship between planned analysis and choice of methodology. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 59, suppl., p. 253-261, 1994.

CENTENO, A.J. **Curso de estatística aplicada à biologia**. Goiânia: Ed. UFG, 2002. 234 p.

DRUMMOND, S. E.; CROMBIE, N. E.; CURSITER, M. C.; KIRK, T. R.; Evidence that eating frequency is inversely related to body weight status in male, but not female, non-obese adults reporting valid dietary intakes. **International Journal of Obesity**, England, v. 22, n. 2, p. 105-112, 1998.

FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. L.; COLUCCI, A. C. A.; Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. **Arquivo Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 617-624, 2009.

FRANCISCHI, R. P. P.; PEREIRA, L. O.; FREITAS, C. S.; KLOPFER, M.; SANTOS, R. C.; VIEIRA, P. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 17- 28, 2000.

GOMES, A. A.; LEÃO, L. S. C. S. Prevalência de sub-relato e super-relato de ingestão energética em população ambulatorial do Rio de Janeiro, Brasil. **Caderno de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 197-202, 2011.

HOLANDA, L. B.; FILHO, A. A. B. Métodos aplicados em inquéritos alimentares. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 62-70, 2006.

HORVATH, T. L. The hardship of obesity: a soft-wired hypothalamus. **Nature Neuroscience**, London, v. 8, n. 5, p. 5-61, 2005.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for energy, cabohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids**. Washington DC: The National Academies Press, 2005, 1331p.

JAIME, P. C.; LATORRE, M. R. D. O.; FORNÉS, N. A. S.; ZERBINI, C. A. F. Estudo comparativo entre dois métodos de ajuste energético do consumo de nutrientes. **Nutrire (SBAN)**, São Paulo, v. 26, p. 11-18, 2003.

LEÃO, A. L. M.; SANTOS, L. C. Consumo de micronutrientes e excesso de peso: existe relação? **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 85-95, 2012.

MARCHIONI, D. L.; SLATER, B.; FISBERG, R. M. Aplicação das Dietary Reference Intakes na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p.207-216, 2004.

MELO, C. M.; TIRAPEGUI, J.; RIBEIRO, S. M. L. Gasto energético corporal: conceitos, formas de avaliação e sua relação com a obesidade**. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, 2008.

MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L.; SOUZA, A. L. M.; POPKIN, B. M. Da desnutrição para a obesidade: a transição nutricional no Brasil. In: MONTEIRO, C. A. **Velhos e novos males da saúde no Brasil**: a evolução do país e de suas doenças. São Paulo: Hucitec, 1995. p. 247-255.

PINHEIRO, M. M; SCHUCH, N. J; GENARO, P. S.; CICONELLI, R. M.; FERRAZ, M. B.; MARTINI, L. A. Nutrient intakes related to osteoporotic fractures in men and women: The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). **Journal of Nutrition,** Rockville, v. 8, n. 6, p. 1-8, 2009.

POPKIN, B. M.; DOAK, C. M. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. **Nutrition Reviews**, Washington, v.56, n.4, p.106-114, 1998.

PRYER, J. A.; VRIJHEID, M.; NICHOL, R.; KIGGINS, M.; ELLIOTT, P. Who are the 'low energy reporters' in the dietary and nutritional survey of British adults? **Journal of Epidemiology**, Oxford, v. 26, n. 1, p. 146-154, 1997.

ROCHA, V. S. **Avaliação bioquímica e do consumo alimentar de magnésio em mulheres saudáveis no terceiro trimestre gestacional.** 99f. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SANTOS, L. C.; CINTRA, I. P.; FISBERG, M.; MARTINI, L. A. Ingestão de cálcio e indicadores antropométricos entre adolescentes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 275-283, 2007.

SCAGLIUSI, F. B.; FERRIOLLI, E.; PFRIMER, K.; LAUREANO, C.; CUNHA, C.S.; GUALANO, B.; LOURENÇO, B. H.; LANCHA JR, A. H. Underreporting of energy intake in Brazilian women varies according to dietary assessment: a cross-sectional study using doubly labeled water. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 108, n. 12, p. 2031-2040, 2008.

SCAGLIUSI, F. B.; LANCHA JÚNIOR, A.H. Subnotificação da ingestão energética na avaliação do consumo alimentar. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 471-481, 2003.

SLATER, B.; MARCHIONI, D.L.; FISBERG, R.M. Estimating prevalence of inadequate nutrient intake. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 599-605, 2004.

SLATTERY, M. L.; EDWARDS S. L.; CAAN, B. Low-energy reporters: evaluation of potential differential reporting incase-control studies. **Nutrition and Cancer**, Philadelphia, v. 42, n. 2, p. 173-179, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Geneva, 2003. 220p. (WHO Technical Report Series, 916). ,

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The world health report** 2002: reducing risks, promoting healthy life. Geneva; 2002.

Biologia reprodutiva de *Coccocypselum lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers (Rubiaceae) em um remanescente de Cerrado Típico no sudeste Goiano.

Aluna: Carolini Esmeriz da Rosa

Orientador: Prof. Dr. Hélder Nagai Consolaro

Universidade Federal de Goiás, *Campus* Catalão, Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório Integrado de Zoologia, Ecologia e Botânica (LIZEB), Av. Dr. Lamartine Pinto de Avelar, 1120, Setor Universitário, Cep: 75704-020, Brasil

caroliniesmeriz@gmail.com (aluna); helderconsolaro@gmail.com (orientador)

Resumo

Distilia pode ser caracterizada como um sistema reprodutivo que apresenta dois morfos florais, brevistilo e longistilo, hercogamia recíproca e um sistema de incompatibilidade, cujo objetivo seria o de potencializar a xenogamia. O objetivo desse trabalho foi estudar a biologia reprodutiva de *Coccocypselum lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers. O estudo foi desenvolvido de maio de 2012 a maio 2013 em uma área localizada no perímetro urbano do município de Catalão – GO, conhecido como “Pasto do Pedrinho". Foi averiguado a razão dos morfos, morfometria floral, biologia floral, produção de néctar e visitantes florais. A abertura das flores iniciou-se às 05:00h com a longevidade floral de 12 horas. Logo após a abertura floral, as flores já apresentavam pólen liberado e estigma receptivo. O volume do néctar foi de 0,07 ± 0,02 µL, a concentração de 80% e a quantidade de açucar de 0,08 ± 0,02 mg para flores brevistilas e 0,09 ± 0,06 µL, 69% e 0,07 ± 0,03 mg para longistilas. A razão dos morfos não foi equilibrada, 38 foram brevistilos e 22 longistilos ($p<0,05$, $\chi^2=4,26$). A população de *C. lanceolatum* apresentou os dois morfos florais comuns em espécies distílicas, morfo longistilo e brevistilo, porém ambos não apresentaram hercogamia recíproca exata. Nenhum visitante foi registrado, porém foi notado o patrulhamento de formigas na maioria dos indivíduos observados. Pelo presente trabalho ter sido realizado somente com uma população, não é possível considerar que a anisopletia e a falta de exatidão numérica na reciprocidade é uma condição geral para *C. lanceolatum*.

Palavras-chave: heterostilia, polinização, distilia, Cerrado.

Revisado pelo orientador.

Introdução

A família Rubiaceae compreende cerca de 9.000 espécies distribuídas pelo mundo, sendo a família com o maior número de gêneros heterostílicos dentro das Angiospermas (SOUZA e LORENZI, 2005; BARRETT, 1992). No território brasileiro, é possível encontrar cerca de 1.400 espécies de Rubiaceae distribuídas em 120 gêneros (SOUZA e LORENZI, 2005), sendo considerada a família com o maior número de espécies heterostílicas dentre as 27 que possuem esse polimorfismo (GANDERS, 1979; BARRETT, 2000).

Distilia é um polimorfismo floral, geneticamente, controlado que apresenta dois morfos florais diferenciados quanto à altura das anteras e do estigma (GANDERS, 1979). Flores que apresentam a altura das anteras maior que a altura do estigma são denominadas brevistilas, enquanto que flores que possuem a altura do estigma maior que a altura das anteras são chamadas de longistilas (BAHADUR, 1968). Essa separação espacial é conhecida como hercogamia, porém em espécies distílicas existe um caso especial denominado hercogamia recíproca, no qual há uma correspondência entre a altura do estigma de um morfo com a altura da antera do morfo oposto, tendo o fluxo de pólen intermorfo como o principal fator de seleção (LLOYD e WEB, 1986; BARRETT, 1992). Somado a isso, populações de espécies distílicas, normalmente, apresentam uma razão equilibrada de 1:1 entre indivíduos de ambos os morfos florais, também conhecido como isopletia (GANDERS, 1979). Espécies tidas como, tipicamente, distílicas caracterizam-se pela presença dos dois morfos florais (dimorfismo floral), da hercogamia recírpoca e da isopletia (GANDERS, 1979; WEB e LLOYD, 1986; BARRETT, 2002, 2003).

Diversos estudos com espécies da família têm demonstrado que a distilia se manifesta tipicamente em várias espécies, como *P. poeppigiana* (COELHO e BARBOSA, 2004), *P. trichophoroides*, *P. racemosa* e *P.mapourioides* (CONSOLARO, 2008), *P.barbiflora* (TEIXEIRA e MACHADO, 2004) e *P. nuda* (CASTRO e ARAÚJO, 2004), entretanto outros trabalhos mostram variações (COELHO e BARBOSA, 2003; CONSOLARO et al., 2005; CONSOLARO et al., 2011; RODRIGUES e CONSOLARO, 2013). Espécies distílicas estão muito ligadas a um serviço de polinização eficiente para a reprodução e manutenção do polimorfismo, de modo que um desequilíbrio nessa interação pode causar danos à reprodução, gerar quebra no gene responsável pela distilia, assim como interferir na dinâmica de uma comunidade (GANDERS, 1979; ENDELS et al., 2002).

Dentro de Rubiaceae, o gênero *Coccocypselum* (P. Browne) apresenta cerca de 35 espécies de ampla distribuição no Neotrópico, sendo o Brasil o local de maior riqueza com 21 espécies (COSTA e MAMEDE, 2002). *Coccocypselum lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers é uma das espécies que apresentam maior distribuição no gênero, podendo ser encontrada nos sub-bosques de florestas úmidas, matas de galeria e capoeiras, além de vegetação perturbada desde o México até o norte da Argentina (DELPRETE, 2010). No Brasil, espécies do gênero podem ser encontradas desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (SMITH e SELLOWIA, 1956).

Trabalhos relacionados com espécies distílicas no Brasil são comuns na Floresta Atlântica, como *Psychotria suterella* (GRANDISOLI, 1997; LOPES e BUZATO, 2005) *P. jasminoides*, *P. birotula*, *P. mapourioides* e *P. pubigera* (CASTRO e OLIVEIRA, 2002; CASTRO et al., 2004), *P. barbiflora* (TEIXEIRA e MACHADO, 2004), *P. conjugens*, *P. hastisepala*, *P. higrophiloides*, *P. nuda* e *P. sessilis* (PEREIRA et al. 2006) e *P. nuda* (CASTRO e ARAÚJO, 2004). Contudo, no Cerrado o número de estudos é reduzido com uma pequena ascensão na última década, podendo citar, *Psychotria barbiflora* (MONTEIRO et al., 1991), *P. poeppigiana* (COELHO e BARBOSA 2004), *P. deflexa* e *Declieuxia fruticosa* (OLIVEIRA, 2004), *Manettia cordifolia* (CONSOLARO et al., 2005), *Palicourea* (CONSOLARO et al., 2009), *Palicourea rigida* (MACHADO et al., 2010), *P. carthagenensis* (CONSOLARO et al., 2011) e *P. goyazensis* (RODRIGUES e CONSOLARO, 2013).

Devido à característica da espécie de ocorrer comumente em diversos ambientes e a escassez de trabalhos relacionados com a distilia no bioma Cerrado, sobretudo no gênero *Coccocypselum*, este trabalho teve por objetivo estudar a biologia reprodutiva de *C. lanceolatum*, uma espécie dentro de um gênero tido como distílico.

Material e Métodos

Área de estudo - O estudo foi desenvolvido de maio de 2012 a maio 2013 em uma área localizada no perímetro urbano do município de Catalão – GO, conhecido como "Pasto do Pedrinho". Esta área possui cerca de 54,5 ha com a ocorrência de algumas fitofisionomias de Cerrado, sendo o trabalho realizado em uma Mata Seca Semidecídua (RIBEIRO e WALTER, 2008). A região possui uma média pluviométrica anual de 1,236 mm com 89% das chuvas ocorrendo entre outubro e março (VIEIRA et al. 2012, a partir de dados calculados da hidroweb.ana.gov.br). Possui um clima do tipo AW, com duas estações bem definidas: uma

estação fria e outra seca entre os meses de maio a setembro com outra quente e chuvosa entre outubro e abril (KOPPEN, 1948).

Isopletia - A isopletia foi averiguada por meio de um transecto de, aproximadamente, 800m onde todos os indivíduos encontrados ao acaso foram morfotipados (brevistilo e longistilo). Para testar a razão isoplética dos morfos florais na população foi realizado o teste do Qui-quadrado (Bioestat 3.0).

Morfometria floral - Foram coletadas, aleatoriamente, 60 flores dos dois morfos em 12 indivíduos (cinco flores em cada individuo). As medidas tomadas foram: comprimento do tubo da corola, tamanho do lóbulo estigmático, altura da antera e altura do estigma (da base do estilete ao ápice do estigma e da base da corola ao ápice da antera). Essas medidas foram feitas com auxílio de paquímetro sob estereomicroscópio.

Biologia floral - O período de antese das flores foi determinado através do acompanhamento de botões maduros previamente ensacados até a queda das pétalas. O acompanhamento foi realizado em 20 botões de cada morfo, distribuídos em 10 indivíduos por morfo. A receptividade estigmática foi definida quando os lobos estigmáticos, no caso bífidos, encontravam-se abertos (CONSOLARO et al., 2009; CONSOLARO et al., 2011).

Néctar - A produção de néctar nos dois morfos foi avaliada a partir do seu volume total, concentração e quantidade total de açúcar produzido por flor. O volume foi verificado por meio de microcapilares graduados, a concentração utilizando refratômetro manual (sensu INOUYE et al. 1980) e a quantidade total açúcar calculado seguindo protocolo descrito em Galetto e Bernadello (2005). As medidas foram tomadas sempre ao final do dia, antes do fim da longevidade da flor. A análise e a comparação dos dados entre os morfos foram feitas por meio do teste *U* (Mann-Whitney/Bioestat 3.0).

Observação dos visitantes - A observação dos visitantes florais foi realizada das 07:00 às 19:00h, totalizando 24 horas no decorrer de quatro dias contínuos.

Resultados

Biologia floral - Segundo Delprete (2010), *Coccocypselum lanceolatum* é uma erva perene, rasteira, com caules velutinos, estípulas lineares e folhas lanceoladas a ovaladas. As flores são dimórficas, com hipanto turbinado, de 1-2 mm de comprimento, denso-velutino, com cálices de lobos ovalado-lanceolados; corolas subcampanuladas, extremamente velutina, fauce e

lobos lilases. As flores brevistilas possuem corola de 6-7 mm de comprimento; estames exsertos, filamentos de 4-5 mm, anteras de 1-2mm.; estile de 1,5 mm, ramas estigmáticas de 1,2 mm de comprimento. Por sua vez as flores longistilas possuem corola de 6-6,5 mm de comprimento, estames inclusos, filamentos de 2-2,7 mm de comprimento, anteras de 1-1,3 mm de comprimento; estilete de 1,8-2,5 mm de comprimento, ramas estigmáticas de 1,2-1,4 mm de comprimento. As inflorescências são glomeriformes, globosas, 12-24 flores; pedunculadas; pedúnculos de 1-6 cm de comprimento, velutinos; brácteas ovais, foliáceas, 5-7 mm de comprimento, velutinas em ambas as faces, e os botões florais possuem ápice arredondado (Figura 2).



Figura 2. Detalhe da inflorescência e da flor de *Coccocypselum lanceolatum* (Rubiaceae).

A abertura das flores de *C. lanceolatum*, tanto de brevistilo quanto de longistilo, iniciou-se às 05:00h e, em alguns casos, a abertura floral se estendeu até às 07:00h, contudo todas apresentaram longevidade de 12 horas. Logo após a abertura floral, as flores já apresentavam pólen liberado e estigma receptivo.

Néctar - A flor de *C. lanceolatum* oferece néctar como recurso energético aos seus polinizadores. Os valores de volume, concentração e quantidade de açúcar no néctar produzido por ambos os morfos florais estão descriminados na Tabela 1.

Tabela 1. Volume total, concentração e quantidade total de açúcar no néctar retirado ao final da longevidade de *Coccocypselum lanceolatum* (Rubiaceae) em uma remanescente de Mata Seca Semidecídua do Sudeste Goiano.

Morfo	Volume (µL)	Concentração(%)	Quantidade de açucar (mg)
Brevistilo	0,07 ± 0,02	80	0,08 ± 0,02
Longistilo	0,09 ± 0,06	69	0,07 ± 0,03

Isopletia - Foram encontrados os dois morfos na população de *C. lanceolatum*, porém sua frequência foi, estatisticamente, desequilibrada (anisioplética). Do total de indivíduos morfotipados, 38 foram brevistilos e 22 longistilos ($p<0,05$, $\chi^2=4,26$).

Morfologia floral - A população de *C. lanceolatum* apresentou os dois morfos florais comuns em espécies distílicas, morfo longistilo e brevistilo, porém ambos não apresentaram hercogamia recíproca exata (Tabela 2, Figura 3). A altura das anteras foi diferente entre os morfos, confirmando a ausência de dimorfismo estilar (Tabela 2, Figura 3). O comprimento da corola foi semelhante entre os morfos, entretanto diferença significativa foi constatada entre os lobos estigmáticos.

Tabela 2. Dados florais de *Coccosypselum lanceolatum* (Rubiaceae) em uma remanescente de Mata Seca Semidecídua do Sudeste Goiano. Letras (a) e (b) indicam comparações entre morfos dentro da mesma coluna e (c) e (d) indicam comparações de hercogamia recíproca, onde letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$). H: valor do teste de Kruskal-Wallis.

Morfo	Comprimento da corola (mm)	Altura do estame (mm)	Altura do pistilo (mm)	Lóbulos estigmáticos (mm)	H
Longistilo	3,26±0,50a	3,14±0,66a/c	1,12±0,31a/c	1,97±0,45a	249
Brevistilo	3.13±0,51a	1,97±0,37b/d	2,18±0,67b/d	2,67±0,81b	

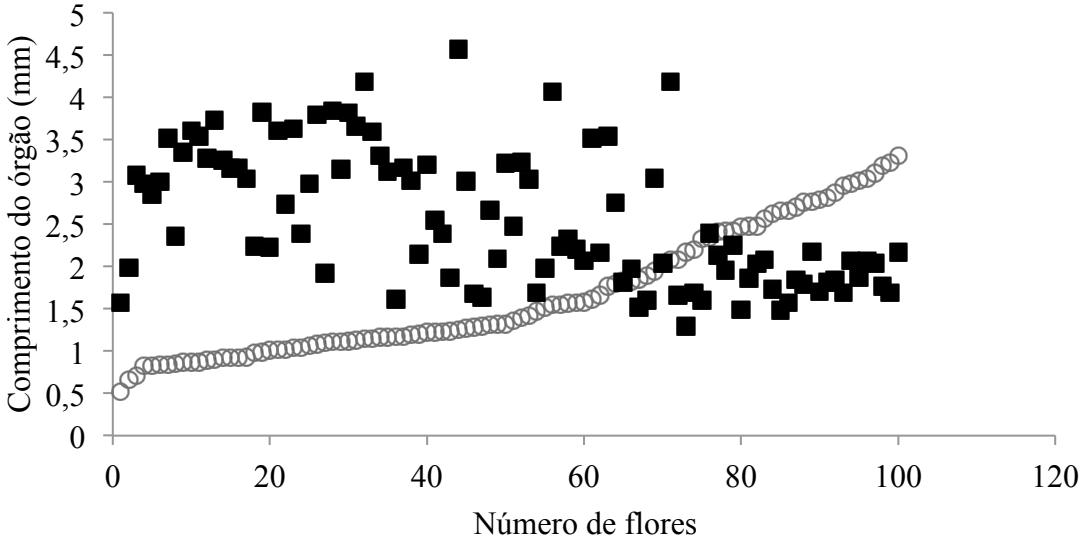


Figura 3. Variação na altura do estigma (•) e na altura da antera (□) em flores de *Coccocypselum lanceolatum* (Rubiaceae) em uma remanescente de Mata Seca Semidecídua do Sudeste Goiano. Flores foram organizadas crescentemente pela altura do estigma para ilustrar a sopreposição da altura dos respectivos verticilos nos morfos longistilo e brevistilo.

Visitantes florais - Pretendia-se que os principais polinizadores fossem determinados a partir do comportamento dos visitantes, da estrutura floral e da frequência de visitas, porém nenhum visitante foi registrado. Foi notado o patrulhamento de formigas na maioria dos indivíduos observados.

Discussão

A população estudada de *C. lanceolatum* apresentou dimorfismo floral, entretanto eles foram anisopléticos e a hercogamia recíproca não foi exata. Não considerar uma espécie como distílica típica apenas pela falta de exatidão numérica na reciprocidade, muitas vezes, pode não condizer com a real funcionalidade do sistema. De acordo com Fonseca et al. (2008) e Toledo et al. (2007), *Psychotria brachypoda, Palicourea marcgravii* e *P. macrobotrys* podem classificadas como distílicas mesmo sem a hercogamia recíproca perfeita.

Pelo presente trabalho ter sido realizado somente com uma população, não é possível considerar que a anisopletia é uma condição geral para *C. lanceolatum*. Apesar disso, suspeita-se que essa seja uma condição frequente na espécie, pois um trabalho desenvolvido com uma outra população da mesma espécie no Distrito Federal, DF (CONSOLARO, H. trabalho em fase final de submissão), encontrou um caso mais extremo de anisopletia, o monomorfismo longistilo. Li e Johnston (2001) discutem que variações entre populações da mesma espécie podem ocorrer e que, quando essas variações distílicas ocorrem, elas surgem em função de pressões seletivas pontuais e locais. Um estudo baseado na filogenia molecular de 21 espécies de *Psychotria*, também uma Rubiaceae, discute que variações na distilia podem ocorrer de forma independente entre espécies e populações (SAKAI e WRIGHT, 2008) e Naiki (2012) menciona a distilia em 35 espécies do *Coccosypselum*.

Os valores do néctar encontrado em ambos os morfos correspondem às flores polinizadas por insetos (BAKER, 1975; ENDREESS, 1994), porém eles foram, relativamente, baixos quando comparados com outras espécies (CASTRO e OLIVEIRA, 2002; COELHO e BARBOSA, 2004). Essa pequena oferta pode explicar a ausência de visitas às flores de *C. lanceolatum*, pois quanto menos recurso oferecido pela planta menor à chance desta ser visitada. Foi observado apenas a presença de formigas patrulhando os ramos e folhas dos indivíduos da espécie estudada. Alguns estudos mostram que esses insetos podem ser potenciais polinizadores, como registrado para *Paratrechina flavipes* Smith, *Leptothorax* sp. e *Aphaenogaster* sp. (Formicidae) (KAWAKITA e KATO, 2002), porém é uma síndrome rara

com apenas 12 relatos concretos (BEATTIE et al., 1984). A presença das formigas nas flores da presente população, na verdade, pode estar mais ligada ao fato dos indivíduos de *C. lanceolatum* serem ervas rasteiras, muitas vezes sob a serrapilheira, do que a um serviço de polinização efetivo. A polinização por formigas é uma interação rara porque o grupo não se desloca com frequência entre os indivíduos vegetais, especialmente pela ausência de asas, e pela existência de substâncias lipofílicas que podem inativar o pólen (BEATTIE 1985). O gênero *Coccosypselum* faz parte de uma subfamília monofilética (Rubioideae), no qual a distilia é tida como uma condição ancestral, sendo a mirmecofilia pouco provável em função dos polinizadores terem um papel fundamental na seleção da morfologia floral em espécies heterostílicas (FAIVRE e McDADE, 2001).

Conclusões/Considerações finais

Estudos sobre sistemas reprodutivos de plantas são de extrema importância para um maior entendimento de como estas se reproduzem e se interagem com seus polinizadores e com a comunidade, no qual estas estão inseridas. Naiki (2012) relata, superficialmente, a distilia em 35 espécies do *Coccosypselum*, contudo, até o presente momento, não se conhece um estudo direcionado para as questões da biologia reprodutiva do gênero, sendo o presente trabalho o pioneiro. Além de todos estes fatores, a área do presente estudo é um fragmento pequeno que esta inserido dentro do perímetro urbano, o que demonstra como áreas verdes, por menor que sejam, são de extrema importância para a fauna e flora, servindo de corredores ecológicos para outras biotas.

Referências

Ayres, M.; Ayres-Jr. M.; Santos, A. S. 2003. BioEstat 3.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá. 290 p.

Baker, H . G. 1975. Sugar concentrations in nectars from hummingbird flowers. Biotropica 7: 37-41.

Barrett, S.C.H. 1992. Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. Pp. 1-24. In: Barrett, .C.H. (ed.). Evolution and function of heterostyly. Berlin, Springer Verlag.

Barrett, S.C.H.; Wilken, D. H.; Cole, W. W. 2000. Heterostyly in the Lamiaceae: the case of *Salvia brandegeei*. Plant Systematics and Evolution 223:211- 219.

Barrett, S.C.H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. Nature Reviews Genetics 3: 274-284.

Barrett, S.C.H. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. Philosophical Transactions of the Royal Society Ser. B 358: 991–1004. (pdf)

Bahadur, B. 1968. Heterostyly in Rubiaceae: A review. Journal Osm. Univ. Golden Jubilee. 207-238.

Beattie, A.J.; Turnbull, C.; Knox, R. B.; Williams, E. G. 1984. Ant inhibition of pollen function: a possible reason why ant pollination is rare. – Am. J. Bot. 71: 421–426.

Beattie, A.J., 1985. The evolucionary ecology of ant-plant mutualisms. Cambridge. UK: Cambridge University Press.

Castro, C. C.; Oliveira, P. E. 2002. Pollination biology of distylous Rubiaceae in the Atlantic Rain Forest, SE Brazil. Plant Biology 4: 640-646.

Castro, C.C.; Oliveira, P.E.; Alves, M.C. 2004. Breading system and floral morphometry of distylous *Psychotria* L. species in the Atlantic Rain Forest, SE Brazil. Plant Biology, v. 6, p. 755-760.

Castro, C.C.; Araújo, A.C. 2004. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the atlantic rain forest, Brazil. Plant Systematic Evolution v 244, p.131-139.

Coelho , C.P. Barbosa, A.A. 2003. Biologia reprodutiva de palicourea microbotrys Ruiz & Pavon (Rubiaceae): um possível caso de homostilia no gênero *Palicourea* Aubl. Revista Brasileira de Botânica 26(3): 403-413.

Coelho, C.P. Barbosa, A. A. 2004. Biologia reprodutiva *de Psychotria poeppigiana* Mull.Arg. (Rubiaceae) em Mata de Galeria. Acta Bot. Bras. 18(3): 481-489.

Consolaro, H.; Silva, E.B.; Oliveira, P.E. 2005. Variação floral e biologia reprodutiva de *Manettia cordifolia* Mart. (Rubiaceae). Revista Brasileira de Botânica, v 28, p. 85-94.

Consolaro, H. 2008. A distilia em espécies de Rubiaceae do bioma Cerrado. 96 f. Tese (Doutorado em Ecologia). Universidade de Brasília.

Consolaro, H.; Toledo, R. D. P.; Ferreguti, R. L.; John. H.; Oliveira, P. E. 2009. Distilia e homostilia em espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do Cerrado do Brasil Central. Revista Brasileira de Biociências, v 32, p.677-689.

Consolaro, H.; Souza, S. C. S.; Oliveira, P. E. 2011. Breakdown of heterostyly and pinmonomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). Plant Species Biology, 26, 24–32.

Costa, C. B.; Mamede, M.C.H. 2002. Sinopse ddo gênero *Coccocypselum* P.Browne (Rubiaceae) no estudo de São Paulo, Brasil. Biota Neiotropica 2 (1).

Delprete, P.G. (2010). Rubiaceae. Flora dos estados de Goiás e Tocantins 40: 1-1610. Universidade Federal de Goiás.

Endels, P.; Jacquemyn, H.; Brys, R.; Hermy, M. 2002. Changes in pin-thrum rations in populations of the heterostyle *Primula vulgaris* Huds. Does imbalance affect populations persistence? Flora 197: 326-331.

Endress, P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge.

Faivre, A.M.; McDade, L. A. 2001. Population-level variation in the expression of heterostyly in three species of Rubiaceae: does reciprocal placentment of anthersand stigmas characterize heterostyly? American Journal of Botany 88: 841-853.

Fonseca, L.C.N.; Almeida, E.M.; Alves, M.A.S. 2008. Fenologia, morfologia floral e visitantes de *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Britton (Rubiaceae) em uma área de Floresta Atlântica, Sudeste do Brasil. Acta Botanica Brasilica. v. 22, n 1, p. 63-69.

Galetto, L.; Bernardello, G. 2005. Rewards in flowers: néctar. In Practical Pollination Biology.

Ganders, F. R. 1979. The biology of heterostyly. New Zealand Journal of Botany. 17: 607-635.

Grandisoli, E.A.C. 1997. Biologia reprodutiva e estrutura da população de *Psychotria suterella* Muell. Arg. (Rubiaecae) em um fragmento de mata secundária em São Paulo (SP). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Kawakita, A.; Kato, M. 2002. Floral biology and unique pollination system of root holoparasites, Balanophora kuroiwai and B. tobiracola (Balanophoraceae). American Journal of Botany, 89: 1164-1170.

Koppen, W., 1948. Climatologia: com un estudio de los climas de la tierra. Mexico, Fondo de Cultura Economica.

Li, P.; Johnston, M.O. 2001. Comparative floral morphometrics of distyly and homostyly in three evolutionary lineages of *Amsinckia* (Boraginaceae). Canadian Journal of Botany, v 79, p. 1332- 1348.

Lopes, L.; Buzato, S. 2005. Biologia reprodutiva de *Psychotria suterella* Muell. Arg. (Rubiaceae) e a abordagem de escalas ecológicas para a fenologia de floração e frutificação. Revista Brasileira de Botânica, v. 28, p. 785-795.

Machado, A. O.; Silva, A. P.; Consolaro, H.; Barros, M. A. G.; Oliveira, P. E. 2010. Breeding biology and distyly in *Palicourea rigida* H. B. & K. (Rubiaceae) in the Cerrados of Central Brazil. Acta Botanica Brasilica, v. 24 no.(3): p. 686-696.

Monteiro, R., Nakajima, J.N., Ribeiro, J.E.L.S.; Toledo, J.C. 1991. Morfologia e distribuição espacial das formas heterostílicas de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae) Naturalia 16: 137-146.

Naiki, A.; Nagamasu, H. Distyly and pollen dimorphism in *Damnacanthus* (Rubiaceae). Journal Plant Restoration, v. 116, p. 105-113, 2012.

Oliveira, A.S. 2004. Biologia Reprodutiva da duas espécies de Rubiaceae, em diferentes fitofisionomias do Cerrado. Monografia de Gradução. Universidade Federal de Uberlandia.

Pereira, Z. V.; Vieira, M.F.; Carvalho-Okano, R. M. 2006. Fenologia da floração, morfologia floral e sistema de incompatibilidade em espécies distílicas de Rubiaceae em fragmento florestal do sudeste brasileiro. Revista Brasileira de Botânica, v. 29, p. 471-480.

Ribeiro, J.F.; Walter, B.M.T. 2008. As principais fitofisionomias do Bioma Cerrado. In Cerrado: ecologia e flora (S.M. Sano, S.P. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Cerrados, Planaltina. p.151 -212.

Rodrigues, E. B.; Consolaro, H. 2013. Atypical distyly in *Psychotria goyazensis* Mull. Arg. (Rubiaceae), an intramorph self-compatible species. Acta Botanica Brasilica 27: 155-161.

Sakai, S.; Wright, S.J. 2008. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): When is heterostyly lost? Biological Journal of Linnean Society 93: 125-134.

Smith, L.B.; Downs, R.J. 1956. Resumo preliminar das Rubiaceae de Santa Catarina. Sellowia 7: 13-92.

Souza, V.C.; Lorenzi, H. 2005. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.

Teixeira, L.A.G.; Machado, I.C., 2004a. *Sabicea cinerea* Aubl. (Rubiaceae): distilia e polinização em um fragmento de floresta Atlântica em Pernambuco, Nordeste do Brasil. Revista Brasileira de Botânica 27, 193-204.

Teixeira, L. A. G.; Machado, I. C. 2004b. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). Acta Botanica Brasilica 18, 853-862.

Toledo, R.; Carvalho, A.; Hashimoto, D.; Rodrigues, M.; Ferreguti, R.; Consolaro, H.; Hay, J.; Oliveira, P. E. 2007. Caracterização morfológica de quatro espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do Cerrado do Brasil central. Revista Brasileira de Biociências, v. 5, n 1, p. 732-734.

Vieira, D. L. M.; Coutinho, A. G.; Rocha, G. P. E. 2012. Resprouting Ability of Dry Forest Tree Species after Disturbance Does Not Relate to Propagation Possibility by Stem and Root Cuttings. Restoration Ecology. 1:1-7.

Webb, C.J.; Lloyd, D.G. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Hercogamy. New Zealand Journal of Botany 24:163-178.

Avaliações eletrocardiográficas ambulatoriais e dinâmicas (Sistema Holter) antes e após a administração de um novo protótipo a fármaco vasodilatador (LASSBio 897) em cães

Isabela Plazza Bittar[1], André Ribeiro Fayad[2], Fernanda Oliveira de Carvalho[2], Priscilla Regina Nasciutti[3], Rosângela de Oliveira Alves Carvalho[4]

Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO 74001-970, Brasil

E-mail: ipbittar@gmail.com ; rosangela2210@gmail.com

RESUMO

A hipertensão arterial designa uma elevação excessiva da pressão arterial (PA) acima dos valores de referência para a população em geral. Nos cães, assim como nos humanos, a hipertensão arterial sistêmica crônica traz uma série de problemas, uma vez que o aumento sustentado da PA pode causar danos aos diversos tecidos do organismo. A redução da PA alcançada com terapia anti-hipertensiva é direta ou indiretamente relacionada ao relaxamento do músculo liso vascular. O LASSBio 897, derivado N-acilidrazônico (NAH), foi desenvolvido a partir de um protótipo anteriormente pesquisado (LASSBio 294) capaz de promover efeitos vasodilatadores e inotrópicos positivos combinados. Na molécula de LASSBio-897, a substituição do anel de 2-tienil no LASSBio-294 com um anel de 3-tienil levou a uma maior potencialização da atividade vasodilatadora. Considerando as etapas de um estudo pré-clínico, este ensaio objetivou avaliar os efeitos deste novo protótipo sobre o ritmo cardíaco de cães por meio da eletrocardiografia ambulatorial e dinâmica. O experimento foi realizado com seis cães, adultos, da raça Beagle, clinicamente saudáveis. Na primeira fase, os animais receberam doses de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg, 2,0mg/kg de LASSBio 897, por via oral, e foram avaliados antes (T0) e após a administração, nos tempos de uma hora (T1), duas horas (T2), quatro horas (T4), seis horas (T6) e doze horas (T12), por meio de eletrocardiografia ambulatorial. Na segunda fase, os animais receberam as mesmas doses descritas anteriormente e foram avaliados durante 24 horas, após esta administração, por meio de eletrocardiografia dinâmica (sistema Holter).

Palavras-chave: cardiologia, eletrocardiografia, beagles, vasodilatação, hipertensão arterial.

1 Orientando PIBIC

2 Aluno de graduação em Medicina Veterinária – PIVIC

3 Mestranda do Curso de Pós-graduação em Ciência Animal

4 Orientador

"Revisado pelo Orientador"

1. INTRODUÇÃO

As doenças do aparelho circulatório representam a principal causa de morbimortalidade na sociedade contemporânea, destacando-se a doença coronariana, as cerebrovasculares e a insuficiência cardíaca (ZASLAVSKY, 2002). A hipertensão arterial (HA) é o principal fator de risco para essas doenças (ALVES et al.,2005), representando uma elevação excessiva da pressão arterial (PA) acima dos valores de referência para a população em geral. A PA elevada é a segunda maior causa de incapacidade no trabalho, sendo assim um importante problema de saúde pública (WOLFF & MILLER, 2007).

Nos cães, assim como nos humanos, a hipertensão arterial sistêmica crônica traz uma série de problemas, uma vez que, o aumento sustentado da PA pode causar danos aos diversos tecidos do organismo. As lesões mais observadas são as cardíacas, renais, oculares e do sistema nervoso. Alterações cardíacas por hipertensão em cães incluem sopros sistólicos, ritmos de galope e hipertrofia ventricular esquerda (BROWN et al., 2007).

A terapia anti-hipertensiva tem sido associada a reduções significativas de infarto, acidente vascular cerebral e do miocárdio e insuficiência cardíaca incidente. Cinco principais classes de agentes anti-hipertensivos: antagonistas do cálcio; inibidores da enzima conversora de angiotensina; antagonistas dos receptores da angiotensina e β-bloqueadores, são adequados para o tratamento, sozinhos ou em combinação. A redução da PA alcançada com a maioria desses medicamentos é direta ou indiretamente relacionada ao relaxamento do músculo liso vascular. Assim, o desenvolvimento de novos medicamentos vasodilatadores específicos com potencial para uso clínico é importante (SUDO et al., 2010).

O eletrocardiograma (ECG) fornece informações sobre a freqüência cardíaca, o ritmo cardíaco e a condução elétrica intracardíaca. Sugere indícios de aumento das câmaras cardíacas e alterações eletrolíticas. É o principal método de diagnóstico das arritmias cardíacas, podendo determinar o seu tipo, origem e severidade, bem como direcionar o protocolo terapêutico (ETTINGER, 1997). Existem dois métodos de monitoração do ritmo cardíaco, o eletrocardiograma convencional (ambulatorial), no qual o animal é monitorado por um período curto e em repouso, e o eletrocardiograma dinâmico (sistema Holter), que é o registro contínuo (24 a 48 horas) da atividade elétrica do coração durante as atividades cotidianas do animal, inclusive durante o sono, permitindo registrar arritmias cardíacas que ocorrem de forma mais esporádica e que não poderiam ser registradas em momentos pré-determinados de monitoração (WARE, 2006).

Recentemente um novo protótipo a fármaco (LASSBio 897) capaz de promover efeitos vasodilatadores foi desenvolvido pelo Laboratório de Avaliação de Substâncias Bioativas (LASSBio) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). O LASSBio 897, derivado N-acilidrazônico (NAH), foi desenvolvido a partir da substituição de um anel 2-tienil por um anel 3-tienil na estrutura de um protótipo anteriormente pesquisado (LASSBio 294) capaz de promover efeitos vasodilatadores e inotrópicos positivos combinados. Esse protótipo assim como o anterior, foi produzido a partir do safrol, um composto extraído do óleo de sassafrás, encontrado em plantas como a canela-branca (*Ocotea pretiosa*) do Brasil (SUDO et al., 2010). Este novo protótipo induziu efeito anti-hipertensivo não apenas após a administração aguda de injeção intravenosa, mas também após administração oral. Na molécula de LASSBio897, a substituição do anel de 2-tienil no LASSBio294 com um anel de 3-tienil levou a uma maior potencialização da atividade vasodilatadora. Segundo Sudo et al. (2010) durante o tratamento agudo ou a longo prazo de LASSBio897, os animais não mostraram qualquer alteração no comportamento ou sinais de toxicidade, tais como movimentos involuntários, piloereção, depressão respiratória e sedação.

Diante do exposto, a realização desse projeto permitiu continuar o desenvolvimento de um novo fármaco seguro, uma vez que, após os estudos *in vitro*, devem ser realizados os testes *in vivo* com o objetivo de determinar os possíveis efeitos e a segurança do composto sobre o sistema cardiovascular.

Para tanto, os animais foram submetidos a avaliação eletrocardiográfica a fim de determinar se o candidato a fármaco LASSBio897 teria potencial arrítmico, o que comprometeria sua segurança em uso terapêutico futuro.

2. METODOLOGIA

O estudo experimental foi realizado no laboratório de Cardiologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia (HV/EVZ). Utilizou-se seis cães, adultos, da raça Beagle, clinicamente saudáveis. Os animais foram previamente vacinados e desverminados. A alimentação fornecida constituiu-se de ração normocalórica Purina Proplan Adult Small Breed® em duas refeições diárias e água à vontade.

Na primeira fase de experimentação todos os cães receberam doses pontuais de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg de LASSBio 897, e 0,5mg/kg de benazepril (controle positivo), por via oral. As avaliações foram realizadas antes (T0) e após a administração das moléculas, nos tempos de uma hora (T1), duas horas (T2), quatro horas (T4), seis horas (T6) e doze horas (T12), por meio da eletrocardiografia ambulatorial. Na segunda fase, os cães

receberam as mesmas doses descritas anteriormente e foram avaliados durante 24 horas após a administração das moléculas, por meio da eletrocardiografia dinâmica (sistema Holter).

Para a obtenção do eletrocardiograma ambulatorial (ECG), foi utilizado aparelho computadorizado ECGPC®– Tecnologia Eletrônica Brasileira – TEB. Seguindo orientações de Ettinger et al. (2004), o ECG foi realizado em ambiente calmo e longe de qualquer estimulação que alterasse o traçado normal. Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito, em mesa não condutora. Eletrodos foram fixados à pele na região do olécrano dos membros torácicos e patela dos membros pélvicos. O álcool foi utilizado como agente de contato, não sendo necessária a tricotomia (Figura 1). As análises dos registros foram realizadas na derivação DII (TILLEY, 1995), com obtenção dos seguintes parâmetros: ritmo e freqüência cardíaca (bpm), duração (ms) e amplitude (mV) da onda P e do complexo QRS, duração dos intervalos P-R e Q-T, Q-T corrigido, amplitude do segmento S-T e da onda T e determinação do eixo cardíaco elétrico médio, no plano frontal, expresso em graus.



Figura 1 - A) Cadela Beagle em decúbito lateral direito durante exame de eletrocardiografia ambulatorial. Eletrodos de coloração amarela, vermelha, verde e preta dispostos nos membros torácicos esquerdo e direito, pélvicos esquerdo e direito, respectivamente. B) Cadela Beagle em decúbito lateral direito sendo submetida à monitoração eletrocardiográfica enquanto o traçado é exibido no monitor do computador (seta).

A eletrocardiografia dinâmica (sistema Holter) foi realizada por meio do aparelho de "Holter" ECG Cardiolight®, durante 24 horas. O aparelho foi acondicionado em um colete de tecido, leve e confortável, oferecendo total liberdade de movimento aos animais, objetivando a proteção dos cabos ligados aos eletrodos adesivos. Os adesivos com os eletrodos foram conectados à pele do animal, na região torácica, mediante tricotomia prévia e limpeza da região com álcool e éter para retirar os pelos e a oleosidade. Os eletrodos foram posicionados nos mesmos locais padronizados para as derivações precordiais rV2 e V4. Posteriormente, foi colocada uma fita de esparadrapo sobre os eletrodos para garantir maior fixação (Figura 2). Foram registrados três canais eletrocardiográficos a partir de derivações torácicas

modificadas. O horário foi ajustado no momento da colocação (tempo zero) e o aparelho, ao término de 24 horas, desligou-se automaticamente. As informações gravadas no cartão de memória foram transferidas para o software de leitura e posteriomente enviadas para interpretação, onde utilizou-se um algoritmo computadorizado para classificar os complexos registrados.



Figura 2 - Cadelas Beagle sendo preparadas para monitoração eletrocardiográfica dinâmica (sistema Holter). A) Em decúbito lateral direito para fixação dos eletrodos vermelho e preto. B) Em decúbito lateral esquerdo para fixação dos eletrodos branco e verde. C) Após fixação dos eletrodos, proteção dos cabos com ataduras e acoplamento ao aparelho Cardiolight®. D) Com roupa de tecido própria para proteção do aparelho.

Todos os dados obtidos foram, então, submetidos a análise de variância para amostras subdivididas nos tempos (ANOVA), com auxílio do software R (R Core Team, 2013), considerando nível de significância de 5%.

Toda a metodologia empregada nas fases de experimentação obedeceu aos preceitos da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório, sendo previamente submetida à análise pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Goiás (protocolo 16/12 aprovado em 27/02/2012).

3. RESULTADOS

Os resultados obtidos após análise dos dados eletrocardiográficos ambulatoriais, comparando os tratamentos e os tempos utilizados estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Valores médios dos parâmetros eletrocardiográficos, comparados entre os tempos, entre os tratamentos e interação entre tempo/tratamento, obtidos por meio de eletrocardiografia ambulatorial. Goiânia, 2013.

Variável	Tempos	Tratamentos (mg/kg)				Médias	p*	p**	p***
		0,50	1,00	2,00	Benazepril				
Frequência Cardíaca (bpm)	T0	75,77 ab C	86,66 a A	75,39 ab B	71,55 b B	77,34 C	0,09	<0,0001	<0,0001
	T1	98,83 a A	95,44 a A	92,61 a A	105,83 a A	98,18 A			
	T2	91,16 a AB	94,22 a A	80,88 a AB	81,22 a B	86,87 B			
	T4	90,50 a AB	97,39 a A	84,22 a AB	83,77 a B	88,97 B			
	T6	73,61 a C	83,61 a A	73,94 a B	72,89 a B	76,01 C			
	T12	80,72 a BC	61,55 b B	69,83 ab B	76,83 a B	72,23 C			
	Médias	85,10 a	86,48 a	79,48 a	82,01 a				
Onda P (ms)	T0	38,66	38,22	37,55	38,77	38,30 C	0,0008	0,0003	0,3268
	T1	39,16	39,00	38,50	39,50	39,04 AC			
	T2	39,00	39,33	37,83	38,27	38,61 BC			
	T4	39,66	39,50	39,55	39,66	39,59 A			
	T6	39,66	39,22	39,50	38,66	39,15 AB			
	T12	39,00	39,00	38,39	40,00	39,09 AB			
	Médias	39,19 a	39,04 a	38,48 b	39,14 a				
Segmento PR (ms)	T0	87,61 b D	90,55 ab B	91,77 ab CD	95,16 a CD	91,27	0,0024	<0,0001	0,0005
	T1	89,61 a CD	86,55 a B	87,05 a D	89,22 a D	88,11			
	T2	101,99 b A	106,55 ab A	110,94 a A	106,33 ab A	106,45			
	T4	91,00 ab BCD	88,44 b B	97,22 a BC	95,16 ab CD	92,95			
	T6	97,38 b AB	104,27 a A	99,83 ab B	102,83 ab AB	101,08			
	T12	96,27 ab AC	103,00 a A	95,44 b BC	98,94 ab BC	98,41			
	Médias	93,98	96,56	97,04	97,94				
Segmento QRS (ms)	T0	56,16 c AB	58,55 bc AB	65,89 a A	64,77 ab A	61,34	0,0012	<0,0001	<0,0001
	T1	54,61 a B	51,33 ab C	53,61 a C	48,00 b D	51,88			
	T2	57,11 a AB	58,05 a A	57,89 a B	59,77 a AB	58,20			
	T4	54,55 a B	54,33 a BC	54,55 a C	55,00 a C	54,61			
	T6	56,72 a AB	56,55 a AB	59,11 a B	57,22 a BC	57,40			
	T12	58,83 b A	59,50 b A	63,77 a A	61,00 ab AB	60,77			
	Médias	56,33	56,38	59,13	57,63				
Segmento QT (ms)	T0	226,22 a A	220,00 a B	228,89 a AB	222,55 a BC	224,41	0,0248	<0,0001	<0,0001
	T1	211,33 a C	220,22 a B	217,16 a CD	213,61 a C	215,58			
	T2	215,27 ab BC	212,94 ab B	207,16 b D	218,16 a BC	213,88			
	T4	224,77 b AB	237,61 a A	234,11 ab A	238,33 a A	233,70			
	T6	231,89 ab A	236,66 a A	222,11 b BC	225,39 b B	229,01			
	T12	227,49 ab A	234,11 a A	223,22 b AC	224,55 ab B	227,34			
	Médias	222,83	226,92	222,83	223,76				
Onda P (mV)	T0	0,13 a C	0,15 a BC	0,12 a C	0,12 a D	0,13	0,0063	<0,0001	<0,0001
	T1	0,14 b C	0,18 a B	0,17 ab B	0,15 ab CD	0,16			
	T2	0,22 a A	0,22 a A	0,19 a AB	0,21 a AB	0,21			
	T4	0,18 c B	0,24 a A	0,21 bc A	0,22 ab A	0,21			
	T6	0,18 a B	0,17 ab BC	0,17 ab B	0,14 b D	0,16			
	T12	0,16 ab BC	0,13 bc C	0,12 c C	0,18 a BC	0,15			
	Médias	0,17	0,18	0,16	0,17				
Onda Q (mV)	T0	0,04 a CD	0,01 a C	0,03 a C	0,03 a C	0,03	0,0380	<0,0001	0,0078
	T1	0,00 a D	0,02 a BC	0,02 a C	0,02 a C	0,01			
	T2	0,03 a CD	0,03 a BC	0,03 a C	0,04 a C	0,03			
	T4	0,19 a A	0,17 a A	0,12 b A	0,15 ab A	0,16			
	T6	0,14 ab B	0,15 a A	0,09 b AB	0,13 ab A	0,13			
	T12	0,06 a C	0,06 a B	0,05 a BC	0,09 a B	0,06			
	Médias	0,08	0,07	0,06	0,07				

Tabela 1 – Valores médios dos parâmetros eletrocardiográficos, comparados entre os tempos, entre os tratamentos e interação entre tempo/tratamento, obtidos por meio de eletrocardiografia ambulatorial. Goiânia, 2013.

Continuação...

Onda R (mV)	T0	1,01 a AB	0,94 ab C	0,93 ab CD	0,86 b C	0,93	0,0016	<0,0001	<0,0001
	T1	1,06 b A	1,11 ab B	1,18 a A	1,03 b B	1,09			
	T2	1,04 a A	1,07 a B	1,02 a BC	1,05 a B	1,04			
	T4	0,92 ab B	0,97 a C	0,84 b D	0,91 ab C	0,91			
	T6	1,09 b A	1,22 a A	1,06 b B	1,06 b B	1,10			
	T12	1,08 b A	1,19 ab AB	1,12 ab AB	1,24 a A	1,16			
	Médias	1,03	1,08	1,02	1,02				
Segmento ST (ms)	T0	0,00 a B	0,00 a C	0,00 a C	0,00 a C	0,00	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	T1	0,11 b A	0,15 a A	0,09 b A	0,16 a A	0,13			
	T2	0,00 b B	0,07 a B	0,04 a B	0,07 a B	0,04			
	T4	0,00 a B	0,01 a C	0,00 a C	0,00 a C	0,00			
	T6	0,00 b B	0,10 a B	0,00 b C	0,00 b C	0,02			
	T12	0,00 a B	0,02 a C	0,00 a C	0,00 a C	0,00			
	Médias	0,01	0,06	0,02	0,04				
Eixo Elétrico Médio	T0	40,77	47,33	42,16	39,94	42,55 C	0,5075	<0,0001	0,3209
	T1	44,66	37,83	46,66	36,33	41,37 C			
	T2	39,83	54,55	56,33	49,22	49,98 BC			
	T4	68,50	70,33	74,44	71,22	71,12 A			
	T6	59,33	55,55	53,94	61,00	57,45 A			
	T12	66,89	70,66	63,55	64,77	76,47 A			
	Médias	53,33 a	56,04 a	56,18 a	53,75 a				
Segmento QTc (ms)	T0	253,44 ab B	263,66 a B	254,72 ab BC	242,00 b B	253,47	0,0010	<0,0001	<0,0001
	T1	270,88 a AB	276,89 a B	269,27 a AB	282,83 a A	274,97			
	T2	265,44 a AB	265,55 a B	240,05 b C	251,11 ab B	255,54			
	T4	276,05 b A	304,50 a A	276,72 b A	280,27 b A	284,38			
	T6	256,11 b AB	277,72 a B	245,99 b C	247,50 b B	256,83			
	T12	263,61 a AB	236,33 b C	239,22 b C	250,66 ab B	247,45			
	Médias	264,25	270,77	254,33	259,07				

Letras minúsculas: diferenças significativas entre os tratamentos. Letras maiúsculas: diferenças significativas entre os tempos. p*: diferença estatística entre tratamentos; p**: diferença estatística entre tempos; p***:diferença estatística da interação tratamento/tempos.

Analisando os dados da tabela 1 é possível perceber que a frequência cardíaca (FC) apresentou diferença estatística entre os tempos e na interação tempo/tratamento. Para todos os tratamentos, observou-se discreta elevação da FC entre uma e quatro horas.

Os outros parâmetros obtidos por meio de avaliação eletrocardiográfica ambulatorial e submetidos a análise estatística, como amplitude (mV) da onda P e do complexo QRS, duração dos intervalos P-R e Q-T, Q-T corrigido e amplitude do segmento S-T, apresentaram diferença estatística entre os tempos, entre os tratamentos e na interação tempo/tratamento. Analisando as médias obtidas, observou-se que a amplitude da onda P apresentou valores mais altos em T2 e T4 e com a utilização do tratamento de 1,0mg/kg. A amplitude da onda Q apresentou o valor mais elevado no tempo T4 e com a utilização da dose de 0,5mg/kg. A amplitude da onda R apresentou o valor mais elevado em T12 e no tratamento utilizando 1,0mg/kg. A duração do segmento P-R apresentou valor mais elevado em T2 e no tratamento utilizando o benazepril. A duração do segmento Q-T apresentou valor mais elevado em T4 e no tratamento utilizando 1,0mg/kg. O intervalo Q-T corrigido apresentou resultados semelhantes ao observados no segmento Q-T. O segmento S-T apresentou o valor mais elevado em T1 e no tratamento utilizando 1,0mg/kg.

A duração (ms) da onda P, apresentou diferença estatística entre os tempos, entre os tratamentos, porém não houve diferença na interação tempo/tratamento. Considerando os tempos, os valores mais altos foram observados em T4, T6 e T12. Considerando os tratamentos, a dose de 2,0mg/kg apresentou diferença quando comparada as outras doses, sendo nesta o menor valor observado.

O eixo cardíaco elétrico médio, apresentou diferença estatística apenas entre os tempos, onde T4, T6 e T12 apresentaram diferença quando comparados aos outros tempos, sendo nestes os maiores valores observados. Valores abaixo dos parâmetros de referência para a espécie foram observados em T2 (dose 0,5mg/kg), T1 (dose 1,0mg/kg), T0 e T1 (benazepril).

Considerando a onda T, não houve diferença estatística entre tempos ou tratamentos pois todos os animais apresentaram T bifásica.

Em relação ao ritmo cardíaco, os animais apresentaram arritmia sinusal respiratória com marcapasso migratório em 47,22% do tempo em que foram monitorados, e arritmia sinusal respiratória com marcapasso migratório e sinus arrest em 52,78% do tempo. Não houve eventos arrítmicos.

Os dados obtidos após interpretação dos registros de Holter, estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Análise das variáveis obtidas por meio de eletrocardiografia contínua (sistema Holter) entre os diferentes tratamentos. Goiânia, 2013.

Variáveis	Tratamentos (mg/kg)				p*
	0,50	1,00	2,00	Benazepril	
Quantidade de QRS's	111.517,70	112.739,70	110.010,80	107.603,30	0,6736
FC mínima (bpm)	36,16	34,33	35,16	36,00	0,8490
FC máxima (bpm)	239,66	231,33	236,33	239,66	0,4878
FC média (bpm)	85,50	84,50	81,83	83,66	0,7370
Quantidade de pausas	244,66	484,00	688,33	476,16	0,3181
Quantidade de elevações de ST	20,83	17,83	19,50	25,00	0,4961
Quantidade de depressões de ST	7,00	5,50	4,33	5,83	0,8205

p*: valor estatístico da diferença entre os tratamentos.

Conforme apresentado na tabela 2, não houve diferença estatística entre os tratamentos para as variáveis analisadas no Holter.

4. DISCUSSÃO

Segundo Hanton & Rabemampianina (2006), a FC é altamente variável em cães e pode ser alterada por tratamentos terapêuticos ou associadas a condições experimentais, em particular devido ao estresse ou excitação. Confirmando a afirmação dos autores, no presente estudo, percebeu-se grande variabilidade e diferença estatística para a frequência cardíaca (FC) entre os tempos, e na interação tempo/tratamento. A discreta elevação da FC entre uma e quatros horas é consequência da diminuição do débito cardíaco, possivelmente causada pelo efeito vasodilatador provocado pelo protótipo neste período. Os resultados obtidos por Nasciutti et al. (2013), que relataram queda de pressão a partir de duas horas após administração oral da molécula de LASSBio 897, podem confirmar a hipótese sugerida.

Valores de referência para variáveis eletrocardiográficas têm sido publicados para diferentes raças de cães, incluindo Beagles (PETERSEN et al., 1951; OSBORNE & LEACH, 1971; ECKENFELS & TRIEB, 1979; DETWEILER, 1981; GAVA et al., 2011) e, observando os resultados obtidos neste estudo observou-se que todas as variáveis avaliadas, como ritmo e freqüência cardíaca (bpm), duração (ms) e amplitude (mV) da onda P e do complexo QRS, duração dos intervalos P-R e Q-T, Q-T corrigido, amplitude do segmento S-T e da onda T estão dentro dos parâmetros considerados normais para a espécie e a raça em questão, mesmo apresentando diferença estatística entre os valores obtidos, não representando, portanto, importância do ponto de vista clínico.

O eixo cardíaco elétrico médio, que representa a soma dos vários vetores instantâneos que ocorrem do início ao fim da ativação ventricular (WARE, 2006), também não apresentou alta variabilidade dos valores observados e, apesar de alguns parâmetros não se encontrarem dentro da normalidade para a espécie, tal fato, isoladamente, não representa importância clínica (TILLEY, 1995).

Não houve detecção de eventos arrítmicos, pois todos os animais apresentaram arritmia sinusal respiratória com marcapasso migratório, sendo estes achados considerados comuns e dentro da normalidade para a espécie. Alguns animais, em determinados tempos e doses, ainda apresentaram parada sinusal ou *sinus arrest*, esta característica também pode estar dentro da normalidade quando houver aumento do tônus vagal, em situações de repouso, e uma arritmia sinusal respiratória exacerbada (TILLEY, 1995).

As análises de Holter não apresentaram diferença estatística e os valores estavam dentro dos padrões considerados normais para a espécie (OLIVEIRA et al., 2011). Com relação ao ritmo observado, sabe-se que cães saudáveis apresentam arritmia sinusal bastante

pronunciada. Segundo Tilley (1995), em períodos de sono ou repouso a predominância do estímulo vagal pode até resultar em grandes pausas entre os batimentos cardíacos, caracterizando a parada sinusal. Os resultados obtidos nesse estudo confirmam essa característica, detectando a arritmia sinusal como ritmo predominante nos registros avaliados, corroborando o que foi anteriormente observado por meio da eletrocardiografia ambulatorial. Além disso, diagnosticou-se uma quantidade significativa de pausas, chegando a durações superiores a quatro segundos, em alguns animais, o que, segundo observaram Ulloa et al. (1995), Leomil Neto et al. (2002) e Oliveira et al. (2007), é comum tanto em cães sadios ou com cardiomiopatia leve

Diante do exposto, foi possível observar que o método dinâmico (sistema Holter) apresentou valores semelhantes ao método ambulatorial, entretanto tais valores não apresentaram diferença estatística diante de pequena variabilidade em 24 horas, proporcionando melhor análise das variáveis.

5. CONCLUSÃO

Nas condições em que este estudo foi realizado, é possível concluir que o protótipo a fármaco LASSBio897 não provoca arritmias em cães Beagles hígidos, o que pode ser considerado um resultado promissor. A administração via oral, das doses de 0,5mg/Kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg, mostraram-se tão seguras quanto a administração do benazepril, fármaco já consagrado para o tratamento da hipertensão arterial em cães.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da ação e segurança de novos protótipos é um processo muito importante na descoberta de novos medicamentos. O presente estudo provou a segurança do LASSBio 897, uma vez que o mesmo não provocou arritmias em cães saudáveis, permitindo a continuidade das atividades relacionadas a validação desta nova molécula vasodilatadora.

7. REFERÊNCIAS

ALVES, T.C.T.F.; WAJNGARTEN, M.; BUSATTO-FILHO, G. **Fatores de risco cardiovascular, declínio cognitivo e alterações cerebrais detectadas através de técnicas de neuroimagem**. Rev. Psiquiatr. Clín. 2005; 32(3):160-169.

BROWN, S.; ATKINS, C.; BAGLEY, R.; CARR, A.; COWGILL, L.; DAVIDSON, M.; EGNER, B.; ELLIOTT, J.; HENIK, R.; LABATO, M.; LITTMAN, M.; POLZIN, D.; ROSS, L.; SNYDER, P.; STEPIEN, R. **Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats**. Journal of veterinary internal medicine, Lakewood, v.21, n.1, p.542-558, 2007.

DETWEILER, D.K. **The use of electrocardiography in toxicological studies with beagle dogs**. In: Cardiac Toxicology (Balazs T, ed). Florida: CRC Press, p.33-82, 1981.

ECKENFELS, A. TRIEB, G. **The normal electrocardiogram of the consious beagle dog**. Toxicology and Applied Pharmacology. Califórnia, v.47, p.567-84, 1979.

ETTINGER, S.J. **Cardiac arrhythmias diagnosis and treatment**. In: ETTINGER, E. BONAGURA, E. Os Recentes Avanços da Cardiologia Veterinária, São Paulo: Anais Ettinger e Bonagura, 1997.

FAYAD, A.R.; TORRES, A.C.B.; OLIVEIRA, P.N.; OLIVEIRA ALVES, R. **Avaliação eletrocardiográfica dinâmica (Sistema Holter) antes e após administração de um novo protótipo a fármaco cardiotônico (LASSBio-294) em cães**. Anais do Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão - IX CONPEEX. Goiânia p. 5383-5393, 2012.

GAVA, F.N.; PAULINO-JUNIOR, D.; PEREIRA-NETO, G.B.; PASCON, J.P.E.; SOUSA, M.G.; CHANPION, T.; CAMACHO, A.A. **Eletrocardiografia computadorizada em cães da raça Beagle**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.63, n.2, p.317-321, 2011.

HANTON, G & RABEMAMPIANINA, Y. **The electrocardiogram of the Beagle dog: reference values and effect of sex, genetic strain, body position and heart rate**. Laboratory Animals. London, v.40, p. 123–136, 2006.

LEOMIL NETO, M.; LARSSON, M. H. M. A.; PEREIRA, L. et al. **Padronização da monitorização eletrocardiográfica por 24 horas em cães**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.54, n.2, p.133-138, 2002.

OLIVEIRA, M. S.; MUZZI, R. A. L.; ARAÚJO, R. B., et al. **Arritmias cardíacas detectadas pelo sistema Holter em cães com degeneração mixomatosa crônica da valva mitral.** Informativo ANCLIVEPA MG: Publicação oficial da associação nacional de clínicos veterinários de pequenos animais. Belo Horizonte, p.7, 2007.

OLIVEIRA, M. S.; MUZZI, R. A. L.; ARAÚJO, R. B.; NOGUEIRA, R. B.; MUZZI, L. A. L.; GIANNICO, A. T.; **Holter em animais de companhia – indicações clínicas e avaliação da variabilidade da freqüência cardíaca**. Clínica Veterinária. São Paulo, n. 92, p. 78-86, 2011.

OSBORNE, B.E., LEACH, G.D.H. **The beagle electrocardiogram**. Food and Cosmetics Toxicology. Oxford, v.9, p.857-64, 1971.

PETERSEN ES, RICKETTS HT, BREWER NR, LINTS HA, Test CE, Tupikova NA **Electrocardiogram of the Beagle dog**. Proceedings of the Society of Experimental Biology. New York, v.77, p.330–339, 1951.

R Core Team (2013). R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

SUDO, G. Z.; PEREIRA, S. L.; BEIRAL, H. J. V.; KUMMERLE, A. E.; RAIMUNDO, J. M.; ANTUNES, F.; SUDO, R. T.; BARREIRA, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Pharmacological characterization of (3-Thienylidene)- 3,4- Methylenedioxybenzoylhydrazide: a novel muscarinic agonist with antihypertensive profile**. American Journal of Hypertension. Louisville, v.23, p.135-141, 2010.

TILLEY, L. P. **Essentials of canine and feline electrocardiography**. 4.ed. Philadelphia: Lea &Febiger, p. 135-137, 152, 164-165. 1995.

ULLOA, H. M.; HOUSTON, B. J.; ALTROGGE, D. M. **Arrhythmia prevalence during ambulatory electrocardiographic monitoring of Beagles**. Am. J. Vet. Res., v.56, n.3, p.275-281, 1995.

WARE, W.A., **Exames diagnósticos do sistema cardiovascular.** In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Medicina interna de pequenos animais. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. cap.2, p.1-16.

WOLFF, T.; MILLER, T. **Evidence for the reaffirmation of the U.S. preventive services task force recommendation on screening for high blood pressure**. Clinical Guidelines. Paris, v.147, n.11, p.787-791, 2007.

ZASLAVSKY, C.; GUS, I. **Idoso. Doença cardíaca e comorbidades**. Arq. Bras. Cardiol. 2002; 79(6):635-639.

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS CONTENDO CLOBETASOL E TACROLIMUS PARA APLICAÇÃO TÓPICA

Anna Paula Krawczyk Santos[a], Isabella Cristina de Sousa Marques Amorim, Lígia Marques Andrade, Stephânia Fleury Taveira[b]

[a]Orientando, Faculdade de Farmácia, UFG (nahpaula_@hotmail.com)

[b]Orientador, Laboratório Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, UFG (stephaniafleury@gmail.com)

RESUMO

O lúpus cutâneo discoide é uma doença auto-imune que pode levar a cicatrizes permanentes na pele. O principal tratamento é a terapia tópica com tacrolimus (TAC) e clobetasol (CLO). Contudo, os tratamentos tópicos não são sempre eficientes devido ao espessamento do estrato córneo, que dificulta penetração dos fármacos na pele. Dessa forma, a encapsulação destes fármacos em nanopartículas lipídicas pode aumentar a penetração dos fármacos na pele. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) visando aplicação tópica. Os CLN, contendo ácido esteárico, ácido oléico, lecitina, taurodeoxicolato de sódio, TAC, CLO e água, foram preparados pelo método de microemulsão. As partículas foram caracterizadas quanto ao tamanho médio, índice de polidisersividade (PdI), potencial zeta, recuperação (REC%) e eficiência de encapsulação (EE%). A estabilidade dos sistemas foi avaliada por 30 dias a 4°C. O tamanho médio dos CLN contendo TAC e CLO (CLN-TAC-CLO) foi de 143,3±17,1 nm e PdI 0,264 ± 0,060. O potencial zeta obtido foi -37,7±10,3 mV. A REC% para o TAC e CLO foram superiores a 60%. A EE% para TAC e CLO foram de 97,30±0,48% e 89,82±0,54%, respectivamente. Após 30 dias de armazenamento a 4°C, os CLN-TAC-CLO não apresentaram diferenças significativas no tamanho médio, PdI e potencial zeta ($p>0,05$). Porém, aproximadamente 25% de TAC e CLO foram liberados dos CLN nos 30 dias. Os CLN-TAC-CLO foram obtidos com sucesso e parecem ser estáveis em 30 dias de armazenamento, mostrando-se promissores para aplicação tópica do TAC e CLO.

PALAVRAS-CHAVE: tacrolimus, clobetasol, carreadores lipídicos nanoestruturados, caracterização, estabilidade.

Revisado pelo orientador

1. INTRODUÇÃO

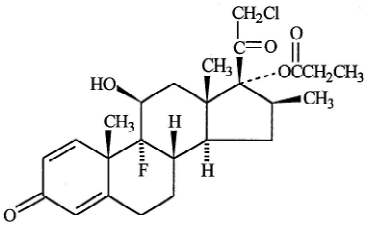
Lúpus eritematoso é uma doença auto-imune do tecido conjuntivo que pode ocorrer em todas as idades, com idade média variando entre 20 a 50 anos (PANJWANI, 2009), sendo muito mais comum em mulheres que em homens (KNOTT; MARTINEZ, 2010). Sua causa tem sido estudada e tem sido atribuída a fatores genéticos, ambientais e hormonais (PANJWANI, 2009; KNOTT; MARTINEZ, 2010). A doença pode causar danos apenas a pele, que é o caso do lúpus eritematoso discóide (LED), ou causar envolvimento sistêmico, que é denominado lúpus eritematoso sistêmico (LES) (PANJWANI, 2009).

O LED é a manifestação mais comum do lúpus eritematoso, é caracterizado por uma ou múltiplas placas persistentes que apresentam hiperqueratose, descamação, atrofia, lesões com hiperpigmentação periférica e hipopigmentação central entre outros sintomas (KNOTT; MARTINEZ, 2010). Pode levar a cicatrizes permanentes caso não seja tratado precocemente. As lesões do LED tendem a se manter na cabeça e pescoço (KNOTT; MARTINEZ, 2010), podendo também acometer outras regiões.

As lesões provocadas pelo LED são geralmente localizadas, sendo, portanto o tratamento tópico preferido dentre os demais (JESSOP; WHITELAW; JORDAAN, 2001). Entretanto, a doença provoca espessamento do estrato córneo da pele, tornando o tratamento tópico menos eficaz do que o esperado. Ainda assim, os glicocorticóides de uso tópicos são os mais utilizados paras estas terapias. A escolha do fármaco deve ser realizada considerando a área do corpo na qual será realizada a aplicação do medicamento, bem como o tipo da lesão presente na pele. Os mais utilizados são os glicocorticóides de alta potência, como é o caso do clobetasol (KUHN; RULAND; BONSMANN, 2011).

O propionato de clobetasol (CLO) é uma molécula pequena e lipofílica derivada da prednisolona (WISHART *et al*, 2008). Sua estrutura química está apresentada na Figura 1.

Figura 1. Estrutura química do propionato de clobetasol.

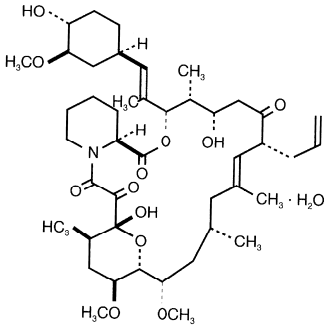


Fonte: Reepmeyer, Revelle, Vidasvsky, 1998, p. 239.

Como qualquer outro glicocorticóide, o uso de CLO pode acarretar efeitos colaterais. O risco destes efeitos aumenta com o tempo de uso e com a potência do glicocorticóide, e os mesmos podem ser locais na pele (REEPMEYER; REVELLE; VIDAVSKY, 1998), ou ainda, sistêmicos, quando o fármaco alcança as camadas mais profundas da pele (SILVA et al, 2012). Por isso, o tratamento com o CLO não deve exceder duas semanas e deve ser usado em pequenas áreas da pele (AUSTAD *et al*, 1998). Em caso de tratamento prolongado, o CLO pode causar efeitos adversos como atrofia da pele e problemas mais graves como a supressão do eixo adrenal-pituitário-hipotalâmico (em casos de absorção percutânea), além de diabetes, hipertensão, síndrome de Cushing, osteoporose entre outros (REEPMEYER; REVELLE; VIDAVSKY, 1998).

Mesmo com eficácia terapêutica, estes efeitos adversos dos glicorticóides fazem necessária a busca de outros fármacos potentes como alternativas de tratamento. O tacrolimus (TAC) é um macrolídeo derivado do fungo *Streptomyces tsukubaensis*. É um potente imunossupressor (ASSMANN; HOMEY; RUZICKA, 2000), hidrofóbico com logP 3,30 (WISHART *et al*, 2008). A estrutura química do tacrolimus está representada na Figura 2.

Figura 2. Estrutura química do Tacrolimus.



Fonte: Assmann; Homey; Ruzicka, 2000, p. 204.

O mecanismo de ação do TAC é o bloqueio da ativação das células T, e pequenos estudos têm comprovado segurança e eficácia no tratamento de LED pelo uso deste fármaco (KNOTT; MARTINEZ, 2010). Alguns de seus efeitos adversos são prurido e sensação de queimação (NAM; JI; PARK, 2011).

As principais formas para veiculação do TAC são cremes convencionais que, muitas vezes, não facilitam a penetração do fármaco para as camadas mais profundas da pele, onde os linfócitos da derme se encontram e são o alvo das terapias do LED (LI *et al*, 2012).

Portanto, o desafio da terapia é ultrapassar o estrato córneo e alcançar a derme com concentração suficiente de fármaco para ação terapêutica.

As nanopartículas lipídicas são uma alternativa para aumentar a penetração e retenção cutânea de fármacos e sobrepor à barreira do estrato córneo (MULLER; MADER; GOHLA, 2000). Os sistemas nanoparticulados são interessantes, pois conseguem proteger o fármaco encapsulado contra possíveis degradações químicas e ainda favorecer a penetração cutânea. Devido ao seu tamanho, as nanopartículas aumentam a superfície de contato dos fármacos com as células e também favorecem o acúmulo das mesmas nas imperfeições da pele o que permite uma liberação controlada de fármacos (MULLER; MADER; GOHLA, 2000).

Os carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) são a segunda geração de nanopartículas lipídicas (NAM; JI; PARK, 2011). Surgiram no fim da década de 90 a fim de minimizar os problemas encontrados das nanopartículas lipídicas sólidas (NLS), que apresentam capacidade limitada para carga de fármaco e, dentre outros fatores, instabilidade durante o armazenamento (rápida expulsão do fármaco) (WISSING; KAYSER; MULLER, 2003).

Os CLN são produzidos utilizando mistura de lipídeos sólidos e lipídeos líquidos que produzem uma matriz lipídica desorganizada, com imperfeição, o que permite acomodar uma maior quantidade de fármaco (HU *et al*, 2005), evitando a expulsão do mesmo durante a estocagem (NAM; YING;PARK, 2011).

Alguns estudos têm demonstrado que o uso concomitante de TAC e CLO têm aumentado a eficácia do tratamento do LED (KNOTT; MARTINEZ, 2010; PANJWANI, 2009). Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) contendo CLO e TAC visando aplicação tópica.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Substâncias e reagentes

Acido esteárico puríssimo (Vetec, Brasil) foi utilizado como lipídeo sólido, ácido oléico (Sígma Aldrich, EUA) foi escolhido como lipídeo líquido, lecitina de soja (Lipoid S100, Lipoid, Alemanha) e taurodeoxicolato de sódio (Sigma Aldrich, EUA) foram utilizados como tensoativos. Acetonitrila HPLC (JT Baker, EUA), água ultra-puraMilli-Q (Millipore, EUA), tacrolimus FK-506 (>99% de pureza) (AK Scientific, EUA), propionato de clobetasol (>98% de pureza) (Sigma Aldrich, EUA).

2.2 Métodos

2.2.1 Obtenção dos CLN

Os CLN foram obtidos pela técnica de microemulsão patenteada por Gasco e colaboradores (WISSING; KAYSER; MULLER, 2004). Os CLN foram obtidos com: 0,5% de ácido oléico, 1,5% de ácido esteárico e 1,25% de tensoativos (lecitina e taurodexicolato de sódio 8:2, respectivamente) (SOUZA *et al*, 2011). Os componentes da formulação foram aquecidos a 80ºC e mantidos sob agitação. Em seguida, 250 µL de água quente (80ºC) foram adicionados para formar a microemulsão, que posteriormente foi gotejada em água gelada (4ºC) (na proporção 1:20), sendo homogeneizada a 13.400 rpm em ultra-turrax por 10 minutos. Os CLN contendo fármacos foram preparados adicionando-os antes de formar a microemulsão. As formulações foram preparadas contendo 6,25% de CLO e 1,5% de TAC em relação à quantidade total de lipídeos adicionados na formulação.

2.2.2 Caracterização dos CLN

As formulações foram avaliadas quanto ao tamanho das partículas, índice de polidispersividade (PdI), carga superficial, recuperação do fármaco (REC%) e eficiência de encapsulação (EE%). Todos os estudos foram realizados em triplicata.

2.2.2.1 Avaliação da distribuição de tamanho de partícula

Os CLN foram caracterizados quanto a tamanho e índice de polidispersividade (PdI) no equipamento Zeta Sizer Nano-S (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido) pela técnica de espalhamento dinâmico de luz. Para realizar as análises, a formulação foi diluída em água (1:100) e homogeneizada em vórtex durante 2 minutos.

2.2.2.2 Estudo das cargas superficiais – Potencial Zeta

Para determinar o potencial zeta foi utilizado o equipamento Zeta Sizer Nano-S (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido) através da medida da velocidade de migração eletroforética das partículas. As leituras foram realizadas a partir da diluição da formulação em água (1:16) e agitação em vortex por 2 minutos.

2.2.2.3 Metodologia Analítica para quantificação do CLO e TAC

O método utilizado foi adaptado de Li e colaboradores (2012), desenvolvido para a quantificação tanto do TAC quanto do CLO. Os fármacos foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção UV. Foi utilizada coluna C_{18}

(150 nmm x 4,6 mm, 3µm). A fase móvel empregada foi acetonitrila e água 73:27 (v/v) respectivamente, e temperatura de 60ºC. Foi utilizado gradiente de comprimento de onda de 240 nm (de 0 – 3 min) e 210 (de 3 – 7 mim), volume de injeção de 20 µL e fluxo de 1 mL/min. Os dados foram processados usando o Software Galaxie Chromatography Data System. O método foi previamente validado de acordo com os parâmetros do FDA.

2.2.2.4 Recuperação do Fármaco (REC%)

Durante o desenvolvimento das partículas, devido ao grande número de etapas manuais, nem todo o fármaco pesado e adicionado à formulação é recuperado no final. A fim de calcular a quantidade recuperada (REC%), foi calculada a relação entre o fármaco total encontrado ao final do processo de obtenção dos CLN (FT) e o fármaco que foi inicialmente adicionado (FA) de acordo com a Equação 1 (ZHANG *et al*, 2006). Para determinar o fármaco total (FT) as partículas foram rompidas com acetonitrila (1:25), seguidas de agitação em vortex por 2 minutos e análise por CLAE (Seção 2.2.23).

$$REC\ (\%, p/p) = \frac{FT}{FA} X100 \qquad \textbf{Equação 1}$$

2.2.2.5 Eficiência de Encapsulação (EE%) dos CLN contendo TAC e CLO

A EE% foi avaliada a partir da relação entre fármaco total encontrado ao final do processo de obtenção dos CLN (FT) e fármaco livre (que não foi encapsulado nos CLN) (FL). Para determinar o FL, uma alíquota de 1 mL de formulação foi levada a mini-centrífuga por 20 minutos a uma rotação de 2000 rpm. O precipitado encontrado (que representa o FL) foi solubilizado em 1 mL de acetonitrila e quantificado por CLAE (Seção 2.2.2.3). A EE% foi calculada conforme a Equação 2 (ZHANG *et al*, 2006).

$$EE\ (\%, p/p)\ = \frac{FT-FL}{FT} x100 \qquad \textbf{Equação 2}$$

2.2.3 Estudo de Estabilidade dos CLN-TAC-CLO

A estabilidade dos CLN contendo TAC e CLO (CLN-TAC-CLO) foi avaliada por um período de 30 dias. As formulações foram avaliadas quanto ao tamanho de partícula, PdI, potencial zeta, recuperação do fármaco (REC%) e eficiência de encapsulação (EE%) imediatamente após o preparo e depois de armazenadas a 4°C em diferentes períodos de tempo (7, 15 e 30 dias). O estudo foi realizado em triplicata.

2.2.4 Análise Estatística

Os resultados foram expressos com média ± desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas com software Graphad Prisma 5.03 (GraphPad Inc., USA). As diferenças estatísticas foram determinadas usando ANOVA seguida pelo teste de Turkey com comparação múltipla, com $p < 0,05$, utilizados como níveis mínimos de significância.

3 RESULTADOS

3.1 Caracterização dos CLN contendo TAC e CLO

3.1.1 Distribuição de tamanho de partícula

O tamanho médio e o PdI dos CLN foram avaliados para as partículas sem fármaco (CLN) e as partículas com dupla encapsulação (CLN-TAC-CLO). Os resultados estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização das nanopartículas sem os fármacos (CLN) e com CLO e TAC (CLN-TAC-CLO) quanto ao tamanho médio e índice de polidispersividade (PdI).

Formulações	Tamanho Médio (nm)	PdI
CLN	153,8 ± 0,35	0,224 ± 0,03
CLN-TAC-CLO	143,3 ± 17,1	0,264 ± 0,06

Observa-se que não houve diferença significativa entre o tamanho e o PdI das partículas sem fármaco (CLN) das partículas com os fármacos (CLN-TAC-CLO).

3.1.2 Carga Superficial – Potencial Zeta

A Tabela 2 demonstra os resultados obtidos do potencial zeta das partículas com e sem os fármacos.

Tabela 2. Caracterização das nanopartículas sem os fármacos (CLN) e com CLO e TAC (CLN-TAC-CLO) quanto ao potencial zeta.

Formulações	Potencial zeta (mV)
CLN	-51,0 ± 2,10
CLN-TAC-CLO	-37,7 ± 10,3

O potencial zeta encontrado para as partículas com e sem fármaco foi semelhante, e apesar da média obtida para os CLN com os fármacos se apresentar inferior aos CLN sem fármacos, essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$).

3.1.3 Recuperação (REC%) e Eficiência de Encapsulação (EE%) dos CLN-TAC-CLO

Ao final do preparo das formulações e com auxílio do método analítico previamente desenvolvido e validado, foi avaliada a recuperação dos fármacos nas formulações de CLN-TAC-CLO (Tabela 3). Separadamente, foi também determinada à eficiência de encapsulação (EE%) dos fármacos nas formulações com dupla encapsulação (CLN-TAC-CLO).

Tabela 3. Recuperação (REC%) e Eficiência de Encapsulação (%EE) do CLO e TAC nas formulações de CLN-TAC-CLO.

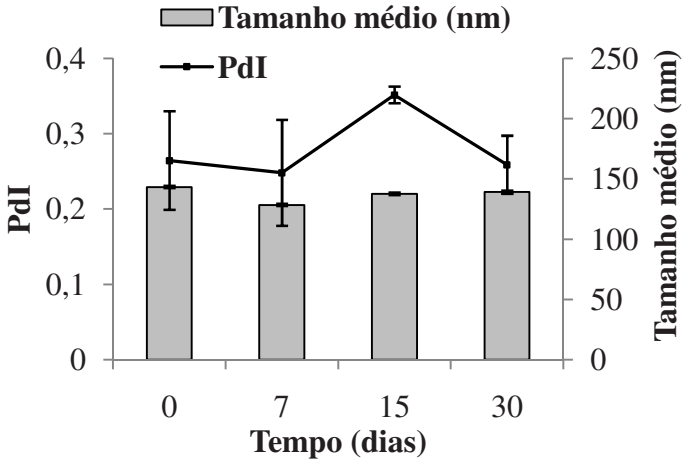
CLN-TAC-CLO	REC%	EE %
TAC	64,96 ± 3,14	97,30 ± 0,48
CLO	73,54 ± 0,93	89,82 ± 0,54

3.2 Estudos de Estabilidade dos CLN-TAC-CLO

Os estudos de estabilidade foram realizados por 30 dias, com análises imediatamente após o preparo (tempo 0), 7, 15 e 30 dias após armazenamento a 4°C. A cada tempo, foi avaliado o tamanho médio, PdI, potencial zeta, REC% e EE%.

Os parâmetros de tamanho médio e PdI mantiveram-se sem alteração significativa durante todo o período estudado ($p>0,05$), conforme demonstrado na Figura 3.

Figura 3. Estabilidade dos CLN carregados com Tacrolimus e Clobetasol, quanto ao tamanho e PdI, durante um período de 30 dias.



O potencial zeta também não sofreu variações estatisticamente significativas durante o período de análise (p>0,05), conforme demonstrado na Tabela 4.

Tabela 4. Potencial zeta (mV) das partículas com dupla encapsulação (CLN-TAC-CLO) após armazenamento a 4°C e análise imediatamente após o preparo (tempo 0), 7, 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	Potencial Zeta
0	- 37,74 (± 10,3)
7	- 37,91 (± 15,6)
15	- 42,83 (± 2,98)
30	- 43,61 (± 3,10)

A EE% dos CLN com dupla encapsulação diminuiu de 90% para aproximadamente 65% tanto para o TAC quanto para o CLO, sendo essa alteração estatisticamente significativa (p<0,05), conforme demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5. Eficiência de encapsulação (EE%) e recuperação (REC%) do TAC e do CLO das partículas com dupla encapsulação (CLN-TAC-CLO) após armazenamento a 4°C e análise imediatamente após o preparo (tempo 0), 7, 15 e 30 dias.

Tempo (dias)	REC% TAC	EE% TAC	REC% CLO	EE% CLO
0	64,96 ± 3,14	97,30 ± 0,48	73,54 ± 0,93	89,82 ± 0,54
7	69,67 ± 5,04	95,18 ± 2,98	83,07 ± 10,03	87,69 ± 0,77
15	68,35 ± 4,84	95,38 ± 2,71	70,12 ± 10,70	94,67 ± 3,18
30	66,50 ± 2,49	66,12 ± 5,67*	72,24 ± 6,76	64,70 ± 4,22*

*EE% significativamente menor após 30 dias de armazenamento a 4°C (p=0,0001).

4 DISCUSSÃO

As nanopartículas lipídicas (como os CLN) têm demonstrado grande importância para encapsulação de fármacos, pois podem protegê-los de possíveis degradações e controlar a liberação dos mesmos para melhor eficácia terapêutica (WISSING; KAYSER; MULLER, 2003). Além do mais, estes carreadores estão sendo amplamente utilizados para aplicação tópica, visto que são produzidos com lipídeos que interagem com o estrato córneo, liberando o fármaco de forma gradativa para as camadas mais profundas da pele (NAM; JI; PARK, 2011). Sendo assim, os CLN foram os carreadores escolhidos para o desenvolvimento das nanopartículas contendo TAC e CLO visando à aplicação tópica.

A escolha da composição dos CLN foi realizada a partir do trabalho de Souza e colaboradores (2011), que obtiveram as partículas com um fármaco hidrofílico antineoplásico, o topotecano. Desta forma, o desafio deste trabalho consistiu na encapsulação de dois fármacos no mesmo sistema nanoparticulado. Esta estratégia vem sendo amplamente utilizada para formulações convencionais (como comprimidos, cremes, entre outros) e visa, por exemplo, a administração de fármacos com efeitos sinérgicos para potencialização da ação dos mesmos. Segundo relatos da literatura, o uso combinado do TAC e COL têm demonstrado resultados significativamente melhores do que quando utilizados separadamente (PANJWANI, 2009; KNOTT; MARTINEZ, 2010). Dentro deste contexto, optou-se por encapsular ambos os fármacos nos CLN.

Os estudos de caracterização dos nanossistemas obtidos consistem em avaliações da estrutura das nanopartículas, como tamanho, morfologia, cargas de superfície, além de determinação da quantidade de fármaco que o sistema consegue incorporar (denominado de eficiência de encapsulação, EE%). As análises dos resultados e dados obtidos nos estudos de caracterização permitem avaliar se o sistema é estável e se o método de preparo é reprodutível. Além disso, através da eficiência de encapsulação é possível verificar se o sistema consegue incorporar os fármacos nas concentrações terapêuticas requerida.

Observa-se, então, na Tabela 1, que o tamanho médio e PdI encontrados para as partículas encapsuladas com TAC e CLO (143,3 nm e 0,264) foram semelhantes aos encontrados por Souza e colaboradores (2011) (de 108 a 168 nm e PdI de 0,190 a 0,284). Silva e colaboradores (2012) desenvolveram CLN contendo CLO e obtiveram tamanho médio de 157,9 ± 19,7 nm e PdI 0,19 ± 0,01. É interessante ressaltar que ambos os trabalhos (SILVA *et al*., 2012; SOUZA *et al*., 2011) obtiveram as partículas pela técnica da microemulsão com partículas de composição bastante semelhantes as empregadas neste trabalho. Desta forma, a técnica de microemulsão parece ser bastante reprodutível independentemente dos fármacos encapsulados nos sistemas. Além disso, Pople e colaboradores (2011) também desenvolveram partículas lipídicas contendo TAC para aplicação tópica com tamanho entre 20 - 150 nm e PdI de 0,31 , e ainda, um outro estudo revelou tamanho médio de CLN contendo TAC de 123,4 ± 0,3 nm (NAM; JI; PARK, 2011). Desta forma, a Tabela 1 demonstra que as partículas obtidas tiveram tamanho de 143-153 nm, ressaltando a possibilidade de produção destas partículas com dupla encapsulação, de tamanho nanométrico e de forma reprodutível.

O potencial zeta é um parâmetro importante para avaliar a estabilidade da formulação. Geralmente as partículas conseguem se manter estáveis quando o potencial zeta é superior a 30 mV (em módulo) (HU *et al*, 2005; MULLER; MADER; GOHLA, 2000). Geralmente,

partículas eletricamente carregadas se repelem uma das outras, impedindo que se agreguem durante a estocagem (MULLER; MADER; GOHLA, 2000). A carga negativa encontrada pode ser atribuída aos componentes utilizados na formulação, tanto aos lipídeos como aos tensoativos que apresentam residual de carga negativa em suas estruturas. Sendo assim, os resultados demonstrados na Tabela 2, sugerem que os CLN desenvolvidos possuem boa estabilidade física.

A Tabela 3 demonstra os resultados de REC% e EE% do CLO e TAC nas formulações contendo dupla encapsulação. Os estudos de recuperação (REC%) avaliam o quanto de formulação e, conseqüentemente, de fármaco é perdido durante o processo de produção das nanopartículas. A técnica de diluição da microemulsão apresenta diversas etapas e, o material lipídico pode se solidificar nos aparatos utilizados para produção das partículas, o que pode acarretar na perda de certa quantidade de fármaco durante o processo. Além disso, a quantificação dos fármacos na formulação final é muito importante para verificar se o processo de produção das nanopartículas não promove degradação do TAC e CLO. A REC% do TAC se apresentou inferior a do CLO (64,96 ± 3,14% e 73,54 ± 0,93% respectivamente). Entretanto, espera-se que parte do fármaco seja não seja recuperado, visto que, o processo de múltiplas etapas pode causar perda de formulação. Silva e colaboradores (2012), por exemplo, encontram valores de REC% semelhante aos encontrados neste estudo (62,2 ± 3,0 %) e também atribuem esta recuperação, às perdas de processo. Sendo assim, acredita-se que não ocorram degradações químicas, tanto do CLO quanto do TAC, no processo de obtenção das nanopartículas.

Para determinar a quantidade de fármaco a ser encapsulada foi avaliada a EE% dos CLN diante diferentes concentrações de TAC e CLO. Foi observado que para o TAC uma concentração superior de 7,5% reduz a EE% para 76,3% e, portanto assumiu-se a concentração de 6,25% como sendo a ideal. Para o CLO, concentrações de fármaco superiores a 1,5% levaram a significativa diminuição da eficiência de encapsulação, para aproximadamente 35%. Sendo assim, optou-se por incorporar nos CLN no máximo 6,25% de TAC e 1,5% de CLO. Observa-se na Tabela 3, que o TAC apresentou maior eficiência de encapsulação (EE%) quando comparado ao CLO (97,30 ± 0,48% e 89,92 ± 0,54%, respectivamente). Nam, Ji e Park (2011) obtiveram EE% de 50% para CLN contendo TAC com formulação e técnica de preparo diferentes das empregadas neste estudo. Desta forma, altas concentrações de fármaco foram incorporadas nos CLN, provavelmente devido à afinidade dos fármacos pela matriz lipídica escolhida para produção das nanopartículas. A

característica lipofílica do TAC e CLO e, a afinidade dos fármacos pelo ácido esteárico e oléico, permitiu a encapsulação de ambos os fármacos em um só sistema nanoparticulado.

Quanto aos estudos de estabilidade (Figura 3, Tabela 4 e 5), durante os 30 dias, o tamanho médio, PdI e potencial zeta não apresentaram alterações significativas, o que demonstra que a formulação é fisicamente estável como já abordado anteriormente. Essa estabilidade pode ser justificada pelas cargas superficiais (potencial zeta) que levam a repulsão das partículas que, então, não se agregam durante o período de estocagem. Pople e colaboradores (2011) avaliaram a estabilidade de partículas contendo TAC e observaram que tamanho e PdI dos CLN armazenados sob refrigeração, não apresentaram alterações significativas durante um período de seis meses. Entretanto, este mesmo estudo mostra perda de estabilidade a partir de um mês de estocagem quando as partículas são armazenadas a temperaturas superiores, 20ºC, 30ºC e 40ºC, mostrando a influência da temperatura na agregação das partículas.

Observa-se na Tabela 5 que não houve diferença significativa entre a REC% dos fármacos após 30 dias de armazenamento. Sendo assim, provavelmente, também não ocorrem degradações químicas dos fármacos durante o período de estocagem. Entretanto, observa-se uma diminuição da EE% para ambos os fármacos após 15 dias de armazenamento. Provavelmente, o aumento da organização das cadeias lipídicas durante a estocagem pode expulsar o fármaco das nanopartículas, uma vez que estes se localizam entre as cadeias lipídicas e nas imperfeições dos cristais (MULLER; MADER; GOHLA, 2000; WISSING; KAYSER; MULLER, 2004).

5 CONCLUSÃO

A técnica da diluição da microemulsão mostrou-se eficiente para preparar os carreadores lipídicos nanoestruturados. Os CLN com dupla encapsulação (TAC e CLO) apresentaram tamanho médio de 143,3 nm, PdI 0,264 e potencial zeta negativo de aproximadamente -40mV. O método também foi capaz de encapsular os dois fármacos, apresentando alta EE% tanto para o TAC (97,3%) quanto para o CLO (89,8%).

Os CLN co-encapsulados foram produzidos com sucesso e com estabilidade física, e parecem ser uma formulação com forte potencial para o tratamento do lúpus eritematoso discóide.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o período da pesquisa, foi possível realizar o objetivo proposto e ainda realizar um estudo de estabilidade da formulação desenvolvida, o que demonstra bom aproveitamento do trabalho realizado.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSMANN, T.; HOMEY, B.; RUZICKA, T. Applications of tacrolimus for the treatment of skin disorders. **Int Immunopharmacol,** v. 47, n. 2-3, p. 203-13, 2000.

AUSTAD, J.; BJERKE, J. R.; GJERTSEN, B. T., et al. Clobetasol propionate followed by calcipotriol is superior to calcipotriol alone in topical treatment of psoriasis. **J Eur Acad Dermatol Venereol,** v. 11, n. 1, p. 19-24, 1998.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation**. United States, 1996.

HU; F-Q.; JIANG, S-P.; DU, Y-Z., et al. Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. **Colloids Surf B**, v. 45, p. 167-173, 2005.

KUHN, A.; RULAND, V.; BONSMANN, G. Cutaneous lupus erythematosus: update of therapeutic options part I. **J Am Acad Dermatol,** v. 65, n. 6, p. e179-93, 2011.

KNOTT, H. M.; MARTINEZ, J. D. Innovative management of lupus erythematosus. **Dermatol Clin,** v. 28, n. 3, p. 489-99, 2010.

LI, G.; FAN, Y.; FAN, C., et al. Tacrolimus-loaded ethosomes: physicochemical characterization and in vivo evaluation. **Eur J Pharm Biopharm,** v. 82, n. 1, p. 49-57, 2012.

NAM, S. H.; JI, X. Y.; PARK, J.-S. Investigation of Tacrolimus Loaded Nanostructured Lipid Carriers for Topical Drug Delivery. **Bull Korean Chem. Soc,** v. 32, n. 3, 2011.

PANJWANI, S. Early diagnosis and treatment of discoid lupus erythematosus. **J Am Board Fam Med,** v. 22, n. 2, p. 206-13, 2009.

POPLE, P. V.; SINGH, K. K. Development and evaluation of colloidal modified nanolipid carrier: application to topical delivery of tacrolimus. **Eur J Pharm Biopharm,** v. 79, n. 1, p. 82-94, 2011.

REEPMEYER, J. C.; REVELLE, L. K.; VIDAVSKY, I. Detection of clobetasol propionate as an undeclared steroid in zinc pyrithione formulations by high-performance liquid chromatography with rapid-scanning ultraviolet spectroscopy and mass spectrometry. **J Chromatogr A,** v. 828, n. 1–2, p. 239-246, 1998.

SILVA, L. A. D.; TAVEIRA, S. T.; LIMA, E. M.; MARRETO, R. N. *In vitro* skin penetration of clobetasol from lipid nanoparticles: drug extraction and quantitation in different skin layers. **Braz J Pharm Sci**, v. 48, n.4, p. 811-817, 2012.

SOUZA, L. G.; SILVA, E. J.; MARTINS, A. L. L, et al. Development of topotecan loaded lipid nanoparticles for chemical stabilization and prolonged release. **Eur J Pharm Biopharm,** v. 79, n. 1, p. 189-196, 2011.

WALLING, H. W.; SONTHEIMER, R. D. Cutaneous lupus erythematosus: issues in diagnosis and treatment. **Am J Clin Dermatol,** v. 10, n. 6, p. 365-81, 2009.

WISHART, D. S.; KNOX, C.; GUO, A. C., et al. Drug Bank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. **Nucleic Acids Res,** v. 36, n. Database issue, p. D901-6, 2008.

WISSING, S. A.; KAYSER, O.; MULLER, R. H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. **Adv Drug Deliv Rev,** v. 56, n. 9, p. 1257-72, 2003.

ZHANG, N.; PING, Q.; HUANG, G. et al. Lectin-modified solid lipid nanoparticles as carriers for oral administration of insulin. **Int J Pharm,** v. 327, n. 1-2, p. 153-9, 2006.

Frequência de Polimorfismos no Gene da Resistina Humana em Indivíduos não Diabéticos

Carvalho, J.O[1]; Silva, I.C.O; Santos, E.A; Pinto, J.F.N; Dos Santos, W.G[2].

jefferson.jti12@gmail.com, isabella.cristina.oliv@hotmail, elianeje@hotmail.com, jeffernando@hotmail.com; wagbrpt@hotmail.com

1. Orientanda 2. Orientador

Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Goiás Campus Jataí.

RESUMO

Diabetes mellitus constitui um grande problema de saúde na sociedade moderna e sua prevalência vem aumentando significativamente nos últimos anos. O diabetes do tipo 2 (DM2) compõe a maioria dos casos da doença e resulta de uma interação entre predisposição genética e fatores ambientais associados. Vários genes têm sido sugeridos como possíveis candidatos a aumentar o risco de DM2. Estes genes podem apresentar apenas uma única variação em suas sequências e estas variações podem ser extremamente comuns. A dificuldade está em encontrar qual dessas variações únicas comuns denominadas polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) está ligada a um risco aumentado para desenvolvimento de diabetes. Pesquisas têm identificado alguns destes genes incluindo o gene *RETN* supostamente envolvido na indução de resistência tecidual à insulina. O gene *RETN* codifica um polipetídeo de 12,5 kDa rico em cisteína. Apesar de vários SNPs terem sido identificados aqueles realmente funcionais ainda permanecem por serem elucidados. Neste trabalho objetivou-se analisar a presença de dois polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) no gene da resistina humana implicada na resistência à insulina em tecidos alvos e correlacionar sua incidência com o desenvolvimento de DT2 por meio de um estudo caso-controle. Os SNPs foram analisados por PCR-RFLP e os resultados obtidos entre os dois grupos, diabéticos e não diabéticos, foram comparados pelo Teste do $\chi 2$. Não foi encontrada associação entre a presença dos dois polimorfismos e DM2 para a população estudada.

Palavras-chave: diabetes, resistina, polimorfismos, snps.

Revisado pelo orientador

Introdução

Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é caracterizada por resistência à insulina em tecidos alvos bem como por uma secreção deficiente deste hormônio pelas células β pancreáticas (DEFRONZO *et al.*, 1992). É uma doença complexa, crônica que vem recebendo grande atenção a nível global contribuindo com mais de 95% de todos os casos de diabetes em todo o mundo (STUMVOL *et al*. 2005). Dados estatísticos apontam para um aumento de 150 para 300 milhões de pessoas afetadas entre os anos de 2000 e 2025 (McCARTHY, 2004). Esta perspectiva a posiciona entre uma das principais doenças crônicas não transmissíveis da atualidade, alertando sobre a necessidade de implementação de medidas de prevenção e controle que incluem dentre elas a completa caracterização das bases genéticas e moleculares desta patologia.

O quadro patológico do DM2 resulta de uma interação entre diversos fatores, dentre eles a predisposição genética e estímulos ambientais, como alimentação desequilibrada e obesidade (TUOMILEHTO, 2001). A resistência tecidual à insulina observada nos casos de DM2, não é ultrapassado pela hipersecreção do hormônio nas células β das ilhotas de Langerhans no pâncreas (WINNICK, 2009).

Vários genes têm sido investigados como possíveis marcadores associados ao desenvolvimento de DM2. Entre estes está o gene da resistina (*RETN*), que codifica um peptídeo de 12,5 kDa rico em cisteína, secretado por adipócitos em roedores onde foi primeiramente identificado em 2001 (STEPPAN, 2001). Em humanos, no entanto, resistina parece ser expresso principalmente por monócitos e macrófagos.

Em modelos animais, a hipersecreção de resistina está correlacionada com ação ineficaz da insulina e tolerância prejudicada à glicose, enquanto que o tratamento com drogas antidiabéticas como as Thiazolidinedionas e neutralização da proteína resistina mostrou efeito hipoglicêmico e aumento na sensibilidade à insulina (SENTINELLI, 2002).

Devido a importância crescente do gene da resistina e a observação de uma correlação com sinais clínicos referentes à DM2 vários estudos tem sido realizados com enfoque na investigação de variantes genéticas incluindo polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) na tentativa de correlaciona-los com o nível de secreção de resistina. Muitos destes estudos tem se mostrado controversos dependendo da população estudada. Um dos SNPs identificados no gene da resistina se encontra na região

codificante do gene denominado SNP+299 G>A, e foi descrito como fator de risco para caucasianos (MA, 2002), porém achados por um grupo de japoneses não corroboram este resultado (OSAWA, 2004).

Estudos de caracterização do papel fisiológico da resistina e de outras adipocinas pró-inflamatórias sugerem a participação destas na patogênese da DM2, porém há ainda a necessidade de se realizar mais estudos epidemiológicos que confirmem a ligação entre polimorfismos no gene, hipersecreção do peptídeo e desenvolvimento do quadro clínico.

O diabetes Mellitus consistindo em um grave problema de saúde pública com alta morbidade, mortalidade e repercussões econômicas significativas necessita de estudos que possam elucidar as bases genéticas e moleculares desta doença. Estes estudos serão indispensáveis para a orientação de medidas de prevenção, diagnóstico e tratamento. Com base nas novas técnicas de biologia molecular, pode-se obter informações que promovam a elucidação das bases moleculares desta doença auxiliando neste processo.

Objetivos

Diante as evidências apontando para a importância do gene da resistina no processo de resistência à insulina, este trabalho teve como objetivo identificar a presença e frequência dos polimorfismos SNP+299 (G>A) e SNP-420 (C>G) neste gene em pacientes diabéticos e não diabéticos (controle) residentes na cidade de Jataí-GO e verificar a existência de associação entre estes SNPs e a predisposição genética para desenvolvimento de diabetes tipo 2.

Metodologia

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (UFG), protocolo 060/2009 e pelo Conselho Nacional de Saúde/Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), parecer 006/10.

O material utilizado neste estudo foi o sangue, obtido por punção venosa de veias periféricas do paciente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e esclarecido. O sangue foi coletado e transferido para tubos contendo solução comercial

de anticoagulante EDTA K3 (ácido etilenodiamino tetracético K3).. O DNA genômico foi extraído da fração leucocitária do sangue utilizando protocolo experimental (BARLETT, 2002) ou, alternativamente, utilizando-se um kit comercial de extração (AxyPrep™ Blood Genomic DNA Miniprep Kit).

A concentração e pureza do DNA nas amostras foram determinadas por espectrofotometria de luz UV com espectrofotômetro Biochrom Libra S21, utilizando-se cubetas de quartzo com volume de 600µL. Uma pequena amostra da solução de DNA extraído de cada indivíduo foi diluida 100 vezes, com 5µL da amostra e 495µL em tampão TE.

Dados de cada indivíduo participante no projeto foram coletados através da aplicação de questionários. A análise dos polimorfismos SNP +299 G>A e SNP -420 C>G foi feita por PCR-RFLP, utilizando-se os primers descritos por Kunnari *et al* (2005) (Tabela 1). Após análise da seqüência gênica publicada para o gene da resistina (Retn, GenBank, ID: 56729), realizamos uma modificação do nucleotídeo terminal do iniciador *reverse* do SNP+299 (G>A). O tamanho esperado do fragmento amplificado por PCR pelo conjunto de primers SNP+299 (G>A) foi de 373pb enquanto o tamanho do produto amplificado com os primers SNP -420 C>G foi de 533 pb.

Os produtos amplificados foram digeridos por 5 horas com a enzima de restrição *Alu* I e *BsB*I para determinação dos polimorfismos (SNP +299 G>A) e (SNP -420 C>G) respectivamente. Os produtos da digestão foram separados em gel de agarose 2% e corados com brometo de etídeo para visualização e fotodocumentação sob luz UV.

Tabela 1. Iniciadores utilizados para a amplificação

Referência	Seq 5' – 3'	Tamanho (pb)	Tm
SNP-420 Forward	TGTCATTCTCACCCAGAGACA	21	60.6
SNP-420 Reverse	TGGGCTCAGCTAACCAAATC	20	60.4
SNP+299 Forward	GAGAGGATCCAGGAGGTC	18	62.2
SNP+299 Reverse	GTGAGACCAAACGGTCCCTC	20	64.5

FONTE: KUNNARI (2005)

Para a análise de probabilidade de independência ou associação da característica estudada foi empregado o Teste do $\chi 2$ com um nível de significância de $p<0.05$.

Resultados

Foram investigados dois polimorfismos no gene da resistina humana como possíveis candidatos para uma suscetibilidade aumentada à Diabetes Tipo 2 em um grupo de 200 indivíduos dos quais 197 foram utilizados na análise do SNP+299 (G>A), sendo 97 diabéticos e 100 não diabéticos. Para análise do SNP -420 (C>G) todos 200 indivíduos foram estudados dos quais 99 eram diabéticos e 101 não diabéticos.

Os resultados foram obtidos a partir da amplificação de DNA genômico utilizando-se 100ng de DNA e 1mM de $MgCl^2$, concentrações que foram definidas após uma padronização para definir as condições ótimas para reação de PCR. A presença do SNP +299 é caracterizada pela alteração de um nucleotídeo G por A na posição 299 contada a partir do sítio de início da tradução ATG, criando assim um sítio de restrição para enzima A*lu* I. No gene normal a digestão do fragmento amplificado com esta enzima gera três fragmentos de 266 pb, 52 pb e 55 pb. No gene mutado, devido a criação de um sítio adicional de restrição, o fragmento de 266 pb é digerido pela enzima produzindo dois fragmentos de 158 pb e 108 pb além dos fragmentos de 52 e 55 pb. Resultado representativo de um gel de agarose contendo amostras de DNA obtidas de alguns indivíduos diabéticos está mostrado na Figura 1.

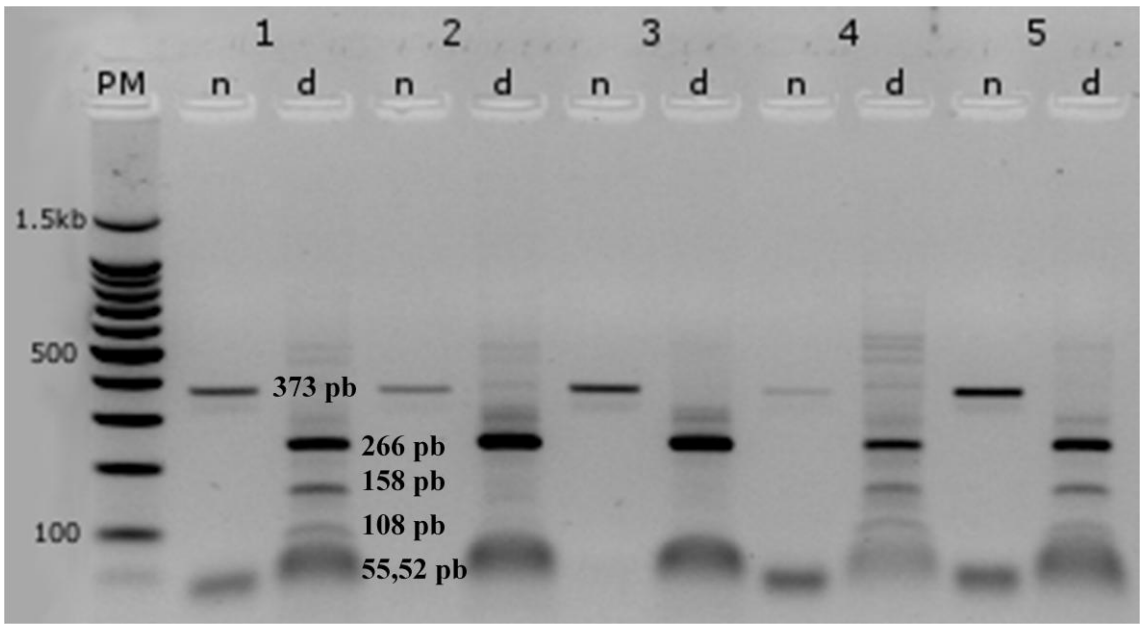


Figura 01: Perfil de bandas obtido após digestão dos produtos de PCR SNP+299(G>A) com a enzima de restrição Alu I. Amostras digeridas (d) e não-digeridas (n).

Indivíduos homozigotos para o gene não alterado (G/G) apresentam um perfil de bandas semelhante ao mostrado nas canaletas identificadas como 2 e 3 no gel. Indivíduos heterozigotos contendo um alelo mutado e um normal (G/A) apresentam um perfil de bandas como mostrado na canaleta 1. Indivíduos homozigotos para o gene mutado (A/A) não apresentam a banda de 266 pb após digestão (Figura 1).

Dos 97 indivíduos diabéticos analisados, 84 (86,6%) apresentaram o polimorfismo SNP+299 (G>A), dos quais 43 (44,3%) eram homozigotos mutado (A/A) e 41 (42,3%) eram heterozigotos (G/A). Treze indivíduos (13,4%) não apresentaram a mutação sendo, portanto, homozigotos G/G. Entre os 100 indivíduos não diabéticos analisados 87 (87%) apresentaram este o polimorfismo no gene da resistina dos quais 45 (51,7%) eram heterozigotos (G/A) e 42 (48,3%) eram homozigotos(A/A). Treze (13%) eram homozigotos (G/G). (Tabelas 2 e 3). Na população total investigada neste estudo a frequência do polimorfismo SNP+299 (G>A) foi de 80%. As frequências genotípicas dos genes mutados e selvagens na população de indivíduos diabéticos e não-diabéticos estão mostradas na tabela 3.

Tabela2: Frequência de indivíduos portadores do polimorfismo SNP +299 (GA ou AA) no grupo de diabéticos e não diabéticos

Indivíduos	**SNP +299(G>A)**		**Total**
	Presente (%)	**Ausente (%)**	
Diabéticos	84 (86,6%)	13 (13,4%)	97(49,2%
Não Diabéticos	87(87%)	13(13%)	100(50,8%)
Total	171(86,8%)	26(13,2%)	197

$\chi 2$ calculado =0.0162<$\chi 2$ tabelado par $p<0.05$ diferença não significativa pelo teste do Qui quadrado

Tabela 3: Frequências Genotípicas do gene da resistina com ou sem o SNP+299 nos indivíduos diabéticos e não-diabéticos.

Diabetes	Frequências genotípicas (%)			Total
	SNP+299 (G>A) Heterozigoto GA	Homozigoto AA	Selvagem homozigoto GG	
SIM	41(0,423)	43(0,443)	13(0,134)	97(1)
NÃO	45(0,45)	42(0,42)	13(0,13)	100(1)
Total	86	85	26	197

A presença do SNP -420 (C>G) é caracterizada pela alteração de um nucleotídeo G por C na posição -420 contada a partir do sítio de início da tradução ATG, alterando assim um sítio de restrição para enzima *Bbs* I existente normalmente. No gene normal, não alterado, a digestão do fragmento amplificado com esta enzima gera dois fragmentos de 330 pb e 203 pb. No gene mutado, devido a inativação do sítio de restrição, não é gerado nenhum fragmento de digestão. Resultado representativo de um gel de agarose contendo amostras de DNA obtidas de alguns indivíduos diabéticos está mostrado na Figura 3. Indivíduos homozigotos para o gene não mutado (C/C) deveriam apresentar apenas duas bandas de 330 pb e 203 pb. Indivíduos heterozigotos (C/G) como mostrado na ultima canaleta do gel apresentam além das bandas digeridas, uma banda adicional de 533 pb correspodente ao alelo alterado. Por outro lado, indivíduos homozigotos para o gene alterado apresentam apenas uma banda de 533 pb como mostrado nas canaletas 3 e 5 do gel de agarose já que os sítios de restrição foram abolidos pelo polimorfismo (Figura 3).

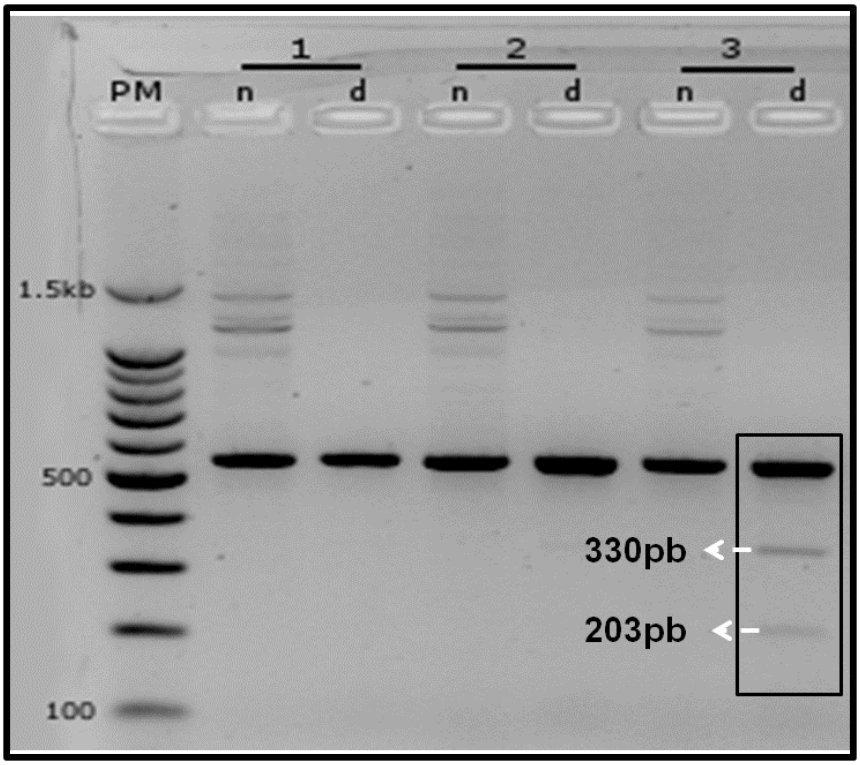


Figura 02: Perfil de bandas obtido após digestão dos produtos de PCR SNP-420 (C>G) com a enzima de restrição *Bbs* I. Amostras digeridas (d) e não-digeridas (n).

Dos 200 indivíduos analisados para o polimorfismo SNP -420 (G>C), 101 (50,5%) eram não diabéticos e 99 (49,5%) diabéticos. Dos indivíduos não diabéticos 85 (84,2%) apresentaram o polimorfismo SNP -420 (G>C), dos quais 31 (36,5%) eram homozigotos mutado (G/G) e 54 (63,5%) eram heterozigotos (G/C). Dezesseis indivíduos não diabéticos (15,8%) não apresentaram este polimorfismo, sendo, portanto homozigotos (C/C). Entre os 99 indivíduos diabéticos analisados 76 (76,8%) apresentaram este polimorfismo no gene da resistina dos quais 26 (34,2%) eram homozigotos (G/G) e 50 (65,8%) eram heterozigotos (G/C) (Tabela 4). Vinte e três indivíduos diabéticos (23,2%) não apresentaram o polimorfismo sendo portanto homozigotos (C/C). Na população total investigada neste estudo a frequência do polimorfismo SNP -420 (G>C) foi de (80,5%). As frequências genotípicas dos genes mutados e selvagens na população de indivíduos diabéticos e não-diabéticos estão mostradas na tabela 5.

Tabela 4. Frequência do polimorfismo SNP -420 (G>C) em indivíduos diabéticos e não-diabéticos

Grupo de Indivíduos	Presença do SNP-420 (%)		TOTAL
	SIM	NÃO	
Diabéticos	76 (76,8 %)	23 (23,2 %)	99 (49,5%)
Não Diabéticos	85 (84,2 %)	16(15,8 %)	101(50,5 %)
TOTAL parcial	161 (80,5%)	39(19,5%)	200 (100%)

$\chi 2$ calculado =1.3007<$\chi 2$ tabelado para $p<0.05$ diferença não significativa pelo teste do Qui quadrado

Tabela 5: Frequências Genotípicas do gene da resistina com ou sem o SNP-420 (G>C) nos indivíduos diabéticos e não-diabéticos.

Diabetes	Frequências genotípicas (%)			Total
	SNP-420(G>C) Heterozigoto GC	Homozigoto GG	selvagem homozigoto CC	
SIM	50(0,505)	26(0,263)	23(0,232)	99(1)
NÃO	54(0,535)	31(0,307)	16(0,158)	101(1)
Total	104	57	39	200

Discussão

Estudos de associação genética envolvendo o gene *RETN* e a DM2 têm gerado resultados discordantes e por vezes inconsistentes. Porém quanto ao SNP +299, sua presença foi reportada com frequência significamente maior entre diabéticos do tipo 2 do que entre indivíduos saudáveis em uma população Tailandesa (SURIAYAPROM *et al*., 2009). Adicionalmente os níveis séricos de resistina se mostram mais altos entre os diabéticos que apresentavam o polimorfismo SNP +299 em homo ou heterozigose.

Estes estudos genéticos exemplificam as discrepâncias na análise de associação entre SNPs no gene *RETN* e resistência a insulina relacionada à obesidade. Isto pode ser parcialmente explicado pelas diferenças genéticas, étnicas e ambientais das populações estudadas. Osawa *et al*. (2004) reportaram que indivíduos com genótipo G/G do polimorfismo SNP-420 no gene da resistina humana aumenta a susceptibilidade a diabete mellitus tipo 2 devido a um aumento em sua atividade promotora. Os níveis plasmáticos de resistina em japoneses portadores do genótipo G/G eram mais altos do que aqueles encontrados em indivíduos com genótipo C/G e C/C. No entanto o mesmo não foi encontrado por outros autores e no presente estudo.

Outra explicação plausível é o possível envolvimento de outros genes no desenvolvimento desta doença, como o gene *TCF7L2*, no qual a presença de polimorfismos foi associada à susceptibilidade genética para DM2 em islandeses, Dinamarqueses, populações Euro-Americanas e Chineses (REN *et al.*, 2008). Outro lócus de interesse é o *HHEX,* no qual uma variação na região flanqueadora 3' (SNPrs7923837) foi associada com uma liberação alterada de insulina estimulada por glicose, representando desta forma um alelo de risco para a disfunção das células β e potencialmente conferindo suscetibilidade aumentada destas células em face e fatores ambientais adversos. (STAIGER *et al*., 2008).

Além destes, diversos outros fatores podem ter relação com desenvolvimento de DM2 como: ABCC8 (receptor de sulfoniuréias); CAPN10 (Enzima Calpaína 10) GCGR (recepto de glucagon); GCK (glicoquinase); GLUT2 (transportador de glicose); HNF4A (fator de transcrição); INS (insulina); INSR (receptor de insulina); KCNJ11 (canal de potássio);LPL (lípase lipoproteica); entre outros (DEAN & McENTYRE, 2004).

Considerações finais

A patogênese da Diabetes Mellitus tipo 2, como a de outras doenças crônicas não transmissíveis, é complexa e de difícil caracterização. Na DM2 especificamente, diversas adipocinas integram, além dos fatores de risco já conhecidos com tabagismo, obesidade, dieta habitual e sedentarismo, tornando a análise de um fator isolado pouco robusto para determinar a etiologia desta síndrome.

Após realização do presente estudo, conclui-se que o polimorfismo analisado não apresenta relação com a DM2 no grupo amostral corroborando estudos realizados em outras populações. Entretanto, o fato de algumas populações estudadas apresentarem associação destes polimorfismos com DM2 sugere que diferenças genéticas populacionais e possíveis interações com outros genes possam contribuir na patogênese da DM2. Apesar das limitações da análise de associação genética de SNPs, atualmente estudos de associação de vários SNPs tem ganhado bastante atenção e revelado a importância de interação entre vários genes contribuindo para a compreensão dos fatores genéticos associados a DM2. Os microarranjos de DNA constituem uma ferramenta mais robusta de análise de SNPs e possibilitam análise simultânea de vários genes, dando assim alternativa às limitações da PCR-RFLP.

Nos últimos dez anos a nossa compreensão sobre a resistina em seus diversos aspectos informou a comunidade científica sobre sua relevância fisiológica e clínica. A resistina, tendo como parâmetro os resultados obtidos neste trabalho, parece não ser isoladamente necessário para o desenvolvimento da DM2. Entretanto, em vista dos resultados obtidos na literatura em indivíduos obesos, sugere-se que a variabilidade neste lócus interaja com a obesidade de modo a determinar um risco aumentado para resistência à insulina e DM2. Caso esta informação seja consolidada e os resultados reproduzidos em diversas outras populações, estes dados podem estabelecer a base para a identificação de indivíduos com risco aumentado, orientando-os assim a redução de peso e alimentação adequada a seu "status genético".

Referências

BARLETT, J. M. S.; WHITE, A. **Methods in Molecular Biology: PCR Protocols**. 2.ed. Totowa – NJ: Humana Press, 2002. p.29-31.

DEAN, L. & McENTYRE, J. **The Genetic Landscape of Diabetes.** Bethesda: NCBI, 2004.

DEFRONZO, RA, BONADONNA,RC, FERRANNINNI,E. Pathogenesis of NIDDM.

A balanced overview. Diabetes Care 15:318-368, 1992

MA, X. *et al*. Genetic Variants at the Resistin Locus and Risk of Type 2 Diabetes in Caucasians. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Philadelphia, v.87, n.9, p.4407-4410, 2002.

McCARTHY, M. I. Progress in defining the molecular basis of type 2 diabetes mellitus through susceptibility-gene identification. **Hum. Mol. Genet.**, Oxford, v.13, p.33-41, Jan. 2004.

OSAWA, H. *et al*. The G/G Genotype of a Resistin Single-Nucleotide Polymorfism at -420 Increases Type 2 Diabetes Mellitus Susceptibility by Inducing Promoter Activity through Specific Binding of Sp1/3. **Am. J. Hum. Genet.**, Chicago, v.75, p.678-686, 2004.

QATANANI, M.; LAZAR, M. L. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. **Genes dev.**, Cold Spring Harbor, v.21, p.1443-1455, 2007.

REN, Q.; Han, X. Y.; Wang, F. *et al.* Exon sequencing and association analysis of polymorphism in TCF7L2 whit type 2 diabetes in Chinese population. **Diabetologia.,** Berlin, v.51, p.1146-52, 2008.

SENTINELLI, F. Human *Resistin* Gene, Obesity, and Type 2 Diabetes: Mutation Analysis and Population Study. **Diabetes**, New York, v.51, p.860-862, Mar. 2002.

STAIGER, H.; STANČAKOVÁ, A.; ZIlINSKAITE, J. et al. A Candidate Type 2 Diabetes polymorphism Near the HHEX Locus Affects Acute Glucose-Stimulated Insulin Release in European Populations. **Diabetes.**, New York, v.57, p. 514-517, 2008.

SURIYAPROM, K.; PHONRAT, B.; NANJUNTRA, P. *et al.* The +299 (G>A) Resistin Gene Polymorphism and Susceptibility to Type 2 Diabetes in Thais. **J. Clin. Bichem. Nutr.**, Mitake-cho, v.44, p.104-110, 2009.

TUOMILEHTO, J. *et al*. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.344, n.18, p.1343-1350, May 2001.

WINNICK, J. J. *et al*. Short-Term Aerobic Exercise Training in Obese Humans with Type 2 Diabetes Mellitus Improves Whole-Body Insulin Sensitivity through Gains in Peripheral, not Hepatic Insulin Sensitivity. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Philadelphia, v.93, n.3, p.771-778, Mar. 2008.

CARACTERIZAÇÃO DAS INTERNAÇÕES DE UMA CLÍNICA CIRÚRGICA: INDICADORES DE ASSISTÊNCIA

Isadora Alves Moreira[1], Ana Lúcia Queiroz Bezerra[2], Thatianny Tanferri de Brito Paranaguá[3], Ana Elisa Bauer de Camargo e Silva[4]

[1]Orientando. Faculdade de Enfermagem – Universidade Federal de Goiás. E-mail: isadora.a.moreira@gmail.com; [2]Orientador. Faculdade de Enfermagem – Universidade Federal de Goiás. E-mail: analuciaqueiroz@uol.com.br; [3]Faculdade de Enfermagem – Universidade Federal de Goiás. E-mail: ttb.paranagua@gmail.com; [4]Faculdade de Enfermagem – Universidade Federal de Goiás. E-mail: anaelisa@terra.com.br.

Resumo: O estudo objetiva caracterizar as internações ocorridas na Clínica Cirúrgica de um hospital universitário. Estudo descritivo, retrospectivo, de delineamento transversal, realizado com amostra de 750 internações. A coleta de dados ocorreu entre janeiro e maio do ano de 2011, auxiliada por instrumento estruturado e validado, tendo os prontuários como fonte de dados. Realizada análise estatística descritiva, apresentando os resultados com literatura pertinente. Constatou-se que a maioria das admissões foi eletiva (82,1%), com tempo de internação entre dois e oito dias para 82,2% das internações. Parte expressiva dos pacientes internados foi submetida à instalação de um ou mais dispositivos tubulares, aumentando a demanda de cuidados. Pelo menos uma intervenção cirúrgica foi registrada em 85,9% das internações e os médicos foram os profissionais com maior participação na evolução do paciente, enquanto que o enfermeiro apresentou registro de avaliação em 19,2% das internações. Evidencia-se a necessidade dos profissionais repensarem suas ações frente ao cuidado em saúde e que as instituições realizem a sistematização do processo de avaliação dos indicadores da assistência, em busca de qualidade e segurança do paciente na prática clínica.

Palavras-chave: Avaliação da Qualidade da Assistência; Indicadores de processo, Assistência do paciente cirúrgico, Enfermagem

Revisado pelo orientador.

INTRODUÇÃO

A qualidade do serviço de saúde e a segurança do paciente tem sido preocupação constante das instituições prestadoras de cuidados e do meio acadêmico, uma vez que a assistência não planejada pode resultar em danos consideráveis.

Essa questão, especificamente no Brasil, se tornou relevante devido ao volume aumentado de internações cirúrgicas, estimando de três milhões de internações anuais para esse fim, somente no ano de 2003 (MOURA; MENDES, 2012). Já a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que ocorram cerca de 234 milhões de cirurgias pelo mundo durante o ano e, devido a esse alto índice de cirurgias, é importante avaliar a assistência ao paciente durante o período perioperatório (WHO, 2009).

No contexto da assistência cirúrgica, o estudo do perfil das internações ganha relevância pela complexidade da assistência prestada a diversas especialidades de tratamento, pela exigência de conhecimento especializado, pela rotatividade das internações e pelo arsenal tecnológico, necessários para uma intervenção segura e de qualidade (MONTEIRO, 2010).

Estudo realizado em unidade de clínica cirúrgica de um hospital universitário apontou a ocorrência de 6.981 incidentes advindos do cuidado à saúde, os quais foram atribuídos a uma assistência mal planejada e a processos que necessitam ser revisados e subsidiados pelas características dos pacientes (PARANAGUÁ, 2012).

A avaliação do paciente internado é a forma mais precisa e eficaz de diagnosticar, precocemente, aspectos que possam interferir nos resultados do procedimento cirúrgico. Para dar suporte à cirurgia, ao processo anestésico e levantar o prognóstico do paciente, o exame clínico deve ser o mais completo possível através da coleta de anamnese, avaliação física e dos resultados de exames pré- operatórios que sempre são recomendados (SANTOS; KEMP, 2011; PARANAGUÁ, 2012; CUCOLO; PERROCA, 2010).

Atualmente, os serviços de saúde enfrentam inúmeros desafios para conseguirem atender as demandas dos clientes e familiares, com vistas a excelência da qualidade assistencial. Para atingir essa excelência, os profissionais de saúde devem assumir um processo de trabalho com foco na melhoria contínua, favorecendo a identificação constante dos fatores intervenientes da assistência e a elaboração de instrumentos que possibilitem avaliar, sistematicamente, os níveis de qualidade prestados (BECCARIA et al, 2009, FRANCO et al, 2010).

Dentro da teoria de sistemas proposta por Donabedian, é possível fazer uma avaliação sistematizada do cuidado por meio da utilização dos indicadores de processos, que permitem representar quantitativa e qualitativamente os resultados da assistência e, portanto, avaliar a

qualidade, a produtividade e o impacto dos serviços prestados na saúde da população, constituindo um importante instrumento para a gestão (PERROCA; JERICÓ; FACUNDIN, 2007; VIEIRA; KURCKGANT, 2010; DONABEDIAN, 1980).

Os indicadores são os principais sinalizadores de uma organização, pois permitem identificar a ocorrência de possíveis desvios em processos considerados normais, evidenciando a necessidade de revisões e impedindo a continuidade do problema. Desse modo, interligam as estratégias, os recursos e os processos organizacionais das unidades (PERROCA; JERICÓ; FACUNDIN, 2007; MUNHOZ; RAMOS; CUNHA, 2008; VIEIRA; KURCKGANT, 2010).

Um ponto importante na avaliação da qualidade da assistência prestada é o perfil da clientela assistida nas unidades de internação e a dinâmica das atividades realizadas, pois fornecem informações que subsidiam a organização e planejamento da assistência de acordo com as necessidades do cliente, o dimensionamento da equipe de enfermagem, a provisão de recursos materiais e a aferição de custos (ARAÚJO; PERROCA; JERICÓ; 2009; CUCOLO; PERROCA, 2010; LUVISOTTO et al, 2010).

Nessa perspectiva, ressalta-se a importância do registro da assistência prestada ao paciente, o que respalda ética e legalmente, o paciente e o profissional responsável pelo cuidado, além de estabelecer uma comunicação mais efetiva entre a equipe, o que facilita a avaliação da qualidade dos serviços prestados. Quando esse registro é escasso e inadequado compromete o planejamento das ações para a prestação de cuidado individualizado, de qualidade e seguro, além de se tornar uma barreira para a mensuração dos resultados assistenciais (VENTURINI; MARCON, 2008; SETZ; D'INNOENZO, 2009; ARNOLD; USERY; FINCH et al, 2009; BARBOSA et al, 2011).

Dessa forma, a fim de diminuir os possíveis riscos da intervenção cirúrgica, o cuidado deve ser planejado de acordo com a individualidade de cada paciente, baseado em evidências científicas e determinado pela condição clínica do paciente (CHRISTÓFORO; CARVALHO, 2009; MONTEIRO, 2010; GAIDZINSKI et al, 2008), tornando importante a caracterização desses indicadores.

Portanto, ao considerar as atividades assistenciais e gerenciais do enfermeiro, este assume papel essencial na avaliação do desempenho da unidade de internação que trabalha e, a partir desses resultados, deve empreender ações estratégicas, identificar ameaças e estabelecer planos na assistência, no gerenciamento, na pesquisa, no ensino e, enfim, direcionar a tomada de decisões para o alcance da excelência na assistência ao paciente cirúrgico (PARANAGUÁ, 2012; MUNHOZ; RAMOS; CUNHA, 2008).

Nesse contexto, o objetivo do estudo é caracterizar as internações ocorridas na Clínica Cirúrgica de um hospital universitário, uma vez que conhecer e analisar os fatores relacionados às internações possibilita melhor enfrentamento dos desafios que norteiam a qualidade e segurança no cuidado em saúde.

MÉTODO

Estudo descritivo, retrospectivo, de delineamento transversal, realizado na Clínica Cirúrgica de um hospital de ensino do município de Goiânia, Goiás.

A população do estudo foi composta pelos pacientes internados entre janeiro e dezembro de 2010, tendo como fonte de dados os prontuários das 2.610 internações realizadas nesse período. A amostra foi de 750 internações, considerando precisão de 2,5%, efeito de desenho de 1,5, intervalo de confiança de 95% e prevalência de 10% de eventos adversos estimada pela OMS. Utilizou-se amostragem probabilística e sistemática.

O período de coleta de dados foi de janeiro a maio do ano de 2011 no Serviço de Arquivo Médico e Informação em Saúde da instituição. Para nortear a coleta de dados, foi construído um formulário estruturado pelos próprios pesquisadores, submetido à avaliação de experts e teste piloto, composto por questões objetivas sobre as características do paciente e da internação.

Os dados foram estruturados no *software Statistical Package For The Social Science* versão 15.0 para *Windows*. Realizou-se análise descritiva, apresentando a diferença de proporções para variáveis categóricas e diferenças de médias para variáveis contínuas.

Estudo vinculado ao projeto: "Análise de ocorrências de eventos adversos em um hospital da Rede Sentinela da Região Centro Oeste", aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob Protocolo Nº 064/2008.

RESULTADOS

Foram analisadas 750 internações, o que corresponde a 28,7% do total de internações realizadas na Clínica Cirúrgica da instituição durante o ano de 2010. A caracterização dos pacientes internados está apresentada na Tabela 1.

VARIÁVEL	N	%
SEXO		
Masculino	301	40,1
Feminino	449	59,9
IDADE		
0 a 34 anos	188	25,1

35 a 45 anos	163	21,7
46 a 60 anos	197	26,3
60 anos ou mais	202	26,9
COMORBIDADE		
Sim	312	41,6
Não	416	55,5
Falta de informações	22	2,9
ESTOMA UROLÓGICO/GASTRINTESTINAL		
Sim	27	3,6
Não	723	96,4
TIPO DE ADMISSÃO		
Urgência	134	17,9
Eletiva	616	82,1
ESPECIALIDADE MÉDICA		
Cirurgia geral	138	18,4
Urologia	101	13,5
Otorrinolaringologia	100	13,3
Ginecologia	97	12,9
Proctologia	83	11,1
Cirurgia vascular	77	10,3
Mastologia	55	7,3
Bucomaxilofacial	28	3,7
Cirurgia cardíaca	25	3,4
Neurologia	20	2,7
Outros *	26	3,5
TEMPO DE INTERNAÇÃO		
1-4 dias	501	66,8
5-8 dias	124	16,5
9-97 dias	125	16,6
TOTAL	750	100

O sexo feminino foi predominante com 449 (59,9%) pacientes e a idade variou de 2 a 96 anos, com média de 46,9 anos. Dentre os pacientes, 312 (41,6%) apresentavam outra patologia além da doença que resultou na internação. É importante ressaltar que em 22 (2,9%) prontuários as informações quanto à presença de comorbidades estavam ausentes.

O tempo de internação total variou de um a 97 dias e a internação eletiva ocorreu em 616 (82,1%) internações, destacando-se as especialidades de cirurgia geral com 138 (18,4%) internações, urologia com 101 (13,5%), otorrinolaringologia com 100 (13,5%) e ginecologia com 97 (12,9%).

Tabela 2 – Tipos de procedimentos e dispositivos utilizados pelos pacientes, durante internação na Clínica Cirúrgica de um hospital universitário. Goiânia, 2010.

VARIÁVEL	SIM n (%)	NÃO n (%)
Procedimentos		
Prescrição de medicamentos	735 (98,0)	15 (2,0)
Intervenção cirúrgica	644 (85,9)	106 (14,1)
Profilaxia antibiótica	473 (63,1)	277 (36,9)
Infusão de hemoderivado	62 (8,3)	688 (91,7)

Dispositivos		
Sonda	235 (31,3)	515 (68,7)
Cateter	680 (90,7)	70 (9,3)
Dreno	107 (14,3)	643 (85,7)
Traqueostomia ou tubo orotraqueal	12 (1,6)	738 (98,4)

Foram realizadas um total de 680 intervenções cirúrgicas em 644 em 644 (85,9%) pacientes, correspondendo a média de 1,1 cirurgias por internação. Durante o período perioperatório foi necessário o uso de vários dispositivos, com destaque para o cateter que foi instalado em 680 (90,7%) pacientes.

As características das intervenções cirúrgicas realizadas, durante as internações, estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Características das intervenções cirúrgicas realizadas nos pacientes, durante internações na Clínica Cirúrgica de um hospital universitário. Goiânia. 2010.

VARIÁVEL	N	%
CLASSIFICAÇÃO CIRÚRGICA QUANTO À GRAVIDADE		
Eletiva	630	92,6
Urgência	38	5,6
Emergência	12	1,8
CLASSIFICAÇÃO CIRÚRGICA QUANTO AO POTENCIAL DE CONTAMINAÇÃO		
Limpa	332	48,9
Potencialmente contaminada	258	37,9
Contaminada	79	11,6
Infectada	11	1,6
TOTAL	680	100

Quanto à gravidade, a intervenção cirúrgica eletiva foi predominante para 630 (92,6%) intervenções e a cirurgia limpa foi o potencial de contaminação mais frequente com 332 (48,9%) cirurgias, seguida da cirurgia potencialmente contaminada com 258 (37,9%).

Os tipos de avaliações clínicas realizadas pela equipe de saúde e identificadas nos prontuários, durante as internações, estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Ações desenvolvidas pelos profissionais de saúde nos pacientes internados, na Clínica Cirúrgica de um hospital universitário, segundo a categoria profissional. Goiânia. 2010.

CATEGORIA PROFISSIONAL	SIM n (%)	NÃO n (%)
Evolução diária do paciente pelo médico ou enfermeiro	530 (70,7)	220 (29,3)
Evolução diária de curativos da ferida operatória*	184 (24,5)	460 (61,3)
Avaliação pela Medicina	673 (89,7)	77 (10,3)
Avaliação pelo Serviço social	146 (19,5)	604 (80,5)
Avaliação pelo Enfermeiro	144 (19,2)	606 (80,8)
Avaliação pela Psicologia	117 (15,6)	633 (84,4)
Avaliação pelo Nutricionista	106 (14,1)	644 (85,9)

Avaliação pela Fisioterapia	40 (5,3)	710 (94,7)
Avaliação pela Odontologia	28 (3,7)	722 (96,3)
Avaliação pela Fonoaudiologia	10 (1,3)	740 (98,7)
Anotações do Auxiliar/Técnico de Enfermagem	750 (100)	0 (0)

*Número e porcentagem referente a 644 pacientes que se submeteram à intervenção cirúrgica.

Dentre as 750 internações, em 220 (29,3%) não foram encontradas a evolução diária do quadro clínico do paciente, já no registro diário da folha de evolução das 530 (70,7%) internações restantes constatou-se pelo menos uma avaliação clínica realizada por profissional de nível superior.

A medicina foi a categoria profissional mais participativa no registro da evolução clínica do cliente, sendo encontrado em encontrados 673 (89,7%) internações com, pelo menos, uma avaliação durante o período de internação na clínica cirúrgica.

Em relação ao registro da equipe de enfermagem, a avaliação do paciente pelo enfermeiro foi encontrada somente em 144 (19,2%) internações, dentre as 606 internações restantes, em 407 (67,2%) foram registradas anotações somente da data de admissão na unidade e em relação à especialidade médica para tratamento. Quanto a assistência de auxiliares e técnicos de enfermagem, foram constatados registros em todas as internações, porém se limitavam a informações básicas e comuns a todos os pacientes.

Foi verificado, ainda, que dentre as 644 (85,9%) internações submetidas à intervenção cirúrgica, em 184 (24,5%) não foram registradas a evolução diária da ferida operatória.

DISCUSSÃO

A avaliação da qualidade da assistência é uma forma de controle de todos os processos de serviço em saúde cujo objetivo é a satisfação das necessidades tanto dos pacientes como dos familiares. Para isso, é preciso estabelecer parâmetros de mensuração, implantar e instituir indicadores de qualidade (BECCARIA et al, 2009; VENTURINI, MARCON; 2008).

Os prontuários são uma forma de comunicação escrita multidisciplinar e, portanto, é um dos principais exemplos de indicadores, pois tem como função manter o maior número de informações sobre as condições de saúde dos pacientes, oferecendo subsídios para a elaboração de um plano de cuidado e, assim, avaliar a qualidade dos serviços prestados (LUZ; MARTINS; DYNEWICZ, 2007; FREITAS, QUEIROZ, SOUZA; 2007; BARBOSA et al, 2011).

Como as anotações nos prontuários são o resultado do serviço oferecido ao paciente durante a internação, é imprescindível que as informações dos pacientes sejam completas e capazes de revelar, com clareza, os cuidados prestados, a história, a evolução e continuidade da assistência ao cliente (VENTURINI; MARCON, 2008; ARNOLD et. al., 2009; PARANAGUÁ, 2012).

De acordo com os resultados percebe-se a existência de falhas nos registros, com destaque para 29,3% de internações que não foram evoluídas, diariamente, quanto ao quadro clínico do paciente. Esse é um fator predisponente para a ocorrência de erros. Beccaria et al (2009) em estudo realizado na UTI, encontrou um total de 550 eventos adversos sendo que 131 (23,81%) destes estavam relacionados às falhas nas anotações de enfermagem.

Nessa mesma perspectiva, a ausência de informações sobre as comorbidades dos pacientes em 2,9% dos prontuários, dificulta a distinção de condições pré-existentes no paciente e, portanto, predispõe o paciente a complicações durante o cuidado (DIAS; MARTINS; NAVARRO, 2012)

O baixo índice de participação dos enfermeiros na assistência direta ao paciente, é uma realidade evidenciada em outras pesquisas (LUZ; MARTINS; DYNEWICS, 2007; SETZ; D'INNOCENZO, 2009; GABRIEL et al, 2011). Nesse aspecto, é importante ressaltar que, durante a avaliação de enfermagem, o enfermeiro é o profissional responsável pelo processo e coordenação da assistência ao paciente de forma individualizada e completa (COFEN, 2007).

A qualidade dos registros faz jus a uma série de funções determinadas por órgãos reguladores de cada profissão, além das normas institucionais de cada empresa e, principalmente, pelo compromisso e responsabilidade ética do enfermeiro no exercício profissional (BARBOSA et al, 2011).

Outro aspecto importante por se tratar de uma unidade cirúrgica em um hospital universitário é a ausência de registros a evolução da ferida operatória.

Índices alarmantes são evidenciados em outros estudos. Aproximadamente 73,9% das anotações da equipe de enfermagem contêm falhas referentes ao aspecto e evolução das lesões cutâneas (VENTURINI, MARCON; 2008). Essa realidade aponta divergências entre a teoria e a prática do processo de assistência ao paciente cirúrgico. Como resultado, estudos apontam que dentre os eventos adversos cirúrgicos mais frequentes, ou seja, dentre os incidentes que obrigatoriamente resultam dano ao paciente, estão àqueles relacionados à ferida cirúrgica, inclusive infecção (MOURA; MENDES, 2012).

A avaliação e registro da evolução da ferida operatória é um fator essencial para se determinar o tratamento específico para cada caso, portanto, isto deve ser feito de forma

sistemática e completa desde a ocorrência da lesão até a resolução da mesma (VENTURINI, MARCON; 2008).

Os resultados também mostraram que durante a internação vários procedimentos e dispositivos foram utilizados pelos pacientes para auxiliar e dar continuidade à assistência.

Dentre os procedimentos, a prescrição de medicamento ocorreu em 98% das internações o que é esperado visto que ela é essencial ao processo de recuperação da saúde principalmente no período pós-operatório. Contudo, deve-se atentar para a quantidade e administração desses medicamentos a fim de evitar falhas nesse processo, pois a clínica cirúrgica está entre as unidades com maiores índices de erros relacionados ao cuidado, especialmente, os que envolvem o processo de medicação (GAIDZINSKI et al, 2008, NASCIMENTO et al, 2008; MAGALHÃES; DALL'AGNOL; MARCK, 2013).

A intervenção cirúrgica ocorreu em 85,9% das internações com predominância da eletiva, o que é explicado pela instituição se tratar de um hospital escola. Essa realidade minimiza os riscos do ato cirúrgico, uma vez que oportuniza o planejamento de uma assistência individualizada, em conformidade às particularidades de cada paciente, do estado de saúde, das características da cirurgia e, fundamentalmente, com base científica (CHRISTÓFORO; CARVALHO, 2009).

A profilaxia antibiótica é uma prática comum no pré- operatório, pois configura medida importante na prevenção de infecção de sítio cirúrgico. Contudo, deve ser realizada adequadamente e utilizar formulários preconizados, a fim de garantir maior segurança ao paciente e, principalmente, evitar a resistência bacteriana (WHO, 2009).

Diante dessa realidade, a OMS instituiu um movimento para controlar o uso indiscriminado dos antimicrobianos com o objetivo de minimizar as consequências da resistência antimicrobiana. Esse movimento é direcionado pela Aliança Mundial para Segurança do Paciente, que orienta o seguimento de padrões de qualidade que garantem a redução de riscos decorrentes do cuidado, contribuindo com a segurança do paciente (WHO, 2008).

Em relação aos dispositivos tubulares, importantes tecnologias que subsidiam a assistência, o número de pacientes que utilizam um ou mais dispositivos é relevante, o que aumenta a complexidade do cuidado.

O registro dos procedimentos invasivos é imprescindível para o planejamento da assistência e, também, para o direcionamento do trabalho de diversos setores do ambiente hospitalar que dependem dessas informações, como a Comissão de Controle de Infecção

Hospitalar, das pesquisas clínicas, os serviços de auditoria e da qualidade do cuidado, dentre outros (VENTURI; MARCON, 2008).

É evidente a importância do processo retrospectivo de auditoria ao prontuário como um recurso para se conhecer os problemas do processo assistencial. A identificação de pontos fracos pode auxiliar a elaboração de ações que estimulem a mudança atitudinal dos profissionais em relação ao registro da assistência, aprimorando a parte documental e, principalmente, o cuidado (BORSATO et al, 2011; VENTURINI, MARCON, 2008; LUZ; MARTINS; DYNEWICZ, 2007).

Quando a qualidade da assistência é o objetivo a ser alcançado, exige-se maior controle do processo de trabalho por parte do gestor e da equipe de saúde. Dessa forma, a anotação completa das ações realizadas com o paciente podem nortear mudanças na estrutura organizacional, nos processos e, por conseguinte, nos resultados da assistência. A adoção de treinamentos e educação em serviço são algumas estratégias que resultam em melhoria da qualidade das anotações e do cuidado oferecido (BARBOSA et al, 2011; CHAYAMITI, CALIRI, 2010; BECCARIA et al, 2009; VENTURINI, MARCON, 2008).

CONCLUSÕES

Foram analisadas 750 internações, sendo que 59,9% dos pacientes eram do sexo feminino e 40,1% do sexo masculino, com idade média de 46,9 anos. A maioria das admissões na Clínica Cirúrgica foi eletiva (82,1%), com tempo de internação entre dois e oito dias para 82,2% das internações.

A prescrição de medicamento teve média de dois fármacos por paciente/dia e foi realizada em 98% do total de internações.

Pelo menos uma intervenção cirúrgica foi registrada em 85,9% das internações, sendo a profilaxia antibiótica realizada em 63,1%.

O uso de dispositivos tubulares estava presente em todas as internações resultando em média de 1,3 dispositivos por paciente.

Os médicos foram os profissionais com maior participação na evolução do paciente com registro em 89,7% das internações, enquanto que o enfermeiro apresentou registro de avaliação em 19,2% das internações.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo apontou divergências entre o que é esperado para uma assistência segura ao paciente cirúrgico e o que de fato é colocado em prática nas instituições de saúde. Frente a

isso, os indicadores de assistência levantados podem subsidiar o planejamento de ações corretivas do processo de trabalho da equipe de saúde, de modo a alcançar a excelência do cuidado.

Ressalta-se que, por se tratar de um hospital universitário, a assistência ao paciente deve ser uma prática exemplar, uma vez que a responsabilidade da instituição na formação de profissionais de diversas áreas é intrínseca.

Espera-se que o estudo desperte os profissionais de saúde para a autorreflexão de suas ações e estimulem as instituições de saúde para a sistematização do processo de avaliação dos indicadores da assistência, de modo a contribuir para a segurança do paciente, reduzir os resultados negativos e atuar conforme as evidências da prática clínica.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, V. B. ; PERROCA, M. G.; JERICÓ, M. C. Variabilidade do grau de complexidade assistencial do paciente em relação à equipe de enfermagem. **Rev. Latino-am. Enfermagem**, v.17, n.1, 2009.

ARNOLD, L. B. et al. Inadequate documentation of asthma management in hospitalized adult patients. **South Med. J**, v.102, n.5, p.510-4, 2009.

BARBOSA, S. F. et al. Qualidade dos registros de enfermagem: análise dos prontuários de usuários do programa de assistência domiciliária de um hospital universitário. **O mundo da saúde**, v. 35, n. 4, p. 395-400, 2011.

BECCARIA, L. M. et al. Eventos adversos na assistência de enfermagem. **Rev. Bras. Ter. Intensiva**, v. 21, n. 3, p. 276-282, 2009.

BORSATO, F. G. et al. Avaliação da qualidade das anotações de enfermagem em um Hospital Universitário. **Acta Paul. Enferm.**, v. 24, n. 4, p. 527-33, 2011.

CHAYAMITI, E. M. P. C; CALIRI, M. H. L. Úlcera por pressão em pacientes sob assistência domiciliária. **Acta Paul. Enferm.,** v. 23, n. 1, p. 29-34, 2010.

CHRISTÓFORO, B. E. B.; CARVALHO, D. S. Cuidados de enfermagem realizados ao paciente cirúrgico no período pré-operatório. **Rev. Esc. Enferm. USP**, v. 43, n. 1, p. 14-22, 2009.

Conselho Federal de Enfermagem. **Resolução COFEN n. 293.** Estabelece parâmetros para dimensionamento do quadro de profissionais de enfermagem nas instituições de saúde. Rio de Janeiro, 2004.

CUCOLO, D. F.; PERROCA, M. G. Monitorando indicadores de desempenho relacionados ao tempo de assistência da equipe de enfermagem. **Rev. Esc. Enferm USP**, v. 44, n. 2, p. 497-503, 2010.

DIAS, M. A. E.; MARTINS, M.; NAVARRO, N. Rastreamento de eventos adversos nas internações so Sistema único de Saúde. **Rev. Saúde Pública**, v. 46, n. 4, p. 719-29, 2012.

Donabedian A. **The definition of quality and approaches to its assessment**: explorations in quality assessment and monitoring. Chicago: Health Administration Press, 1980.

FRANCO, J. N. et al. Percepção dos enfermeiros sobre os resultados dos indicadoresde qualidade na melhoria da prática assistencia. **Rev. Bras. Enferm.**, v. 63, n. 5, p. 806-10, 2010.

FREITAS, M. C.; QUEIROZ, T. A.; SOUZA, J. A. V. O processo de enfermagem sob a ótica das enfermeiras de uma maternidade. **Rev. Bras. Enferm.**, v. 60, n. 2, p. 207-12, 2007.

GABRIEL, C.S. et al. Utilização de indicadores de desempenho em serviço de enfermagem de hospital público. **Rev. Latino-Am. Enfermagem,** v. 19, n. 5, 2011.

GAIDZINSKI, R.R et al. Gestão de pessoal de enfermagem e o sistema de assistência de enfermagem. In: GAIDZINSKI, R.R et al. **Diagnóstico de enfermagem na prática clínica**. São Paulo: Artmed, 2008. p. 47-61.

LUVISOTTO, M. M. et al. Atividades assistenciais e administrativas do enfermeiro na clínica médico-cirúrgica. **Einstein**, v. 8, n. 2, p. 209-14, 2010.

LUZ, A.; MARTINS, A. P.; DYNEWICZ, A. M. Características de anotações de enfermagem encontradas em auditoria. **Rev. Eletrôn. Enferm.,** v. 9, n. 2, p. 344-61, 2007.

MAGALHÃES, A. M. M.; DALL'AGNOL, C. M.; MARCK, P. B. Carga de trabalho da equipe de enfermagem e segurança do paciente - estudo com método misto na abordagem ecológica restaurativa. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 21, n. 9, 2013.

MONTEIRO, J.A.C. **A segurança do paciente cirúrgico, o papel dos profissionais e O impacto sócioeconómico numa unidade local de saúde** [dissertation]. Guarda: Instituto Politécnico da Guarda; 2010. 154p.

MOURA, M. L. O.; MENDES, W. Avaliação de eventos adversos cirúrgicos em hospitais do Rio de Janeiro. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 15, n. 3, p. 523-35, 2012.

MUNHOZ, S.; RAMOS, L. H.; CUNHA, I. C. K. O. Eficiência e eficácia do desempenho da enfermagem em procedimentos técnicos. **Rev. Bras. Enferm.**, v.61, n.1, p.66-70, 2008.

NASCIMENTO, C. C. P. et al. Indicators of healthcare results: analysis of adverse events during hospital stays. **Rev. Latino-Am. Enferm.**, v.16, n. 4, p. 746-51, 2008.

PARANAGUÁ, T. T. B. **Análise dos incidentes ocorridos na Clínica Cirúrgica de um hospital universitário da região Centro-Oeste** [dissertation]. Goiânia: Faculdade de Enfermagem/UFG; 2012. 149p.

PERROCA, M. G.; JERICÓ, M. C.; FACUNDIN, S. D. Monitorando o cancelamento de procedimentos cirúrgicos: indicador de desempenho organizacional. **Rev. Esc. Enferm. USP**, v. 41, n.1, p. 113-19, 2007.

SANTOS, J. S.; KEMP, R. Fundamentos básicos para a cirurgia e cuidados perioperatórios. **Medicina**, v. 44, n. 1, p. 2-17, 2011.

SETZ, V. G.; D'INNOCENZO, M. Avaliação da qualidade dos registros de enfermagem no prontuário por meio da auditoria. **Acta Paul. Enferm.**, v.22, n.3, p.313-7, 2009.

VENTURINI, D. A.; MARCON, S. S. Anotações de enfermagem em uma unidade cirúrgica de um hospital escola. **Rev. Bras. Enferm.**, v. 61, n. 5, p. 570-7, 2008.

VIEIRA, A. P. M.; KURCGANT, P. Indicadores de qualidade no gerenciamento de recursos humanos em enfermagem: elementos constitutivos segundo percepção de enfermeiros. **Acta Paul. Enferm.**, v. 23, n. 1, p. 11-5, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World alliance for patient safety**. Guideline safe Surgery. Genève: WHO, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World alliance for patient safety**. Taxonomy. The conceptual framework for the international classification for patient safety. Genève: WHO, 2009.

ESTUDO DO SUJEITO GRAMATICAL NA SALA DE AULA: DIVERGÊNCIAS E PROPOSTAS DE ENSINO[1]

NASCIMENTO, Iscarlety Matias do (PIBIC/UFG)[2]
iscarlety_moises@hotmail.com
CERQUEIRA, Mirian Santos de[3]
miriancerqueira@gmail.com

RESUMO

Este estudo buscou compreender a noção de sujeito gramatical. Primeiramente refletiu-se sobre as divergências e incongruências dos conceitos e classificações de sujeito presentes nos manuais de gramática normativa e, em seguida, procurou realizar uma análise descritiva do sujeito gramatical, mais especificamente do Parâmetro do Sujeito Nulo, para isso utilizou-se fragmentos de textos de alunos da educação básica de uma escola pública e de alunos universitários da Faculdade de Letras da Universidade Federal de Goiás do estado de Goiás. O estudo caminhou para a explicitação do papel da escola no ensino de língua materna e, por isso, estabeleceu a relação entre aquisição da linguagem e aprendizagem.

Palavras chaves: Gramática Internalizada, Sujeito Nulo, ensino de língua portuguesa.

1. INTRODUÇÃO

O presente estudo busca compreender a ausência/preenchimento do sujeito gramatical na produção escrita de alunos do ensino fundamental e médio de escolas públicas e de alunos universitários da Faculdade de Letras da Universidade Federal de Goiás, haja vista que estudos apontam para o desaparecimento do sujeito nulo (DUARTE (1993), MAGALHÃES (2000), BAGNO (2013)), principalmente na modalidade oral da língua, sendo que à escola, responsável pelo ensino da modalidade escrita, cabe ensinar o uso significativo do Sujeito Nulo na escrita (MAGALHÃES, 2000).

Assim, o estudo focar-se-á na importância de o professor como mediador trabalhar com o texto do aluno, para que este compreenda a importância do sujeito elíptico na construção coesa e coerente de texto. Dessa maneira, o aluno compreenderá as aulas de gramáticas além dos exercícios de taxonomia, não sendo necessário apenas classificar os termos da oração como sujeito oculto/elíptico, por exemplo, mas sim, entender os conceitos abstratos em funcionamento na língua, isto é, como objetos de reflexão (NEVES, 2008).

[1] Revisado pelo orientador.
[2] Bolsista do CNPq/PIBIC.
[3] Profa. Dra. Adjunto 2 da Faculdade de Letras da UFG- Câmpus de Goiânia (Orientadora).

Deseja-se, pois, que o aluno seja capaz de analisar e refletir sua língua mediante a escrita de textos, visto que é na sala de aula que o aluno deve ter contato com a língua escrita e produzir variados textos (BRANDÃO e VIEIRA, 2007). O presente estudo não propõe que o professor deixe totalmente de lado exercícios que trabalhem nomenclatura, mas sim, que não trabalhe apenas estes e explore mais a capacidade inata de pensar a língua de seu aluno. Sírio Possenti (1996, p.84) afirma que "não se trata de excluir as tarefas da escola. (...) Trata-se apenas de estabelecer prioridades. (...)" Possenti afirma ainda que a prioridade deve ser absoluta para a leitura, escrita e todas as formas de interpretação. É pertinente que a aula de língua materna seja um espaço para a reflexão sobre a linguagem, pois refletir sobre a língua é o que falta no ensino de língua (NEVES, 2008).

O estudo trilhará um caminho para a análise, descrição e compreensão do Sujeito Nulo tendo como fundamentação teórica os pressupostos do Programa de Investigação da Gramática Gerativa, mais precisamente a Teoria de Princípios & Parâmetros da Gramática Universal proposta por Noam Chomsky (1981 e obras posteriores), uma vez que essa teoria propõe a existência do Parâmetro do Sujeito Nulo. Para o entendimento do Sujeito Nulo no ensino gramatical, serão explicitadas as noções de aquisição e aprendizagem abarcando o pressuposto de que o aluno traz para dentro da sala de aula sua própria gramática que, por sua vez, não deve ser esquecida no processo de mediação no ensino de língua materna, pois, "o aluno produz o que ele sabe (gramática internalizada)" (POSSENTI, 1996, p.90).

Noam Chomsky afirma em seu arcabouço teórico que o ser humano possui um aparato genético que o diferencia dos outros animais, por isso os seres humanos são dotados biologicamente de uma capacidade de adquirir uma língua, já que no aparato encontra-se a Faculdade da Linguagem. Portanto, o processo de aquisição da linguagem é inato, graças a essa faculdade presente no cérebro humano.

A Faculdade da Linguagem possui uma Gramática Universal que é constituída de Princípios e Parâmetros. Os princípios dizem respeito às leis gerais de todas as línguas naturais e os parâmetros são as leis próprias de uma língua que são responsáveis por diferenciar as línguas e por isso estabelecem as noções de gramatical e agramatical, isto é, propriedades paramétricas que pertencem ou não a uma língua, respectivamente. (cf. MIOTO, SILVA, LOPES, 2005).

Segundo o pressuposto de Princípios e Parâmetros, toda língua possui sujeito, portanto, há o princípio do Sujeito, mas há diferentes propriedades paramétricas entre as línguas. Assim, línguas como o Francês e o Inglês são línguas de Sujeito Pleno, isto é, obrigatoriamente o sujeito deve ser sempre preenchido. Por outro lado, existem línguas em

que o sujeito não precisa ser explicitado, visto que possui uma riqueza morfológica no paradigma flexional dos verbos; o Italiano e o Português Europeu são exemplos de língua de Parâmetro de Sujeito Nulo.

Algumas pesquisas apontam para o desaparecimento do Sujeito Nulo no Português Brasileiro (doravante PB) que está numa transição de marcar positivamente o Parâmetro do Sujeito Pleno e isso se deve a redução nos paradigmas flexionais (DUARTE, 1993).

2. METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado mediante uma coleta de textos escritos, produzidos por alunos do ensino fundamental e médio de uma escola pública estadual de Goiânia e alunos da Faculdade de Letras da Universidade Federal de Goiás.

Os textos dos alunos do ensino básico são de caráter narrativo, a eles foi entregue o início de uma estória da Família Splash, a qual deveriam dá uma sequência narrativa.

Os textos produzidos pelos alunos universitários foram embasados na reportagem "Um apartheid para os gays", da revista Época[4]. Os alunos universitários posicionaram-se frente à temática proposta na reportagem, produzindo, pois, um texto escrito de caráter argumentativo.

Os seguintes passos metodológicos foram seguidos, para a realização deste estudo: 1) Coleta de textos de alunos do ensino fundamental e médio e alunos universitários de instituições públicas da cidade de Goiânia- Goiás; 2) Seleção de dados e 3) Descrição e análise dos dados.[5]

3. RESULTADOS ALCANÇADOS

3.1. DIVERGÊNCIAS NO ESTUDO DO SUJEITO GRAMATICAL

A primeira insatisfação do conceito de sujeito refere-se ao termo que lhe foi dado pela Nomenclatura Gramatical Brasileira (doravante NGB) que o considera como "termo essencial", isto é, indispensável na estrutura de uma oração, mas sabe-se que há orações sem sujeito, portanto, esse pressuposto da NGB não é verdadeiro para algumas orações da língua e nesse ponto há uma ruptura com a ideia clássica de conceito.

Eunice Pontes (1986) afirma que a incongruência da definição de sujeito na Gramática Normativa (doravante GN) se deve à noção clássica de conceito que é compreendido como

[4] http://revistaepoca.globo.com/tempo/noticia/2012/03/um-apartheid-para-os-gays.html

[5] Ao realizar a descrição dos dados por meio da transcrição de fragmentos dos textos dos alunos, não foram feitas alterações gramaticais e ortográficas.

um conjunto de exemplos que partilham de propriedades comuns. Sendo, pois, a língua, um organismo vivo, dificilmente todos os exemplos identificados como sujeito na língua se enquadram nas propriedades específicas do ponto de vista clássico de conceito, como foi perceptível na consideração do sujeito gramatical como "termo essencial", em que essa propriedade não é compartilhada por todos os exemplos infinitos de orações.

Ao chegar à perspectiva de que o ponto de vista clássico para definir o sujeito gramatical, como qualquer outro elemento linguístico, não é cabível, pois os elementos da língua, apesar de pertencerem a uma metalinguagem, são presos a uma realidade, Pontes compreende que o conceito tem função taxonômica e conclui que "é necessário estudar os diferentes conceitos para se chegar a uma teoria geral" (19866, p. 118), ou seja, apenas uma propriedade de sujeito não é suficiente para classificar um elemento da sentença como tal.

Compreendendo, portanto, que é pertinente avaliar os diferentes conceitos, para ter-se uma teoria, o próximo passo deste estudo é analisar os três conceitos de sujeito mais presentes nas Gramáticas tradicionais. Sendo as definições mais presentes nos livros de GN sobre o sujeito estes: 1) Termo da oração a respeito do qual se declara alguma coisa; 2) É aquele que pratica a ação e 3) É o termo com o qual o verbo estabelece concordância.

O primeiro conceito é o mais presente nos manuais de GN. A obra gramatical de Luiz Fernando Mazzarotto (2010) traz ao estudioso de gramática a seguinte definição de sujeito: "É o ser de quem se diz alguma coisa" e este é o exemplo explorado pelo livro de Mazzarotto: "O aluno saiu." (p.321). O exemplo dado é cabível ao conceito dado pelo manual, haja vista que "sair" é um verbo transitivo, isto é, só há algo a dizer em torno do sujeito, já que não se verifica a presença de um objeto para o qual será dito algo. É preciso deixar claro que esta é a única definição trabalhada na gramática de Mazzarotto, sendo que na apresentação do sujeito indeterminado o conceito dado é de "aquele que, embora existindo, não se pode determinar" (p.322), isto é, não se sabe de quem se declara algo. O exemplo dado no próprio livro para sujeito indeterminado é: "Roubaram-me a carteira" (p.322). Usando o modo de encontrar o sujeito ensinado no manual gramatical far-se-á a seguinte pergunta: "Quem é que roubou a carteira?" (Quem é que + verbo) e não se terá a resposta, visto que o sujeito é indeterminado, portanto, não se diz alguma coisa de nenhum ser.

Azeredo (2008) já afirmará em sua "Gramática Houaiss da Língua Portuguesa" (2008) que não é correto definir sujeito como "termo sobre o qual se faz uma declaração" (p. 223), visto que é uma definição para tópico.

Observemos o exemplo retirado da produção escrita de um aluno do ensino fundamental do ensino estadual público de Goiânia:

1) "Zatura ele tinha poderes incriveis." (V.H.P., 7º ano).

Declara-se algo sobre *Zatura*, mas este não é um termo sintático classificado como sujeito, mas sim tópico. O sujeito gramatical da oração encontra-se no comentário, cujo sujeito é o pronome pessoal de 3º pessoa do singular (*Ele*).

Segundo Magalhães (2000), o tópico é caracterizado como uma referência para o que vai ser dito lançando um comentário que é uma sentença completa com sujeito e predicado. A sentença 1 do aluno do ensino básico tem, portanto, a seguinte fórmula:

SN [SN¹ V SN] (In: GALVES, 1987, 43).

Pontes também explicita em sua obra sobre o sujeito que essa definição é falha, citando como exemplo a oração: "Esse café eu não bebo" (p.128). O termo do qual se declara algo é '"esse café", mas o sujeito é o pronome "eu". Pontes chega à conclusão que essa definição proposta para sujeito não satisfaz o ponto de vista clássico.

Mas essa não é a única conceituação problemática. O segundo conceito divulgado pelos manuais de GN também é contraditório. Pontes afirma que o sujeito pode ser agente ou paciente, ou seja, pode praticar ou receber a ação, contradizendo a definição de que o sujeito é "aquele que pratica a ação", rompendo novamente com a noção clássica de conceito.

Pontes cita o seguinte exemplo: "O João arrancou um dente hoje" (p.31). Essa sentença só pode ser compreendida considerando um contexto, pois o sujeito "João" pode ser agente, se for um dentista, corroborando com o conceito presente nos livros, cuja concepção gramatical é normativa ou derrubando-o, se for paciente, caso seja uma pessoa que se submeteu a tratamento dentário.

Além do conhecimento pragmático proposto por Pontes, a definição de sujeito como o termo que pratica a ação pode ser facilmente posta em contradição, se considerarmos um exemplo como: "O dente de João foi arrancado pelo dentista",visto que o substantivo "dentista" não exerce a função sintática de sujeito, mas sim de agente da passiva, apesar de praticar a ação. O sujeito nesse período será o sintagma nominal "o dente de João", sendo "o dente" o núcleo deste sintagma e "de João" o adjunto, que se caracteriza como um sintagma preposicional, que determina que não foi qualquer dente arrancado e sim o dente de João. Percebe-se, portanto, que o sujeito nesse caso é aquele que sofre a ação. Mais uma vez o ponto de vista clássico de conceito é frágil.

Outro conceito divulgado nos livros de GN é o que considera que o sujeito "é o termo com o qual o verbo estabelece concordância". Perini (2002) defende essa definição, pois, segundo o linguista, esse conceito abrange somente o aspecto sintático da oração, não diz

respeito aos aspectos semânticos e discursos, diferentemente dos outros conceitos aqui discutidos.

Apesar de Perini defender a ideia de se identificar o sujeito mediante a concordância verbal, ele confronta essa noção também presente em outras gramáticas, cuja concepção é prescritiva. Por exemplo, na oração: "Ana ama Luís" não se define o sujeito considerando a definição de concordância verbal, visto que tanto "Ana" quanto "Luís" e a forma verbal "ama" estão na terceira pessoa do singular (ele/ela).

Percebe-se, portanto, que os conceitos de sujeito propostos pela GN são divergentes, visto que não satisfazem o ponto de vista clássico de conceito, isto é, as propriedades não são comuns para todos os exemplos possíveis de orações. É necessário, pois, compreender as diferentes definições para o sujeito gramatical, a fim de criar-se uma teoria que abarque o maior número possível de orações, visto que sempre haverá uma nova frase para ser analisada, pois a língua é viva.

3.2. PROPOSTA DE ENSINO NO ESTUDO DO SUJEITO GRAMATICAL

O ensino de sujeito gramatical nas aulas de língua portuguesa seria de caráter mais produtivo se o professor de língua materna não contemplasse apenas exercícios de taxonomia e de elenco de funções, haja vista que o ensino de gramática, apesar de os alunos considerarem tal matéria escolar de difícil compreensão, mesmo sendo conhecedores natos de sua língua, é de extrema importância escolar, pois possibilita que os falantes possam refletir sobre sua própria linguagem (NEVES, 2008).

Assim, propõe-se que os professores de língua materna, primeiramente, não deixem de lado a gramática internalizada do aluno, pois esse sabe reconhecer o funcionamento de sua língua, mesmo sem ter ido à aula, e propiciem atividades reflexivas da língua.

O papel da escola é, reconhecendo que o aluno tem "conhecimento (intuitivo ou inconsciente) necessário para falar a língua" (POSSENTI, 1996, p. 30), ensinar a modalidade escrita da língua, pois, como afirma Possenti, para ensinar a escrita pressupõe-se o conhecimento da modalidade oral. Dessa maneira, entende-se que a "função" da escola é ensinar a escrita e essa já é uma tarefa imensa.

Ensinar a escrita requer que o professor lembre-se que a escola é um lugar de trabalho e nas aulas de língua portuguesa os trabalhos essenciais, para a aprendizagem, são ler e de fato o ato de escrever (cf. POSSENTI, 1996, p.49).

Ensinar, portanto, o sujeito gramatical nas aulas de português deve ser um processo que englobe prática de leitura, produção de escrita, compreensão e funcionamento da

linguagem, para propiciar uma reflexão sobre a língua. É necessário que o entendimento do sujeito gramatical, ou de outros elementos linguísticos, seja um processo de construção de (re) conhecimento da língua. Trabalhar com textos (leitura e/ou produção) é permitir que o aluno compreenda sua gramática internalizada e interpretando-a por meio de exercícios significativos aprenda a gramática normativa.

Discutir com os alunos frases de seus textos e questioná-los (cf.POSSENTI, 1996, p. 89) são propostas para um ensino do estudo do sujeito gramatical que tendem "a propiciar e conduzir a reflexão sobre o funcionamento da língua, e de uma maneira, afinal, óbvia: indo pelo uso linguístico, para chegar aos resultados de sentido." (NEVES, 2008, p.128). Reforça-se, pois, a necessidade de trabalhar com a gramática internalizada do aluno, para se chegar ao que se pretende: ensino da gramática normativa.

Propõe-se, portanto, que os professores aproveitem o conhecimento inato de seus alunos e incentive-os à reflexão evitando atividades enfadonhas e propondo atividades em que os alunos analisem a língua portuguesa por meio de uma "gramática contextualizada". Como afirma Sírio Possenti: "Não se aprende por exercícios, mas por práticas significativas. [...] O domínio de uma língua é o resultado de práticas efetivas, significativas, contextualizadas." (1996, p. 47).

3.3. O ENSINO DO SUJEITO GRAMATICAL

Como dito anteriormente, a proposta de ensino do sujeito gramatical deste projeto é centralizada na produção de textos de alunos da educação básica e superior, para que se possam reconhecer as regras da GN por meio do uso efetivo da língua.

Durante a educação básica (ensino fundamental e médio), alunos aprendem a classificação do sujeito, que ensinada aleatoriamente não parece ter nenhum sentido, mas se o professor aderir às atividades significativas de aprendizagem, o aluno compreenderá o porquê dos sujeitos: simples, composto, oculto e indeterminado. Neste projeto focar-se-á no sujeito oculto (Parâmetro do Sujeito Nulo, Chomsky, 1981 e obras posteriores).[6]

Serão observados alguns fragmentos de textos de alunos da educação básica (fundamental (7º ano) e médio (2º e 3º anos)):

2) "Lilian e Horácio, sairam correndo para chamar a família" (A.C.M.O., 2º)[7]

[6] O Sujeito Oculto proposto pela gramática normativa diz respeito a um tipo de sujeito gramatical que não é expresso visivelmente na oração, mas pode ser identificado. Compreende-se, portanto, que o Parâmetro do Sujeito Nulo, cuja identificação se dá pela desinência verbal, é ensinado no âmbito escolar com a nomenclatura de Sujeito Oculto.

[7] Esses dados referem-se às iniciais do nome do aluno e ao ano escolar que o mesmo frequenta.

3) 3.1.“O filho de Horácio, queria arracar a cabeça de um vilão muito mal.”

3.2.“Zumpt teve uma grande ideia que não era tão grande assim mais da por gasto”. (C.R., 3º)

4) “Arthur, que ainda não sabia controlar seus poderes, começou a bater no filho mais novo da família ganguister.” (G.M.F., 3º)

5) “Os meses se passaram (...)” (A.R.S., 3º)

6) “Lilian e Superman tiveram uma filha que se chamava Emille.” (R. C. R., 3º)

7) “Eles viram um homem que também era super Eroi ele Enxergava em baixo da terra e soltava fogo.” (Y.R.S.C., 7º)

As sentenças 2 e 3.1 são bons exemplos para a explicitação clara de que não se separa o sujeito do predicado. O professor pode explicar alguns casos de uso (ou não) da vírgula expondo aos alunos o conceito de “vocativo”. É pertinente, pois ele está lidando com a língua em uso e isso facilita a explicação do funcionamento da modalidade escrita da língua, ainda mais se utilizar como recurso a gramática internalizada do aluno, que já conhece a fala, e exemplificar o uso do vocativo chamando algum aluno. Assim, o professor poderia transformar a função sintática dos substantivos “Lilian e Horácio” em vocativo. Vejamos: “Lilian e Horácio, saiam”.

Após a explicação de que não se usa vírgula entre o sujeito e o predicado, provavelmente, os alunos ficaram inquietos com o uso da vírgula na sentença 4, pois sabem refletir sobre a língua materna. Dessa maneira, nasce na sala de aula mais uma motivação para a reflexão da gramática da língua. O professor pode mostrar a sentença sob um novo ângulo “Arthur começou a bater no filho mais novo da família ganguister” e logo os alunos perceberam que o sujeito e o predicado não foram separados por vírgulas e a sentença que está entre vírgulas é uma explicação de que Arthur ainda não sabe controlar seus poderes, introduzindo, pois, o período composto e, consequentemente, a oração subordinada adjetiva explicativa.

As orações acima são exemplos que darão conta do ensino do sujeito simples e do sujeito composto. De acordo com Azeredo, o sujeito simples é aquele “constituído de um só núcleo, representado por substantivo ou pronome substantivo”, e o sujeito composto é aquele “constituído de dois ou mais núcleos representados por substantivo ou pronome substantivo.” (2008, p. 224).

Ao aluno deve ser esclarecida a ideia de núcleo, para que o mesmo entenda que está associada à quantidade de palavras e que se refere ao(s) vocábulo(s) mais importante(s) em torno dos quais as outras palavras se organizam.

As sentenças 3, 4,5 e 7 dão contam do sujeito simples, pois "filho"/"Zumpt", "Arthur", "meses" e "eles"/ "ele", respectivamente, são os núcleos do sujeito das orações, ora substantivos (*filho*, *Zumpt, Arthur* e *meses*) ora pronomes (eles/ele).Deve-se chamar à atenção do aluno para os núcleos "meses" (5) e "eles" (7), pois podem causar confusão por estarem no plural. É importantíssimo deixar claro ao aluno que o sujeito simples não está associado ao substantivo ou pronome que está no singular ou que o sujeito composto é aquele substantivo ou pronome que está no plural.

As frases 2 e 6 podem ajudar no esclarecimento da diferença entre sujeito simples e composto, visto que tem-se em cada uma duas palavras como núcleo; na sentença 2 "Lilian" e "Horácio" atuam como núcleos do sujeito e na sentença 7 as palavras "Lilian" e "Superman" são núcleos.

Ainda refletindo sobre o sujeito simples, analisar-se-á a concordância verbal (ou não) com o núcleo "família", a partir dos seguintes fragmentos textuais:

8) "A familha splash revelaram seus poderes" (Y.P.S., 7ºano)

9) "A família ganguister era o maior rivau do Splash." (G.M.F., 3ºano)

10) "toda a sua família perdeu seus poderes de super-herois.[...] No outro dia eles foi para a praia nada como pessoas normais, foi um dia muito lindo cheio de brincadeiras diversão comedia e na hora de i em borá eles vil um banco sendo roubado mais na hora de se transforma em super-heroi eles teve uma grande surpresa eles não deu conta de se veste com a sua roupa de super-heroi então eles ficou tão triste com a noticía que eles não era mais super-heroi mais eles do outro lado do seu corpo eles achou foi bom por ser humano de novo." (Y.S.C.B., 7ºano).

Observa-se que na sentença 8 ocorre um exemplo de figura de sintaxe: silepse. De acordo com Azeredo, "silepse é a concordância ideológica, isto é, a concordância que se faz com a ideia com o elemento que se tem em mente e não com o elemento expresso na frase." (p.494) Assim, na oração 8 o aluno concordou o substantivo "família", que está no singular, segundo a ideia que tem de família, ficando verbo no plural (revelaram) por esse entender que família é um conjunto de pessoas que pertencem a um mesmo grupo social primário.

Mário Perini adverte-nos em seu estudo descritivo da gramática que casos de silepse, como a sentença 8, não seriam tão inadequadas, visto que a um recurso sintático que explica-os. Segundo Perini, "seria de esperar, então, que o verbo fosse livre para ocorrer tanto no singular quanto no plural." (2008, p. 127). Perini ainda em sua gramática afirma que apesar da aceitabilidade da ocorrência de silepse não há explicações para a não concordância verbal, concluindo que as frases silépticas são certamente marginais.

A sentença 9 seria uma oração "correta" nos moldes das GN, pois o verbo "ser" concorda coerentemente com o elemento expresso na frase, não com a ideia de "família". A última sentença, 10, parece também caminhar para uma boa escrita ao concordar o verbo "perder" com o núcleo do sujeito, mas ao analisar o fragmento textual, percebe-se que o aluno não marca o plural em nenhum verbo. Assim, mesmo sendo os núcleos do sujeito das orações o pronome de terceira pessoa do plural (eles), não há a presença da concordância, como se percebe em todas as relações de sujeito-verbo na escrita do fragmento textual 10: "eles foi", "eles vil", "eles teve", "eles não deu", "eles ficou", "eles não era" e "eles acho'.

Ao ensinar o sujeito gramatical deve-se, portanto, chamar a atenção do aluno para a concordância verbal, que é considerada um conceito de sujeito, já que esse é recurso de extrema importância para um texto bem escrito e ensinar a modalidade escrita padrão da língua é papel da escola nas aulas de línguas materna.

O sujeito indeterminado é outra denominação que se dá a classificação de sujeito. Segundo Pasquale (2011), sujeito indeterminado é aquele que "existe, mas não pode ser determinado." (p. 20). De acordo com o professor Pasquale, há duas maneiras de se indeterminar o sujeito: 1) coloca-se o verbo na terceira pessoa do plural, sem nenhuma referência anterior ao sujeito ou 2) coloca-se na terceira pessoa do singular o verbo transitivo indireto, intransitivo ou de ligação, acompanhado do pronome se. Nos textos analisados, ocorreu um caso de sujeito indeterminado, sendo este:

11) "Não percam a continuação da história". (R.C.R., 3º ano).

Na sentença o verbo está na terceira pessoa do plural, o sujeito não está expresso. O conceito de sujeito indeterminado é insatisfatório, pois se considerarmos o papel semântico, como já apontara Pontes (1986), o leitor do texto do aluno logo saberá que o verbo refere-se aos leitores.

Nos textos dos alunos da educação básica e superior poucos são os casos de sujeito indeterminado, haja vista que o sujeito gramatical dentro de uma narrativa ou argumentação pode ser reconhecido pelo contexto, sendo classificado como sujeito oculto/elíptico.

De acordo com Pasquale, sujeito oculto, elíptico ou desinencial é "aquele que não vem expresso na oração, mas é reconhecido pela desinência verbal." (pág.19).

12) "***(cv)***Sou contra a postura adotada pela presidente (...)" (D.S.A., 5º período)

Apesar de o sujeito não está expresso visivelmente na oração, o morfema gramatical do verbo informa-nos que concorda apenas com a primeira pessoa do singular (eu).

A elipse do sujeito é um mecanismo de coesão, pois permite que um elemento linguístico seja omitido por ser facilmente recuperado no contexto, dando ao texto mais limpidez, permitindo que a leitura possa fluir melhor, graças à escrita coesa. Vejamos:

13) "**Lilian** abre suas asas lindas e ***(cv)*** [8]voua toda feliz." (R.C.R., 3º ano)

14) "**Eles** forão conhecer a praia do Rio de Janeiro **eles** chegando la **eles** se divertirão muito (...)" (M.P.S., 7º ano)

Na segunda oração do período 13, o sujeito foi ocultado, mas obviamente, o verbo "voar" refere-se ao sujeito "Lilian". Há, pois, na sentença a elipse do sujeito que atua na construção da coesão textual. Segundo Koch (2001), "o conceito de coesão textual diz respeito a todos os processos de sequencialização que asseguram (ou tornam recuperável) uma ligação linguística significativa entre os elementos que ocorrem na superfície textual" (p. 19). No período 14 não ocorre elipse do sujeito, o pronome sujeito "eles" é expresso em todas as orações do período, tornando, pois, a sentença repetitiva e a leitura mais cansativa.

O Parâmetro do Sujeito Nulo é uma característica de línguas como o Italiano e o PB que permitem que não se use explicitamente o sujeito pronominal. Há duas formas de se identificar o Sujeito Nulo: ou pela desinência verbal ou pelo contexto em que a sentença está inserida, como foi exposto nos exemplos de sujeito oculto/elíptico.

Segundo Duarte, o ponto crucial para caracterizar o Sujeito Nulo seria o elemento de concordância, Agreement (AGR), pois pelo morfema gramatical do verbo é possível licenciar e recuperar o sujeito. (cf. 1993, p.108), tendo, portanto, as línguas de Sujeito Nulo um sistema flexional rico.

O PB que marcava positivamente para o Parâmetro do Sujeito Nulo está perdendo essa característica paramétrica, haja vista que teria deixado de ser uma língua de flexão rica. (cf. DUARTE, 1993 e MAGALHÃES, 2008). De acordo com a pesquisa de Duarte, o PB evoluiu de um sistema flexional com seis formas distintas para um paradigma que apresenta três formas verbais, concluindo que "com um paradigma de tal forma empobrecido ou enfraquecido, nada mais natural do que esperar alterações profundas na representação do sujeito pronominal." (1993, p. 110).

Como afirma Bagno (2013), o Sujeito Pleno está conseguindo alcançar uma vitória significativa no PB, mas requer lembra que aos professores de língua portuguesa cabe à tarefa de ensinar o uso de sujeito pronominais nulos na escrita sempre que possível (cf.

[8] Cv é a abreviatura para categoria vazia.

MAGALHÃES, 2000), sem esquecerem-se da gramática internalizada do aluno, cuja aquisição linguística está sendo do Parâmetro do Sujeito Pleno.

Portanto, o professor de língua materna deve entender os diferentes processos de compreensão da língua: Aquisição e Aprendizagem. A aquisição diz respeito ao processo natural do ser humano que inserido em um ambiente linguístico adquiri a modalidade oral da língua e a aprendizagem é o processo cultural em que há um tipo de intervenção, para que se aprenda a usar com eficiência alguns mecanismos. (cf. MAGALHÃES, 2000). É responsabilidade do professor o processo de aprendizagem, mas esse deve considerar o processo de aquisição, isto é, compreender que o aluno possui uma gramática internalizada. Sabendo, pois, disso o professor deve intervir e ensinar ao aluno o uso significativo do Sujeito Nulo na produção escrita de textos.

De acordo com Magalhães, "é possível dizer que a criança entra na escola com um sistema não pro-drop, continua por um bom período e aos poucos vai adequando tal sistema às normas prescritas pela tecnologia da escrita." (p.81).

Vejamos:

15) "**Eles** encontram outros super heróis,e com isso **eles** se tornaram amigos. (...) **Eles** se tornaram muitos amigos e com isso **eles** não precisaram mais esconder seus poderes." (J.V., 7º ano)

No fragmento acima, percebe-se que o aluno usa apenas sua gramática internalizada, por isso a presença do Sujeito Pleno. O professor deve conduzir os alunos numa produção escrita para uma construção com Sujeito Nulo, mostrando a partir do fragmento de um aluno a repetição do texto que o torna sem coesão e de difícil compreensão.

16) "Após chegarem no Brasil ***(cv)*** saíram a procura de um lugar para ficar nos primeiros dias ***(cv)*** foram para o Rio de Janeiro, após ***(cv)*** chegarem lá **eles** foram conhecer a praia e ***(cv)*** acharam isso maravilhoso pois onde **eles** moravam não havia praia, ***(cv)*** ficaram malhavilhados com o carisma do povo brasileiro sua cultura, sua maneira de alimentação, mas quando o dia começou a escurecer **eles** começaram a observar que no brasil apesar de ter pessoas tem pessoas boas é más dái em diante ***(cv)*** começaram a combater todos esses mal que reinava no Brasil e aí **eles** consiguiram..." (M.B.M.D, 7ºano)

O fragmento textual 16 mostra que o aluno ora usa o Sujeito Nulo ora o Sujeito Pleno, não tem confiança nos elementos textuais a serem usados no momento da escrita. Percebe-se nesse exemplo uma confusão na escrita do aluno "recheada por uma mistura de formas, o que reflete a confusão entre as gramáticas que o aluno traz para a escola (gramática internalizada)

e as regras que lhe são ensinadas no processo de escolarização." (MAGALHÃES, 2008). Esse texto é, provavelmente, o resultado de um ensino prescritivo.

Segundo Magalhães (2000), a produção escrita dos alunos nas séries iniciais reflete a gramática do processo de aquisição linguística (gramática internalizada), não sendo afetados de maneira significativa pelas aulas de língua materna, são as séries finais que apresentam as modificações do processo de aprendizagem.

Vejamos:

17) "**Lilian** foi abatida e ***(cv)*** capiturada" (C.R., 3º ano)

18) "Mas...isso foi um sonho de Horácio, o qui realmente aconteçeu foi que **ele** pensou que era verdade e ***(cv)*** foi parar em um hospital." (R.C.R, 3º ano)

As sentenças 17 e 18 comprovam a afirmação de Magalhães, visto que no último ano de escolaridade (3º ano do ensino médio), os alunos apresentaram em seus textos o uso do Sujeito Nulo.

Analisar-se-á agora fragmentos dos textos escritos pelos alunos universitários da Faculdade de Letras da Universidade Federal de Goiás.

19) **Sirleaf** foi aplaudida por todo o mundo, pela sua vitória. **ela** foi a única mulher que comandar um estado africano, até hoje. **Ela** era vista como uma governante africana diferente, sensível a grupos discriminados. (D.S.A., 5º período)[9]

20) **"Ela** é hipócrita, tanto que após ser REELEITA que **ela** se pronunciou sobre a defesa a favor da prisão de homossexuais. **O interesse de Sirleaf** são causas que **ela** pode defender para se auto beneficiar, até porque **ela** não vai ser presidente para sempre."(L.M.S.)

Ao observarmos esses dois fragmentos textuais, concluímos que os alunos universitários também utilizam na modalidade escrita da língua o Sujeito Pleno. A indagação é que, como apontará Magalhães em sua tese, nas séries finais da educação básica os alunos foram afetados significativamente pela aprendizagem adquirida nas aulas de língua portuguesa, como explicar o uso do Sujeito Pleno na escrita dos alunos universitários da Faculdade de Letras.

De acordo com as teorias de aquisição e aprendizagem, pensa-se que estes alunos não tiveram intervenção de professores para aprenderem a usar os mecanismos coesivos da escrita como o Sujeito Nulo e a única gramática que guiou a produção de escrever deles foi a internalizada que abrange caminhos distintos da gramática normativa, visto que a primeira está mais para a aquisição da fala e a segunda para a aprendizagem da escrita.

[9] Esse dado refere-se às iniciais do nome do aluno universitário.

Mas há muitos textos escritos dos alunos da Faculdade de Letras que apontam a presença do Sujeito Nulo. Observemos:

21) "**Os governantes** africanos devem repensar sobre o que estão fazendo nos seus mandatos. Pois se ***(cv)*** são capazes de excluir e banalizar grupos distintos em seus estados também ***(cv)*** podem escolher uma classe social e negar a outras, não olhando o "bem comum" de todo a sociedade." (R.C.L, 1º período)

22) "...**os gays**_se sentem oprimidos e ***(cv)*** são levados sempre ao ridículo. [...] muitos ***(cv)*** chegam a sofrer violência por se ***(cv)*** assumirem homossexuais perante a sociedade." (H.M.P, 5º período)

23) " ... ***(cv)*** acredito que todo e qualquer homossexual tem o direito de ser o que quiser, ***(cv)*** temos o livre arbítrio ... **Sirleaf²** luta pela mulher, apenas porque é melhor, __ ou ***(cv²)*** acredita em sua emancipação..." (E.D.C., 5º período)

Ao optarem pela escrita com o uso do Sujeito Nulo, os alunos deixaram seus textos mais claros. Verifica-se no fragmento 23, por exemplo, que o aluno não explicitou o pronome pessoal de primeira pessoa do singular (eu), pois a desinência do verbo "acreditar" indica esta pessoa e o mesmo ocorre com a primeira pessoa do plural (nós), cuja desinência verbal "-mos" do verbo "ter" indica tal pessoa.

Apesar de o pronome pessoal "nós" está desaparecendo com o surgimento da expressão "a gente" e isso está refletindo no paradigma flexional dos verbos do PB, o aluno universitário da Faculdade de Letras sabe que na modalidade oral da língua há preferência pelo uso do Sujeito Nulo, que só é possível com o uso da primeira pessoa do plural (nós), já que "a gente" apresenta informações de "nós", mas sua desinência verbal é de terceira pessoa do singular.

Vejamos:

24)"... ***(cv)***sou cristão e ***(cv)***aprendi que todos ***(cv)***somos responsáveis pelo bem estar ao nosso próximo...(D. H. A. A., 1º período)

25) "... ***(cv)***devemos respeitar as diferentes manifestações culturais." (L,7º período)

Como observamos nas sentenças acima, os alunos da educação superior ocultam os pronomes de primeira pessoal do singular (eu) e do plural (nós), por estes terem morfemas gramaticais específicos, sendo facilmente recuperados no contexto, evitando, pois, o que Perini chama de redundância (cf. 2008, p. 106)

Nos textos dos alunos do ensino básico, observamos que há a presença da redundância com a explicitação do pronome "nós".

26) “Ele disse para a família: “em quanto ***(cv)*** estivemos aki **nós** podemos dar uma mão e prender alguns bandido” (C. R., 3º ano).

27) “**Nos** pençamos que ***(cv)*** somos os unicos que tinham super poderes.” (Y.R.S.C, 7º ano)

Nas sentenças acima novamente observa-se a confusão dos alunos entre gramática internalizada e processo de aprendizagem na escola, pois, ora explicitam o sujeito pronominal “nós”, ora ocultam-o. Mas como já afirmará Magalhães (2000), os alunos vão adquirindo o conhecimento ao longo dos estudos:

28) “Hoje ***(cv)*** vou me jogar de uma ponte bem alta.” (R.C.R., 3º ano)

Percebe-se, portanto, que os fragmentos textuais aqui apresentados corroboram com a tese de Magalhães (2000), pois demonstram que o Sujeito Nulo torna-se um mecanismo de coesão textual na produção escrita dos alunos a partir do avanço das séries. Assim, no ensino médio o aluno já usa com mais propriedade o Parâmetro do Sujeito Nulo e os alunos universitários também já compreendem a importância dessa propriedade paramétrica como recurso de coesão textual, apesar de alguns ainda usarem o Sujeito Pleno, que é adquirido no processo de aquisição da linguagem, mas como refletimos esse uso, provavelmente, refere-se a uma não intervenção no processo de aprendizagem que deve concilia a gramática internalizada do aluno à gramática normativa presente na produção escrita.

4. DISCUSSÕES DOS RESULTADOS

Para a realização deste estudo, foram coletados textos de alunos da educação básica e superior, posteriormente realizou-se a seleção de dados e nesta pesquisa foram descritos vinte e sete fragmentos textuais, sendo quinze para a análise da ausência e/ou preenchimento do sujeito, dos quais quatro são produções de alunos do 7º ano do ensino fundamental, cinco do 3º do ensino médio e seis de alunos do ensino superior da Faculdade de Letras.

Analisar-se-á a estatística da presença e/ou ausência do sujeito gramatical nos fragmentos textuais do 7º ano, 3º ano e FL separadamente.

Vejamos a tabela do 7º ano do ensino fundamental:

TABELA 01

SUJEITO PLENO	SUJEITO NULO	SUJEITO PLENO & SUJEITO NULO
2	_	2

A tabela 01 apresenta uma preferência dos alunos do 7º ano pelo uso do Sujeito Pleno, evidenciando, pois, que nas séries iniciais os alunos usam significativamente sua gramática internalizada, cujo Parâmetro adquirido está sendo o Sujeito Pleno, comprovando, portanto, que o PB está deixando de marcar positivamente o Parâmetro do Sujeito Nulo.

A tabela 02 a seguir representa os dados do 3º ano do ensino médio. Vejamos:

TABELA 02

SUJEITO PLENO	SUJEITO NULO	SUJEITO PLENO & SUJEITO NULO
_	4	1

Nota-se que a intervenção do professor no último ano da educação conseguiu propiciar mudanças significativas no processo de escrita, sendo que os alunos usam o Sujeito Nulo como um recurso gramatical de coesão textual.

A tabela 03 apresenta-nos os dados dos alunos universitários da Faculdade de Letras da Universidade Federal de Goiás:

TABELA 03

SUJEITO PLENO	SUJEITO NULO	SUJEITO PLENO & SUJEITO NULO
2	4	_

A partir dessa tabela, é perceptível que alguns alunos ainda preferem o Sujeito Pleno na escrita, mas um número mais significativo mostra-nos que os alunos da Faculdade de Letras usam na modalidade escrita da língua o Sujeito Nulo.

Os resultados da pesquisa evidenciam, portanto, que o PB está se tornando uma língua de Parâmetro de Sujeito Pleno, já que os alunos nas séries iniciais expõem em seus textos sua gramática internalizada e ao observamos a produção escrita dos alunos do 7º ano, percebemos o preenchimento do sujeito. A pesquisa também evidencia a importância do processo de aprendizagem, pois ao analisarmos os textos dos alunos do último ano da educação básica, 3º ano do ensino médio, notamos que a um número maior do uso do Sujeito Nulo e na educação básica, com ressalva de alguns textos, é pertinente o uso do Sujeito Nulo.

5. CONCLUSÃO

Os dados da pesquisa corroboram com estudos que apontam para o desaparecimento do sujeito nulo (DUARTE (1993), MAGALHÃES (2000), BAGNO (2013)), visto que nas produções iniciais dos alunos há a presença da gramática internalizada e notamos nos textos dos alunos do ensino fundamental o uso do Sujeito Pleno, portanto, as crianças estão adquirindo a propriedade paramétrica de preenchimento do sujeito, quando expostas a comunidade linguística do PB.

Os fragmentos textuais analisados nesta pesquisa também corroboram com a tese de Magalhães (2000), quando esta afirma que o Sujeito Nulo é usado significativamente nas séries finais da educação, pois os alunos já desempenham o que lhe foi ensinado no processo de ensino-aprendizagem e realizam a escolha paramétrica mais adequada na produção de escrita.

Com os dados obtidos nesta pesquisa, compreende-se que os alunos apresentam em seus textos escritos a aquisição do Sujeito Pleno (gramática internalizada) e aos poucos se adaptam, mediante a intervenção do professor de língua materna, à modalidade escrita da língua que exige o uso do Sujeito Nulo.

Percebe-se, portanto, que para o aluno fazer o uso significativo do Parâmetro do Sujeito Nulo na escrita cabe a escola que assuma seu papel neste processo de ensino-aprendizagem.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo procurou-se compreender o ensino do sujeito gramatical na sala de aula, por meio de uma pesquisa descritiva com apresentação de dados referentes à produção escrita de alunos da educação básica e do ensino superior.

A pesquisa apresentou as incongruências relacionadas ao conceito e a classificação do sujeito gramatical não com o objetivo de solucioná-las, mas sim com o intuito de refletir sobre as dificuldades que os alunos se deparam ao estudar nos manuais de G.N. definições e exercícios de taxonomia que não consideram a língua em uso.

É pertinente, pois, o estudo da língua em funcionamento, para que o aluno possa refletir sobre um conhecimento inato e as atividades de produção de textos é um caminho a ser trilhado para que o ensino de gramática não seja rotulado como uma matéria difícil, mas sim uma matéria escolar de reflexão da língua materna.

Os professores de língua portuguesa não podem esquecer-se do papel como professor: ser mediador. Assim, devem intervir no processo de ensino-aprendizagem, para que os alunos usem na modalidade escrita da língua o Sujeito Nulo, pois essa propriedade paramétrica é um

mecanismo de coesão textual e na sala de aula o aluno deve produzir textos coesos e coerentes que devem ser o material de trabalho para análise, descrição e compreensão da língua.

REFERÊNCIAS

AZEREDO, José Carlos de. *Gramática Houaiss da Língua Portuguesa*. 2º edição. São Paulo; Publifolha, 2008.

BAGNO, Marcos. *A vitória do sujeito pleno*. In: *Gramática de bolso do Português Brasileiro*. São Paulo: Parábola Editorial, 2013. p. 141-146.

BRANDÃO, Silvia Figueiredo & VIEIRA, Silvia Rodrigues. (Org.). *Ensino de Gramática: descrição e uso*. São Paulo: Contexto, 2007.

DUARTE, Maria Eugênia. Do *pronome nulo ao pronome pleno: a trajetória do sujeito no Português do Brasi*l. In: ROBERTS, I. e M. A. KATO (Orgs). *Português brasileiro: uma viagem diacrônica (Homenagem a Fernando Tarallo).* 2ª ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1993. p. 107-128.

GALVES, Ch. *A sintaxe do Português Brasileiro*. Ensaios de Linguística, 13. Belo Horizonte, 1987. p.31-50.

KOCH, Ingedore Villaça. *A coesão textual*. São Paulo, Contexto, 2001. 15º ed.

MAGALHÃES, Telma Moreira Viana. *Aprendendo o Sujeito Nulo na Escola.* Dissertação de Mestrado: UNICAMP, 2000.

_____. *A aquisição de pronomes sujeitos no PB e no PE*. CNPq. Revista Letras de Hoje. Porto Alegre. Volume 42, número 1. 2007. p.97-112.

_____. *As diferenças entre gramática da fala e a "gramática" da escrita no Português Brasileiro e suas consequências para o ensino da língua.* Revista do Gelne. Volume 10, número 1. 2008. p. 45-52

MAZZAROTTO, Luiz Fernando. *Nova Redação, Gramática e Literatura: aprenda a elaborar textos claros, objetivos e eficientes*. 2º Ed. São Paulo: DCL, 2010.

MIOTO, Carlos; SILVA, Maria Cristina Figueiredo e LOPES, Ruth Elisabeth Vasconcellos Lopes. *Novo manual de sintaxe*. Florianópolis; Insular, 2º edição. 2005.

NEVES, Maria Helena de Moura. *Que gramática estudar na escola? Norma e uso na língua portuguesa*. 3º ed. Editora Contexto. São Paulo, 2008.

PASQUALE, Cipro Neto. *Coleção Professor Pasquale explica: Análise Sintática*. Barueri, São Paulo: Gold Editora, 2011.

PERINI, Mário. *Gramática descritiva do português*. São Paulo: Editora Ática, 2002.

_____. *Funções Sintáticas*: *Sujeito*. In: *Estudos de Gramática Descritiva*. São Paulo: Parábola Editorial, 2008. p.104-133.

PONTES, Eunice Souza Lima. *Sujeito: Da sintaxe ao discurso*. Editora Ática, 1986.

POSSENTI, Sírio. *Por que (não) ensinar gramática na escola*. Mercado de Letras: Associação de Leitura do Brasil, 1996.

A PRODUÇÃO INTELECTUAL SOBRE A MULHER SEGUNDO A CONCEPÇÃO DE SIMONE DE BEAUVOIR

Orientanda: Jaciara Reis VEIGA

jaciarar.veiga@gmail.com

Orientador: Nildo Silva VIANA

nildoviana@ymail.com

Faculdade de Ciências Sociais/UFG

Resumo

O objeto da presente pesquisa é a análise que Simone de Beauvoir (1980) faz da psicanálise e do materialismo histórico em seu tratamento sobre a questão da mulher. Isso abre espaço para pensar a imagem da mulher expressa na produção intelectual. Os intelectuais expressam uma concepção de mundo e da mulher, sendo uma manifestação ligada tanto à posição dos intelectuais enquanto grupo social como sua produção intelectual, cujo caráter de saber sistematizado fornece certas especificidades, quanto a outras determinações, tal como influências ideológicas, classe social, sexo, raça, momento histórico, etc. O estudo sobre a imagem da mulher produzida por intelectuais através da análise de Simone de Beauvoir contribui não somente com a compreensão desse processo, como permite também compreender como uma mulher inserida na intelectualidade analisa a produção de outros intelectuais, sobre uma questão mais específica, mas que também remete a várias outras mais gerais (questão de concepção de mundo, método, etc.). O processo de elaboração do trabalho de pesquisa foi realizado a partir da utilização de diversos recursos teórico-metodológicos. O primeiro passo foi discutir teoricamente o conceito de intelectualidade e, a partir do método dialético, inserir o conceito de intelectualidade na totalidade das relações sociais (GOULDNER, 1985; MAKHAISKY, 1980; VIANA, 2006; MARX e ENGELS, 2002; MANNHEIM, 1982). A pesquisa permitiu conclusões acerca da obra de Beauvoir, *O Segundo Sexo:* ela produz uma forte crítica a outras tendências, especialmente a psicanálise e o materialismo histórico, sendo correta em alguns aspectos, apesar de suas críticas se aplicarem mais aos vulgarizadores do que aos pensadores que geraram estas concepções. A sua análise tem como base a influência do existencialismo, o que gera um princípio abstrato que permeia toda sua obra e explicação da opressão da mulher, o que remete a compreensão do contexto histórico de sua produção e vínculo com determinados círculos intelectuais e num determinado clima intelectual.

Palavras-chaves: Beauvoir, opressão feminina, mulher, intelectuais, subordinação.

INTRODUÇÃO

O objeto da pesquisa é a análise que Simone de Beauvoir faz da psicanálise, materialismo histórico e seu tratamento da mulher. Assim, abre espaço para pensar a imagem da mulher expressa na produção intelectual. Os intelectuais expressam uma concepção de mundo e da mulher, sendo uma manifestação ligada tanto à posição dos intelectuais enquanto grupo social como sua produção intelectual, cujo caráter de saber sistematizado fornece certas especificidades, quanto a outras determinações, tal como influências ideológicas, classe social, sexo, raça, momento histórico, etc. O estudo sobre a imagem da mulher produzida por intelectuais através da análise de Simone de Beauvoir contribui não somente com a compreensão desse processo, como permite também compreender como uma mulher inserida na intelectualidade analisa a produção de outros intelectuais, sobre uma questão mais específica, mas que também remete a várias outras mais gerais (questão de concepção de mundo, método, etc.). Nesse sentido, a discussão sobre a obra de Simone de Beauvoir é fundamental para se pensar a relação entre mulher e intelectualidade, cujo foco, no presente trabalho é a percepção apresentada por esta autora.

METODOLOGIA

O processo de elaboração do trabalho de pesquisa foi realizado a partir da utilização de diversos recursos teórico-metodológicos. O primeiro passo foi discutir teoricamente o conceito de intelectualidade e, a partir do método dialético, inserir o conceito de intelectualidade na totalidade das relações sociais (GOULDNER, 1985; MAKHAISKY, 1980; VIANA, 2006; MARX e ENGELS, 2002; MANNHEIM, 1982).

O objetivo proposto analisar a obra de Simone de Beauvoir, *O Segundo Sexo*, especialmente seu volume 01, e sua abordagem da produção intelectual dos intelectuais sobre a questão da mulher e outros temas correlatos. A análise da obra visa compreender seu conteúdo e explicá-lo a partir do processo analítico, relacionando-o como o processo social e histórico, bem como suas determinações, da produção da obra de Simone de Beauvoir. Nesse sentido, o método dialético é um instrumento valioso de análise, pois ao analisar as determinações da produção intelectual e buscar reconstituir no pensamento o conteúdo e processo de produção da mesma, permite uma análise mais rigorosa da mesma. Nesse sentido,

a compreensão do contexto social e histórico é importante, tal como o contexto intelectual em que ela produziu. Esse processo ajuda a compreender que sua produção não estava acima das determinações sociohistoricas e a percepção de que ela estava inserida na lógica da produção intelectual da época.

O uso do método dialético será fundamental nessa parte, pois o seu preceito básico de que "o concreto é o resultado de suas múltiplas determinações" (HEGEL, 1980; MARX, 1983), abre um campo analítico profundo que permite analisar as determinações do fenômeno analisado. O passo seguinte foi buscar uma reconstituição da análise de Beauvoir sobre a produção intelectual da imagem da mulher e outros aspectos relacionados. Nesse campo, o uso do método dialético é fundamental e fornece ferramentas preciosas para sua concretização, pois a análise rigorosa do texto e seus significados, com sua inserção no contexto sociohistórico e cultural é necessária para a reconstituição dessa influente obra de Simone de Beauvoir.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O objetivo central da pesquisa é analisar a obra de Simone de Beauvoir, *O Segundo Sexo*, especialmente seu volume 01, e sua abordagem da produção intelectual dos intelectuais sobre a questão da mulher e outros temas correlatos.

Antes de discutir a obra e seu significado, é importante apresentar o conceito de intelectualidade, mesmo que brevemente, pois é no campo da discussão sobre os intelectuais e a mulher que apresentamos a presente discussão. A intelectualidade é tida por alguns como "categoria social" (LECLERC, 2005; LOWY, 1979; HARNECKER, 1980; ERMAKOVA e RÁTNIKOV, 1986) e por outros como "classe social" (VIANA, 2012; LUKÁCS, 1978; GOULDNER, 1985; KRAUS, 1968), entre outras formas de conceber este grupo. Esta posição nos parece a mais adequada, pois coloca em evidência os aspectos semelhantes deste grupo, por ser uma "como uma classe social composta pelos indivíduos dedicados exclusivamente ao trabalho intelectual, com interesses próprios, particulares, ligados aos interesses da classe dominante" (VIANA, 2006a). Os intelectuais possuem diversos aspectos em comum, o que é coerente com a concepção marxista de classes sociais (VIANA, 2012), tal como o modo de vida, interesses e oposição a outras classes sociais, bem como uma atividade fixa na divisão social do trabalho, que é o trabalho intelectual. Trata-se da classe responsável pela produção cultural da sociedade, aquela que tem esta função exclusiva. No capitalismo,

tais intelectuais são cientistas, artistas, filósofos, teólogos, etc. Este é o caso de Simone de Beauvoir, uma filósofa, professora e escritora.

O nosso objeto de estudo e foco analítico é a obra *O Segundo Sexo*, publicada no final dos anos 1940. Neste volume, ela aborda a psicanálise, o materialismo histórico, alguns autores e obras literárias. Assim, a análise da obra *O Segundo Sexo*, de Simone de Beauvoir remete ao estudo do contexto histórico de sua constituição.

> *O Segundo Sexo*, de Simone de Beauvoir, é sem dúvida alguma uma das principais obras de referência nos estudos sobre mulher e relações de gênero. Publicado originalmente na França, em 1949, quando a Europa ainda se recuperava das feridas abertas pela Segunda Guerra Mundial, o livro é um amplo tratado sobre a "questão da mulher" na perspectiva existencialista. Apresentado em dois volumes, faz a crítica, no primeiro, ao determinismo biológico, às abordagens psicologizantes e ao materialismo histórico, argumentando que mulher é uma construção social, historicamente determinada, construída no pensamento ocidental como "o outro". Iniciado com a famosa frase, "não se nasce mulher, torna-se mulher", o segundo volume analisa como se dá esse "tornar-se" na França do pós-guerra, e como se manifesta a subordinação da mulher nesse contexto (MOTTA, SARDENBERG e GOMES, 2000, p. 15).

Nesse sentido, é uma das principais obras que representam o pensamento feminista e uma das mais importantes manifestações intelectuais não só sobre a questão da mulher mas sobre o feminismo e a produção intelectual dedicada à mulher, a qual ela analisa em sua obra principal, *O Segundo Sexo*. Ela, no entanto, não cai numa posição acrítica, o que enriquece ainda mais sua obra:

> Note-se, porém, que em *O Segundo Sexo* Simone de Beauvoir não poupa críticas sequer às feministas da época. Mas não hesitou em declarar-se "feminista" na década de 70, até "feminista radical", como referiu em entrevista ao Le Monde: "eu sempre disse que era feminista na medida em que feminismo, para mim, significa que eu reclamo uma identidade de situação entre o homem e a mulher, e de igualdade radical entre o homem e a mulher" (MOTTA, SARDENBERG e GOMES, 2000, p. 15).

As informações acima nos ajudam a pensar o processo de constituição do pensamento de Simone de Beauvoir. A sua criação se deu no contexto do pós-Segunda Guerra Mundial. A publicação de *O Segundo Sexo* é de 1949. A Segunda Guerra Mundial produziu um processo de ampla destruição do continente europeu, atingindo também a França, embora em menor grau que em outros países, como a Itália. Uma nova etapa do capitalismo emerge, pois nesse momento emerge o regime de acumulação conjugado, também chamado de "fordista" ou "intensivo-extensivo" (VIANA, 2009a; VIANA, 2003). Essa nova fase do capitalismo marca um processo no qual emerge o "Estado de bem estar social", o fordismo como forma

hegemônica de organização do trabalho e seus elementos derivados (produção em massa que gera consumo em massa, sistema de crédito, que, a partir dos anos 1950 fará emergir a discussão sobre a "sociedade de consumo"), expansão do capital transnacional. Nesse contexto, há um progressivo aumento da renda, da estabilidade política e social, do poder aquisitivo, e do que ficou conhecido como "bem estar social" nos países europeus, embora em alguns tenha sido mais rápido e veloz, devido suas especificidades.

É nesse contexto sociohistórico que vai emergir novas ideologias, representações, valores, etc. A preocupação fundamental na sociedade ultrapassa a questão dos meios de sobrevivência, emergindo um novo "modo de vida" (GRANOU, 1974), numa sociedade submetida a uma extensão da mercantilização das relações sociais, quando o automóvel, a televisão e os eletrodomésticos passam a compor a nova paisagem de bens de consumo produzidas e exigidas pela população. Nesse contexto, alguns mudam suas preocupações não para os dilemas cotidianos da sobrevivência e reprodução da força de trabalho, e outros se entregam às novas formas de consumo, tal como o cultural. A liberação parcial da "esfera das necessidades" para a "esfera do consumo e cultura", abre novas perspectivas e é nesse contexto que vai emergir mutações culturais, especialmente o aparecimento do existencialismo.

> Os inimigos de Sartre alimentavam os equívocos que se haviam criado em torno do existencialismo. Tinham-se alinhado sob esse rótulo todos os nossos livros – mesmo os de antes da guerra – e os de nossos amigos (...) e também uma certa pintura, uma certa música. Anne-Marie Cazalis teve a ideia de se aproveitar dessa voga. Ela pertencia, assim como [Boris] Vian e alguns outros, ao mesmo tempo ao Saint-Germain-des-Prés literário e ao mundo subterrâneo do jazz; falando com jornalistas, batizou de existencialistas a cambada que a rodeava e a juventude que flanava entre o Tabou e a Pergola. A imprensa, particularmente o Samedi-Soir, financeiramente interessado em seu sucesso, fez uma enorme publicidade do Tabou. Naquele outono de 1947, não se passava uma semana sem que se falasse de suas badernas, festividades, dos frequentadores, escritores, jornalistas e políticos. (...) [a atriz Toutoune] ostentava a nova aparência 'existencialista'. Os músicos das adegas e seus 'fãs' haviam descido no verão para a Côted'Azur; tinham trazido de volta a moda importada de Capri – ela mesma inspirada pela tradiço fascista – suéteres, camisas e calças negras (BEAUVOIR, 1995, p.132).

Nesse contexto, o existencialismo emerge sob forma "popular", mas suas origens retomam um tempo muito anterior. Esse processo é mais forte nos meios de comunicação, estudantil e intelectual, mas ganha popularidade graças principalmente aos primeiros. Esse tempo anterior é o da história da formação das filosofias da existência, que tem relação com a história da fenomenologia (). A fenomenologia de Husserl e Heidegger são importantes para compreender o existencialismo. Este assumiu várias formas e teve como precursor Soren Kiekergard e se dividiu, posteriormente, em diversas tendências e concepções, tais como o

existencialismo cristão de Karl Jaspers e o existencialismo ateu de Jean-Paul Sartre (SARTRE, 1987; PENHA, 1995). É necessário compreender que Simone de Beauvoir teve contato com o existencialismo quando aluna de filosofia, desde 1929, quando estudou na Universidade de Paris (Sorbonne) e conheceu dois grandes nomes do existencialismo, Maurice Merleau-Ponty e Jean-Paul Sartre, sendo que logo estabeleceu relações afetivas com o último.

Jean-Paul Sartre era um dos mais influentes filósofos existencialistas até a Segunda Guerra Mundial. Após esse período, ele se torna o mais influente dos existencialistas. Isso foi derivado, em parte, de sua ação de resistência em relação à ocupação nazista através do grupo "Socialismo e Liberdade" e sua aproximação com o marxismo posteriormente, além de se tornar um dos grandes opositores, nos anos 1960, do estruturalismo que era hegemônico nessa época. Antes da Segunda Guerra Mundial, sua grande obra foi *O Ser e o Nada*, publicado em 1943. Esta obra marca uma ideia de liberdade absoluta do ser humano, na qual se afirma que apelar para o determinismo é agir de má fé (SARTRE, 1998). Após a Segunda Guerra Mundial, Sartre produziria diversas obras, incluindo as mais famosas como *O Existencialismo é um Humanismo; Crítica da Razão Dialética* e *O Que é a Literatura?* Entre diversas outras. Nesse período, ele busca se aproximar do marxismo e passa a conceber a questão da liberdade de forma menos voluntarista e passa a trabalhar com a ideia de situação e grupos (família, classe social, etc.) como elementos importantes para produzir uma "antropologia concreta" (VIANA, 2009b).

Contudo, em 1949, quando Beauvoir lança seu livro, o existencialismo de Sartre ainda estava em processo de transição para sua nova síntese com o marxismo. Esses elementos, como serão colocados adiante, ajudam a entender a obra e análise de Beauvoir.

Torna-se interessante observar as análises de Beauvoir sobre as produções intelectuais sobre a mulher. Ela aborda um conjunto de ideias e autores, o que torna impossível, no espaço do presente trabalho, de realizar uma exposição mais densa e global. Tal como nos propomos, o que será destacado é sua abordagem a respeito de algumas concepções em torno da questão da mulher. O primeiro elemento que destacamos é sua análise da abordagem psicanalítica. O principal elemento que Beauvoir destaca na psicanálise é a sua concepção da mulher tomando como modelo o homem. Esta é também sua principal crítica. Ela afirma que Freud colocou o destino feminino como equivalente ao masculino, mudando apenas alguns traços. Para ele, "A

libido é de maneira constante e regular de essência masculina, surja ela no homem ou a mulher" (p. 66). Desta forma, "a mulher aparece como um homem mutilado" (p. 68).

O pansexualismo freudiano, criticado também pelo freudomarxismo, é outro elemento importante e criticado. Beauvoir reconhece que a sexualidade desempenha um papel considerável na vida humana; "se corpo e sexualidade são expressões concretas da existência, é também através desta que se pode descobrir-lhes as significações". No entanto, "não se deve encarar a sexualidade como um dado irredutível; há no existente, 'uma procura do ser' mais original; a sexualidade é apenas um de seus aspectos" (p.72). Ela acrescenta que: "assim como não basta dizer que a mulher é uma fêmea, não se pode defini-la pela consciência que tem de sua feminilidade; toma consciência desta no seio da sociedade de que é membro" (p.75). E, por fim, ela conclui que "é particularmente entre os psicanalistas que o homem é definido como ser humano e a mulher como fêmea: todas as vezes que ela se conduz como ser humano, afirma-se que ela imita o macho" (p.78).

Da mesma forma, ela realiza uma forte crítica ao materialismo histórico. Ela reconhece que "a teoria do materialismo histórico pôs em evidência muitas verdades importantes" (p. 79), tal como o caráter histórico da humanidade. Essa abordagem, portanto, não reduz a mulher à sua sexualidade, "ela reflete uma situação que depende da estrutura econômica da sociedade", sendo que essa estrutura "traduz o grau de evolução técnica a que chegou a sociedade" (p. 79). No caso da abordagem marxista, o trabalho ganha uma primazia analítica e a biologia da mulher, tendo em vista que não é o "corpo nu" que se defronta com o processo de produção, está bem menos presa ao mundo biológico, mesmo quando se trata da questão da maternidade, cuja importância e grau de gerador de diferença são variáveis na história.

Beauvoir cita Engels e sua obra *A Origem da Família, do Estado e da Propriedade Privada* e descreve sua tese da origem da opressão da mulher. A relação com o trabalho e sua emancipação com a redução ao mínimo do trabalho doméstico e inserção no trabalho produtivo, o que ocorre com a emergência da grande indústria, bem como sua concretização total ocorre no socialismo, tal como apresenta Engels e August Bebel. O destino da mulher e do socialismo está intimamente ligado. A questão da mulher é reduzida ao problema de sua capacidade de trabalho. "Forte na época em que as técnicas se adaptavam às suas possibilidades, destronada quando se tornou incapaz de explorá-las, ela volta a encontrar no mundo moderno sua igualdade com o homem" (p. 81). O que impede isso "são as resistências

do velho paternalismo capitalista" e isso será abolido "no dia em que tais resistências se quebrarem" (p. 81).

> Embora a síntese esboçada por Engels assinale um progresso sobre as que examinamos anteriormente [biologia e psicanálise], ela nos decepciona: os problemas mais importantes são escamoteados. O pivô de toda a história está na passagem do regime comunitário ao da propriedade privada: não se indica absolutamente de que maneira pôde efetuar-se; Engels, em A Origem da Família, confessa mesmo que, 'não o sabemos até o presente'; e não somente ele ignora o pormenor histórico como ainda não sugere nenhuma interpretação (BEAUVOIR, 1978, p. 82).

Beauvoir avança uma explicação alternativa ao que foi proposto por Engels:

> De igual modo é impossível deduzir a opressão da mulher da propriedade privada. Ainda aqui a insuficiência do ponto de vista de Engels é manifesta. Ele compreendeu muito bem que a fraqueza muscular da mulher só se tornou uma inferioridade concreta na sua relação com a ferramenta de bronze e de ferro, mas não viu que os limites de sua capacidade de trabalho não constituíam em si mesmos uma desvantagem concreta senão dentro de dada perspectiva. É porque o homem é transcendência e ambição que projeta novas exigências através de toda nova ferramenta. Quando inventou os instrumentos de bronze não se contentou mais com explorar as hortas; quis arrotear e cultivar vastos campos; não foi do bronze em si que jorrou essa vontade. A incapacidade da mulher acarretou-lhe a ruína porque o homem apreendeu-a através de um projeto de enriquecimento e expansão. E esse projeto não basta ainda para explicar por que ela foi oprimida: a divisão do trabalho por sexo poderia ter sido uma associação amigável. Se a relação original do homem com seus semelhantes fosse exclusivamente uma relação de amizade, não se explicaria nenhum tipo de escravização: esse fenômeno é consequência do imperialismo da consciência humana que procura realizar objetivamente sua soberania. Se não houvesse nela a categoria original do Outro, e uma pretensão original ao domínio sobre o Outro, a descoberta da ferramenta de bronze não poderia ter acarretado a opressão da mulher (BEAUVOIR, 1978, p. 84).

Em síntese, Beauvoir contesta o materialismo histórico, assim como a psicanálise e diversas outras concepções. Ela destaca os limites da biologia, da psicanálise e do materialismo histórico e afirma que "para descobrir a mulher não recusaremos certas contribuições da biologia, da psicanálise, do materialismo histórico, mas consideraremos que o corpo, a vida sexual, as técnicas, só existem concretamente para o homem na medida em que ele os apreende dentro da perspectiva global de sua existência" (BEAUVOIR, 1978, p. 86).

Após essa breve exposição da concepção de Beauvoir a respeito da psicanálise e do materialismo histórico, é perceptível uma discussão que tem dois aspectos básicos em sua posição: um deles é a temática da mulher e, por conseguinte, da relação entre homens e mulheres; o outro é a sua abordagem existencialista. Esses dois elementos se entrelaçam na sua análise e aponta para questões importantes em sua percepção da produção psicanalítica e marxista, além de outras.

A crítica da psicanálise e do materialismo histórico de Beauvoir é interessante, mas possui alguns problemas. Em primeiro lugar, é preciso destacar que Beauvoir é uma integrante da intelectualidade e está, por conseguinte, envolvida em sua dinâmica. Teve uma formação escolar e universitária, um círculo de amizades e interesses derivados, além da prática do trabalho intelectual, como escritora, conferencista, professora. Nesse sentido, ela está envolvida também pelo clima intelectual reinante e pelas influências mais próximas, no caso, o existencialismo. É possível pensar a história da humanidade, as diversas questões sociais e políticas, bem como questões mais específicas a partir de diversas concepções e oferecer uma visão distinta em cada uma delas. O que Beauvoir faz é justamente isso: trabalhar temas (no caso a questão da mulher) já abordados por uma nova concepção, a existencialista.

Se a utilização de uma abordagem permite abrir novas possibilidades analíticas, ela pode também criar novos obstáculos e se for vista como algo fechado e que é superior e todas as demais inferiores, então acaba sendo limitada. A análise existencialista de Beauvoir se fundamenta no existencialismo sartreano de *O Ser e o Nada*. Tal obra aponta para uma concepção liberal e racional de liberdade. Sartre define esta como "liberdade de escolha" e o homem, sendo condenado a ser livre e escolher, escolhe e decide, por isso justificar atos e escolhas com apelo ao determinismo é má fé. Ora, isso entra em contradição com os determinismos e com as abordagens que pensam em termos de causalidade, determinação, relação de formação dos fenômenos, etc. Por conseguinte, é natural a oposição de Beauvoir à psicanálise e materialismo histórico.

No entanto, ela faz isso apenas no ponto das relações entre mulheres e homens. Nesse contexto, ela apresenta críticas existencialistas e recusa essas concepções, mesmo que reconhecendo algum mérito, e em alguns casos mais méritos e em outros menos (em uma escala de mérito crescente vem a biologia, a psicanálise e o materialismo histórico). O clima intelectual, sua vinculação com a intelectualidade, as questões da época, o mundo após a Segunda Guerra Mundial, entre outros fenômenos, explicam a adesão. Além de explicar a adesão, é necessário analisar criticamente a posição de Beauvoir, no caso, as concepções que foram nosso foco, a psicanálise e o materialismo histórico.

A abordagem de Beauvoir sobre a psicanálise contém alguns aspectos que dificilmente se poderia recusar, tal como a crítica ao pansexualismo de Freud. A análise crítica tem seus méritos, mas colocações com a de que Freud teria usado um "modelo masculino" é um tanto

quanto problemático, por ser uma problemática do pensamento de Beauvoir e não de Freud e nesse sentido, apesar do problema existir, a percepção dele é algo presente na analista e não no analisado, da mesma forma que a razão para a construção psicanalítica de Freud não foi um "modelo masculino" e sim suas concepções, entrelaçamento de metodologia e teoria, e isso realizado por um indivíduo do sexo masculino, com determinados valores, representações, que provocava uma dificuldade de perceber o que outros e outras perceberam posteriormente. O mesmo ocorre no caso da análise de Alfred Adler. Ou seja, a abordagem de Beauvoir acaba simplificando excessivamente as teses dos autores e assim a complexidade é substituída pela simplicidade e junto com isso o empobrecimento. Se a psicanálise tem limites no processo de análise da questão da mulher, a versão simplificada amplia esses limites.

No caso do materialismo histórico, o mesmo problema ocorre. O título do capítulo em que focaliza o materialismo histórico é "O ponto de vista do materialismo histórico". Sem dúvida, o foco é a questão da mulher. Isso, no entanto, não justifica o uso de apenas duas obras, a de Engels e Bebel. O materialismo histórico não parece ter sido compreendido em sua complexidade e uma discussão sobre ele e mesmo sobre como a partir dele se analisou a questão da mulher, sem referência à Marx, que todos sabem ser muito mais complexo e profundo que Engels, é um procedimento problemático. Na época em que Beauvoir escreveu, textos inéditos de Marx já haviam sido publicados e que remetiam à questão da mulher, tal como *A Ideologia Alemã* e *os Manuscritos de Paris*.

Em síntese, a abordagem de Beauvoir da psicanálise e materialismo histórico é excessivamente simplificadora. A sua afirmação acaba reduzindo as concepções diferentes a um elemento apenas. Quando ela diz que biologia considera o corpo, a psicanálise a vida sexual e o materialismo histórico as técnicas, produz um forte reducionismo. E no caso da psicanálise, ela mesma analisou a obra de Adler afirmando que ele reduzia a importância da sexualidade a quase nada e as diversas outras correntes psicanalíticas apontariam para tantas outras possibilidades. Como não se limitou a Freud, então parte de sua crítica fica deslocada e mesmo limitando a este pensador, há outros elementos em sua concepção que mereceriam atenção e que são recusados pelo existencialismo, tal como a teoria do inconsciente (SARTRE, 1998).

No caso do materialismo histórico, a redução da concepção marxista à "estrutura econômica da sociedade" e a situação da mulher seria mero "reflexo" de tal estrutura. Assim, a riqueza do materialismo histórico é substituída por uma suposta estrutura econômica da

sociedade que, no fundo, é determinada pelo grau de evolução técnica, afirmação nunca dita por Marx (e nem mesmo por Engels) e que é a intepretação dos manuais e detratores do marxismo. A ideia de "estrutura econômica da sociedade", comandada pelo "grau de evolução da técnica" substitui o conceito de modo de produção, que inclui as relações de produção e forças produtivas, suas contradições, correspondências, e recordando que as relações de produção são relações sociais estabelecidas pelos seres humanos no processo de produção das riquezas e que não constitui a realidade como um todo, mas parte dela, pois também existem as formas jurídicas, políticas e ideológicas, que também entram em contradição, correspondência, etc., com o modo de produção.

No fundo, a análise de Beauvoir realiza uma produção de modelo sintético que reduz a psicanálise ao pansexualismo (com exceção de Adler, mas que desaparece em afirmações posteriores) e o marxismo a um tecnicismo ou determinismo tecnológico. A sua alternativa é outro modelo sintético, a concepção existencialista, na qual tudo se reduz à questão das escolhas e da transcendência, fazendo a mulher ser o "outro do outro". Beauvoir realiza uma espécie de naturalização da opressão feminina:

> Nenhum sujeito se coloca imediata e espontaneamente como inessencial; não é o outro que definindo-se como Outro define o Um; ele é posto como Outro pelo Um definindo-se como Um. Mas para que o Outro não se transforme no Um é preciso que se sujeite a esse ponto de vista alheio (BEAUVOIR, 1978, p. 16).

Beauvoir pergunta de onde vem essa submissão da mulher? A sua resposta aponta para a percepção de que a humanidade não é uma espécie natural, busca se superar.

> Já verificamos que, quando duas categorias humanas se enfrentam, cada uma delas quer impor à outra sua soberania; quando ambas estão em estado de sustentar a reivindicação, cria-se entre elas, seja na hostilidade, seja na amizade, sempre na tensão, uma relação de reciprocidade. Se uma das duas é privilegiada, ela domina a outra e tudo faz para mantê-la na opressão. Compreende-se, pois, que o homem tenha tido vontade de dominar a mulher. Mas que privilégio permitiu satisfazer essa vontade? (BEAUVOIR, 1978, p. 89).

Não há nenhuma fundamentação para tal afirmação, a não serem os pressupostos do existencialismo. A partir do princípio abstrato de que se os seres humanos se defrontam, um quer impor sua soberania ao outro, se chega à conclusão de que o homem quis fazer isso com a mulher. Esse primeiro princípio não foi fundamentado e, portanto não tem bases reais para sua comprovação. De qualquer forma, Beauvoir aponta para a explicação dessa origem: a mulher, por causa da biologia (a maternidade, fundamentalmente) não pôde ser a guerreira e o homem assumiu esse papel, e ao arriscar a vida ao invés de reproduzi-la (como a mulher

enquanto mãe) pode realizar a transcendência e ao fazê-lo, produziu a imanência feminina. Beauvoir apresenta sua descrição desse processo com linguagem existencialista:

> No nível da biologia é somente criando-se inteiramente de novo que uma espécie se mantém; mas essa criação não passa de uma repetição da mesma Vida, sob formas diferentes. É transcendendo a Vida pela Existência que o homem assegura a repetição da Vida: com essa superação, ele cria valores que denegam qualquer valor à repetição simples. No animal, a gratuidade, a variedade das atividades do macho permanecem vãs porque nenhum projeto o habita; quando não serve a espécie, o que faz não é nada; ao passo que, servindo a espécie, o macho humano molda a face do mundo, cria instrumentos novos, inventa, forja um futuro. Pondo-se como soberano, ele encontra a cumplicidade da própria mulher, porque ela é também um existente, ela é habitada pela transcendência, e seu projeto não está na repetição e sim na sua superação em vista de um futuro diferente; ela acha no fundo de seu ser a confirmação das pretensões masculinas. Associa-se aos homens nas festas que celebram os êxitos e as vitórias dos machos. Sua desgraça consiste em ter sido biologicamente voltada a repetir a Vida, quando a seus próprios olhos a Vida não apresenta em si suas razões de ser e essas razões são mais importantes do que a própria vida (BEAUVOIR, 1978, p. 93).

Assim, de um princípio abstrato a respeito da existência e transcendência via projeto, concepção existencialista, se passa para a explicação da subordinação da mulher, que seria por fatores biológicos os elementos para explicar que entres os seres humanos, no caso os indivíduos do sexo masculino e do sexo feminino, foram os primeiros que assumiram a posição do um, a soberania, sobre os demais, que ficaram subordinados, como o Outro. Essa análise acaba tendo um elemento concreto e real, as bases biológicas diferenciadas entre homens e mulheres. Esse é complementado por outro elemento real e histórico que é a formação dos guerreiros como grupo social a partir das sociedades simples.

Esses aspectos concretos, no entanto, são interpretados a partir do princípio abstrato. Sem dúvida, os homens, devido sua organização biológica e a das mulheres, tenderiam, obviamente, a serem os guerreiros. Eles correriam riscos, desafiaram a vida, enquanto que as mulheres, por sua constituição biológica, devido à maternidade, não seriam guerreiras. Contudo, a interpretação segundo a qual isso geraria a supremacia masculina devido a uma suposta e nunca fundamentada ideia de que entre os seres humanos um busca impor sua soberania ao outro é que se torna o ponto problemático.

Nesse sentido, ao pensar em termos concretos, embasados no materialismo histórico, é possível ir além e superar o princípio abstrato inspirado no existencialismo. Simone de Beauvoir acaba ficando no que Kosik (1986) denominou “mundo da pseudoconcreticidade”. O concreto é apresentado de forma que deixa de lado a totalidade e, por conseguinte, é um pseudoconcreto. Para explicar a origem da subordinação da mulher graças à guerra, algo que é do mundo masculino, seria necessário explicitar outros aspectos da realidade, tais como:

quem são os guerreiros? Como são constituídos? As crianças, os idosos também não são excluídos? Eles também são subordinados? A resposta a essas questões são complexas. Os idosos, em muitas dessas sociedades, são admirados e respeitados. O processo de ampliação da divisão social do trabalho, por sua vez, vai fazer com que nem todos os homens adultos sejam guerreiros, mas apenas alguns. Esse processo complexifica a questão, mas ainda não refuta totalmente a abordagem de Beauvoir.

Contudo, a categoria dialética da totalidade vai solicitar mais aspectos da realidade e, além desses já citados dentro de uma determinada sociedade, é preciso acrescentar a outra sociedade com a qual se entra em guerra, que também possui guerreiros e tudo o mais. É preciso explicar por qual motivo existe a guerra e a "imposição de soberania" não se inicia após a vitória de alguns homens sobre outros homens, mas nessa mesma vitória. A primeira soberania imposta é a de indivíduos do sexo masculino sobre indivíduos do sexo masculino e da forma mais cruel que é a morte ou a escravidão. E isso olhando do lado dos vencedores, pois do lado dos perdedores temos indivíduos do sexo masculino sendo mortos ou domesticados por outros.

Nesse sentido, num plano histórico-concreto, o que ocorre é uma relação mais ampla e que há relações de dominação que transpassam umas as outras. A questão da opressão da mulher remete ao caso da condição biológica da mulher num contexto histórico determinado e cujo saber é ainda bastante restrito e que remeteria a estudos sobre o desenvolvimento histórico das sociedades pré-históricas e formação da propriedade privada, das guerras, da escravidão, etc.

Em síntese, Beauvoir apresenta uma tese da origem da subordinação da mulher que manifesta duas condições de possibilidade: a condição biológica feminina e a vontade do homem de impor sua soberania. Essa última é sua tese fundamental, sendo que ela é complementada num plano histórico concreto pela primeira. Porém, o complemento é válido, mas a tese fundamental não. A tese fundamental é apenas uma aplicação não fundamentada de um princípio abstrato do existencialismo e o complemento é uma condição real existente que em determinadas relações sociais concretas acaba sendo uma das determinações da subordinação da mulher.

Curiosamente, essa construção de Beauvoir entra em conflito com a concepção existencialista posterior de Sartre, ao se aproximar do marxismo (SARTRE, 1987; SARTRE, 2002; SCHAFF, 1978; VIANA, 2009). Sartre busca dotar o existencialismo de um caráter

mais concreto e o uso do termo "situação" vai ser fundamental nessa reformulação do existencialismo, bem como a aceitação da família e classe social como elementos importantes para explicação dos indivíduos e processos sociais. A própria Simone de Beauvoir fará afirmações de crítica ao "pensamento de direita" que encontram ecos em sua obra *O Segundo Sexo*. Além de afirmar que "todo o burguês está interessado em dissimular a luta de classes" e esta não é recusada em sua obra, mas a sua opção por Engels ao invés de Marx acaba ofuscando as classes em favor da técnica e da "estrutura econômica da sociedade", ela diz que o pensamento burguês:

> Recusa, pois, atribuir qualquer importância às singularidades empíricas da sua situação, e, correlatamente, ao conjunto das singularidades empíricas que definem as situações concretas. Assim, os fatores materiais só têm um papel secundário nas sociedades. O pensamento transcende essas contingencias. É o homem, tal como paira no céu inteligível, o homem único, indivisível, unanime, acabado, que se expressa pela boca do pensador (BEAUVOIR, 1967, p. 14).

Aqui podemos ver que a transcendência que caracteriza os homens (e as mulheres, logo, o homem em geral), segundo *O Segundo Sexo*, tem uma enorme semelhança com o procedimento do pensamento burguês. Da mesma forma, ao abordar nessa obra a opressão da mulher e não apresenta suas raízes sociais mais profundas, acaba caindo no equívoco do pensamento burguês que é o atomismo, pois este permite ocultar as responsabilidades do capitalismo "no que concerne à condição daqueles que são desfavorecidos por ele; estes não aparecem como as vítimas do regime, mas como joguetes do azar, e talvez até os próprios autores dos seus males" (BEAUVOIR, 1967, p. 112).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho efetivado permite chegarmos a algumas conclusões acerca da obra de Beauvoir, *O Segundo Sexo*, e a percepção que ela apresenta da questão da mulher e da produção intelectual ao seu respeito. O primeiro ponto é que Beauvoir acaba produzindo uma concepção que busca explicar a subordinação da mulher e o faz a partir da crítica de outras explicações. Ela tem o mérito de criticar o biologismo, o pansexualismo freudiano e o determinismo econômico e tecnológico como elementos explicativos da opressão feminina.

Contudo, principalmente no caso da psicanalise e do materialismo histórico, ela mostra uma incompreensão que leva a uma simplificação dessas duas concepções. Caso tivesse ido além e realizado uma leitura e compreendido a complexidade dessas duas abordagens, poderia ter extraído mais elementos delas e assim ampliado sua própria percepção, não apenas destas tendências, mas da questão feminina. Principalmente se tivesse

se detido mais tempo na questão do método dialético e materialismo histórico, ou seja, nas bases teórico-metodológicas do marxismo, poderia ter dado outra solução do que a que apresentou em sua obra, caminho percorrido posteriormente por ela mesma e também por Sartre, embora sem tratar dessa questão específica.

Nesse contexto, a sua parte crítica peca por simplificação e alguns exageros. A sua parte explicativa também acaba encontrando problemas, e isso remete ao clima intelectual de sua época, ao processo no qual algumas correntes do pensamento eram dominantes e populares, como o existencialismo. É desta tendência que ela retira o elemento fundamental de sua tese e que consiste, no fundo, num princípio abstrato que deixa a desejar e não responde de forma concreta ao caso da subordinação da mulher.

Nesse sentido, a análise que Beauvoir realiza das obras de determinados intelectuais aponta para algo que é a tomada de partido de um setor da intelectualidade, a partir de uma questão e posição especifica, a questão feminina, que recusa outros setores e suas ideias. Ela acerta ao criticar certos aspectos que, no entanto, não são as características destes setores, pelo menos não em sua expressa original (obviamente que as teses de Freud, Adler, Marx e outros foram simplificadas e vulgarizadas, mas isso seria necessário explicitar e ela não faz isso, e, no caso de Freud e Adler, ainda cita ambos, sendo que no caso de Marx não o cita e sim a concepção que ele é o fundador e principal representante, o materialismo histórico).

Assim, com seus méritos e deméritos, Beauvoir contribui com alguns aspectos e abre espaço para se pensar em outros, inclusive no próprio processo de como as ideias são produzidas e reproduzidas no interior de determinados círculos intelectuais e num determinado clima intelectual. O que é parâmetro para medir os outros, concorrentes ou não, para recordar as teses de Bourdieu (1984) sobre o campo científico.

Referências

BEAUVOIR, Simone de. *O Pensamento de direita hoje*. Rio de Janeiro: Paz e Terra, 1967.

BEAUVOIR, Simone de. *O Segundo Sexo*. São Paulo: Nova Fronteira, 1980.

BEAUVOIR. Simone de. *A Força das Coisas*. São Paulo: 1986.

BOURDIEU, Pierre. *O Campo científico*. In: ORTIZ, Renato (org.). *Bourdieu*. São Paulo: Ática, 1984.

ERMAKOVA, A. e RÁTNIKOV, V. *Que são as classes e a luta de classes?* Moscou, Edições Progresso, 1986.

GOULDNER, Alvin. *El Futuro de lós intelectuales y el ascenso de la nueva clase*. 2ª edição, Madrid: Alianza, 1985.

GRANOU, André. *Capitalismo e modo de vida*. Porto: Afrontamento, 1974.

HARNECKER, Marta e URIBE, Gabriela. *Luta de classes*. São Paulo, Global, 1980.

HEGEL, G. W. F. *Introdução à história da filosofia*. 4ª edição, Coimbra: Armênio Amado, 1980.

KOSIK, K. *Dialética do concreto*. 4ª Edição, Rio de Janeiro: Paz e Terra, 1986.

KRAUS, Wolfgang. *La Quinta clase*: Irrupción de los intelectuales en Occidente y en el Este. Madrid: Ediciones Iberoamericanas, 1968.

LECLERC, Gérard. *Sociologia dos intelectuais*. São Leopoldo: Usinos, 2004.

LUKÁCS, Georg. *História e consciência de classe*. 2ª edição, Rio de Janeiro, Elfos, 1979.

MAKHAÏSKY, J. W. O Socialismo de Estado. In: TRAGTENBERG, M. (org.). *Marxismo heterodoxo*. São Paulo: Brasiliense, 1981.

MANNHEIM, Karl. *Sociologia da cultura*. São Paulo: Perspectiva, 1974.

MARX, Karl. *Contribuição à crítica da economia política*. 2ª Edição, São Paulo, Martins Fontes, 1983

MARX, Karl. *O Capital*. Vol. 1. 3ª Edição, São Paulo, Nova Cultural, 1988.

MARX, Karl; ENGELS, Friedrich. *A Ideologia alemã*. 1ª edição, São Paulo: Boitempo, 2007.

PENHA, João da. *O que é existencialismo*. 12ª edição, São Paulo, Brasiliense, 1995.

SARTRE, Jean-Paul. *O Existencialismo é um humanismo*. 3ª edição, São Paulo, Nova Cultural, 1987, Col. Os Pensadores.

SARTRE, Jean-Paul. *O Ser e o nada. Ensaio de ontologia fenomenológica*. 6ª edição, Petrópolis, Vozes, 1998.

SARTRE, J-P. *Crítica da razão dialética*. Tomo 1. Rio de Janeiro, DP&A, 2002.

SCHAFF, Adam. *Marxismo e existencialismo*. Rio de Janeiro, Zahar, 1965.

VIANA, Nildo. “A Intelectualidade como classe social”. *Revista Espaço Acadêmico*. Maringá/PR, Vol. 06, nº 63, 2006a.

VIANA, Nildo. “Emancipação feminina e emancipação humana”. *Revista Espaço Acadêmico* (UEM), Maringá/PR, Vol. 09, num. 135, 2010B.

VIANA, Nildo. *Estado, democracia e cidadania. A dinâmica da política institucional no capitalismo*. Rio de Janeiro, Achiamé, 2003.

VIANA, Nildo. Método dialético e questão da Mulher. In: VIANA, Nildo (org.). *A Questão da Mulher*. Rio de Janeiro: Ciência Moderna, 2006b.

VIANA, Nildo. *O Capitalismo na era da acumulação integral*. São Paulo: Ideias e Letras, 2009.

VIANA, Nildo. *Rosa Luxemburgo e a autogestão social*. Florianópolis: Bookess, 2012b.

VIANA, Nildo. Sartre e o marxismo. Revista Filosofia (Unisinos), vol. 9, num. 3, 2009.

Doenças neurológicas de ruminantes das Mesorregiões Norte e Noroeste de Goiás

Jair A. Ferreira Junior[1], Caio G. N. Rocha[2], Imara N. Chagas[2], Rogério Elias Rabelo[3] e Fabiano J.F. de Sant'Ana[4]

1. Bolsista de Iniciação Científica, UFG, Campus Jataí, Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), jairvetjunior@yahoo.com.br

2. Médicos veterinários, LABVET, AGRODEFESA, Goiânia/GO

3. Orientador, UFG, Campus Jataí, Setor de Cirurgia de Grandes Animais (SCGA), rabelovet@yahoo.com.br

4. Orientador, Universidade de Brasília (UnB), LPV, santanafjf@yahoo.com

RESUMO

As afecções que acometem o sistema nervoso central (SNC) de ruminantes no Brasil destacam-se por seus altos índices de mortalidade e de frequência. O Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí (LPV/UFG/CAJ), recebe amostras de herbívoros para diagnóstico anatomopatológico de todo o Estado de Goiás. No entanto, há poucos estudos sobre os aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos dessas doenças nas diversas regiões de Goiás. Separando apenas os casos provenientes das mesorregiões Norte e Noroeste no LPV, 58 amostras foram selecionadas e 25 tiveram diagnóstico conclusivo de distúrbio no SNC. As principais doenças neurológicas diagnosticadas na região foram raiva, polioencefalomalacia, meningoencefalite por herpesvírus bovino e meningite bacteriana.

Palavras-chave: neuropatologia, doenças de ruminantes, epidemiologia, raiva, PEM, BoHV.

1. INTRODUÇÃO

Dentre as várias afecções que acometem os bovinos no Brasil e que levam a grandes perdas econômicas aos criadores, os distúrbios do sistema nervoso central (SNC) destacam-se por seus altos índices de mortalidade e de frequência. As desordens do SNC em ruminantes abrangem um grupo de doenças importantes do ponto de vista econômico, que possuem causas bastante diversificadas. Como exemplos, destacam-se as doenças de etiologia viral (raiva, infecção por herpesvírus bovino, febre catarral maligna), bacteriana (listeriose, tuberculose, infecção por *Histophilus somni*), parasitária (cenurose), tóxica

Revisado pelo orientador

(organofosforados, organoclorados, chumbo, arsênico, mercúrio, plantas tóxicas), circulatória (babesiose cerebral, traumatismos), metabólica (polioencefalomalacia, toxemia da prenhez), congênita, neoplásica, e ainda as causadas por príon (encefalopatia espongiforme bovina – BSE e scrapie). Somente a raiva bovina é responsabilizada, em todo o mundo, por uma perda anual de aproximadamente 50 milhões de dólares (KING & TURNER, 1993). Na Europa, a importância do diagnóstico desses distúrbios neurológicos cresceu vertiginosamente desde a década de 80, especialmente em função do surgimento da BSE (WELLS et al., 1987). A associação da BSE com a doença humana de Creutzfeldt-Jakob, inicialmente no Reino Unido, aumentou ainda mais a importância política, social e de saúde pública desta enfermidade (WELLS et al., 1987; ALMOND E PATTISON, 1997). Adicionalmente, em 2012, foi diagnosticado um caso brasileiro da forma atípica da BSE, onde uma vaca afetada por uma variante do príon infeccioso não manifestou sinais clínicos da doença (ALESSI, 2013). Por causa disso, autoridades sanitárias internacionais estão solicitando dos países exportadores de carne, como é o caso do Brasil, que comprovem a inexistência da doença nos seus plantéis bovinos. Isso indica que os países devem estar capacitados a identificar as outras doenças que afetam o SNC de bovinos, mesmo na ausência de casos típicos de BSE. As principais enfermidades inflamatórias que afetam o SNC de bovinos no Brasil são a raiva, a meningoencefalite por herpesvírus bovino (BoHV) e a febre catarral maligna (FCM) (BARROS et al., 2006).

Duas das principais atividades agropecuárias desenvolvidas no Estado do Goiás são a criação de bovinos de corte e de leite. O rebanho estadual efetivo de bovinos atinge 21,7 milhões de cabeças (IBGE, 2011), que corresponde a cerca de 10,1% do efetivo nacional, enquanto na pecuária leiteira, Goiás assume a terceira colocação na produção de leite do país (IBGE, 2008). Para que esse crescimento econômico regional vertiginoso permaneça nesses patamares, é necessária a investigação constante e atuante em vigilância epidemiológica e sanitária dos rebanhos do Estado. Assim, o conhecimento das características das enfermidades que afetam os plantéis locais assume importância crucial.

As neuropatias centrais de bovinos são relativamente frequentes e conhecidas em algumas regiões do Brasil (SANCHES et al., 2000; GALIZA et al., 2010; LUCENA et al., 2010). Entretanto, a literatura especializada carece de estudos clínico-patológicos e epidemiológicos relacionados às principais desordens do SNC em ruminantes no estado de Goiás. Uma vez conhecidas as principais doenças neurológicas do rebanho regional, medidas de cunho profilático e preventivo poderiam ser adotadas pelas autoridades sanitárias. Sendo

assim, o objetivo deste trabalho é determinar as enfermidades do sistema nervoso de ruminantes das Mesorregiões Norte e Noroeste do Estado de Goiás, determinando a frequência e as características epidemiológicas, clínicas e patológicas dessas desordens.

2. METODOLOGIA

Foi feito um estudo retrospectivo de todos os registros histopatológicos (RH) e de necropsia (RN) de casos neurológicos de ruminantes recebidos no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Goiás (UFG), Campus Jataí (CAJ), no período de março de 2010 a junho de 2013. Posteriormente, os casos neurológicos apenas das mesorregiões Norte e Noroeste de Goiás foram anotados. Foram incluídos todos os casos que continham amostras de encéfalo para diagnóstico confirmativo ou diferencial de raiva. As amostras foram obtidas de necropsias realizadas por médicos veterinários das regiões. Cerca de 90% das amostras foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Análise e Diagnóstico Veterinário (LABVET) da AGRODEFESA, em Goiânia/GO. Esse último laboratório recebe encéfalos de herbívoros para diagnóstico virológico de raiva (imunofluorescência direta [IFD] e prova biológica) de todo Estado de Goiás. O LABVET é o único laboratório credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para esse diagnóstico em Goiás. As informações epidemiológicas e clínicas de cada caso descritas pelos proprietários ou veterinários foram anotadas individualmente.

Os encéfalos foram fixados em solução de formol neutro e tamponado a 10% por 7-10 dias. Após a fixação, foram realizados cortes com intervalos de 1-2 cm para exames macro e microscópico nas seguintes regiões: córtex frontal e parietal, núcleos basais, tálamo, hipocampo, mesencéfalo na altura dos colículos rostrais, bulbo na altura do óbex, ponte com pedúnculos cerebelares e cerebelo. Em algumas necropsias realizadas por veterinários de campo, foi coletado adicionalmente o monobloco contendo a *rete mirabile* carotídea, o gânglio de Gasser e a hipófise (GRH). Posteriormente, as amostras foram processadas rotineiramente para histopatologia e corados pela hematoxilina e eosina (HE).

3. RESULTADOS

Durante o período de avaliação, foram recebidos e avaliados no LPV 207 casos neurológicos de ruminantes do Estado de Goiás, das quais 203 eram de bovinos, três de ovinos e uma de caprino. Desses, 79 (38,16%) casos tiveram diagnóstico conclusivo de doença neurológica. Considerando apenas as Mesorregiões Norte e Noroeste, foram observados 58 casos neurológicos, dos quais 25 (43,1%) tiveram diagnóstico definitivo ou

muito sugestivo (Tab. 1). Nos 33 casos remanescentes, não foi possível estabelecer o diagnóstico etiológico preciso.

Tabela 1. Doenças neurológicas de ruminantes das Mesorregiões Norte e Noroeste de Goiás diagnosticadas no LPV/UFG/CAJ no período de março de 2010 a junho de 2013.

Diagnóstico	Nº de casos	machos	Fêmeas	NI*	Faixa etária (meses)	%
Raiva	10	6	4	-	3-36	40
Polioencefalomalacia	6	4	2	-	1-24	24
Infecção por herpesvírus bovino (BoHV)	3	1	1	1	22-24	12
Meningite bacterina	2	1	1	-	0-4	8
Listeriose	1	-	1	-	48	4
Meningoencefalite não supurativa (MENS)	1	-	1	-	48	4
Intoxicação por sal (NaCl)	1	1	-	-	24	4
Hemorragia multifocal moderada a acentuada	1	-	1	-	18	4
Total	25	13	11	1	-	100

*NI = sexo não informado

A doença mais frequente foi raiva totalizando 10 casos (17,2 %). Os animais tinham idade entre 3-36 meses e 50% eram da raça Nelore. Ocorreram casos ao longo de todo o ano e afetaram igualmente machos e fêmeas. A enfermidade não apresentou sazonalidade, nem predisposição por raça, idade ou sexo. O município de Aragarças, na mesorregião Noroeste do estado, teve o maior número de casos (3/10). Este município possui nas suas imediações presença de morros, paredões rochosos, grutas e matas ciliares de cerrado presentes na bacia do Rio Araguaia, na divisa com o Estado de Mato Grosso. Os municípios de Niquelândia e Uruaçu também se destacaram com dois surtos em cada município. Os outros municípios com casos confirmados foram Bom Jardim de Goiás, Piranhas e Colinas do Sul (um caso em cada). Com os históricos recebidos não foi possível calcular o índice de mortalidade em cada caso, pois as informações restringiram-se aos sinais clínicos apresentados. Contudo, acredita-se que houve alta letalidade.

Os principais sinais clínicos relatados foram paralisia flácida dos membros torácicos e/ou pélvicos (6/10), incoordenação (5/10), ataxia (5/10), opistótono (4/10), sialorreia (3/10), tremores (3/10) e alteração comportamental (3/10). Em menor número também foram citados cegueira (2/10), nistagmo (2/10), movimentos de pedalagem (2/10), depressão (2/10), apetite anômalo (1/10), convulsões (1/10) e espasmos musculares (1/10).

Apenas algumas amostras (3/10) apresentaram lesões macroscópicas que consistiram de hiperemia leve na leptomeninge. Na microscopia, as lesões mais encontradas foram manguitos perivasculares linfoplasmocíticos leves a moderados, principalmente na leptomeninge, mesencéfalo, núcleos basais e cerebelo. Sete amostras apresentaram corpúsculos de inclusão eosinofílicos intracitoplasmáticos (corpúsculos de Negri), principalmente nos neurônios de Purkinje e do hipocampo. Todos os encéfalos foram positivos para raiva no exame virológico. Outro achado microscópico encontrado foi gliose focal em poucos casos (2/10).

A segunda doença mais frequente foi a polioencefalomalacia (PEM). Seis bovinos foram diagnosticados com a enfermidade, sendo quatro machos e duas fêmeas. A raça Nelore foi verificada com maior frequência (4/6). A maior parte dos surtos (83,3%) pertence à mesorregião Noroeste e não há sazonalidade considerável. No geral, a morbidade foi de 0,1-4% e a letalidade oscilou entre 66,6-100% (Tab. 2). Dois bovinos Nelore, ambos com dois anos de idade (RH 20-11 e RH 30-11) pertenciam a um confinamento localizada em Britânia. Os sinais clínicos apresentados foram cegueira, espasmos musculares, midríase, opistótono, paralisia com sinais de alerta, tetania, ataxia e decúbito. No RH 20-11, houve ainda dismetria, ataxia, alteração comportamental e incoordenação. O curso clínico foi de 3-4 dias e a IFD foi negativa nos dois casos. O problema ocorreu entre os meses de fevereiro e março de 2011. A morbidade no surto foi de 0,1% e a letalidade 100%. Alterações macroscópicas não foram observadas. Histologicamente havia no telencéfalo frontal e parietal necrose neuronal segmentar e laminar (neurônios vermelhos), edema perivascular, perineuronal e do neurópilo, tumefação do núcleo de células endoteliais e infiltração de numerosos macrófagos espumosos (células *gitter*) na leptomeninge e neurópilo. Outro surto semelhante de PEM ocorreu em Aragarças. Em um rebanho de 2.500 bovinos que estavam no pasto e tinham sido confinados recentemente, três adoeceram e dois morreram, contudo, neste caso, foi relatada mudança brusca de ambiente de pastagem para confinamento. Os sinais clínicos incluíam cegueira, apetite anômalo, agressividade e tenesmo. No exame macroscópico realizado no LPV, observou-se que na superfície de corte do telencéfalo havia áreas lineares de separação das substâncias cinzenta e branca, as quais foram justificadas na microscopia pela observação, em

algumas áreas, de separação entre as camadas de neurônios corticais ou entre as substâncias cinzenta e branca.

Uma bezerra SRD (RH 10-11), de um mês de idade, proveniente de Campinaçu, na mesorregião Norte, e um bezerro Nelore (RH 15-11), da mesma idade, proveniente de Mozarlândia também foram diagnosticados com PEM. Os sinais clínicos foram cegueira, incoordenação, andar em círculos e paralisia dos membros pélvicos. No RH 10-11, a mãe da bezerra morreu poucos dias antes com os mesmos sinais clínicos. Na microscopia, evidenciou-se nos telencéfalos frontal e parietal neurônios hipereosinofílicos (neurônios vermelhos), encarquilhados e com núcleo picnótico ou com aspecto vítreo em ambos os registros. No RH 15-11, também foram observados neurônios vermelhos nos núcleos caudato e putâmen. Nestes casos não foi possível determinar a causa da enfermidade.

Tabela 2. Dados epidemiológicos dos casos de polioencefalomalacia (PEM) em bovinos diagnosticados nas mesorregiões Norte e Noroeste de Goiás pelo LPV/UFG/CAJ, no período de março de 2010 a junho de 2013.

Registro	Raça	Sexo	Idade (meses)	Morbidade/ Letalidade (%)	Época de ocorrência	Município
RH 121-10	SRD*	Macho	22	0,12/66,6	Novembro/2010	Aragarças
RH 10-11	SRD	Fêmea	1	4/100	Fevereiro/2011	Campinaçu
RH 15-11	Nelore	Macho	1	nc/nc	Fevereiro/2011	Mozarlândia
RH 19-11	Nelore	Fêmea	24	0,86/100	Fevereiro/2011	São Miguel do Araguaia
RH 20-11	Nelore	Macho	24	0,1/100	Fevereiro/2011	Britânia
RH 30-11	Nelore	Macho	24	0,1/100	Março/2011	Britânia

nc = não constam nas fichas os números de bovinos doentes e/ou mortos.

Três casos de meningoencefalite por BoHV foram diagnosticados. Dois animais são da raça Nelore (RH 164-11 e 120-11) e um SRD (RH 223-11). Não observou-se sazonalidade e a idade dos bovinos variou entre 22-36 meses. Não constam nas fichas o número de animais que adoeceram. Todos os casos pertencem à mesorregião Noroeste.

Um bovino de 22 meses (RH 164-11), oriundo do município de Mundo Novo de Goiás foi encaminhado, examinado e acompanhado numa baia de um hospital veterinário (HV) em Goiânia, em agosto de 2011. No primeiro dia, o animal andou em círculos e posteriormente

ficou apático. Mais tarde, apresentou pressão da cabeça contra as paredes da baia, ataxia e incoordenação. No segundo dia, o bovino apresentou cegueira. O hemograma revelou leucocitose com neutrofilia e monocitose e o líquor demonstrou proteína aumentada e pleocitose com predomínio de leucócitos e linfócitos. Na necropsia, havia grande quantidade de líquor e hiperemia cerebral. Sinais clínicos como opistótono e paralisia flácida dos membros pélvicos foram citados nos demais casos de infecção pelo BoHV, um ocorrido no município de Baliza (RH 223-11) e outro em Aragarças (RH 119-11). Os achados histopatológicos foram semelhantes em todas as amostras e consistiram de necrose neuronal segmentar e laminar, edema perineuronal e perivascular, corpúsculos de inclusão basofílicos intranucleares em astrócitos, astrocitose e tumefação de núcleos de células endoteliais. Manguitos perivasculares linfocíticos multifocais foram notados no neurópilo e leptomeninge, principalmente no telencéfalos frontal e parietal, tronco encefálico, hipocampo e núcleos basais. Eventualmente observou-se numerosos macrófagos espumosos (células gitter) no neurópilo e na leptomeninge e gliose focal.

Foram observados dois casos de meningite bacteriana: um em Aragarças (RH 28-11) e outro em Matrinchã (RH 466-12). Os períodos de ocorrência foram março de 2011 e agosto de 2012, respectivamente. O RH 466-12 é de um cordeiro SRD de 10 dias de idade. O surto da propriedade teve morbidade de 2% e letalidade de 100% e o quadro clínico foi de 3-5 dias. O proprietário não realizava vacinação para raiva, somente para clostridioses. Os sinais clínicos incluíram nistagmo, opistótono, depressão, movimentos de pedalagem e convulsões. Tratamento com sulfametoxazol, bromexina e fluidoterapia não logrou êxito, sendo indicada a eutanásia. Na necropsia, notou-se áreas de pneumonia e hepatomegalia com extensas áreas de hemorragia. Na microscopia do encéfalo observou-se infiltrado inflamatório difuso acentuado de neutrófilos e macrófagos na leptomeninge e na substância cinzenta adjacente a leptomeninge nos núcleos basais, cerebelo e telencéfalos frontal e parietal.

Um caso compatível com listeriose foi evidenciado em março de 2012 (RH 92-12), em São Miguel do Araguaia. Trata-se de uma vaca Nelore, de 4 anos. Os sinais clínicos consistiram de depressão, tremores e paralisia flácida dos membros pélvicos. Microscopicamente, notou-se numerosos manguitos perivasculares moderados de linfócitos e macrófagos, microabscessos numerosos e coalescentes, gliose multifocal moderada e esferóides axonais multifocais no mesencéfalo. Desse modo, diante das poucas informações clínicas e epidemiológicas disponibilizadas e dos achados histopatológicos, não foi possível definir a etiologia das lesões e suspeitou-se de listeriose pela topografia e morfologia das mesmas.

Um caso (RH 125-10) apresentou meningoencefalite não-supurativa inespecífica (MENS). Esse caso era de uma vaca Nelore, de 4 anos, de Uruaçu, que morreu em novembro de 2010, com sinais de depressão, alteração comportamental, espasmos musculares, incoordenação, movimentos de pedalagem, paralisia flácida dos membros pélvicos e tremores. Histologicamente, o caso apresentou no telencéfalo frontal e parietal poucos neurônios vermelhos (necrose neuronal multifocal), infiltração leve de células *gitter* na substância cinzenta, próximo à leptomeninge e infiltrado de linfócitos, plasmócitos e neutrófilos multifocal leve a moderado na leptomeninge e neurópilo. Embora a lesão fosse sugestiva de infecção viral, não haviam lesões histopatológicas características de raiva ou infecção por BoHV. Portanto, não foi possível definir com exatidão a etiologia do distúrbio neurológico nesse caso.

Um caso compatível de intoxicação por sal (NaCl) associada à privação de água foi diagnosticado e afetou um novilho Nelore de 2 anos, de Araguapaz (RH 134-10), em dezembro de 2010. A morbidade foi de 0,06% e a letalidade de 100%. O problema ocorreu durante a seca (que foi muito prolongada em 2010) e os animais tinham acesso livre a sal proteinado. Segundo o veterinário remetente, no pasto que os bovinos estavam havia um açude praticamente seco com bastante areia. Quando o mesmo secou, os bovinos ficaram cerca de cinco dias sem beber água. Os sinais clínicos foram de incoordenação motora, anorexia e decúbito. Na necropsia de um dos bovinos, observou-se muita areia no rúmen. Histologicamente, a amostra enviada apresentou no neurópilo e na leptomeninge do telencéfalo parietal manguitos perivasculares multifocais, leve a moderados, de linfócitos, plasmócitos e eosinófilos, necrose individual de neurônios corticais, tumefação de células endoteliais e gliose multifocal leve. Manguitos perivasculares linfoplasmocíticos também foram notados na ponte e no telencéfalo frontal, o qual possuía adicionalmente tumefação endotelial.

Uma novilha mestiça, de 18 meses, morreu em outubro de 2010, em Crixás, com sinais clínicos de alteração de comportamento, incoordenação e paralisia flácida dos membros torácicos e pélvicos. A IFD para raiva realizada pelo LABVET foi negativa. Entretanto, histologicamente, notou-se diversos graus de hemorragia perivascular multifocal a focalmente extensa no neurópilo e na leptomeninge do tálamo, córtex frontal e parietal, bulbo e camada molecular do cerebelo. Porém não foi possível determinar a causa da lesão circulatória e do quadro neurológico.

Em 33 casos avaliados, o diagnóstico foi inconclusivo, pois mesmo com sinais clínicos neurológicos, nenhuma alteração macro ou microscópica no encéfalo foi detectada.

4. DISCUSSÃO

O LPV da UFG em Jataí/GO recebe amostras e animais para diagnóstico anatomopatológico de todo o Estado de Goiás. Aproximadamente 20-25% das amostras recebidas (necropsia e histopatologia) correspondem a casos neurológicos de bovinos que resultaram em mortes dos animais (dados não publicados). Esses dados mostram a importância das enfermidades do SNC de bovinos como causa de mortalidade no Estado. Essas doenças também são epidemiologicamente e economicamente importantes em outras regiões do Brasil, como no semiárido nordestino (GALIZA et al., 2010), no Rio Grande do Sul (SANCHES et al., 2000; LUCENA et al., 2000) e em Mato Grosso do Sul (LEMOS, 2005). Cerca de 96% das doenças neurológicas observadas durante o período de avaliação ocorreram em bovinos. O pequeno número de casos neurológicos em outras espécies de ruminantes deve-se provavelmente, ao pequeno número de ovinos, caprinos e búfalos criados nas regiões e também ao desinteresse de muitos produtores e médicos veterinários em submeter amostras dessas espécies para diagnóstico laboratorial.

A maior parte das amostras neurológicas avaliadas pertence à mesorregião Noroeste (43/58), também chamada de Vale do Araguaia. Com uma área de 55.840,8 km^2 e altitude variando de 250-506 metros, o Vale do Araguaia tem uma população bovina de mais de 6 milhões de animais (SOUZA et al., 2006). Juntamente com a mesorregião Norte, abrangem 50 municípios do Estado de Goiás.

As principais enfermidades neurológicas diagnosticadas em bovinos no presente trabalho foram raiva, PEM, meningoencefalite por BoHV e meningite bacteriana. Essas doenças corresponderam a 36,2% de todos os casos neurológicos das Mesorregiões Norte e Noroeste de Goiás incluídos no período de avaliação. As principais enfermidades inflamatórias que afetam o SNC de bovinos no Brasil são a raiva, meningoencefalite por BoHV e a febre catarral maligna (FCM) (SANCHES et al., 2000; BARROS et al., 2006, MENDONÇA et al., 2008).

A doença mais frequente foi a raiva bovina (10/58) e afetou bovinos jovens, sem predisposição à raça e sexo. A maior parte dos casos pertence ao município de Aragarças (30%). Este município é considerado de baixo risco para a enfermidade (AGRODEFESA, 2005). Porém, há nas suas imediações morros, paredões rochosos, grutas e matas ciliares de cerrado presentes na bacia do Rio Araguaia, na divisa com o Estado de Mato Grosso. Estes locais servem de abrigos para morcegos, que é a principal transmissor da doença para bovinos. Esses dados mostram que mesmo em áreas consideradas de baixo risco para o aparecimento de casos de raiva em Goiás, a vigilância epidemiológica contínua deve ser

realizada proficuamente. Os municípios de Niquelândia e Uruaçu também se destacaram com dois surtos em cada município. Os outros municípios com casos confirmados (Niquelândia, Uruaçu, Bom Jardim de Goiás, Piranhas e Colinas do Sul) são considerados de alto risco para a enfermidade (AGRODEFESA, 2005). Aproximadamente 54% dos municípios estudados nas duas regiões possuem a mesma classificação, segundo a AGRODEFESA. Os sinais clínicos mais evidentes (paralisia flácida, nistagmo, cegueira, incoordenação) corresponderam às lesões difusas na medula e no tronco encefálico, porém alguns animais também apresentaram evidências de lesões localizadas no telencéfalo como alterações de comportamento e cegueira (FERNANDES & RIET-CORREA, 2007). Sinais como opistótono e tremores foram relacionados às lesões cerebelares (LANGOHR et al., 2003; LIMA et al., 2005a). Por outro lado, alguns sinais clínicos são bastante inespecíficos nesta enfermidade, conforme descrito por outros autores (KING & TURNER, 1993). Em sete casos aqui estudados foram notados corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos em neurônios. Contudo, em alguns casos, esse achado microscópico pode não está presente e dificultar o diagnóstico histopatológico (LANGOHR et al., 2003; GALIZA et al., 2010). Nesses casos, a IFD é o método de eleição para a confirmação da doença.

Seis casos de PEM foram diagnosticados neste trabalho, cinco deles (83,3%) pertencentes a mesorregião Noroeste. Apesar de ser observada em vários estados brasileiros e há algumas décadas, essa doença não possui sua etiologia totalmente conhecida no país. Em algumas poucas investigações, a intoxicação por enxofre foi confirmada como causa da doença (TRAVERSO et al., 2001; LIMA et al., 2005b; CUNHA et al., 2010), mas na grande maioria dos surtos brasileiros, a etiologia não é estudada e/ou confirmada (BARROS et al., 2006; SANT'ANA et al., 2009; SANT'ANA & BARROS, 2010). Um surto do presente trabalho relatou mudança brusca de ambiente (pastagem para confinamento), o qual é um importante fator predisponente. Por outro lado, dois animais muito jovens, de 1 mês de idade, foram afetados e, nesta faixa etária, não se pôde descobrir a causa exata da enfermidade pela ausência de dados epidemiológicos e de anamnese.

A terceira enfermidade mais frequente foi a meningoencefalite por BoHV. Três casos foram diagnosticados na mesorregião Noroeste. Esta enfermidade têm sido diagnosticada frequentemente na Região Sudoeste do estado (FERREIRA JÚNIOR et al., 2012). A doença afetou animais de 22-36 meses em regime extensivo. Dados epidemiológicos similares dessa doença são observados em outras regiões do Brasil (ELIAS et al., 2004; LEMOS, 2005). Em todos os casos do presente trabalho, foram detectados corpúsculos de inclusão basofílicos intranucleares em astrócitos, associados à necrose neuronal e edema. Esses achados são

característicos da infecção e, na ausência de exames virológicos, a visualização dos corpúsculos de inclusão na histopatologia são fundamentais para o diagnóstico (BARROS et al., 2006; RISSI et al., 2006). Essa afecção também é considerada importante doença neurológica de bovinos de outras regiões do Centro-Oeste brasileiro (SALVADOR et al., 1998; COLODEL et al., 2002). Como existem dois tipos virais que podem causar essa doença (BoHV-1 e BoHV-5), é necessário determinar a participação desses agentes nos surtos registrados nas mesorregiões.

Uma bezerra de quatro meses e um cordeiro de 10 dias foram diagnosticados com meningite bacteriana. Segundo o remetente, o cordeiro passava a noite em galpões e recebia vacinas contra clostridioses, porém não foi informado como é realizado o manejo neonatal dos animais da propriedade. Entretanto os achados de necropsia encontraram vestígios de pneumonia. Geralmente as bactérias causam meningoencefalite em animais jovens e em decorrência de septicemia oriunda de infecção primária ou doença preexistente (BARROS et al., 2006).

Foi observado um caso muito sugestivo de listeriose. As lesões histológicas de microabscessos e manguitos perivasculares, especificamente no tronco encefálico, são muito sugestivas de infecção por *Listeria monocytogenes* (BARROS et al., 2006). Entretanto os poucos sinais clínicos descritos pelo remetente, que não são característicos dessa enfermidade, associados a carência de informações epidemiológicas dificultaram a confirmação do diagnóstico.

Um caso foi incluído na categoria de MENS por possuírem quadro histopatológico indicativo de infecção viral do SNC, porém sem características histológicas e/o epidemiológicas de raiva e meningoencefalite por BoHV. Esses casos serão estudados posteriormente por técnicas moleculares e/ou imuno-histoquímicas para a determinação da etiologia.

O caso de intoxicação por sal associada à privação de água justifica-se pela epidemiologia da mesorregião Noroeste e pela lesão microscópica. No Vale do Araguaia predominam grandes planícies e a região tem poucos mananciais hídricos, dificultando assim a obtenção de água para a dessedentação dos animais, situação agravada pelo aumento do rebanho (SOUZA et al., 2006). A meningoencefalite linfoplasmocítica e eosinofílica é um achado muito importante para o diagnóstico desta intoxicação. A infiltração de eosinófilos é considerada uma alteração patognomônica da intoxicação por sal em suínos (NAKAZATO et al., 2000).

Encontrou-se diversos graus de hemorragia no encéfalo de uma novilha. No caso avaliado, a ausência de histórico detalhado não permitiu a definição da causa da alteração circulatória, porém sabe-se que geralmente elas estão associadas a trauma no SNC.

Em 56,9% (33/58) dos casos, o diagnóstico foi inconclusivo diante da ausência de lesões histopatológicas no encéfalo. Uma vez que todos esses 33 bovinos apresentaram sinais clínicos neurológicos, possivelmente, isso ocorreu em função de enfermidades que afetaram o sistema nervoso periférico (como o botulismo), ou doenças de caráter agudo ou superagudo que cursam com morte rápida sem deixar lesões nos SNC (como ocorre nas intoxicações por pesticidas ou por plantas tóxicas que causam morte súbita), ou ainda, doenças musculares que mimetizam alguns sinais clínicos de origem neurológica, como as intoxicações por *Senna occidentalis* (CARMO et al., 2012). Em nenhum caso estudado no presente trabalho, foram observadas alterações encefálicas sugestivas de BSE.

5. CONCLUSÕES

As principais doenças neurológicas de ruminantes das mesorregiões Norte e Noroeste de Goiás são raiva, polioencefalomalacia, meningoencefalite por BoHV e meningite bacteriana. O monitoramento epidemiológico e o diagnóstico constante dessas doenças neurológicas é necessário para a tomada de medidas profiláticas e de controle, em tempo hábil, pelos órgãos de defesa agropecuária estadual e federal.

6. REFERÊNCIAS

AGRODEFESA. Instrução normativa Nº 001/2005. 2005. Disponível em www.agrodefesa.go.gov.br. Acesso em 30/07/2013.

ALESSI, A.C. Atypical BSE in Brazil and Worldwide. **Braz. J. Vet. Pathol.**, v.6, p.1-2, 2013.

ALMOND, J.; PATTISON, J. Human BSE. **Nature**, v.389, p.437-438, 1997

BARROS, C.S.L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I.S.; LEMOS, R.A.A. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil. São Paulo: Agnes, 2006. 207p.

CARMO, P.M.S.; IRIGOYEN, L.F.; LUCENA, R.B.; FIGHERA, R.A.; KOMMERS, G.D.; BARROS, C.S.L. Spontaneous coffe Senna poisoning in cattle: Report on 16 outbreaks. **Pesq. Vet. Bras.**, v.31, p.139-146, 2006. 2011

COLODEL, E.M.; NAKAZATO, L.; WEIBLEN, R.; MELLO, R.M.; SILVA, R.R.P.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA, J.A.F.; CARON, L.. Meningoencefalite necrosante causada por herpesvírus bovino no Estado de Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, v.32, p.293-298, 2002.

CUNHA, P.H.J.; BANDARRA, P.M.; DIAS, M.M.; BORGES, A.S.; DRIEMEIER, D. Surto de polioencefalomalacia por ingestão excessiva de enxofre na dieta de bezerros no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v.30, p.613-617, 2010.

ELIAS, F.; SCHILD, A.L.; RIET-CORREA, F. Meningoencefalite e encefalomalacia por herpesvírus bovino-5: distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. **Pesq. Vet. Bras.**, v.24, p.123-131, 2004.

FERNANDES, C.G.; RIET-CORREA, F. Raiva. In: RIET-CORREA F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. **Doenças de ruminantes e equídeos**. 3 ed. Santa Maria: Pallotti,. p.184-198. 2007.

FERREIRA JÚNIOR, J.A.; MOREIRA JUNIOR, C.A.; DA COSTA, Y.L.; RESENDE, R. M.; SANT'ANA, F.J.F. Doenças neurológicas de bovinos do sudoeste de Goiás (2010-2012) In: VII ENDIVET, 1, **Anais**, Porto Alegre, p.17. (Resumo). 2012.

GALIZA, G.J.N.; SILVA, M.L.C.R.; DANTAS, A.F.M.; SIMÕES, S.V.D.; RIET-CORREA, F. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. **Pesq. Vet. Bras.**, v.30, p.267-276, 2010.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2008. Disponível em www.ibge.gov.br. Acesso em 28/07/2013.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2011. Disponível em www.ibge.gov.br. Acesso em 28/07/2013.

KING, A.A.; TURNER, G.S. Rabies: a review. **J. Comp. Pathol.**, v.108, p.1-39, 1993.

LANGOHR, I.M.; IRIGOYEN, L.F.; LEMOS, R.A.A.; BARROS, C.S.L. Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. **Ciência Rural**, v.33, p.125-131, 2003.

LEMOS, R.A.A. **Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões Centro-oeste e Sudeste do Brasil.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2005. 149p.

LIMA, E.F.; RIET-CORREA, F.; CASTRO, R.S.; GOMES, A.A.B.; LIMA, F.S. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região nordeste do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v.25, p.250-264, 2005a.

LIMA, E.F.; RIET-CORREA, F.; TABOSA, I.M.; DANTAS, A.F.M.; MEDEIROS, J.M.; SUCUPIRA JÚNIOR, G. Polioencefalomalácia em caprinos e ovinos na região semi-árida do Nordeste do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v.25, p.9-14, 2005b.

LUCENA, R.B.; PIEREZAN, F.; KOMMERS, G.D.; IRIGOYEN, L.F.; FIGHERA, R.A.;

BARROS, C.S.L. Doenças de bovinos do Sul do Brasil: 6.706 casos. **Pesq. Vet. Bras.**, v.30, p.428-434, 2010.

MENDONÇA, F.S.; DÓRIA, R.G.S.; SCHEIN, F.B; FREITAS, S.H.; NAKAZATO, L.; BOABAID, F.M.; PAULA, D.A.J.; DUTRA, V.; COLODEL, E.M. Febre catarral maligna em bovinos no Estado de Mato Grosso. **Pesq. Vet. Bras**., v.28, p.155-160, 2008.

NAKAZATO, L.; LEMOS R.A.A.; RIET-CORREA, F. Polioencefalomalacia em bovinos nos estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo. **Pesq. Vet. Bras.**, v.20, p.119-125, 2000.

RISSI, D.R.; OLIVEIRA, F.N.; RECH, R.R.; PIEREZAN, F.; LEMOS, R.A.A.; BARROS, C.S.L. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. **Pesq. Vet. Bras.**, v.26, p.123-132, 2006.

SALVADOR, C.S.; LEMOS, R.A.A.; RIET-CORREA, F.; ROEHE, P.M.; OSÓRIO, A.L.A.R. Meningoencefalite em bovinos causada por bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo. **Pesq. Vet. Bras.**, v.18, p.76-83, 1998.

SANCHES, A.W.D.; LANGOHR, I.M.; STIGGER, A.L.; BARROS, C.S.L. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no sul do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v.20, p.113-118, 2000.

SANT'ANA, F.J.F.; RISSI, D.R.; LUCENA, R.B.; LEMOS, R.A.A.; NOGUEIRA, A.P.A.; BARROS, C.S.L. Polioencefalomalacia em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões no encéfalo. **Pesq. Vet. Bras.**, v.29, p.487-497, 2009.

SANT'ANA, F.J.F.; BARROS, C.S.L. Polioencephalomalacia in ruminants in Brazil. **Braz. J. Vet. Pathol.**, v.3, p.70-79, 2010.

SOUZA, A.M.; MARQUES, D.F.; DÖBEREINER, J.; DUTRA, I.S. Esporos e toxinas de *Clostridium botulinum* dos tipos C e D em cacimbas no Vale do Araguaia, Goiás. **Pesq. Vet. Bras.**, v.26, p.133-138, 2006.

TRAVERSO, S.D.; COLODEL, E.M.; LORETTI, A.P.; SEITZ, A.L.; CORREA, A.M.; KRAUSPENHAR, C.; DRIEMEIER, D. Polioencefalomalacia em bovinos leiteiros no Rio Grande do Sul suplementados com enxofre. In: ENAPAVE, 10, **Anais**, Pirassununga, p.72. (Resumo). 2001.

WELLS, G.A.H.; SCOTT, A.C.; JOHNSON, C.T. et al. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. **Vet. Rec.**, v.121, p.419-420, 1987.

MORTE E IDENTIDADES EM *O ASNO DE OURO*, DE LÚCIO APULEIO.

Paulo Sérgio Assis de Farias (Orientando)
Profa. Dra. Luciane Munhoz de Omena (Orientadora)
Faculdade de História\UFG
paulo.assis07@gmail.com
lucianemunhoz34@gmail.com[1]

Introdução:

"A morte é um problema dos vivos.", essa é uma das máximas apresentadas por Elias (2001) em seu livro *A Solidão dos Moribundos*, contudo, entre as diversas criaturas passiveis de morrer, a finitude se constitui enquanto problema apenas para os seres humanos. Isso porque, apesar de compartilharmos com os animais o nascimento, a juventude, a maturidade, a velhice, a doença e a morte, apenas nós temos a consciência de que um dia iremos morrer; apenas os seres humanos podem prever – estar ciente de que pode ocorrer a qualquer momento – e tomar providências especificas para se proteger ante a ameaça do fim. Em outras palavras, o homem tem conhecimento da morte, e assim ela se constitui enquanto problema.

Nesse texto apresentaremos os resultados da pesquisa empreendida durante o último ano, à medida que a morte e suas diversas expressões assumem um papel central, norteador e guia do nosso raciocínio. Assim, buscaremos a partir da narrativa de representação realista (MOTTA, 2006) - *O Asno de Ouro*,[2] escrito em meados do século II d. C., por Lucio Apuleio[3], refletir sobre a morte nas províncias gregas do Império Romano. Essa narrativa dividida em onze livros que, grosso modo, narra a história de um jovem que viaja de sua cidade natal rumo a Tessália, lugar conhecido como terra das artes mágicas. Sendo a esposa de seu anfitrião uma feiticeira, o jovem Lúcio é auxiliado

[1] Artigo revisado pela orientadora.
[2] A obra recebeu diversos vocativos como *Metamorfoses*, *O Asno*; *O Asno de Ouro*, logo, não se sabe ao certo com que nome foi primitivamente denominada. O mais provável é que o nome pelo qual ficou conhecido modernamente – *O Asno de Ouro* – surgiu de uma oposição entre o restritivo "de Ouro" e o primeiro nome "Asno", pois se trataria de uma história de ouro para ser lida, para ser apreciada.
[3] Lucio Apuleio nasceu em Madaura uma florescente cidade nas províncias africanas do império, viveu provavelmente entre 125 d. C a 170 d. C, sabe-se ainda, que seu pai era dono de grandes cabedais de terra e ao morrer deixou-lhe dois milhões de sestércios. Em suas viagens pelo Oriente, Apuleio foi à Grécia e a Itália onde estudou filosofia, direito e eloquência respectivamente, tendo contato assim com as mais diversas culturas e religiões do mundo conhecido; ele ainda era versado em diversas ciências como geometria, astronomia, entre outras.

por uma escrava da casa na tentativa de se transformar em uma ave de rapina, mas por infelicidade o pote que continha o unguento, que possibilitaria tal transformação é trocado, sendo, portanto, metamorfoseado em um burro, ao invés do pássaro desejado. O mal que a principio parece fácil de ser remediado, pois, para readquirir a forma humana bastaria comer pétalas de rosa, sofre uma reviravolta da fortuna, à medida que a casa de Milão, na mesma noite, é saqueada. Lúcio descansava na estrebaria e em função de sua nova condição é levado pelos bandidos. A partir disso, o narrador transformado em burro, conta suas desventuras e diversas histórias ouvidas em sua nova condição, proporcionando assim ao leitor-ouvinte um labirinto de narrativas, que se entrecruzam e se sobrepõem no decorrer da obra.

Essa narrativa de viagem (MOTTA, 2006) contada por Lucio-Asno relaciona-se à nossa temática, à medida que Apuleio emprega em sua obra o grotesco e o macabro através da comicidade da morte, buscando matéria e forma nas histórias mundanas dos contos milesianos (MOTTA, 2006: 165). A morte aparece implícita ou explicitamente em toda a narrativa apuleiana, desse modo, abre-se um campo de reflexão entre as relações que se estabelecem entre morte e identidade social, tendo como ponto de partida os indícios sobre rituais funerários presentes na narrativa. É nossa pretensão também apresentar uma tipologia possível sobre as diversas mortes representadas na narrativa. Por último, nos debruçaremos especificamente sobre o processo de metamorfose sofrido pelo protagonista Lúcio, compreendido por nós como um processo de degradação e morte para refletir sobre a importância da palavra no universo romano do período tratado.

Metodologia:

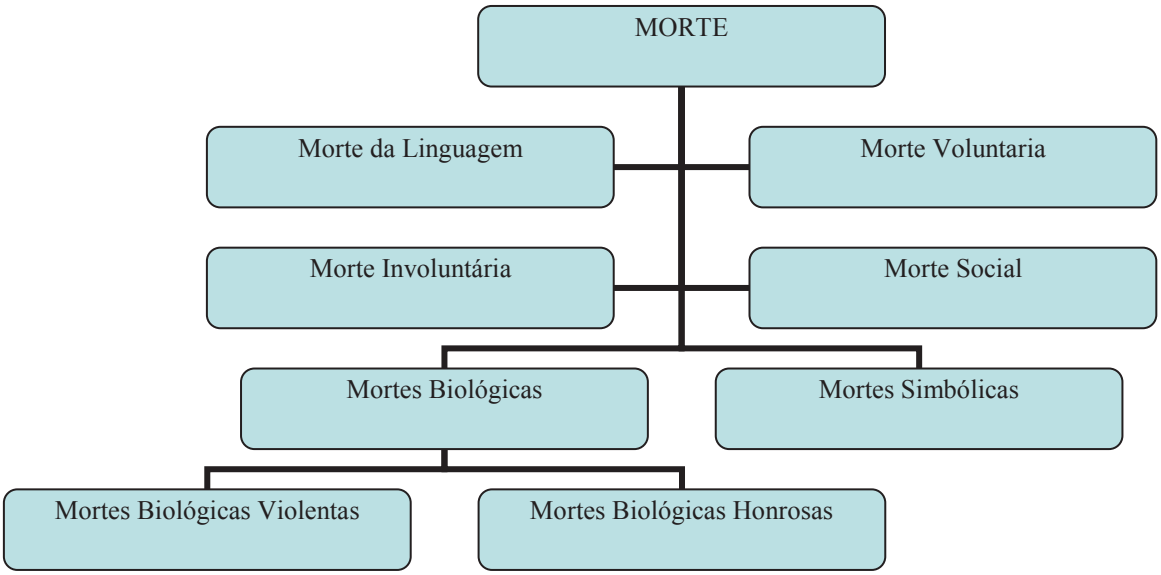
Trabalhar com a temática da morte no universo romano implica em uma ampliação de diversas fontes, sejam escritas ou da cultura material. Além disso, esbarra-se também no problema de que as fontes disponíveis geralmente registram o excepcional, o invulgar, ao invés do comum. O inusitado ou o extravagante como o embalsamento da esposa de Nero, Popeia, ou uma grande procissão funerária de um nobre, pode ganhar passagem nas fontes antigas, enquanto, que os “detalhes mais mundanos” (HOPE, 2004: 104) tiveram pouco relevo. Assim, se faz pertinente pensar o trabalho do historiador com tais fontes seguindo um paradigma indiciário (GINZBURG, 1989). Tais procedimentos analíticos convergem na utilização de pistas, “mas

precisamente, sintomas (no caso de Freud), indícios (no caso de Sherlock Holmes), signos pictóricos (no caso de Morelli)" (GINZBURG, 1989: 150), para que assim se alcance uma realidade que escapou, através de uma racionalidade baseada no provável. Essa concepção de um conhecimento pautado no detalhe, aqui se faz válida, haja vista o problema das fontes, já posto, e a maneira como optamos em abordar a narrativa *O Asno de Ouro*.

Ao apresentar o social de forma não idealizada, a narrativa apuleiana nos fornece uma riqueza de detalhes sobre aquele contexto, entretanto, ao que se refere a cuidados com o corpo, túmulos e rituais funerários, alguns dos nossos principais interesses nessa pesquisa, a fonte não é detalhista, citando tais aspectos, na maioria das vezes em uma linha ou menos. Desse modo, operamos um levantamento da fonte (PROUST, 2012) buscando pistas e detalhes que nos possibilitasse perceber como ocorriam os rituais funerários ao redor do morto. Nossa opção, a partir desse levantamento, na tentativa de maximizar a pesquisa e articular melhor esses diferentes trechos da fonte, foi tabelá-la[4], construindo um quadro que constaria todos os possíveis indícios acerca da morte.

Operamos da mesma forma na tentativa de empreender uma tipologia possível acerca das mortes narradas na obra. Fizemos um levantamento dos trechos que relata a morte de algum personagem, e partindo dele estabelecemos tipos de morte, tendo como base expressões presentes na própria fonte, como por exemplo: "O próprio ato da iniciação representa uma morte voluntaria e uma salvação obtida pela graça" (LIVRO XI, XXI). Esse trecho que referisse a adesão de Lúcio ao culto da deusa Ísis, para que assim pudesse reverter sua condição de asno, coloca tal adesão no patamar de uma morte voluntária. Foram tais expressões presentes na narrativa, que nos possibilitou construir o quadro a baixo, que apresenta uma tipologia de morte possível.

[4] Infelizmente, não foi possível anexar tais tabelas no corpo do texto, em decorrência do espaço (ocupariam um total de 10 pg.). Foram elaboradas duas tabelas, a primeira continha o levantamento de todos os indícios acerca de ritos funerários, já a segunda, se ocupava dos indícios sobre as mortes narradas no decorrer da fonte, apresentando, de maneira prática, a tipologia por nós proposta.



Assim, dividimos as mortes presentes na narrativa em dois grandes grupos, o primeiro de mortes biológicas, e o segundo de mortes simbólicas, as quais constam processos de exclusão ou adesão a um meio ou condição, como é o caso da adesão de Lúcio ao culto de Ísis, acima citado. Além disso, dentro do primeiro grupo - mortes biológicas - fizemos uma subdivisão entre mortes biológicas violentas e mortes biológicas honrosas, levando-se em consideração o que se caracterizava por honroso na sociedade provincial romana. Integrando essa tipologia mais geral, criamos categorias móveis, são essas: morte física; morte da linguagem; morte social; morte voluntaria; morte involuntária passíveis de se adequarem a cada caso, de acordo com as particularidades que o relato apresenta.

Cabe ressaltar que essa nossa tipologia não escamoteia as particularidades e diferenças dos relatos da narrativa em que ocorre algum tipo de morte, ela busca uma aproximação desses diferentes trechos no intuito de facilitar e organizar melhor a construção de um quadro de retalhos, de pistas, que nos possibilite perceber melhor como se configurava o fenômeno da morte e suas múltiplas expressões no contexto do século II d. C. nas províncias gregas do Império Romano.

Resultados:

Os resultados da pesquisa, empreendida no decorrer do último ano serão explicitados de maneira mais detalhada no item “Discussão”, contudo, podemos destacar os seguintes pontos:

- O modo como o corpo do morto era apresentado, os cemitérios, assim como as cerimônias funerárias, forneciam símbolos e possibilitavam um espaço social possível para a negociação de *status* e identidades, em um jogo de altos e baixos, onde nem sempre era refletida a hierarquia real.
- A crença na magia aparece a partir de dois tipos distintos de magia: uma institucionalizada e a outra de caráter privado, em feiticeiras, assim com em fantasmas e espíritos errantes, evidenciam uma realidade vivida por Apuleio, responsável por constituir o imaginário e forjar identidades sociais.
- A degradação humana tem sua principal expressão no processo de metamorfose de Lúcio, degradando-se primeiramente ao se submeter à escrava Fótis, graças ao seu excesso de curiosidade pelas artes mágicas, o desenvolvimento de seu retorno a condição humana também se caracteriza pela degradação, tendo principio através de um novo excesso, dessa vez a gula, e culminando com a submissão a deusa Ísis para conseguir retornar a sua condição de homem. Nesse meio, a metamorfose que sofre alude à perda da possibilidade de comunicação, e de sua condição de cidadão, ou seja, da capacidade de negociar social e politicamente, em outras palavras, uma morte social.

Discussão:

A narrativa de Apuleio se articula de maneira pertinente a temática de nossa pesquisa, de duas formas: primeiramente, ao buscar o satírico e o grotesco para apresentar um universo romano não idealizado, que se contrapõe ao mundo ideal do mítico, através da comicidade da morte, faz com que essa última traspasse toda a obra, e segundo essa representação realista do romance privilegia as degradações das estruturas sociais, tais degradações articulam-se com o itinerário do protagonista Lúcio, determinando seus comportamentos, o inserido assim em um processo de degradação e morte simbólica.

Nosso interesse primeiro será o de analisar os indícios sobre os cuidados com o corpo, os túmulos e rituais funerários presentes na narrativa. Partiremos de dois casos específicos, a narrativa de Aristômenes, logo no Livro I da obra, que conta o fatídico fim de seu amigo Sócrates, e a história narrada por Telifrão na casa de Birrena, em uma festa em honra ao deus riso, em que fala das desventuras que sofreu ao ficar de vigília vigiando o corpo do filho de um importante senhor. Trata-se assim, de dois "defuntos" em condições sociais distintas, o primeiro vivia como um moribundo, apesar

de já ter sido um senhor, o outro era filho de um dos mais importantes homens da cidade. Essa diferença nos é favorável, pois, nos possibilita dessa forma, traçar identidades sociais diferentes, que se evidenciam nos cuidados e honras funerárias.

O primeiro momento da viagem narrada por Lúcio inicia-se com antes da chegada desse a cidade de Hípita, em que escuta a conversar de dois viajantes acerca das desventuras de um amigo que sofreu as misérias da fortuna ao envolver-se com uma feiticeira chamada Méroe. Para Motta, esse Livro I é uma espécie de antecipação do livro todo, tratando-se assim de uma história menor encaixado dentro da estrutura maior da narrativa, tendo como papel disseminar os índices formais que se concretizam no desenrolar da história principal (MOTTA, 2006: 192). Seria assim, um modelo que indica e fixa aos leitores-ouvintes como será construído o fantástico no corpo da narrativa. Assim, ao se interessar pela conversa dos estranhos, Lúcio demonstra já sua curiosidade pelas artes mágicas, prenunciando também os infortúnios futuros que essa lhe causaria.

Lúcio se deixa guiar assim pela história do viajante Aristômenes, sendo levado até seu destino não pelo lombo de seu cavalo e sim por suas orelhas (LIVRO I), que lhe conta: guiado pelo desejo de comprar queijo fresco mais barato, depara-se com seu amigo Sócrates, na cidade de Hípata, a quem a família dava por morto.

> E eis que ali vejo o meu amigo Sócrates. Estava sentado no chão, mal coberto por capa rasgada, a pele terrosa, irreconhecível, desfigurado pela magreza de causar dó, semelhante a esses náufragos da vida que mendigam tostões nas encruzilhadas. Apesar de estreitamente ligado a ele e conhecendo-o muitíssimo bem, ao vê-lo nesse estado, foi com alguma hesitação que dele me aproximei. 'Que vejo, Sócrates, meu amigo, que é isso? Que fazes? Que infâmia é essa? Em casa dos teus te acreditam morto, e realizaram em tua memória o derradeiro apelo; teus filhos foram providos de tutores pelo juiz da província; tua mulher, depois de ter cumprido os últimos deveres de esposa, e ter-se consumido longamente no luto e na aflição, a ponto de prejudicar os olhos, se vê constrangida pelos próprios pais a alegrar com os júbilos de um novo casamento o desolado lar. Eis que, neste lugar, para nossa maior desonra, tu me apareces como um fantasma.' (LIVRO I, VI)

Esse trecho nos permite inferir as primeiras características sobre a morte e seus desdobramentos no contexto em questão. A morte provoca uma mistura de reações e emoções entre os sobreviventes. Amor e carinho ou medo e aversão por uma pessoa não terminam após sua morte, podendo essa última criar novos sentimentos, como raiva ou remorso que são dirigidas para o cadáver. Estas, unindo-se as ideias de deterioração, poluição e doença, inerentes ao corpo, e também por esse servir como um símbolo da

mortalidade dos sobreviventes produz, com frequência, que os mortos sejam tratados de forma ambivalente. No universo romano, como em outros, tem-se a ideia que os mortos devem ser tratados com respeito e depois "descartado". Eles deveriam ser separados dos vivos por uma série de rituais cumprindo considerações emocionais, de caráter espiritual e prático. Fazer a coisa certa era necessário, a fim de enviar a alma do morto para uma jornada para o outro mundo, assim como, remover uma fonte em potencial de infecções, acalmar espíritos inquietos e reintegrar os sobreviventes ao mundo dos vivos (HOPE, 2004: 105).

O luto e o derradeiro apelo (LIVRO I) em honra da memória, chamado também de *conclamatio* (apelo), em que os parentes do morto chamavam por seu nome diversas vezes, no geral antes de conduzir o corpo ao túmulo, que Aristômenes evidencia nesse trecho, nos indica as considerações de caráter emocional dos ritos funerários. Esses deveres de cunho emocional são percebidos também na narrativa de Telifrão, à medida que a mulher chora um logo tempo sobre o corpo do marido (LIVRO II). Na própria narrativa de Aristômenes após seu amigo ser morto, efetivamente dessa vez, pela ação das feiticeiras, ou mesmo a narrativa sobre o Moleiro morto por práticas mágicas a mando da ex-mulher, que teve os deveres e as honras funerárias arranjadas pela filha, que nos fornece um período para tais lamentações: "No nono dia, uma vez acabados os ritos solenes ao pé do tumulo [...]" (LIVRO IX, XXXI).

O trecho referente ao encontro de Aristômenes com Sócrates invoca outra questão pertinente, o tratamento dado aos "moribundos". Ao encontrar o amigo, Aristômenes hesita em se aproximar dele, em decorrência de seu estado maltrapilho. Sócrates encontrava-se em um estado em que se caso morresse seu corpo provavelmente ficaria jogado na via publica, sujeito a putrefação e ao ataque de animais, até algum "agente funerário", se encarregar do descarte do corpo.

Isso não era algo incomum nos centros urbanos do império, em Roma e em outros lugares existiam sinais de encorajamento quanto a não jogar lixo, e isso incluía cadáveres, em determinadas zonas para além das paredes. Deixar um corpo sem sepultura era uma ofensa a escrúpulos morais e religiosos, além de um problema prático, visualmente desagradável e anti-higiênico. Ninguém gostaria de ter os seus restos mortais expostos em público, tornando-se causa de ofensa aos vivos, é provável que a maioria das pessoas chamasse seus parentes mais próximos para realizarem os rituais decentes. Alguns, entretanto, não tinham ninguém nem mesmo para honrá-los, nem mesmo para realizarem o mais básico dos rituais funerários e sepultamento (HOPE,

2004: 106). Bolde estipula que, para a cidade de Roma, cerca de 5% da população pertenciam a essa categoria, e que talvez cerca de 1.500 corpos teriam sido eliminados por ano com o dinheiro público, pelos chamados "agentes funerários", que seria os funcionários públicos responsáveis por isso (BOLDE 2004).

Após o encontro dos amigos, estando Sócrates em total miséria, Aristômenes leva-o a um estabelecimento de banho providenciando os devidos cuidados e o abriga em uma estalagem. Sócrates então, conta-lhe que havia fugido das garras de uma terrível mulher. Resolveu parar em Larissa para assistir a um espetáculo de gladiadores, quando voltava de sua viagem a trabalho da Macedônia, entretanto, um bando de ladrões o atacou. Sem ter para onde ir, pede socorro a uma estalajadeira, Méroe, que consente ajudá-lo. Contudo, ela o faz por ter se apaixonado por Sócrates, passando a retê-lo lá contra a vontade desse. Ele descobre tarde demais que essa mulher na verdade era uma poderosa feiticeira, que mantinha toda a cidade sobre seu jugo pelo medo generalizado, pois, os citadinos temiam ser enfeitiçados. Graças a esses poderes, ela consegue ouvir a conversa entre Sócrates e Aristômenes. Irada com tal relato, ela age , atacando o quarto onde esses dois se encontravam.

Méroe, na companhia de sua amiga Pância, invade o quarto onde os dois dormiam, bruscamente, arrebentando os grilhões da porta e projetando-a para o chão (LIVRO I). Ambas, após dirigir palavras de escárnio e chacota na direção de Aristômenes, voltam-se para Sócrates, atacando-o de maneira violenta:

> E, inclinando para a direita a cabeça de Sócrates, mergulhou a espada inteira, até o punho, no lado esquerdo da garganta; depois, aproximou um odrezinho e recolheu o sangue que jorrava, diligenciando para que nenhuma gota se perdesse. Tudo isto eu vi com meus próprios olhos. Para conservar, creio, a essa imolação, todas as características de um sacrifício, a doce Méroe introduziu a mão direita no ferimento, remexeu até o fundo das entranhas, e retirou o coração do meu desgraçado camarada. A violência do golpe tinha-lhe cortado a garganta e ele, deixando escapar pela fenda um som que não passava de um vago sopro, exalou o último suspiro. Pância, com uma esponja, tampou a larga abertura, dizendo: 'Esponja, tu que nasceste no mar, guarda-te de atravessar um rio. (LIVRO I, XIII)

Ao ser questionada sobre tirar a vida de Aristômenes, Méroe acrescenta: "não, mas que ele pelo menos sobreviva para amontoar um pouco de terra sobre o cadáver deste pobre rapaz" (LIVRO I, XIII). Em seguida, as duas desaparecem repentinamente, da mesma maneira como surgiram, sem deixar pistas de suas estadas

ali. Perante a situação, e com o eminente risco de ser acusado pelo assassinato do seu companheiro de hospedagem, Aristômenes se desespera e tenta a fuga, porém, frustrada. Não encontrando outra saída, tenta a precipitação de um enforcamento, também frustrado, mas que ao fracassar, pela corda com a qual fez o laço para o pescoço estar podre e arrebentar, faz com que ele caia sobre Sócrates despertando-o de seu sono. Assim, pegando o amigo, milagrosamente vivo, põe-se na estrada o mais rápido possível. Após uma boa caminhada, os dois se colocam a descansar e alimentar ao lado de uma leitosa fonte de água (LIVRO I), depois de ingerir boa quantidade de pão, Sócrates se precipita para beber um pouco de água da fonte, porém

> Não tinha ainda atingido com os lábios e superfície da água, quando profundo e largo ferimento se abriu em seu pescoço, a esponja bruscamente escapou, seguida de um filetezinho de sangue, e seu corpo inanimado iria de cabeça para diante dentro dágua se eu não o tivesse segurado por um pé e arrastado, com grande esforço, para a margem. Ali, depois de ter chorado, tanto quanto permitiam as circunstancias, o meu desgraçado companheiro, recobri-o de terra arenosa e deixei-o nas vizinhanças do rio para sempre. Ao mesmo tempo, cheio de inquietação e de temor por minha própria sorte, fugi, pelos caminhos mais afastados, para solidões impenetráveis. Como se tivesse a morte do homem na consciência, abandonei minha pátria e o meu lar. (LIVRO I, XIX)

Sendo executado, com o uso de magia, Sócrates tem sua vida aparentemente retirada, sendo sustentada depois apenas pelo artifício mágico empreendido por Méroe e Pância, de forma violenta. Porém, a vida de Aristômenes é poupada, com o intuito de amontoar um pouco de terra sobre o corpo do amigo (LIVRO I). Essa atitude, após ter explorado o corpo do semi-morto da maneira como lhes foram mais conveniente, poderia nos apontar um respeito pelo menos ao mais básico dos rituais funerários, até mesmo por parte das feiticeiras, figuras que são sinônimo de desordem, visto que o não cumprimento desses deveres poderia acarretar em desgraças futuras.

Assim, Aristômenes é deixado com vida para realizar o requisito mais básico entre os rituais funerários, depositar terra sobre o corpo. E efetivamente é a única coisa que ele consegue fazer, após o falecimento do amigo às margens da fonte de água: os rituais de caráter emocional como demonstra o trecho acima. Essa exigência de colocar terra sobre o corpo ocorria mesmo nos casos em que o defunto era cremado, antes da cremação era retirada uma fração do corpo, para essa ser enterrada mais tarde. Entretanto as pessoas tendiam a aspirar mais do que o básico e o sepultamento eficiente,

mesmo sendo realizado em uma escala modesta representava um custo considerável para a família enlutada, herdeiros ou sobrevivente (HOPE, 2004).

A não adequação para a eliminação dos mortos poderia trazer malefícios tanto para os vivos quanto para os mortos. Histórias de fantasmas e espíritos errantes eram frequentemente associados à execução incompleta ou incorreta dos rituais de sepultamento. Os espíritos daqueles que morriam de morte violenta ou prematuramente poderiam também ficar inquietos, a situação tendia a ser agravada pela falta de sepultura. Não se sabe ao certo até que ponto as pessoas acreditavam em fantasmas, espíritos errantes ou em vida após a morte, isso tudo ao que parece fazia parte do imaginário (WUNEMBURGER, 2007), constituindo assim a própria identidade social. O que podemos dizer é que diversos contos reforçam a ideia de respeito aos cadáveres, e esse respeito diz tanto da emoção e do carinho quanto dos aspectos religiosos (HOPE, 2004).

No contexto romano o corpo para além de definir identidades baseadas no sexo e na idade através da vestimenta, dos adornos e gestos poderia promover o individuo, assim a apresentação pública era fator essencial para definir como a identidade dos vivos era tanto construída como percebida, e isso não é imediatamente reduzido com a morte. O cadáver poderia manter um senso de "eu" e identidade. No entanto, como objeto inanimado, o corpo poderia se tornar um poderoso símbolo, podendo ser honrado e valoroso ou destituído e desprezado. Em outras palavras, as distinções da vida poderiam permear a morte, e o tratamento dado ao cadáver poderia ir em paralelo aspecto com a vida do morto (HOPE, 2004). Entretanto, a identidade do morto está aberta a manipulações, abusos e gerenciamentos de memória (RICOEUR, 2007) nas mãos de terceiros. Assim, o tratamento do corpo correspondia a um meio de ferir e humilhar ou honrar uns aos outros.

Em relação aos pobres, indigentes e abandonados esses tratamentos eram dado de forma impessoal e anônima. Bondade, respeito e honra não eram características dos sepultamentos desses. Os corpos indesejáveis ao serem retirados do público seguiam para valas comuns. Esse tratamento insuficiente, para muitos eram uma continuação das desgraças da vida, para outros o destino de seus corpos era reflexo de seus infortúnios em vida, ou mudança da fortuna, o que era mais dramático. Sócrates sofre essa mudança de fortuna, graças ao envolvimento com a feiticeira Méroe.

Por outro lado, entre os cidadãos mais abastados o funeral e o cemitério refletiam aspirações sociais e expectativas. O modo como o cadáver era tratado,

enterrado e comemorado era uma forma de negociar seu *status* e refletir ou construir identidades desejadas. A história que Telifrão contada a Lúcio, de perfil fantástico, na ocasião de uma comemoração ao deus riso na casa de Birrena, nos fornece uma narrativa pouco mais consistente para desmembrar essa questão de maneira mais efetiva. Precisando de dinheiro, Telifrão submete-se ao serviço de uma vigília fúnebre, do filho de um dos cidadãos principais (LIVRO II), para impedir o ataque furtivo de feiticeiras, que roubavam materiais, tais como os dentes do corpo, para realizarem suas práticas mágicas. Ao ser levado ao corpo que iria vigiar, ele percebe: "Encontrava-se ali o corpo coberto de linhos esplêndidos." (LIVRO II, XXIV). No dia seguinte, após ter concluído o trabalho, aparentemente de maneira bem sucedida ele acrescenta: "o morto já tinha saído da casa, depois dos prantos e dos chamados supremos. Segundo o uso tradicional, como se tratava de um membro da aristocracia, faziam-lhe funerais públicos e o cortejo passava através do fórum." (LIVRO II, XXVII).

O ponto alto de uma vida pública bem sucedida era uma morte honrosa seguida de um funeral público adequado. Visando honrar a memória do falecido, o cadáver encontrava-se no centro de uma série de eventos, o corpo desfilava pelas ruas e seguia rumo ao Fórum, centro social e político da cidade. Ali era apresentado e muitas vezes sustentado enquanto um membro masculino de sua família fazia um elogio em sua honra. Entre os que escutavam, incluíam-se pessoas trajadas como os antepassados do morto, vestindo máscaras que invocavam de maneira representativa a presença desses já falecidos. O cerimonial marcava assim, a passagem do indivíduo, simultaneamente, enfatizando a continuidade da família do passado e do presente, afirmando também os direitos de seus herdeiros e sucessores (HOPE, 2004).

A última grande recompensa terrena era um funeral e sepultamento financiados com recursos públicos, reservado durante o império, a quem servil bem a sua comunidade. Uma vez o cadáver eliminado, poderia ser erguido um monumento para marcar e proteger o local da sepultura. Isso dava mais prestigio ao individuo do que ter uma estatua de bronze, financiada também com recursos públicos. Como outra forma de distinção, através de uma permissão especial, o corpo poderia ser sepultado perto ou dentro de uma área chamada *pomerium*, "tira" sagrada que rodeava as paredes de um acordo marcando a área em que nenhum corpo poderia ser enterrado. Ao analisar os vestígios arqueológicos da cidade de Pompéia, Hope nos apresenta alguns casos em que a área dentro ou próximo ao *pomerium* foram utilizados para fins funerários (HOPE, 2004).

Assim, percebemos que o cemitério e o Fórum poderia se tornar um lugar para o público competir, onde os ritos normativos eram adotados, adaptados, elaborados, exagerados ou negados, apesar de o cemitério nem sempre refletir ou promover a hierarquia social, sendo mais uma arena possível de confronto. Desse modo, a identidade e o *status* social só poderiam ser negociados através do contato com o olhar do público, o outro. Sobre essa ideia a cerca do olhar, Vernant pode nos auxiliar, mesmo que ele trate do caso grego.

> é sempre olhando, não dentro de si mas para fora, para um ser diferente que lhe é aparentado, que nossa alma pode se conhecer, como o olho pode ver no exterior um objeto iluminado por causa da afinidade natural entre o olhar e a luz, da similitude completa entre o que vê e o que é visto. Assim, o que somos, nosso rosto e nossa alma, nós o vemos e conhecemos ao olhar o outro e a alma do outro. A identidade de cada um se revela no contato com o outro, pelo cruzamento dos olhares e pela troca de palavras (VERNANT, 2002: 184).

No desfecho da narrativa de Telifrão, o irmão do morto, no ritual público do enterro, acusa a cunhada adúltera de assassinar seu ente querido, assim, o próprio cadáver, por intermédio da magia, confirma tal crime, contando ainda acerca da mutilação do corpo do guardião pelas feiticeiras, durante a noite, metamorfoseadas de doninhas. Chamando pelo nome do morto, elas atraem Telifrão, perdendo orelhas e nariz, substituídos por copias de cera. Essa narrativa, assim como a de Aristômenes, possui caráter fantástico, porém, alude a realidade vivida de Apuleio. Omena, ao falar da questão coloca:

> Como bem pontua Bronislaw Baczko: Através destes imaginários sociais, uma coletividade designa sua identidade elaborando uma representação de si; marca a distribuição dos papéis e das posições sociais; expressa e impõe certas crenças comuns, determinando especialmente modelos formadores como o do 'chefe' (OMENA, 2009: 103).

Percebemos, contudo, na narrativa apuleiana, a presença de dois tipos de magia, uma ligada à ação das feiticeiras, que sempre visam o interesse particular, a outra se liga a religião, a ação dos deuses (OMENA, 2009). Assim, essa magia que visa a interesses pessoais, mal vista tanto pelo governo quanto pela sociedade, por submeter a todos através medo, fascina Lúcio desde o relato de Aristômenes, e a narrativa desse e de Telifrão poderiam ser entendidas como anunciadoras das desventuras que essa causaria na vida do jovem viajante.

O Asno de Ouro se constitui por uma representação realista marcada frequentemente pela degradação humana. Trata-se de uma narrativa de aventura, de costumes (BAKHTIN, 1999), e de confissão (MOTTA, 2006), visto que o asno-Lúcio narra suas próprias desventuras, criando assim um espaço de representação ante-heróica, onde os tipos sociais e morais do mundo real são caricaturados. O protagonista passa por três processos de degradação: primeiro ao se submeter à escrava Fótis, para se aproximar da magia, segundo na sua nova condição entre homem e asno, "animal que encarna os maus instintos, as forças maléficas, a sensualidade desenfreada." (MINOIS, 2003: 95). Por último degrada-se ao se submeter a deusas Ísis, para retornar a forma humana (OMENA & SILVA, 2010).

Ao se metamorfosear em asno, Lúcio sofre, associado a esse processo de degradação, o que chamamos aqui de morte simbólica, essa se explicita quase que em um processo gradativo no decorrer da obra, iniciando-se no momento em que acidentalmente o pote de unguento é trocado e a estrutura anatômica da personagem se altera contrariando suas expectativas.

> De penugem, no entanto, ou de penas, nenhum sinal. Porém, meus pêlos se espessaram em crinas, minha pelo macia endureceu como couro, a extremidade de minhas mãos perdeu a divisão dos dedos, que se ajuntaram todos num casco único; da parte mais baixa da minha espinha, saiu uma longa cauda. Eis-me agora com uma cara monstruosa, uma boca que se alonga, ventas largas, lábios pendentes. Minha orelha, por sua vez, cresceram desmedidamente e se eriçaram de pêlos. (LIVRO III, XXIV)

Ao perceber o engano de Fótis, a escrava que o estava ajudando, e a qual ele se submete, Lúcio tenta maldizê-la, pois a metamorfose em asno anulou sua fisicalidade original, impossibilitando-o assim de qualquer forma de comunicação humana: "Não tendo, no entanto, de homem, nem voz nem o gesto, não podendo fazer mais, eu estava reduzido a olhá-la de através, com a beiçola pendurada, os olhos úmidos, dirigindo-lhe mudas censuras." (LIVRO III, XXV). Essa nova condição afasta Lúcio do exercício da cidadania, assim como dos cerimoniais públicos e das relações de pessoalidade, essenciais para o benefício político e material (OMENA & SILVA. 2010).

Se retrocedermos um pouco na narrativa, para o inicio do Livro III, momento em que o personagem Lúcio esta sendo julgado pelo assassinato de três homens que supostamente cometera, podemos perceber melhor a importância da linguagem na sociedade romana:

> Não ignoro quanto é difícil, em presença dos cadáveres de três cidadãos, o acusado das mortes persuadir de sua inocência uma assembléia tão grande, mesmo se disser a verdade; mesmo se, sem dificuldade, explicar-se. Entretanto, se vossa bondade, cidadãos, me conceder um momento de atenção, não terei muito trabalho em demostrar que não se trata de uma falta que põe minha cabeça em perigo, mas foi o efeito fortuito de um indignação razoável que me trouxe o labéu do odioso crime de que não sou culpado. (LIVRO III, IV)

E ele completa dizendo: "Acabando este discurso, minhas lagrimas jorraram de novo. Estendendo as mãos num gesto de suplica, implorei tristemente pela publica misericórdia a uns, por suas afeições mais caras a outros." (LIVRO III, IV). Percebemos que, ao tomar a palavra para si, proferindo sua defesa e associando-a a uma linguagem corporal condizente, Lúcio inserido no jogo de poder social, tendo nas mãos a possibilidade de alterar sua fortuna. Afirmando sua identidade e sua cidadania, através do embate com outros. Segundo Vernant, "em uma sociedade de confronto na qual, para ser reconhecido, é preciso derrotar os rivais em uma competição incessante pela glória, cada indivíduo está colocado sob o olhar do outro, cada individuo existe por este olhar" (VERNANT, 2002: 407).

A metamorfose em asno faz com que Lúcio perca sua fisicalidade original, perdendo também a possibilidade de comunicação dentro da sociedade de combate que se constituía o universo romano no qual ele era inserido, pois, a limitação física que sua nova condição lhe proporciona faz com que ele não execute de forma ativa os códigos de comunicação, pois, não consegue exercer sua cidadania. Omena e Silva, ao discutirem a questão tendo como respaldo as afirmativas de Aristóteles, nos diz que aquele que não consegue viver em comunidade, ou não o faz questão de fazê-lo, não tem nada haver com a cidade, de modo que é uma besta selvagem ou um deus (OMENA & SILVA, 2010: 05). Assim, a morte física que gerou uma morte da "linguagem padrão" conduz Lucio à degradação, e de maneira quase inevitável, nesse primeiro momento, a uma morte social.

Lúcio perde o controle sobre si, como é explicitado no trecho seguinte:

> Apoderaram-se de mim, amarraram-me a uma argola com uma forte correia, recomeçaram a bater-me, e teriam certamente acabado comigo, se meus intestinos, contraídos pela dor das pancadas, estufados de legumes crus, como sabeis, e afligidos por uma forte diarréia, não tivessem esguichado um jato de excremento, de maneira que, aspergidos pelo líquido infecto, ou afugentados pelo seu odor

> repugnante, escapuliram, deixando-me com o lombo quebrado. (LIVRO IV, III).

Entretanto, é perceptível que essa "morte simbólica" que aflige Lúcio não atinja sua inteligência ou sua capacidade de reflexão. "A sorte do meu desventurado camarada me fez refletir" (LIVRO IV,V) Essa capacidade, o caracteriza, segundo Omena como homem-fronteira (OMENA & SILVA, 2004). Essa capacidade analítica que não se perde com a metamorfose é também, ao nosso ver, ao lado da providencial ajuda da deusa Ísis, o que irá possibilitar uma reviravolta em sua sorte.

Depois de inúmeras venturas e desventuras em sua jornada, o personagem vê sua sorte muda, já no Livro X da obra, ao ser vendido para dois irmãos, escravos de um importante senhor muito rico, um pasteleiro e confeiteiro, o outro um exímio cozinheiro. A gula que o animal demonstrou, atraiu a atenção dos irmãos que "quebravam a cabeça para imaginar coisas de que um burro tivesse maior horror a fim de experimentarem até que ponto eu estava civilizado" (LIVRO X, XVI). Tal atitude chamou a atenção do Senhor, que fascinado com as atitudes do animal resolveu testá-lo, lhe pondo para beber um copo de vinho com mel. "Mas eu, sem o menor embaraço, tranquilamente e com graça, arredondei o beiço inferior, a modo de língua, e esvaziei de um trago o cálice de grandes dimensões." (LIVRO X, XVI) Lúcio assim, cai nas graças do Senhor.

> Esse homem me tratava com muita humanidade [...] imaginava fazer das minhas habilidades uma fonte de divertimento. Primeiro me ensinou a me pôr perfeitamente à mesa, apoiando-me sobre o cotovelo; depois, a lutar e dançar, levantando no ar as patas da frente; e, prodígio feito entre todos para espantar, a responder à palavra com gestos apropriados: puxar a cabeça para trás significava recusa; incliná-la para a frente, aquiescência. Quando eu tinha sede, olhava para o lado do escanção e piscava os olhos, alternativamente, para pedir bebidas. Aprendizagem muito fácil para mim, como sabeis. Eu o teria feito mesmo sem que me mostrassem, mas temia que, se acontecesse comportar-me como homem, sem as lições de um mestre, vissem em mim um presságio de desgraça, e que, me cortassem o pescoço e me atirassem como pasto suculento aos abutres. (LIVRO X, XVII)

Para Bérgson (2007), o riso só pode acontecer naquilo que é humano, ou carrega trações de humanidade, essa é uma de suas pré-condições. Dessa forma, é a gula, excesso tipicamente humano, a responsável, de forma cômica, pela afeição dos irmãos pelo infeliz animal, dando inicio assim a um processo de humanização. Os trechos acima nos indicam também que é graças à capacidade reflexiva de julgar os

limites de suas atitudes e tal processo de humanização, mesmo estando ainda na condição de burro, e a criação de códigos de comunicação compartilhado, que permite a Lúcio mudar sua sorte.

Sua redenção plena, porém, só é alcançada após um sonho revelador concedido pela Deusa Isis, que mostrava a ele onde e quando conseguir as tais rosas capazes de livrá-lo daquele suplicio. E assim:

> Minha deformada aparência de besta se desfez imediatamente. Primeiro, foi-se o pêlo esquálido; depois, o couro espesso se amaciou e o ventre obeso abaixou; na planta dos meus pés, os cascos deixaram emergir os dedos: minhas mãos não eram mais patas, e se prestavam às funções de membro superior: meu longo pescoço chegou aos seus justos limites; meu rosto e minha cabeça se arredondaram, minhas orelhas enormes voltaram à sua pequenez primeira; meus dentes, semelhantes a tijolos, reduziram-se às proporções humanas; e a cauda, sobretudo, que me cruciava desapareceu! (LIVRO XI, XIII)

O desimpedimento do corpo de Lúcio, agora em sua forma original, possibilita também um renascimento de sua linguagem, a muito perdida. “Não sabia o que dizer de preferência, nem por onde começar. Como entrar na matéria, com a voz que me era devolvida. Com que palavras de feliz augúrio saudar o renascimento em mim da linguagem.” (LIVRO XI, XIV) Assim, ele passa a poder integrar novamente o meio do qual a muito havia sido excluído. Porém, a adesão do personagem Lúcio aos cultos e mistérios da deusa Ísis, equivaleu ao que aqui nós chamamos de Morte Voluntária, visto que, para ser iniciado em tal culto ele deveria abdicar das práticas de sua vida anterior aos infortúnios que ele passou na pele de asno. “O próprio ato de iniciação representa uma morte voluntaria e uma salvação obtida pela graça.” (LIVRO XI, XXI) Essa iniciação aos cultos, compreendida por nós como uma morte voluntária, vem em oposição à metamorfose sofrida por Lúcio, já que esta seria uma morte simbólica e involuntária, fruto de um funesto engano da escrava Fótis. Entretanto, ambas constituem-se como processos de degradação e a redenção de uma através da outra nos diz do caráter irônico da obra. Portanto, a degradação humana, esse traço típico do romance de caráter realista é expressa no decorrer de todo esse processo de humanização de Lúcio, que se inicia como motivador de excesso, gula, e se efetiva na submissão da personagem a deusa Ísis.

Conclusão:

Apuleio nos possibilita perceber valores morais, assim como identificar identidades individuais e sociais, através do tratamento de corpos e dos espaços de sepultamento. Sócrates teve uma reviravolta em sua fortuna em decorrência das ações de Méroe, alterando sua condição social, morre assim de maneira infame, tendo o mínimo de honras funerárias adequadas graças a seu amigo Aristômenes (LIVRO I). Em oposição a isso, temos a narrativa de Telifrão (LIVRO II), que diz das cerimônias e honras funerárias de um aristocrata, espaço para o jogo e a negociação de *status* e identidades, tanto do morto, como de sua família. As identidades são expressas também através da relação dos indivíduos com os mortos e suas crenças em magia e feiticeiras no decorrer da narrativa.

Bibliografia:

Fonte Documental

APULEIO, Lúcio. *O asno de Ouro*. Trad. de Ruth Guimarães. Rio de Janeiro: Ediouro, s. d.

Bibliografia Contemporânea

ARIÈS, Philippe. História da Morte no Ocidente. São Paulo: Ediouro, 2001.
BAKHTIN, Mikhail, *A cultura popular na Idade Média e no Renascimento*: o contexto de François Rabelais, São Paulo, Hucitec, Brasília, Ed. UnB, 1999.
BERGSON, Henri. O Riso: Ensaio sobre a Significação da Comicidade. Trad. Ivone Castilho Benedetti. São Paulo: Martins Fonte, 2007.
BOLDE, John. Dealing With the Dead: Undertakers, executioners and potter's fields in ancient Rome. In: Death and Disease in the Ancient City. New York and London: Routledge, 2004.
BOURDIEU, Pierre. *O Poder Simbólico*. Trad. de F. Tomaz. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 1998.
GINZBURG, Carlos. Sinais: Raízes de um paradigma indiciário. In: *Mitos, emblemas, sinais*; morfologia e história. São Paulo: Companhia das Letras, 1989.
HOPE, Valerie M. Contempt and Respect: The treatment of the corpse in ancient Rome. In: Death and Disease in the Ancient City. New York and London: Routledge, 2004.
MARROU, Henri-Irenée. Condições e Meios da Compreensão. *Sobre o Conhecimento Histórico*. Rio de Janeiro: Zahar Editora, 1978.
MINOIS, Georges. História do riso e do escárnio. São Paulo: UNESP, 2003.
MOTTA, Sérgio Vicente, *O engenho da narrativa e sua árvore genealógica*. Das origens a Graciliano Ramos e Guimarães Rosa, São Paulo, UNESP, 2006.
OMENA, Luciane Munhoz de, A magia como exercício de poder entre as mulheres fictícias nas Metamorfoses, de Lúcio Apuleio, *Caderno Espaço Feminino*, Uberlândia, UFU, v. 21, n. 1, jan-jul., pp. 99-115, 2009.

_____. SILVA, Suiany Bueno. Memória de Viajante: As faces da Escravidão no Mediterrâneo Antigo (Século II d.C.). *Praesentia*, n.10, pp. 1-13, 2010.
PESAVENTO, Sandra Jatahy. *História & História Cultural*. Belo Horizonte: Autêntica, 2008.
PROST, Antoine. Doze Lições Sobre a História. Trad. Guilherme João de Freitas Teixeira. Belo Horizonte: Autêntica Editora, 2012.
RICOEUR, Paul. A memória exercitada: uso e abuso. *A memória, a história, o esquecimento*. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2007.
VERNANT, Jean-Pierre, *Entre Mito e Política*, São Paulo, EDUSP, 2002.
YATES, Frances A. As três fontes latinas da arte clássica da memória. In: *A arte da memória*. Campinas, SP: Unicamp, 2007.
WUNENBURGER, Jean-Jacques. *O imaginário*. Trad. Maria Stela Gonçalves. Rio de Janeiro: Loyola, 2007.

Morfometria de frutos e sementes em dois morfos de *Butia purpuracens* Glassman

James Dean Leal Rocha[1] & Frederico Augusto Guimarães Guilherme[2]

Infos

1. Aluno PIBIC/CNPq - Universidade Federal de Goiás - Campus Jataí - Unidade Jatobá (jamesdeanleal@hotmail.com)

2. Professor Orientador - Universidade Federal de Goiás - Campus Jataí - Unidade Jatobá (fredericoagg@gmail.com)

Palavras Chave

Cerrado, Arecaceae, Variação morfométrica, Palmeira.

Resumo: *Butia purpurascens* Glassman é uma espécie endêmica do sudoeste de Goiás, sendo listada como uma espécie com risco de extinção. Estudos sobre a morfometria de órgãos reprodutivos são importantes para estudos de taxonomia e associações genéticas e fenotípicas. Frente a isto o presente estudo teve como objetivo determinar comparativamente as características morfométricas de frutos e sementes de dois morfos (amarelo e vinho) e quatro subpopulações da espécie localizadas no município de Jataí, GO. Para tal estudos foram coletados 1600 frutos, 400 em cada área de coleta, abrangendo ambos os morfos. As características avaliadas foram: o diâmetro longitudinal, o diâmetro equatorial, o peso total do fruto e do pirênio, a massa fresca e seca da polpa , a umidade da polpa, e a percentagem de polpa. Observaram-se correlações positivas e significativas da massa e diâmetros do fruto com a maioria das características avaliadas, o que sugere que frutos de tamanho e massa maiores possuem maior largura. O pirênio respondeu positivamente aos diâmetros de largura e comprimento do fruto e dele próprio. Também se observou maior distinção nas características morfométricas quando comparadas subpopulações do que morfos. Isso indica que os caracteres morfométricos sofrem mais influência do ambiente do que do genótipo, mesmo as áreas de coleta estando muito próximas. Isso pode estar associado a possíveis graus de antropização, como a constante fragmentação de áreas naturais no sudoeste goiano.

* Revisado pelo Orientador

Introdução

A caracterização morfométrica dos frutos e sementes tem importância para a taxonomia e identificação de variedades e para verificar a ocorrência de variações fenotípicas e nas associações com os fatores ambientais e genéticos (CARDOSO e LOMÔNACO, 2003; SILVA et. al., 2007). Além disso, pode viabilizar pesquisas voltadas à propagação vegetal e produção de frutos, tendo em vista que estudos sobre produção de germoplasma são importantes frente à rápida degradação com que os ecossistemas naturais mundiais vêm sendo submetidos (Walter e Cavalcanti 2005). Tal degradação afeta especialmente espécies com distribuição restrita, como em muitas áreas no bioma Cerrado.

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, sendo superado em área apenas pela Amazônia (Klink & Machado 2005). A biodiversidade do Cerrado é alta, porém geralmente subestimada. O número de plantas vasculares é superior àquele encontrado na maioria das regiões do mundo: plantas herbáceas, arbustivas, arbóreas e cipós somam mais de 7.000 espécies (Mendonça et. al., 2008). Quarenta e quatro por cento da flora é endêmica e, nesse sentido, o Cerrado é a mais diversificada savana tropical do mundo (Klink & Machado 2005). Partindo da imensa variedade de plantas que podem ser encontradas no Cerrado, a familia Arecaceae faz-se presente, sendo que o genero *Butia* é um importante representante dessa familia.

A família Arecaceae abrange cerca de 3.000 espécies e 200 gêneros distribuídos de forma representativa nos trópicos e subtrópicos (Uhl & Dransfield, 1987), sendo registrados 132 espécies e 29 gêneros para o Brasil (Lorenzi et. al., 2010). *Butia* apresenta 18 espécies sul americanas (Soares & Longhi, 2011), sendo quatro delas ocorrendo em áreas abertas do Planalto Central brasileiro (Lorenzi et. al., 2010). Uma das espécies desse gênero (*Butia purpurascens* Glassman) é endêmica da região do sudoeste do Estado de Goiás, com centro de distribuição no município de Jataí, que é de importante uso econômico nessas áreas, tendo suas folhas utilizadas para confecção de vassouras e frutos utilizados na culinária local, além do seu efeito paisagístico.

Observações de campo e estudos preliminares (FAG Guilherme, com. pess.) têm mostrado que *B. purpurascens* apresenta indivíduos com variação na tonalidade de eixo da inflorescência, estruturas florais e frutos, variando de tons amarelos a vináceos (Figura 1A, B e C). Esses dois extremos têm sido tratados como morfos distintos e é importante saber até que ponto essas variações limitam a reprodução sexuada da espécie. Um estudo recente (Wendt et. al., 2011) mostrou que variações na tonalidade de estruturas reprodutivas de *Euterpe*, um gênero da família Arecaceae, pode indicar padrões fenológicos distintos e futuro

isolamento reprodutivo entre morfos. Logo estudos em diversos aspectos devem ser realizados para verificação do impacto de extração de seus componentes comerciais ou mesmo do impacto de culturas agropecuárias sobre a espécie. Assim, estudos empíricos sobre a morfometria reprodutiva de frutos e sementes podem embasar futuros estudos.

As palmeiras são componentes importantes na vegetação do Cerrado (Lima et. al., 2003), entretanto poucos estudos morfométricos de frutos e sementes foram realizados até o momento (Moura et. al. 2010; Pedron et. al. 2004; Nascimento et. al. 2007). Por outro lado, existem estudos sobre a biologia reprodutiva com o gênero *Butia* como Moura et. al. (2010), Guilherme et. al. (2013), Fonseca et. al. (2007), Nascimento et. Al. (2007), Pedron et. al. (2004) e Reitz (1974). Segundo Wendt et. al. (2011) estudos relacionados à componentes reprodutivos são importantes para reconhecer limites biológicos, tais como o isolamento reprodutivo e divergências genéticas. Assim, critérios morfológicos são ferramentas essenciais para reconhecer limites entre espécies, detectando também interações do genótipo com o ambiente.

Estudos de procedência detectam a variabilidade genética dentro da espécie, as relações entre esta variabilidade e os fatores do ambiente e também as reações das diferentes populações, quando transferidas para outro ambiente (Ferreira e Araújo, 1981). Podem-se distinguir, na atividade florestal, vários níveis de interação genótipo × ambiente, principalmente devido à constituição genética (Botezelli et al., 2000). Existem efeitos de procedências × ambientes, espécies × ambientes e progênies × ambientes, sendo que quando se avaliam procedências ou progênies, as interações são fáceis de se detectar já que se refletem em pequenas variações dos ambientes (Quijada, 1980). Segundo Botezelli et. al. (2006) a importância de se trabalhar com frutos e sementes oriundos de diferentes localidades geográficas consiste em constatar as diferenças fenotípicas determinadas pelas variações ambientais. Portanto, mesmo pertencendo a uma só espécie, em cada localidade, as sementes estão sujeitas a variações ambientais que acabam por ressaltar certos aspectos de sua composição genética, ou seja, o meio pode ser adequado para expressão de determinadas características que, em outro local, não se manifestariam (Botezelli et. al. 2006). Por esse motivo o presente trabalho também comparou características morfométricas entre as subpopulações onde foram coletados frutos, visando verificar se existem diferenças na espécie entre as subpopulações, que podem estar relacionadas com caracteres genéticos e/ou fenológicos.

Objetivos

Como a variação de cores das estruturas reprodutivas dos morfos amarelo e vinho podem gerar dúvidas quanto a real identidade de *B. purpurascens*, esse estudo teve como objetivos:

1- Determinar comparativamente as características morfométricas de frutos e sementes dos dois morfos da espécie em quatro subpopulações localizadas no município de Jataí, GO.
2- Comparar as quatro subpopulações, visando identificar possíveis diferenças entre as áreas de coleta.
3- Possibilitar a geração de informações sobre as potencialidades produtivas e econômicas de *B. purpurascens*.

Material e Métodos

Descrição da espécie

A palmeira *Butia purpurascens* Glassman (*B. purpurascens)* (Figura 1) é conhecida popularmente como butiá, palmeira-jataí ou coqueiro-de-vassoura. Ocorre em vários municípios do sudoeste do Estado de Goiás, especialmente no município de Jataí. As plantas adultas têm estipe único e exposto, em geral com altura de 3-4 m, embora alguns indivíduos possam chegar a 7 m. A espécie tem folhas fortemente arqueadas e suas raques não contêm espinhos. A planta é monóica, com inflorescências contendo flores masculinas e femininas. Os frutos da palmeira são do tipo drupa, de formato ovóide, com mesocarpo suculento e aromático. Possui o endocarpo denso e duro contendo uma semente e apresentando três poros de germinação, e podem ser de cor amarela ou arroxeada. O período de frutificação ocorre de outubro a dezembro (Guilherme et. al., 2013). Ao longo de sua área de abrangência, suas folhas são intensamente utilizadas para confecção de vassouras, fornecendo fonte de renda alternativa para várias famílias com baixo poder aquisitivo, especialmente em Jataí (Guilherme e Oliveira, 2011), município com aproximadamente 90.000 habitantes. A espécie possui características morfológicas que proporcionam grande efeito ornamental, o que poderá contribuir para a salvação da espécie, atualmente ameaçada de extinção. Esta ameaça ocorre por dois motivos essenciais, segundo Guilherme e Oliveira (2011): 1. a espécie possui estreita faixa de distribuição, limitada a regiões estritas do sudoeste goiano; e 2. destruição massiva do seu habitat natural em detrimento da agropecuária (figura 1D).

Locais de coleta

A coleta dos frutos para a morfometria foi realizada em quatro áreas ou subpopulações (localizadas em quatro áreas distintas) no municipio de Jataí, sudoeste do Estado de Goiás, que se localiza entre as coordenadas geográficas: 17º 19' 00"e 18º 32' 00" S e 51º 12' 00" e 52º 16' 00" W. As quatro áreas de coleta se encontram em propriedades particulares, em locais antes ocupados por cerrado sentido restrito, mas que atualmente se tornaram áreas de pastagem, restando árvores isoladas nativas e também muitos indivíduos de *Butia purpurascens*: área A (17° 51'S e 51° 40'O), área B (17° 55'S e 51° 42' O), área C (17° 49'S e 51° 45'O) e área D (17° 59'S e 51° 48'O). Por estarem a uma distância máxima de 22 km, as áreas apresentam a mesma condição climática presente no município. Segundo Mariano & Scopel (2001), o clima regional é classificado como Awa, tropical de savana, mesotérmico, com chuva no verão e seca no inverno, segundo a classificação climática de Köppen. Dezembro e janeiro são os meses com maiores frequências de chuvas, enquanto nos meses de junho a agosto há as menores intensidades pluviométricas. A região de Jataí possui uma amplitude pluviométrica de 1600-1700 mm, com médias anuais 1650 mm (Mariano & Scopel, 2001).

A região apresenta pedologia caracterizada por Latossolos Vermelho- Escuros, os quais ocorrem sobre a zona de contato entre a cobertura terciária e o arenito do Grupo Bauru; e Latossolos Roxos, os quais ocorrem nas proximidades do Rio Claro, principal curso d'água da região (Moragas, 2005).

Amostragem

Foram utilizados frutos maduros de *B. purpuracens*, da safra de 2012 (outubro a dezembro). Em cada área foram selecionados na população 20 indivíduos, compreendendo ambos os morfos, os quais tiveram, cada um, entre 20-25 frutos maduros, coletados aleatoriamente para a avaliação morfométrica (Tabela 1). Os frutos foram colhidos manualmente ou com auxílio de podão (figura 1D), diretamente das plantas, selecionados, descartando aqueles que apresentavam alguma lesão ou injuria. Após a coleta, os mesmos foram acondicionados em sacos plásticos, um para cada individuo, e identificados por morfotipo do fruto, amarelo, vinho, e indeterminado (Figura 1A, B e E) visando evitar perda de umidade. O morfotipo indeterminado foi designado pelo fato de existirem alguns indivíduos com frutos possuindo características de coloração intermediaria aos dois morfos (amarelo e vinho, ver figura 1C). Em seguida, no Laboratório de Fisiologia Vegetal e Sementes da Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, tomou-se de forma aleatória uma

amostra de 20 frutos para cada individuo. Dessa forma, considerando-se quatro áreas, 20 indivíduos por área e 20 frutos por planta, foram avaliados um total de 1600 frutos (Tabela 1).

De tais amostras foram determinadas a média das seguintes características: o diâmetro longitudinal e o diâmetro equatorial dos frutos, o peso total do fruto, a massa fresca e seca da polpa (epicarpo + mesocarpo), a umidade da polpa, além da percentagem de polpa do fruto. Com o auxílio de um paquímetro digital (Figura 1F), foram determinados os diâmetros longitudinal e equatorial. Os dados de massa fresca dos frutos, da polpa e da semente foram determinados utilizando-se balança eletrônica (0,001 g) (Figura 1G). Essas determinações seguiram o protocolo utilizado por Moura et. al. (2010). Após as medidas do fruto inteiro obtidas, esses foram despolpados, mensurando-se a massa fresca da polpa, além da obtenção das medidas do pirênio (endocarpo+semente) (Figura 1G e H). A partir daí, as polpas foram levadas para a estufa de circulação fechada a 65 °C durante 48 horas, para determinação da massa seca média de cada individuo.

Tabela 1: Número de indivíduos dos morfos amarelo e vinho coletados por área de estudo no município de Jataí, GO.

Áreas de estudo	**Amarelo**	**Vinho**	**Indeterminado**
A	3	11	6
B	12	7	1
C	9	10	1
D	13	4	3
Total	37 (740 frutos)	32 (640 frutos)	11 (220 frutos)

Análise dos dados

Os dados foram processados por meio de planilha eletrônica do Excel. Para todas as sementes, independente do morfo ou subpopulações, as variáveis morfométricas foram submetidas à análise de correlação (Zar 1996). As análises estatísticas de variância (ANOVA) de um critério, foram realizadas para comparar médias de peso e tamanho do fruto e do pirênio, afim de detectar diferenças significativas entre morfos e por cada subpopulação. O teste a posteriori de Tukey foi realizado para diferenças significativas ao nível de significância de 5%. A percentagem de umidade da polpa foi obtida pela diferença entre massa úmida menos massa seca, dividida pela massa úmida. Todos os testes de correlação, análises de variâncias e o teste de Tukey foram realizados por meio do programa eletrônico BioEstat 5.0 (Ayres*et al*., 2007),

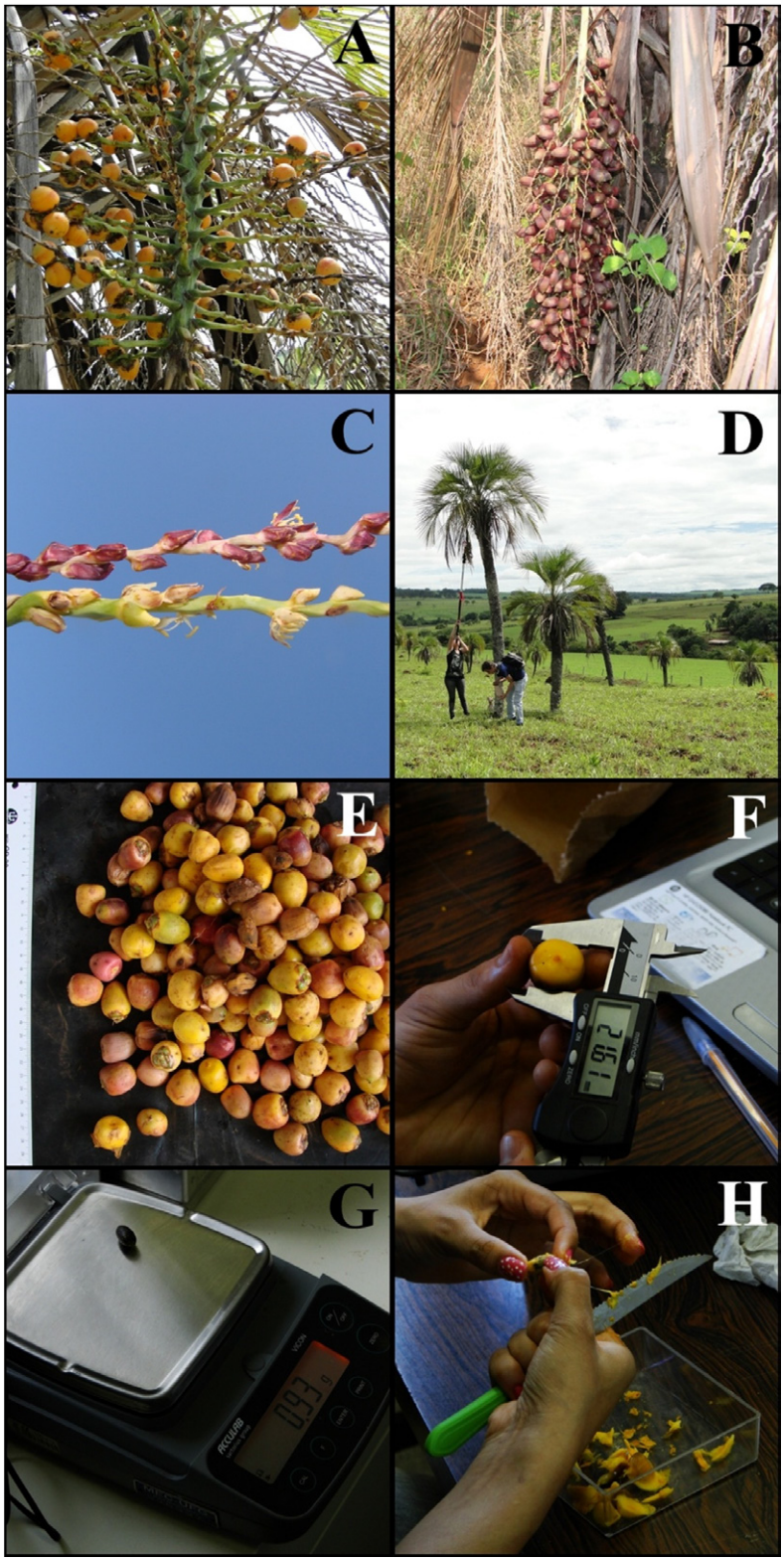


Figura 1. A: Frutos do morfo amarelo; B: Frutos do morfo vinho; C: Flores dos morfos amarelo e vinho; D: Coleta dos frutos e vista de área antropizada; E: Frutos maduros evidenciando diferentes tonalidades que vão do amarelo ao vinho; F: Medição do fruto com paquímetro digital; G: Pesagem do pirênio com balança digital; H: Processo de retirada da polpa pra obtenção do pirênio.

Resultados e Discussão

Exceto para a comparação entre o comprimento do fruto e do pirênio, todas as correlações exibiram valores positivos, a maioria significativa (Tabela 2). Observou-se que quanto maior o peso do fruto maior a sua largura, maior o peso a largura e o comprimento do pirênio e também a porcentagem de polpa. As comparações também indicaram que o comprimento do fruto, peso, largura e comprimento do pirênio e pesos de massa seca e fresca respondem positivamente a largura do fruto. O peso do pirênio foi significativamente positivo com quase todos os valores, menos com o comprimento do fruto. Portanto, os resultados indicam que quanto mais pesado é o fruto, maior em tamanho é o mesmo, também mostram que quanto maior o fruto maior o pirênio. A percentagem de umidade correlacionou positivamente aos valores de peso e largura do fruto e ao peso e largura do pirênio. Isso indica que o modo do fruto ganhar umidade é pelo peso e aumento de diâmetro equatorial do fruto e pirênio.

Observaram-se correlações positivas e significativas da massa e diâmetros do fruto com a maioria das características avaliadas, o que sugere que frutos de tamanho e massa maiores possuem tanto polpa como o pirênio mais pesados assim como Moura et. al. (2010) conclui em seu trabalho. Outros estudos que correlacionaram os valores de peso e diâmetros do fruto de outras espécies de palmeiras exibiram correlações positivas (Nascimento et. al. 2007; Moura et. al. 2010), em geral semelhantes ao do presente estudo.

Em média os frutos de *B. purpurascens* apresentaram peso de 6,41 ± 1,87 gramas (g), e tamanho de 20,63 ± 2,55 milímetros (mm) de largura e 25,82 ± 2,29 mm de comprimento. O pirênio teve em média 1,13 ± 0,58 g de peso, 10,06 ± 1,24 mm de largura e 18,99 ± 1,92 mm de comprimento. Quanto a polpa, que corresponde a soma dos 20 frutos de cada individuo, apresentou média de 101, 51 ± 27,34 gramas de peso de massa fresca, e 23,24 ± 5,61 gramas de massa seca, a percentagem de umidade presente na polpa foi de 76,68 ± 3,35%. Avaliações morfométricas de *B. capitata* apresentou média de 92,77% de umidade de polpa (Moura et. al. 2010), valores maiores do que o registrado para *B. purpurascens*.

Com relação ao peso do fruto e do pirênio comparando morfos, apenas o fruto apresentou diferenças significativas possuindo uma variação de 8,8% no peso. O morfo amarelo apresentou o maior peso, 6,70 ± 1,87 g (Tabela 3), sendo significativamente maior que o morfo vinho, que apresentou um peso médio de 6,11 ± 1,84 g. Indivíduos com

características intermediárias entre os morfos amarelo e vinho apresentaram um peso médio de 6,32 ± 1,85 g.

Para parâmetros de comprimento, largura e peso do fruto, o morfo amarelo registrou valores médios maiores do que o morfo vinho e intermediário. A variação no comprimento do fruto foi de 3,92%, e o morfo amarelo apresentou comprimento médio de 26,09 ± 2,37 mm, seguido pelo morfo intermediário 25,91 ± 2,58 mm que apresentou medida semelhante ao morfo vinho 25,47 ± 2,04. Quanto à largura que variou 4,14% entre os morfos, novamente o morfo amarelo teve maior valor (21,03 ± 2,60 mm), seguido pelo morfo vinho (20,32 ± 2,45mm), que também foi semelhante ao morfo intermediário (20,16 ± 2,44) (Tabela 3). Para as medidas do pirênio quando comparados os morfos, o peso não obteve diferença significativa. Quanto a largura do pirênio o morfo vinho foi significantemente maior, com uma variação de 7,46%. Para o comprimento o pirênio do morfo Amarelo se apresentou maior, neste caso a variação entre os morfos foi de 1,56%.

Para as medidas de massa fresca e seca não houve diferença significativa entre os morfos, embora as massas do morfo amarelo tenham sido maiores que o morfo intermediário e vinho, respectivamente. A percentagem de umidade entre os morfos não foram significativamente diferentes (Tabela 3).

Quase todas as comparações entre as áreas mostraram diferenças significativas, sendo que apenas o comprimento do fruto não mostrou diferenças significativas (Tabela 4) A subpopulação D se mostrou significantemente maior em quase todos os parâmetros, menos para a largura do pirênio. O peso dos frutos variou 26,73% entre as áreas, a largura 9,65%, e o comprimento não foi significativamente diferente. O peso do pirênio variou 16,00%, a largura do variou 4,80%, o comprimento 8,28%, o peso da massa fresca 24,94% e o da massa seca 27,82% entre as quatro subpopulações.

A maioria dos parâmetros morfométricos avaliados entre as quatro subpopulações variaram mais do que entre os morfos, indicando uma maior influencia do ambiente no fenótipo da espécie. Isso sugere que a diferença entre os caracteres genéticos (entre morfos) é menos influente do que as variações fenotípicas registradas (entre subpopulações). Ou seja, embora nossos resultados tenham mostrado variações morfométricas de frutos e sementes tanto entre morfos quanto entre áreas, sugerimos que essas variações sejam mais influenciadas em função das características fenotípicas do que genéticas. Assim como Cardoso e Lomônaco (2003) e Silva et. al. (2007) discutem a cerca da importância de estudos morfometricos para identificar variações fenotípicas, e Botezelli et. al. (2006), que concluiu

em seu trabalho que frutos de diferentes procedências podem possuir caracteres morfometricos diferentes. Portanto, mesmo que muito próximas, as populações podem apresentar características próprias e que refletem nas características morfométricas da espécie, como também foi constatado por Botezelli et. al. (2006) em populações do baru (*Dipteryx alata*), mesmo a espécie não sendo próxima filogeneticamente a *B. purpuracens*. Tais diferenças poderiam ser explicadas pela influencia humana como, por exemplo, a coleta de folhas, mas estudos para detectar tal fato seriam necessários. O caráter fragmentado das subpopulações estudadas e entre as áreas, com paisagem ocupada pelo perímetro urbano da cidade de Jataí, ou ainda atividades agropecuárias, também podem ser responsáveis por esse processo de isolamento entre subpopulações. Essa matriz fragmentada poderia atuar na limitação do fluxo de potenciais polinizadores e dispersores de sementes ao longo do tempo, evidenciando essas diferenças. Entretanto, estudos genéticos podem ajudar a elucidar isso.

Tabela 2 Matriz de coeficientes de correlações de Pearson das variáveis: PF: Peso do Fruto; LF: Largura do fruto; CF: Comprimento do fruto; PP: Peso do pirênio; LP: Largura do pirênio; CP: Comprimento do pirênio; MF: Massa fresca da polpa; MS: Massa seca da polpa de *Butia purpurascens*, coletados no município de Jataí, GO.

	PF	LF	CF	PP	LP	CP	MF	MS	% UM
PF	1	-	-	-	-	-	-	-	-
LF	0,92***	1		-	-	-	-	-	-
CF	0,05	0,03	1	-	-	-	-	-	-
PP	0,74 ***	0,66***	0,01	1	-	-	-	-	-
LP	0,50***	0,51***	0,00	0,78***	1	-	-	-	-
CP	0,65***	0,49***	-0,14***	0,64***	0,31***	1	-	-	-
MF	0,19	-0,01	0,05	0,23*	0,17	0,14	1	-	-
MS	0,21	0,32***	0,12	0,22*	0,16	0,13	0,87***	1	
% UM	0,24*	0,26*	0,04	0,34**	0,30**	0,14	0,09	0,09	1

***p < 0,05; ** p < 0,01; ***p < 0,0001**

Tabela 3: Comparações dos valores médios, pelo teste de ANOVA, das características morfométricas de frutos e sementes entre os morfos amarelo, vinho e intermediário de *Butia purpurascens*, coletados no município de Jataí, GO. Letras diferentes designam diferenças significativas pelo teste de Tukey. ns: Não significativo; MF: Massa fresca da polpa; MS; Massa Seca da polpa.

Características Morfométricas	**Amarelo**	**Intermediário**	**Vinho**	**F**	**p**
Peso médio do fruto (g)	6,70 ± 1,87 a	6,32 ± 1,85 b	6,11 ± 1,84 b	17,77	< 0,0001

Peso médio do pirênio (g) *	1,12 ± 0,33	1,09 ± 0,32	1,17 ± 0,83	2,20	ns
Largura média do fruto (mm)	21,03 ± 2,60 a	20,16 ± 2,44 b	20,32 ± 2,45 b	17,68	< 0,0001
Comprimento médio do fruto (mm) *	26,09 ± 2,37 a	25,91 ± 2,58 a	25,47 ± 2,04 b	12,92	< 0,0001
Largura média do pirênio (mm)	9,98± 1,17 b	9,55 ± 1,21 c	10,32 ± 1,27 a	36,33	< 0,0001
Comprimento médio do pirênio (mm)	19,13 ± 1,94	19,01 ± 2,08	18,83 ± 1,84	4,26	< 0,01
Peso (MF) (g)	108,90 ± 27,00	97,00 ± 27,80	94,50 ± 26,20	2,67	ns
Peso (MS) (g)	24,70 ± 5,40	23,00 ± 5,70	21,60 ± 5,50	2,75	ns
% de umidade	76,80 ± 4,0	75,80 ± 3,2	76,8 ± 2,50	0,42	ns

***Não atendeu as premissas para aplicação de um teste paramétrico (heterocedasticidade)**

Tabela 4 Comparações dos valores médios, pelo teste de ANOVA, das características morfométricas de frutos e sementes entre quatro subpopulações de *Butia purpurascens*, coletados no município de Jataí, GO. Letras diferentes designam diferenças significativas pelo teste de Tukey. ns: Não significativo; MF: Massa fresca da polpa; MS; Massa Seca da polpa.

Características Morfométricas	**Sp A**	**Sp B**	**Sp C**	**Sp D**	**F**	**p**
Peso médio do fruto (g)	6,19 ± 1,65 b	5,80 ± 1,83 c	6,21 ± 1,80 b	7,46 ± 1,78 a	66,95	< 0,0001
Peso médio do pirênio (g)*	1,12 ± 0,99 b	1,05 ± 0,35 b	1,11 ± 0,32 b	1,25 ± 0,36 a	8,27	< 0,0001
Largura média do fruto (mm)*	20,23 ± 2,33 b	19,76 ± 2,30 c	20,65 ± 2,50 b	21,87 ± 2,56 a	20,48	< 0,0001
Comprimento médio do fruto (mm) *	25,40 ± 2,43	25,83 ± 2,59	25,26 ± 2,08	26,77 ± 1,65	0,81	ns
Largura média do pirênio (mm)*	9,72 ± 1,21 a	10,21 ± 1,36 b	10,21 ± 1,14 b	10,10 ± 1,18 b	14,65	< 0,0001
Comprimento médio do pirênio (mm)*	18,79± 2,01 b	18,74 ± 2,10 b	18,39 ± 1,58 c	20,05 ± 1,51 a	64,51	< 0,0001
Peso (MF) (g)	95,18 ± 24,03 c	93,41 ± 22,26 c	99,28 ± 28,86 b	118,18 ± 28,16 a	3,83	< 0,05
Peso (MS) (g)	21,39 ± 3,96 b	19,77 ± 4,24 b	24,39 ± 5,58 a	27,39 ± 5,52 a	9,52	< 0,0001
% de umidade	76,90 ±	78,4 ±	74,90 ±	76,50 ±	4,37	> 0,05

	3,4 b	3,30 b	3,50a	2,20 b

Ns: Não significativo; MF: Massa fresca da polpa; MS; Massa Seca da polpa; F: Fisher p: probabilidade, Sp: Subpopulação. *Não atendeu as premissas para aplicação de um teste paramétrico (heterocedasticidade).

Conclusões

As avaliações morfométricas de frutos e sementes de B. purpurascens mostraram que relações positivas entre a umidade da polpa e o diâmetro equatorial, assim como peso e tamanho do fruto e do pirênio.

Em geral, o morfo amarelo apresentou frutos e pirênios maiores e mais pesados do que os morfos vinho e intermediário. Entretanto as diferenças morfométricas foram mais contundentes entre as subpopulações estudadas, do que entre os morfos, sendo que a subpopulação D mostrou os maiores valores na maioria dos parâmetros avaliados.

Estudos futuros são necessários, tais como avaliação genética da espécie em subpopulações diversas no sudoeste goiano, para elucidar melhor essas questões.

Referências

AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D.L. e SANTOS, A.A.S. dos (Ed.). Bio Estat. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências médicas. 5 ed. Belém, p.339 2007.

BOTEZELLI L.; DAVIDE A.C. e MALAVASI M.M. Características dos frutos e sementes de quatro procedências de *Dipteryx alata* Vogel (BARU). Cerne, V.6, N.1, p.009-018, 2000.

CARDOSO, G.L. & LOMÔNACO, C. Variações fenotípicas e potencial plástico de *Eugenia calycina* Cambess. (Myrtaceae) em uma área de transição cerrado-vereda. Revista Brasileira de Botânica, V.26, N.1, p.131-140, 2003.

COYNE, J.A. & ORR, H.A. Speciation. Sinauer, Sunderland, MA. 2004.

FERREIRA, M. & ARAÚJO, A.J. Procedimentos e recomendações para testes de procedências. Curitiba: EMBRAPA/IBDF/PNPF. p.28. (Documento 6). 1981.

FONSECA R.S.; RIBEIRO L.M.; SIMÕES M.O.M.; MENINO G.C.O.; JESUS F.M. e .REIS S.B. Morfometria da flor e inflorescência de *Butia capitata* (Mart) Becc. (Arecaceae) em diferentes fases de desenvolvimento, no cerrado de Montes Claros – MG. Revista Brasileira de Biociências, V.5, S.1, p.657-659, jul. 2007.

GUILHERME, F.A.G.; VASCONCELOS, E.I.; COELHO, C.P.; RESSEL, K.; BATISTA, N.T.F. and SOUZA L.F. Leaves harvesting effects on the budding leaf and reproductive phenology of *Butia purpurascens* Glassman (Arecaceae). Revista Brasileira de Biologia. (Submetido). 2013.

GUILHERME, F.A.G. & OLIVEIRA, A.S. Estrutura populacional de *Butia purpurascens* Glassman (Arecaceae) em duas áreas de Cerrado *sensu stricto* no estado de Goiás. Revista de Biologia Neotropical, V.7, N.1, p.37-45, 2011.

KLINK, C.A. & MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado brasileiro. Megadiversidade, V.1, N.1, p.147-155. 2005.

LIMA, E.S.; FELFILI J.M.; MARIMON B.S. & SCARIOT A. Diversidade, estrutura e distribuição espacial de palmeiras em um cerrado *sensu stricto* no Brasil Central, DF. Revista Brasil. Bot. 26: p.361-370. 2003.

LORENZI, H. et. al. Flora Brasileira: Arecaceae (Palmeiras). Nova Odessa - SP: Instituto Plantarum, 2010.

MARIANO, Z.F.; SCOPEL, I. Períodos de deficiências e excedentes hídricos na região de Jataí/GO. IN: Congresso Brasileiro de Agrometeorologia, 12, III Reunião Latino-Americana de Agrometeorologia, Fortaleza-CE, 3 a 6 de julho, Anais, 2001.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E. AND FAGG, C.W.. Flora vascular do Bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies; p.422-442 *In* S.M. Sano, S.P. Almeida and J.F. Ribeiro (ed.). Cerrado: ecologia e flora. V.2. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2008.

MOURA, R.C.; LOPES, P.S.N.; BRANDÃO JUNIOR, D.S.; GOMES, J.G. & PEREIRA, M.B. Biometria de frutos e sementes de *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae), em vegetação natural no Norte de Minas Gerais, Brasil. Biota Neotrop., V.10, N.2, p.415-419. 2010.

MORAGAS, W.M. Análise dos sistemas ambientais do alto rio Claro – Sudoeste de Goiás: contribuição ao planejamento e gestão. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, p.99-135. 2005.

NASCIMENTO, J.F.; FERREIRA, E.J.L.; CARVALHO, A.L. & REGIANI, A.M. Parâmetros biométricos dos cachos, frutos e sementes da palmeira murmuru

(*Astrocaryum ulei* Burret.) encontrada na região de Porto Acre, Acre. Revista Brasileira de Biociências V.5, N.1, p.90-92. 2007.

PEDRON, F.A.; MENEZES, J.P. & MENEZES, N.L. Parâmetros biométricos de fruto, endocarpo e semente de butiazeiro. Cienc. Rural. V.34, N.2, p.585-586. 2004.

RIVAS, M. & BARILANI, A. Diversidad, potencial productivo y reproductivo de los palmares de *Butia capitata* (Mart.) Becc. de Uruguay. Agrociência V.8, N.1, p.11-20. 2004.

SILVA, M.S.; VIEIRA, F.A. e CARVALHO, D. Biometria dos frutos e divergência genética em uma população de *Geonoma schottiana* Mart. Revista Brasileira de Biociências, V.5, S.1, p.582-584, 2007.

SOARES, K.P.E. & LONGHI, S.J, Uma nova espécie de *Butia* (Becc.) Becc. (Arecaceae) para o Rio Grande do Sul, Brasil. Ciência Florestal, Santa Maria, V.21, N.2, p.203-208. abr.-jun, 2011.

STUESSY, T.E. 1989. Plant Taxonomy: The Systematic Evaluation of Comparative Data. Columbia University Press, New York.

UHL, N.W. & DRANSFIELD, J. *Genera Palmarum*. A Classification of Palms Based on the Work of Harold E. Moore, Jr. Allen Press, Lawrence, Kansas, p.610. 1987.

WALTER, B.M.T.; CAVALCANTI, T.B.; BIANCHETI L. B. e VALLS J. F. M. Coleta de germoplasma vegetal: relevância e conceitos básicos. In: WALTER, B.M.T.; CAVALCANTI, T.B.; Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia – Brasília, DF p.28-40. 2005.

WENDT, T.; CRUZ, D.D.; DEMUNER, V.G.; GUILHERME, F.A.G. and BOUDET-FERNANDES, H. Investigation on reproductive isolation in sympatric populations as a tool to clarify species boundaries of *Euterpe* (Arecaceae). Flora. V.206, N2, 144-150. 2011.

ZAR, J.H. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, Upper Saddle River. 1996.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MULTIMISTURAS DE OKARA DE SOJA PRETA, FARINHA DE QUIRERA E FARELO DE ARROZ EXTRUSADAS COM DIFERENTES TEMPERATURAS E UMIDADES

BATISTA, J. E. R[1]; COUTINHO, L. S.[2]; SOARES JUNIOR, M. S.[31]

[1]Bolsista PIBIC CNPq graduando em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás – UFG jaquelineeduarda.ufg@gmail.com; Bolsista Capes Demanda Social mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFG lairy.coutinho1@hotmail.com; [3] Orientador Prof. Dr. da Escola de Agronomia, Setor de Engenharia de Alimentos da UFG mssoaresjr@hotmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade de produzir farinhas pré-gelatinizadas da mistura de grãos quebrados de arroz, farelo de arroz e okara de soja preta (81:9:10) por extrusão, e verificar o efeito da umidade e temperatura de extrusão sobre as características instrumentais de cor (L*, b* e DE) e viscoamilográficas (viscosidade máxima e quebra de viscosidade) das farinhas pré-gelatinizadas. A extrusão foi realizada em extrusor com parafuso simples, utilizando rotação do motor de 250 rpm, abertura da matriz circular de 4 mm de diâmetro, pré-matriz com 22 orifícios, parafuso com três entradas de 30 cm de comprimento e taxa de compressão da rosca de 3:1, camisa helicoidal, taxa de alimentação de (335 g.min^{-1}); e temperatura na primeira e segunda zona de aquecimento de 40 e 60° C, respectivamente. Utilizou-se Delineamento Composto Central Rotacional. Os valores de temperatura de extrusão na terceira zona variaram entre 60 e 110° C e de umidade da mistura entre 12 e 16 g.100g^{-1}. Os resultados obtidos para luminosidade das farinhas variaram de 72,6 a 78,0, entre 9,45 e 11,85 para b*, e de 19,21 a 24,37 para diferença de cor. Os valores para viscosidade a quente oscilaram entre 2933 cP e 4787 cP, enquanto que os de quebra de viscosidade de 1950 cP a 3587. Apesar da variação observada, a temperatura e a umidade não afetaram significativamente ($P \leq 0,05$) as respostas avaliadas. É tecnicamente viável produzir farinhas pré-gelatinizadas da mistura de grãos quebrados de arroz, farelo de arroz e okara de soja preta por extrusão.

[1] Revisado pelo Orientador.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., *Glycinemax* L., processamento, viscosidade, cor.

1. INTRODUÇÃO

Segundo LEMOS e SOARES (1999) o arroz (*Oryza sativa* L.) ocupa posição de destaque no celeiro mundial como o cereal mais consumido por todos os povos, sendo superado em produção apenas pelo trigo. O Brasil é o nono maior produtor mundial e a produção para a safra de 2001/2012 foi estimada em 15,2 milhões de toneladas (DOSSA et al., 2012). O arroz é capaz de suprir 20% da energia e 15% da proteína da necessidade diária de um adulto, além de conter vitaminas, sais minerais, fósforo, cálcio e ferro, segundo a Organização das Nações Unidades para Agricultura e Alimentação (FAO) (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2013).

Grãos quebrados são frações de arroz geradas durante o beneficiamento, que dependendo da cultivar, época de colheita e temperatura de secagem pode representar entre 14% e 60% do total dos grãos submetidos ao processo de beneficiamento. Normalmente este subproduto é rejeitado obtendo apenas a quinta parte do valor comercial obtido pelo grão inteiro, o que gera grande perda econômica para o setor arrozeiro do país. Entretanto, ambos possuem a mesma composição, ou seja, são ricos principalmente em amido (LIMBERGER, 2006).

O farelo, outro subproduto resultante do beneficiamento do arroz, representa de 8% a 11% do peso total do grão, sendo obtido a partir das etapas de brunição e polimento (PARRADO et al., 2006). Segundo Alencar e Alvarenga (1991), as populações que consomem arroz como alimento básico apresentam maior percentual de pobreza e, consequentemente, graves deficiências nutricionais, que poderiam ser minimizadas pela utilização de subprodutos do arroz, como o farelo, ricos em proteínas e lipídeos. A conservação do farelo de arroz “in natura” torna-se problemática pela ação enzimática durante o armazenamento, que leva à decomposição dos triacilgliceróis e à consequente geração de ácidos graxos livres. Os ácidos graxos livres produzem sabor ácido e desagradável que compromete a utilização do farelo como matéria-prima para extração de óleos comestíveis e para consumo humano (CARVALHO et al., 1999; RODRIGUES, ONOYAMA; MEIRELLES, 2006). As fibras assumem importância no farelo de arroz e devido sua capacidade de absorção de água e óleo podem ser utilizadas no desenvolvimento de grande variedade de produtos industrializados (CARVALHO; VIEIRA, 1999; ABDULHAMID; LUAN, 2000).

A produção de soja no Brasil é liderada pelos estados de Mato Grosso, com 29,0% da produção nacional; Paraná com, 19,5%, Rio Grande do Sul com 15,4% e Goiás, 10,5% (MAPA, 2013). Sendo que a safra desse ano – 2013 –apontou para uma produção recorde de 81.456,7 milhões de toneladas, comparado com 66.383,0 mil toneladas em 2012, representando um incremento de 22, 7%. (CONAB, 2013). As projeções de consumo indicam que deve haver um grande aumento da demanda de soja no mercado internacional e no mercado interno (MAPA, 2013). Para melhorar as estimativas durante a expedição do projeto Soja Brasil, brasileiros e americanos vão trabalhar juntos para estimular o consumo de soja no mundo. A Associação dos Produtores Americanos de Soja (American Soybean Association – ASA) quer ampliar a parceria com a Aprosoja Brasil em programas de educação alimentar que utilizem a soja como matéria-prima (CUNHA, 2013). Mesmo com a produção de soja que vem batendo recordes em 2013, o país ainda continua sendo o segundo maior produtor de soja do mundo, apenas atrás dos Estados Unidos (HAGAH RURAL, 2013).

A maioria dos cultivares de soja para o consumo humano apresenta de 38 a 45% de proteínas, de 15 a 25% de lipídios, de 20 a 35% de carboidratos, e cerca de 5% de cinzas em seus grãos. Além dessas características nutricionais, inúmeros estudos científicos comprovam os benefícios à saúde da soja e têm demonstrado que o consumo de produtos derivados está associado frequentemente com a redução ao risco de doenças crônicas e cardiovasculares, redução do colesterol e até mesmo diminuição do risco de alguns tipos de câncer (MANDARINO, 2002). Pois, a soja é rica em isoflavonas, substâncias que pertencem à família dos polifenóis, grande classe de componentes sintetizados pelas plantas. Uma propriedade dos polifenóis é a sua atividade antioxidante, mas também possuem ação de fitoestrógenos (MAGNONI, 2000). As isoflavonas correspondem apenas 2% do peso do grão; o gérmen concentra 80% do teor de isoflavonas (LENA, 2002). As características diferenciais da soja com tegumento preto são os níveis superiores de capacidade antioxidante, de vitamina E, e de antocianinas, comparadas com a soja amarela (SHIH, 2002).

O grão da soja é extremamente versátil pelas suas características e da origem a produtos e coprodutos amplamente utilizados pelas agroindústrias e indústrias químicas (RIVAS, 2006). O okara (resíduo de soja) é um subproduto do processamento do “leite” de soja com baixo valor de mercado, mas rico em proteínas com alto valor nutritivo, ótimo perfil de aminoácidos essenciais e alta digestibilidade *in vitro* (MIYASAKA, 1981). Assim, é uma boa fonte de nutrientes, sendo uma boa opção para ser utilizado na alimentação humana. E além do teor de fibras, contém 21% das isoflavonas contidas no grão inteiro (ROSSI, 2002),

A extrusão termoplástica é um processo contínuo, no qual a matéria-prima é forçada através de uma matriz ou molde, em condições de mistura e aquecimento, pressão e fricção que levam à gelatinização do amido, à desnaturação de proteínas e à ruptura de pontes de hidrogênio (THAKUR; SAXENA, 2000). Durante o processo de extrusão, ocorre a gelatinização, cozimento, fricção molecular, mistura, esterilização e secagem, reestruturando a matéria-prima a fim de criar novas texturas e formatos (SEBIO,1996).Essa técnica é empregada para a produção de uma série de diferentes produtos baseados em matérias-primas proteicas, como a soja, ou ricas em amido como os subprodutos do arroz, como os cereais matinais em geral (ARÊAS, 1996) e farinhas pré-gelatinizadas. MOUQUET (2003) salienta como vantagens da extrusão o fato do processo inativar fatores antinutricionais presentes nos alimentos *in natura* e o fato das altas temperaturas envolvidas promovem satisfatória qualidade higiênica dos extrusados.

O objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade técnica de produzir farinhas pré-gelatinizadas da mistura de grãos quebrados de arroz, farelo de arroz e okara de soja preta (81:9:10) por extrusão, e verificar o efeito da umidade e temperatura de extrusão sobre as características instrumentais de cor (L*, b* e DE) e viscoamilográficas (viscosidade máxima e quebra de viscosidade).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material

Para desenvolvimento das farinhas pré-gelatinizadas, utilizaram-se grãos quebrados e farelo de arroz (mistura das cultivares IRGA 417 e IRGA 424), safra 2012, doados pela empresa Cristal Alimentos Ltda., situada em Aparecida de Goiânia – GO. E soja preta adquirida no mercado da cidade de São Paulo - SP.

2.2 Métodos

Os subprodutos do arroz, tanto os grãos quebrados quanto o farelo de arroz, foram utilizados da mesma forma como chegaram da indústria. Para obtenção do okara de soja preta,

realizou-se tratamento térmico dos grãos em água em ebulição por 5 min, visando à inativação dos fatores antinutricionais da leguminosa. Utilizou-se um parte de grão de soja para cinco partes de água (m/m). A água foi descartada e os grãos lavados em água corrente. Em seguida, realizou-se o cozimento. Para tal, foram utilizados fogão industrial de quatro bocas e panelas de alumínio com capacidade de 20 L, limpas e sanitizadas com solução de hipoclorito de sódio a concentração de 200 ppm. Nesses recipientes, foram adicionados os grãos em uma nova água na proporção 1:5, para a obtenção do ponto adequado de cozimento. Realizou-se cocção dos grãos por 25 min. Posteriormente, executou-se a trituração dos grãos cozidos utilizando liquidificador industrial, no qual foi padronizada uma parte de soja para duas partes de água, durante 3 min, até obtenção de uma mistura homogênea (DEVIDÉ et al., 2012). A extração do okara da soja preta ocorreu por meio de uma centrífuga mecânica. O homogeneizado foi centrifugado durante 10 min, sendo por batelada (1 kg de homogeneizado por vez) e o coproduto (okara) foi coletado com luvas de borracha e guardado sob refrigeração em embalagem de polietileno de baixa densidade até momento da secagem. O okara ficou retido na peneira da centrífuga e o que passou constituiu o permeado, que é oque foi chamado de extrato. A seguir o okara foi seco em estufa de circulação de ar em temperatura de 60 °C durante 10 h.

Os extrusados foram elaborados a partir de uma mistura de grãos quebrados de arroz, farelo de arroz e okara da soja preta (81:9:10), obtida em homogeneizador tipo Y, durante 15 min. Avaliaram-se os efeitos os parâmetros de processamento variáveis (umidade da mistura e temperatura na terceira zona do extrusor) sobre os parâmetros instrumentais de cor (L*, b* e DE) dos extrusados. Os valores codificados das variáveis independentes foram -1,41; -1; 0; 1 e 1,41, enquanto que os valores reais de temperatura de extrusão variaram entre 60 e 110° C e de umidade entre 12 e 16 g.100g^{-1}. A mistura de coprodutos foi acondicionada em diferentes níveis de umidade, conforme os valores estipulados no planejamento experimental (Tabela 1). A quantidade de água a ser adicionada às amostras foi calculada considerando-se a quantidade de mistura a ser extrusada e a sua umidade inicial (Equação 1).

$$Qa = \frac{U_f - U_i}{(100 - U_f) * 100} * Ma \qquad \textbf{(Equação 1)}$$

Na qual: Q_a = quantidade de água a ser adicionada na mistura (g); U_f = umidade final da estabelecida pelo delineamento; U_i = umidade inicial da amostra; M_a = massa da amostra (g).

A extrusão termoplástica foi realizada em extrusor com parafuso simples. Os parâmetros de processamento fixos foram: rotação do motor de 250 rpm, abertura da matriz circular de 4 mm de diâmetro, pré-matriz com 22 orifícios, parafuso com três entradas de 30 cm de comprimento e taxa de compressão da rosca de 3:1, camisa helicoidal, taxa de alimentação de (335 $g.min^{-1}$); e temperatura na primeira e segunda zona de aquecimento de 40° C e 60° C, respectivamente. Após o processamento, os extrusados foram moídos em um moinho de facas (*Marconi, MA-090 CET, Piracicaba, Brasil*) com peneira de 30 mesh, para obtenção das farinhas pré-gelatinizadas.

Estas foram avaliadas quanto aos parâmetros instrumentais de cor, seguiu-se metodologia descrita por Paucar-Menacho et al. (2008), de acordo sistema CIEL L*, a*, b* em colorímetro (*Color Quest, XE, Reston, EUA*). Ângulo de observação em 10° e o iluminante padrão D65 foram fixados, correspondendo à luz natural do dia. Os resultados foram expressos em valores de L*, a*, b* e DE, em que L* refere-se à luminosidade ou brilho, e variam de preto (0) ao branco (100), as cromaticidade a*, variando do verde (-60) ao vermelho (+60) e a b* variando do azul (-60) ao amarelo (+60). Também foi verificada a diferença de cor (DE*) entre as farinhas cruas e a cor dos extrusados moídos, calculada pela Equação 2. As análises instrumentais de cor foram realizadas em triplicata.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)} \quad \textbf{(Equação 2)}$$

Na qual: ΔL*= LO (luminosidade do padrão)- Le (luminosidade da amostra); Δa*= a_o (valor de a* do padrão) - a_e (valor de a* da amostra); Δb*= b_o (valor de b* do padrão) – b_e (valor de b* da amostra).

As propriedades de pasta foram determinadas no Laboratório de Reologia do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), localizado em Campinas – SP. Para as propriedades viscoamilgráficas utilizou-se o Rapid Visco Analyser – RVA (*Perten Instuments, 4500, Warriewood, Austrália*), usando programa Thermocline for Windows versão 3. Foram pesados 5,0 g de amostra (corrigidos para 14% de umidade), que foi adicionada a 25 mL de água em copo especial de alumínio. A dispersão foi feita com o agitador acrílico próprio do aparelho. O conjunto copo/agitador foi acoplado ao aparelho e o teste iniciado pelo programa Extrusion 1. Os dados foram interpretados a partir dos gráficos fornecidos.

Delineamento Composto Central Rotacional foi utilizado (RODRIGUES; IEMA, 2010). Os dados obtidos foram avaliados por meio de análise de variância, com elaboração de

modelos de regressão múltipla e construção de gráficos de superfície de resposta e curvas de nível para visualização do efeito das variáveis independentes sobre variáveis dependentes a partir de auxílio do aplicativo Statistica (*Statsoft*, *Statistica 7.0, Tulsa,* USA).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados obtidos para luminosidade, b*, DE, viscosidade máxima e quebra de viscosidade das farinhas pré-gelinizadas de coprodutos de arroz e soja em função da temperatura de extrusão (x_1) e umidade (x_2) foram apresentados na tabela 1.

Os valores de luminosidade das farinhas pré-gelatinizadas variaram pouco, de 72,6 (experimento 10) a 78,0 (experimento 5), o mesmo ocorrendo para a coordenada de cromaticidade b* entre 9,45 (experimento 9) e 11,85 (experimento 6), e para a diferença de cor, de 19,21 (experimento 5) a 24,37 (experimento 10). Os valores para viscosidade a quente oscilaram entre 2933 cP (experimento 2) 4787 cP (experimento 3), enquanto que os de quebra de viscosidade entre 1950 cP (experimento 2) e 3587 (experimento 7). Assim, os modelos para cor e viscosidade não foram significativos, apresentando baixos coeficientes de correlação (Tabela 2). Portanto, a temperatura de extrusão (x_1) e umidade (x_2) não influenciaram as variáveis de cor instrumental e de viscosidade analisadas.

Os valores de L*, b* e DE foram maiores nas farinhas pré-gelatinizadas de coprodutos de arroz e soja com teor de umidade da mistura de 16 $g.100g^{-1}$ e temperaturas de 60, 110 e 85º C, respectivamente. Os menores valores de L* foram obtidos com temperatura de 60º C e umidade de 16$g.100g^{-1}$de 110º C, de b* com temperatura de 85º C e umidade de 16 $g.100g^{-1}$, e de diferença de cor com temperatura de 60º C e umidade de 16 $g.100g^{-1}$. Como foi relatado por Borba, Sarmento e Leonel (2005) a intensidade de amarelo (aumento do croma b*) no produto extrusado é justificado com a redução de conteúdo de umidade durante o processamento, favorecendo surgimento de reações de escurecimento não enzimático

Os valores de viscosidade a quente e de quebra de viscosidade foram menores na temperatura de 102,7º Ce umidade de 13,16 $g.100g^{-1}$, enquanto que a viscosidade a quente foi maior em temperatura de 67,3º C e umidade de 18,84 $g.100g^{-1}$, e a quebra de viscosidade em temperatura de 85º C e umidade de 12 $g.100g^{-1}$. As curvas viscoamilográficas do presente trabalho mostraram um pico agudo a partir de 5 min, como relatado em Bastos 2012, seguido por uma queda acentuada, mesmo antes de atingir 95º C o que revelou pouca estabilidade da pasta quente durante agitação.

Tabela 1. Luminosidade, a*, DE, viscosidade máxima e quebra de viscosidade das farinhas pré-gelinizadasde subprodutos de arroz e soja em função da temperatura de extrusão (x_1) e umidade (x_2)

	Valor codificado		Valor Real		Propriedade Física				
Exp.	Temp (x_1)	Umid (x_2)	Temp (°C)	Umidade ($g.100g^{-1}$)	L*	b*	DE	V. Máxima (cP)	Quebra de V (cP)
1	-1	-1	67,3	13,16	77,4	11,62	20,57	3418	2542
2	1	-1	102,7	13,16	77,7	11,29	20,17	2933	1950
3	-1	1	67,3	18,84	76,6	9,62	20,17	4787	3273
4	1	1	102,7	18,84	77,4	11,39	20,29	4701	3413
5	-1,41	0	60	16	78,0	10,17	19,21	3378	1990
6	1,41	0	110	16	74,3	11,85	23,3	4222	3285
7	0	-1,41	85	12	75,6	10,47	21,5	4439	3587
8	0	1,41	85	20	77,4	9,5	19,3	4390	3409
9	0	0	85	16	75,1	9,45	21,42	4015	2986
10	0	0	85	16	72,6	11	24,37	4493	3419
11	0	0	85	16	74,9	9,48	21,65	3969	2969

.

Tabela 2. Modelos ajustados, coeficiente de correlação e nível de significância dos efeitos da temperatura (x_1) e umidade (x_2)sobre a luminosidade, a*, DE, viscosidade máxima e quebra de viscosidade.

Propriedade física	Nível de significância (P) obtido para cada efeito (ANOVA)					Modelo ajustado	R^2
	T (L)	T (Q)	U (L)	U (Q)	TxU		
L*	0,35	0,12	0,76	0,08	0,88	$Y=74,20-0,52x_1+1,21x_1^2+0,18x2+1,40x_2^2+0,12x_1x_2$	0,59
b*	0,10	0,07	0,14	0,67	0,17	$Y=9,97+0,48x_1+0,64x_1^2-0,4\ 1x_2+0,13x_2^2+0,53x_1x_2$	0,75
ΔE	0,26	0,30	0,47	0,13	0,87	$Y=22,78+0,69x_1-0,74x_1^2-0,42x_2-1,18x_2^2+0,13x_1x_2$	0,55
Viscosidade Máxima	0,73	0,44	0,14	0,74	0,76	$Y=4159,53+77,73x_1-217,23x_1^2+385,06x_2+91,10x_2^2+99,75x_1x_2$	0,47
Quebra de viscosidade	0,44	0,26	0,29	0,65	0,55	$Y=3125,64+172,35x_1-313,21x_1^2+243,90x_2+118,41x_2^2+183x_1x_2$	0,50

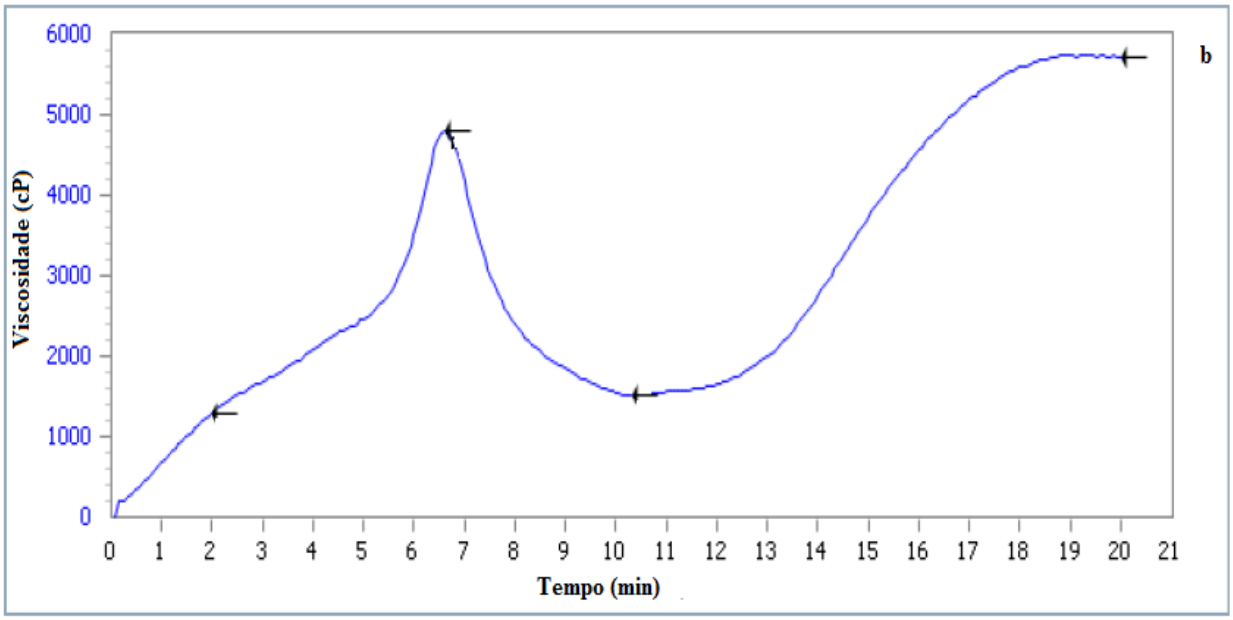


Figura 1. Perfil viscoamilográfico da farinha pré-gelatinizada do experimentos 2 (T= 102,7° C e U=13,16 g.100 g^{-1}).

4 CONCLUSÃO

É viável a produção de farinhas pré-gelatinizadas com os coprodutos grãos quebrados de arroz, farelo de arroz e soja preta (81:9:10) por extrusão. As faixas de valores da temperatura de extrusão e umidade utilizadas não afetaram significativamente as variáveis instrumentais de cor (L*, a* e DE), assim como a viscosidade máxima no aquecimento e a quebra de viscosidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULHAMID, A.; LUAN, Y. S. Functional properties of dietary fiber prepared from defatted rice bran. **Food Chemistry**, London, v. 68, n. 1, p. 15-19, 2000.

ALENCAR, M. L. C. B. B.; ALVARENGA, M. G. Farelo de arroz: composição química e seu potencial como alimento. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 34, n. 1, p. 95-108, 1991.

ARÊAS, J. A. G. Interações moleculares do amido durante o processo de extrusão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 28-30, 1996.

BASTOS, G. M. **Resíduos da industrialização de batata:** aplicação na produção de farinhas, snacks, farinhas pré-gelatinizadas e massa alimentícia fresca sem glúten. 2012. 215 f. Dissertação – (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

BORBA, A. M.; SARMENTO, S. B. S.; LEONEL, M. Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades funcionais de extrusão da farinha de batata-doce. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 835-843, 2005.

CARVALHO, J. L. V. de; VIEIRA, N.R. de A. **A cultura do arroz no Brasil**: usos alternativos. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. 621p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira**: grãos, nono levantamento, julho 2013. Brasília: Conab, 2013.

CUNHA, R. **Entidades brasileiras e norte-americanas acertam parceria para estimular consumo de soja**. Soja Brasil, Messouri (EUA). Disponível em: <http://sojabrasil.ruralbr.com.br/noticia/2013/08/entidades-brasileira-e-norte-americana-acertam-parceria-para-estimular-consumo-de-soja-4221409.html>. Acesso em: 3 ago. 2013.

DEVIDÉ, J. C.; SEIBEL, N. F.; FALCÃO, H. G.; RIBEIRO, S. N.; YAMAGUCHI, M. M. Elaboração e caracterização de hambúrgueres de carne bovina com aplicação de okara. In: SEMINÁRIO DE INACIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UTFPR. **Anais...**, Londrina, 2012.

DOSSA, D.; BASTOS, E. T.; GASQUES, J. G. **Brasil Projeções do Agronegócio 2011/2012 a 2021/2022**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – Assessoria de Gestão Estratégica Brasília, Abril 2012.

HAGAH RURAL. **Boa safra de soja faz Brasil se destacar no mercado mundial**. Disponível em: <http://www.hagah.com.br/especial/rs/agricultura-e-pecuaria/19,1646,4120075,Boa-safra-de-soja-faz-Brasil-se-destacar-no-mercado-mundial.html>. Acesso em: 03 de ago. 2013.

LEMOS, M. R. B.; SOARES, L.A.de S. Farelo de arroz: um subproduto em estudo. **Óleos & Grãos**, São Paulo, v. 7, n. 51, p.40-48, 1999.

LENA, M. D. Gérmen de soja com qualidade. **Naturalmente Saudável**, São Paulo, v. 1, n. 2. p. 3-5, 2002.

LIMBERGER, V. M. **Modificação química e física do amido de quirera de arroz para aproveitamento na indústria de alimentos**. 2006. 78f. Dissertação - (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

MAGNONI, D. Soja – Perspectivas dietoterápicas. **Nutrição em Pauta**, São Paulo, v. 8, n. 41, p. 43-46, 2000.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Projeções do Agronegócio:** Brasil 2012/2013 a 2022/2023. Assessoria de Gestão Estratégica. Brasília: Mapa/ACS, 2013. 96p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Arroz**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>. Acesso em: 21 mar. 2013.

MANDARINO, J. M. G. A Soja e a Saúde Humana. In: ENCONTRO FRANCO BRASILEIRO DE BIOCIÊNCIA E BIOTECNOLOGIA – ALIMENTOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS, 2002, Brasília. **Resumos...** Brasília: Embrapa, 2002. p. 9-11.

MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, 1981. 1062p.

MOUQUET, A.; SALVIGNOL, B.; VAN HOAN, N.; MONVOIS, J.; TRÈCHE, S. Ability of a “very low-cost extruder” to produce instant infant flours at a small scale in Vietnam. **Food Chemistry**, Londres, v. 82, p. 249-255, 2003.

PARRADO, J.; MIRAMONTES, E.; JOVER, M.; GUTIERREZ, J. F.; TERÁN, L. C. DE; BAUTISTA, J. Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use as functional food. **Food Chemistry**, London, v. 98, p. 742–748, 2006.

PAUCAR-MENACHO, L. M.; BARRETO, P. A. A.; MAZAL, G.; FAKHOURI, F. M.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Desenvolvimento de massa alimentícia fresca funcional com a adição de isolado proteico de soja e polidextrose utilizando páprica como corante. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 767-778, 2008.

RIVAS, M. B. **Soja – Qualidade de Vida e Saúde com Prazer e Sabor**. Porto Alegre: Ed. Age Ltda., 2006.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos**. 1. ed. Campinas: Casa do Pão Editora, 2005. 618p.

RODRIGUES, C. E. C.; ONOYAMA M. M.; MEIRELLES, A. J. A. Optimization of the rice bran oil deacidification process by liquid-liquid extraction. **Journal of Food Engineering**, Chicago, v. 73, n. 4, p. 370-378, 2006.

ROSSI, E.A.;SHIGUEMOTO, G.E.; BALDISSERA, V.;PEREZ, S. E. Qualificação de isoflavonas nas diversas etapas do processamento do "iogurte" de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002.

SEBIO, L. **Efeito de alguns parâmetros operacionais de extrusão nas propriedades físico-químicas da farinha de inhame (*Dioscorea rotundata*)**. Campinas – SP, 1996. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – FEA, UNICAMP.

SHIH, M. C.; YANG, K. T; KUO, S. J. Quality and antioxidative activity of black soybean tofu as affected by bean cultivar. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 76, n. 2, p. 480-484, 2002.

THAKUR, S.; SAXENA, D.C. Formulation of extruded snack food (gum based cereal-pulse blend): optimization of ingredients levels using response surface methodology. **Food Science and Technology**, Londres, v. 33, p. 354-361, 2000.