

## ANÁLISE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *EUGENIA CATHARINENSIS* SOBRE O SNC DE EMBRIÕES DE GALINHA DOMÉSTICA

### ANALYSIS OF THE HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *EUGENIA CATHARINENSIS* ON THE CNS OF DOMESTIC CHICKEN EMBRYOS

Sheila Wayszceyk<sup>1</sup>, Roberto Plategher Steiner Santangelo<sup>1</sup>, João Vitor Muller Fantini<sup>1</sup>, Renato Vianna Botelho<sup>1</sup>, Debora Delwing Dal Magro<sup>2</sup>, Daniela Delwing de Lima<sup>3</sup>; Claudia Almeida C Albuquerque<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Medicina, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Naturais, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC, Brasil.

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Universidade da Região de Joinville, Joinville, SC, Brasil.

\*Autor Correspondente: Rua Antônio da Veiga, 140, Blumenau, SC, Brasil. CEP 89030-903, Fone (47) 3321-0200, sheilaw@furb.br

#### RESUMO

As plantas medicinais representam uma opção terapêutica de grande importância para a manutenção das condições de saúde das pessoas, especialmente pela descoberta de novos compostos bioativos, pesquisas científicas e divulgação de propriedades terapêuticas de determinadas plantas medicinais que contribuem fortemente para validar, ou não, o uso popular destas plantas. Gestantes e lactantes constituem um grupo populacional que culturalmente recorre ao uso de plantas medicinais, no entanto as informações sobre a segurança de utilização destes produtos durante a gravidez são escassas. A família *Myrtaceae*, uma das mais importantes da flora brasileira, possui representantes de grande interesse medicinal. Estudos científicos têm demonstrado que espécies da família *Myrtaceae* apresentam propriedades anti-hipertensivas, anti-inflamatórias, analgésicas, antimicrobianas e antioxidantes, podendo ser utilizadas em gestantes ou não. No presente estudo, buscou-se analisar o extrato hidroalcoólico de *Eugenia catharinensis* em embriões de galinha (*Gallus domesticus*) para a avaliação dos parâmetros bioquímicos relacionados ao estresse oxidativo e defesas antioxidantes do tecido nervoso. Para esta análise foi utilizado o extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* nas doses (150µg e 450µg) e verificado as dosagens bioquímicas da enzima Glutathione peroxidase (GSH-PX), superóxido dismutase (SOD), o teor de Sulfidrilas e a peroxidação lipídica através do TBARS do encéfalo de embriões de galinha. Diante dos resultados obtidos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as doses administradas nos embriões em E9. Frente aos dados apresentados, pode-se sugerir que o extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* não apresenta toxicidade sobre o desenvolvimento embrionário do SNC de aves.

**Palavras-chave:** Estresse oxidativo. Tecido nervoso. Extrato. *Myrtaceae*. Desenvolvimento.

#### ABSTRACT

Medicinal plants represent a therapeutic option of great importance for the maintenance of people's health conditions, especially due to the discovery of new bioactive compounds, scientific

research and the dissemination of therapeutic properties of certain medicinal plants strongly contribute to validating or not the popular use of these plants. Pregnant and lactating women constitute a population group that culturally resorts to the use of medicinal plants. However, information on the safety of using these products during pregnancy is scarce. The *Myrtaceae* family, one of the most important in the Brazilian flora, has representatives of great medicinal interest. Scientific studies have shown that species of the *Myrtaceae* family have anti-hypertensive, anti-inflammatory, analgesic, antimicrobial and antioxidant properties, and can be used in pregnant women or not. In the present study, we sought to analyze the hydroalcoholic extract of *Eugenia catharinensis* in chicken embryos (*Gallus domesticus*) for the evaluation of biochemical parameters related to oxidative stress and antioxidant defenses in nervous tissue. For this analysis, the hydroalcoholic extract of *E. catharinensis* was used in doses (150µg and 450µg) and the biochemical dosages of the enzyme Glutathione peroxidase (GSH-PX), superoxide dismutase (SOD), the content of Sulfidrilas and the lipid peroxidation were verified through TBARS from the brain of chicken embryos. Given the results obtained, no statistically significant differences were observed between the doses administered to embryos in E9. Based on the data presented, it can be suggested that the hydroalcoholic extract of *E. catharinensis* does not present toxicity on the embryonic development of the CNS of birds.

**Keywords:** Oxidative stress. Nervous tissue. Extract. *Myrtaceae*. Development.

## INTRODUÇÃO

As plantas são capazes de produzir uma grande quantidade de substâncias químicas, apresentando diversas atividades biológicas, sejam elas relacionadas ao seu próprio mecanismo de defesa contra predadores ou no tratamento e prevenção de inúmeras doenças como inflamações, dores ósseas, resfriados, dentre outras (MARTINS; GARLET, 2016; KAUTZKY-WILLER et al., 2019). O uso alternativo de plantas ainda é prática recorrente da população, seja por questões culturais de que sua origem vegetal os isenta de efeitos tóxicos, ou pela facilidade de acesso a estes recursos em detrimento de serviços de saúde (CLARKE; RATES; BRIDI, 2007; BRASILEIRO et al., 2008).

O uso de extratos vegetais é utilizado por grande parte da população, incluindo as gestantes, uma vez que esse conceito representa a isenção desses produtos de apresentarem riscos à saúde de quem os consome (PEREIRA et al., 2007; FRANÇA et al., 2008; FIRMO et al., 2011; BADINELLI, 2014). As alterações fisiológicas e desconfortos que ocorrem durante a gestação são fatores que levam a mulher a utilizar produtos naturais com finalidade preventiva ou terapêutica (PEREIRA et al., 2007; FRANÇA et al., 2008; FIRMO et al., 2011; BADINELLI, 2014).

Os casos clínicos mais recorrentes durante a gestação para a busca da fitoterapia são: enjoos, ansiedade, insônia, constipação intestinal, gripes e até mesmo infecções no trato genital (CLARKE; RATES; BRIDI, 2007). Embora já se tenha evidências científicas que algumas espécies apresentam baixa toxicidade quando consumidas em doses recomendadas durante a gestação, como, por exemplo, o gengibre (*Zingiber officinalis*) e o chá verde (*Cammelia sennensis*), outras possuem alto risco de intoxicação materna e/ou fetal, como é o caso da camomila (*Matricaria recutita*), hibiscus (*rosa-sinensis*), hortelã (*Mentha piperita* L.) e erva doce (*Pimpinella anisium*) (CHUANG et al., 2007; HOLST et al., 2009; OZGOLI; GOLI; SIMBAR, 2009).

A utilização de chás, garrafadas ou extratos brutos utilizados durante a gestação tem suas restrições, uma vez que devido a variabilidade individual algumas gestantes podem ser mais sensíveis a menores concentrações, ou seja, o grau de toxicidade depende da dosagem e da fisiologia do organismo (VASCONCELOS; VIEIRA; VIEIRA, 2009). O uso de plantas na medicina popular contribui para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, uma vez que seus compostos químicos podem atuar de forma direta ou indireta no organismo, inibindo ou ativando importantes vias metabólicas (FIRMO et al., 2011). Essa característica despertou um crescente interesse pelo uso de extratos vegetais nos cuidados primários à saúde, além de um forte aliado à medicina popular. Entretanto, é de suma importância a caracterização fitoquímica desses vegetais, bem como a verificação dos seus efeitos no organismo, garantindo, deste modo, a segurança do uso (FIRMO et al., 2011).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a toxicidade do extrato hidroalcoólico de *Eugenia catharinensis* em embriões de galinha (*Gallus domesticus*) através dos perfis bioquímicos relacionados ao estresse oxidativo e defesas antioxidantes do tecido nervoso.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### PREPARAÇÃO DO EXTRATO

Folhas de *Eugenia catharinensis* foram coletados em Blumenau, Santa Catarina, Brasil (26°90'63S, 49°08'01W), em outubro de 2016. O espécime foi identificado pelo Dr. André Luís de Gasper. Uma amostra de voucher desta planta foi depositada no Herbário Dr. Roberto Miguel Klein (FURB, <http://furb.jbrj.gov.br>) sob registro número 14995. As folhas coletadas foram secas em temperatura ambiente e moagem em moinho de faca. A amostra foi macerada em álcool etílico 70% para a obtenção do extrato bruto. O processo de maceração foi realizado por três dias e posteriormente filtrado. Os extratos resultantes das duas macerações foram reunidos e concentrados com um evaporador rotativo sob pressão baixa até a secagem completa.

### MODELO BIOLÓGICO E TRATAMENTO

Foram utilizados 60 ovos fertilizados de *Gallus domesticus*, seguindo-se o protocolo de experimentação animal, aprovado pelo Comitê de Ética Comitê de Pesquisa Animal da Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, Brasil, sob o protocolo número 014/2019.

O tratamento *in ovo* foi realizado no dia embrionário (E3- 21HH) e em ambiente asséptico, onde se abriu um orifício na casca do ovo para visualização do embrião. Os ovos embrionados foram divididos em grupos e, com o auxílio de uma pipeta eletrônica, foram tratados com doses do extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* (150µg e 450µg) e com 50µg de salina (controle).

Após o tratamento, a abertura foi fechada com filme PVC transparente atóxico e o ovo retornou para a incubadora, onde foi mantido até completar 9 dias (E9 - 32HH) de incubação. O desenvolvimento foi monitorado através da abertura na casca, e as características externas foram avaliadas de acordo com o descrito por Hamburger e Hamilton (1951), cada dia embrionário (DE) correspondendo a 24 h de desenvolvimento.

Após esse período os embriões foram anestesiados e seus encéfalos foram retirados e dissecados, removendo as meninges e mantidos no gelo. Posteriormente os encéfalos foram macerados em tampão fosfato e conduzidos para os ensaios bioquímicos.

## ANÁLISES BIOQUÍMICAS DO ESTRESSE OXIDATIVO

Para análise bioquímica do estresse oxidativo das amostras de encéfalo de embriões de galinha, foram realizados o teste em substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), total de sulfidrilas, ensaio de glutatona peroxidase (GSH-Px), ensaio de superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT).

O teste TBA-RS determina os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico que avalia lipoperoxidação ou danos aos lipídios e foi determinado de acordo com o método descrito por Ohkawa et al. (1979). O teor total de sulfidrilas avalia os danos às proteínas, e a concentração total do grupo tiol foi determinada pelo método de Aksenov e Markesbery (2001).

A glutatona peroxidase é responsável pela decomposição de hidroperóxido e peróxido de hidrogênio, sendo medida nas amostras através do método de Wendel (1981) com o tert-butil-hidroperóxido como substrato.

Para verificar se houve impedimento do acúmulo de peróxido de hidrogênio, foi utilizado o teste de dosagem de catalase. Para isso, utilizou-se a metodologia de Aebi (1984) usando um espectrofotômetro Shimadzu de UV-visível.

O ensaio de superóxido dismutase (SOD) foi usado para avaliar a atividade da proteína em auto oxidar o piragol, que é um substrato para SOD, processo este altamente dependente de superóxido ( $O_2^-$ ) (MARKLUND, 1985).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes às análises bioquímicas foram expressos em média e erro padrão para cada grupo e analisados no programa estatístico Statistica® versão 6.0 para Windows. Para verificar a existência de diferenças significativas entre os grupos, foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA),  $p \leq 0,05$ , seguido de teste *post hoc* de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento dos embriões de ave é muito similar ao de mamíferos na sua complexidade morfológica e no curso geral do seu desenvolvimento inicial. Por isso, e por serem mais fáceis de obter e observar, este modelo é um complemento valioso para os estudos da embriologia em mamíferos (WOLPERT et al., 2008).

No dia embrionário (DE3) em que foi realizado o tratamento dos embriões, estes já apresentam 40 pares de somitos, a cabeça está bem desenvolvida, o coração formado e os membros estão começando a se desenvolver (HAMBURGER; HAMILTON, 1993; WOLPERT et al., 2008). O embrião obtém a sua nutrição pelas membranas extraembrionárias, que também fornecem proteção (HAMBURGER; HAMILTON, 1993; WOLPERT et al., 2008).

O acompanhamento, portanto, de alterações neste período de desenvolvimento do embrião de ave, nos remete a uma grande similaridade com outros vertebrados. Este fato nos permite um nível razoável de extrapolação quanto às consequências da exposição aos poluentes observados em

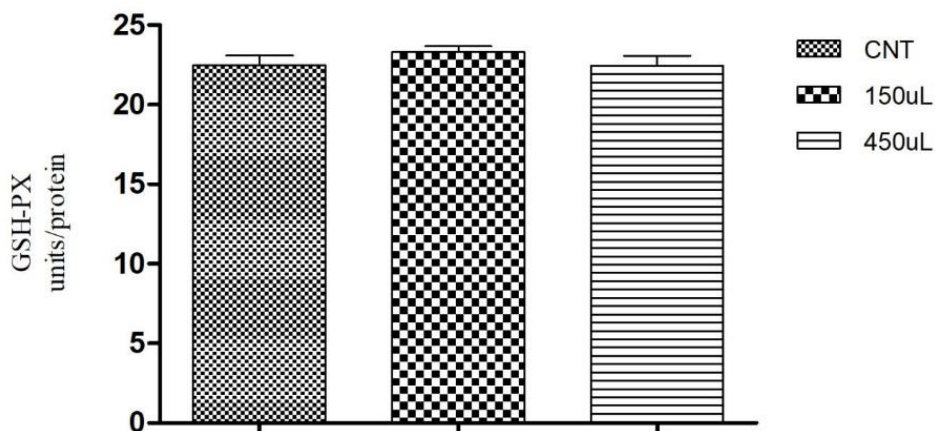
embriões de aves para o embrião humano (STERN, 2005; DE GROEF; GROMMEN; DARRAS, 2008) genetics, virology, cancer, and cell biology. Now, it has become even more powerful thanks to several new technologies: in vivo electroporation (allowing gain- and loss-of-function in vivo in a time- and space-controlled way. O embrião de galinha é considerado um dos modelos experimentais disponíveis mais versáteis para o estudo da biologia do desenvolvimento (DE GROEF; GROMMEN; DARRAS, 2008; KHARAZI et al., 2013). Este modelo contribuiu para os principais conceitos de imunologia (por não ser imunocomprometido), genética, virologia, câncer e biologia celular, e tornou-se ainda mais importante devido às novas tecnologias, como os novos métodos para transgênese e o estudo das células tronco (STERN, 2005; DE GROEF; GROMMEN; DARRAS, 2008; KHARAZI et al., 2013). Além disso, possibilita o estudo do desenvolvimento avançado do sistema nervoso central com mais facilidade do que em modelos mamíferos (ZHENG et al., 2014; GOODFELLOW et al., 2016).

De acordo com os resultados obtidos verificamos que a GSH-PX não sofreu alteração significativa entre as doses administradas nos embriões tratados (Figura 1). A Glutathione peroxidase (GSH-PX) é uma enzima antioxidante que atua sobre vários peróxidos formados nos organismos, esse tipo de enzima é a primeira linha defensiva contra as espécies reativas de oxigênio (TORRES; SOARES; MAIA, 2004).

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo organismo ou absorvidos da dieta. De acordo com Halliwell (2000), antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo. Os antioxidantes produzidos pelo organismo agem em duas linhas (JOSÉ C. R. VELLOSA, VANESSA DE F. BARBOSA, 2007). Uma delas atua como detoxificadora do agente antes que ele cause lesão. Esta linha é constituída por glutathione reduzida (GSH) e pelas enzimas: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione-peroxidase (GPx). A outra linha de defesa tem a função de reparar a lesão ocorrida, sendo constituída pela vitamina C, vitamina E, pela glutathione-redutase (GR) e pela glutathione-S-transferase (GST), entre outros (JOSÉ C. R. VELLOSA, VANESSA DE F. BARBOSA, 2007). O aumento na concentração dessas enzimas no encefalo do embrião significaria que o embrião teria aumentado sua expressão enzimática antioxidante para combater a oxidação proporcionada pelo tratamento, assim como a diminuição na concentração significaria que o tratamento teria efeito antioxidante e diminuiria a expressão enzimática, pois não haveria necessidade de tê-la em quantia elevada (BARBOSA et al., 2010).

A GSH, formada pelos aminoácidos glicina, cisteína e glutamato, é o cofator para a GST (glutathione transferase) e é considerada a principal enzima que desempenha papel fisiológico na iniciação da detoxificação de potenciais agentes alquilantes, incluindo compostos farmacologicamente ativos, gerados intracelularmente ou encontrados na forma de xenobióticos. A capacidade redutora da GSH é determinada pelo grupamento SH, presente na cisteína (LAM; SPARNINS; WATTENBERG, 1982). A reação de conjugação do grupo sulfidrílico da glutathione com grupos eletrofílicos de compostos xenobióticos, catalisada pela GST, torna os produtos da reação menos tóxicos e mais solúveis em água, facilitando a excreção (LAM; SPARNINS; WATTENBERG, 1982; B.WHEATLEY et al., 1994).

**Figura 1** - Efeito do extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* sobre a atividade do GSH-Px do encéfalo de embriões de galinha E9.

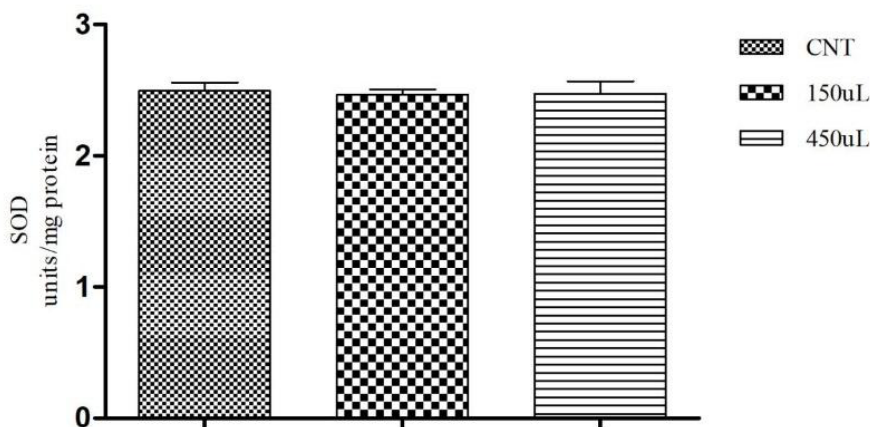


**Fonte:** Compilação dos autores.

Assim como a Glutathiona Peroxidase, o sistema de defesa enzimático inclui também as enzimas Superóxido Dismutase (SOD) e Catalase (CAT), que agem por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres e espécies não-radicaais envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que culminam com propagação e amplificação do processo e, consequentemente, com a ocorrência de danos oxidativos (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

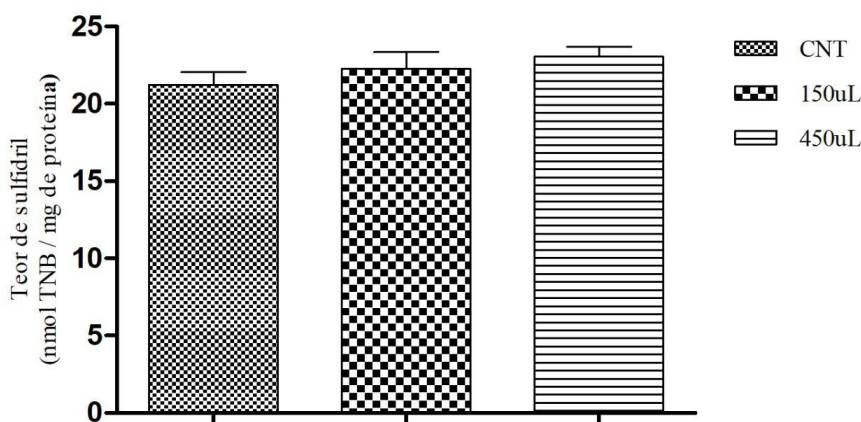
A Figura 2 mostra que não foram observadas alterações significativas na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nas diferentes concentrações das doses de tratamento sobre o encéfalo de embriões.

A atividade das enzimas muitas vezes depende da participação de cofatores enzimáticos, especialmente antioxidantes de origem dietética. Tais cofatores podem diferir de acordo com os compartimentos celulares de ação das enzimas (GREEN; BRAND; MURPHY, 2003). A SOD pode ser encontrada sob duas formas: no citoplasma – dependente de cobre e zinco (SOD-Cu/Zn) – e na mitocôndria – necessita do manganês como cofator (SOD-Mn). A GPx também existe sob duas formas: dependente e independente de selênio, e pode apresentar-se no citoplasma ou na mitocôndria (GREEN; BRAND; MURPHY, 2003).

**Figura 2** - Efeito do extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* sobre a atividade da SOD do encéfalo de embriões de galinha E9.

**Fonte:** Compilação dos autores.

As sulfidrilas (-SH) são consideradas os maiores e mais frequentes antioxidantes no plasma. O aumento dos teores de sulfidrilas pode indicar uma necessidade em reduzir um possível efeito oxidativo. Os encéfalos apresentaram uma tendência a um aumento no teor de sulfidrilas na maior dose, mas não foi estatisticamente significativo (Figura 3). A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo celular, produzindo radicais livres de forma natural ou por uma disfunção biológica (BARREIROS; DAVID, 2006). O tecido nervoso, devido ao seu elevado metabolismo, gera EROs. Em embriões a produção é ainda mais elevada. No organismo, as EROs estão envolvidas na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular, imunidade e defesa celular e síntese de substâncias biológicas, entretanto, quando em excesso, apresentam efeitos prejudiciais, como a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA (BARREIROS; DAVID, 2006; CELI, 2010).

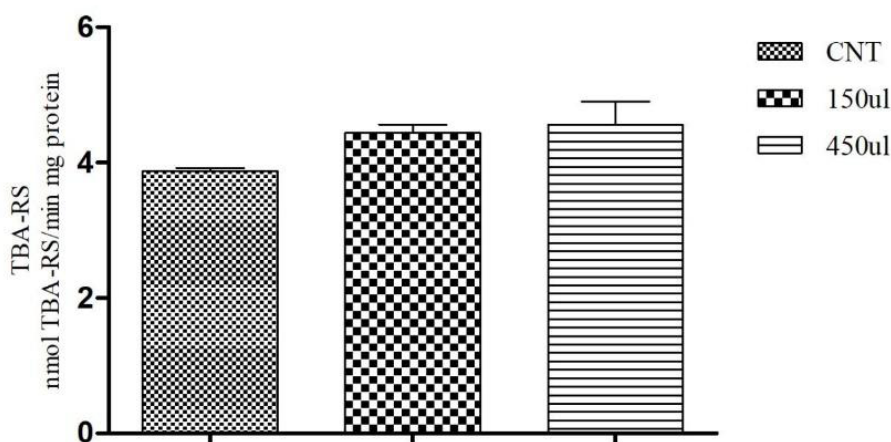
**Figura 3** - Efeito do extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* sobre o teor de sulfidrilas no encéfalo de embriões de galinha E9.

**Fonte:** Compilação dos autores.

Diante do tratamento, pode-se avaliar a peroxidação lipídica através do ensaio de TBARS. O extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* provocou aumento na concentração de TBARS na maior dose de tratamento (Figura 4).

O extrato atua como um gerador de espécies reativas de oxigênio (EROs), podendo agir sobre qualquer componente celular. Entretanto, as membranas são os componentes mais atingidos, acarretando em alterações na sua estrutura e permeabilidade, podendo levar a perda de seletividade e liberação do conteúdo de organelas à formação de produtos citotóxicos, inclusive resultando na morte celular (DE OLIVEIRA et al., 2009).

**Figura 4** - Efeito do extrato hidroalcoólico de *E. catharinensis* sobre a concentração de TBARS no encéfalo de embriões de galinha E9.



Fonte: Compilação dos autores.

O encéfalo é uma estrutura altamente sensível a danos oxidativos por ser rico em material lipídico, como ácidos graxos poli-insaturados e catecolaminas, e por consumir uma quantidade significativa de oxigênio, mas é relativamente deficiente em defesas antioxidantes (ZHAO; LI; MAIESE, 2005).

Ao se tratar de embrião estamos também aumentando as chances de alterações morfofisiológicas provocadas pelo estresse oxidativo, que pode levar a célula à morte ou a distúrbios no processo de proliferação celular.

Além do sistema de defesa enzimático do SNC, há uma série de mecanismos de barreiras que iniciam seu desenvolvimento precocemente no embrião e feto de mamíferos e aves, como junções anatomicamente restritivas que estão presentes em vários locais e vários mecanismos de desintoxicação (STOLP et al., 2011). Existem alguns aspectos de desenvolvimento que provavelmente fazem o cérebro em crescimento mais suscetível a toxinas do que o adulto (STOLP et al., 2011). Em primeiro lugar, o desenvolvimento de neurônios e células gliais passam por um intrincado processo de maturação e isso ainda não foi totalmente compreendido (STOLP et al., 2011). Durante este processo, os neurônios migram ao longo de diferentes locais no cérebro para subsequentemente formarem redes neurais muito complexas (STOLP et al., 2011). A maturação da rede neural não depende apenas do neurônio, mas, em vez disso, envolve a comunicação célula-célula com a glia circundante. Se qualquer um desses processos são perturbados durante o desenvolvimento, isso pode ter efeitos de longo prazo na função cerebral (STOLP et al., 2011).



## CONCLUSÃO

Levando em consideração que as espécies reativas de oxigênio são capazes de oxidar diferentes moléculas, como lipídios, proteínas, açúcares e DNA, acarretando morte celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007), sugerimos que o extrato de *Eugenia catharinensis* administrado não provocou estresse oxidativo no tecido nervoso dos embriões de galinha analisados.

Neste contexto, sugere-se mais estudos acerca dos seus efeitos farmacológicos em embriões e em modelos adultos.

## REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in Vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, n. C, p. 121–126, 1984. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6727660/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.
- AKSENOV, M. Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, n. 2–3, p. 141–145, 2001. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11290407/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.
- B.WHEATLEY, J. et al. Examination of glutathione S-transferase isoenzyme profiles in human liver using high-performance affinity chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 663, n. 1, p. 53–63, 1994. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8180656/>>. Acesso em: 17 jun. 2021.
- BADINELLI, I. F. **Saúde, Doença no Brasil Colonial: Práticas de cura e o uso de plantas medicinais no Tratado Erário Mineral de Luís Gomes Ferreira (1735)**. 2014. Universidade Federal de Santa Catarina, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/127486>>. Acesso em: 12 jun. 2021.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rn/a/Fvg4wkYzPgsFs95f4chVjx/?lang=pt>>. Acesso em: 21 set. 2021.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006. Disponível em: <[http://static.sites.s bq.org.br/quimicanova.s bq.org.br/pdf/Vol29No1\\_113\\_20-DV04221.pdf](http://static.sites.s bq.org.br/quimicanova.s bq.org.br/pdf/Vol29No1_113_20-DV04221.pdf)>. Acesso em: 15 jun. 2021.
- BRASILEIRO, B. G. et al. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no “Programa de Saúde da Família”, Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 4, p. 629–636, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbcf/a/TwBRyGvxZsHRXKvSBgdBYPc/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 19 jun. 2021.
- CELI, P. The role of oxidative stress in small ruminants' health and production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. SUPPL. 1, p. 348–363, 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbz/a/TgwKZ3n3tyNtBFVKSskGC3ms/abstract/?lang=en>>. Acesso em: 16 jun. 2021.
- CHUANG, C.-H. et al. Chinese herbal medicines used in pregnancy: a population-based survey in Taiwan. **Pharmacoepidemiology and drug safety**, v. 16, p. 228–228, 2007. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/med/17063532>>. Acesso em: 16 jun. 2021.

CLARKE, J. H. R.; RATES, S. M. K.; BRIDI, R. Um alerta sobre o uso de produtos de origem vegetal na gravidez. **Infarma**, v. 19, p. 41–48, 2007. Disponível em: <<http://revistas.cff.org.br/infarma/article/view/223>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

DE GROEF, B.; GROMMEN, S. V. H.; DARRAS, V. M. The chicken embryo as a model for developmental endocrinology: development of the thyrotropic, corticotropic, and somatotropic axes. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 293, n. 1–2, p. 17–24, 2008. Disponível em: <<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00532035/document>>. Acesso em: 18 jun. 2021.

DE OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/D7W5ZmntbhMyt5G9FNwvpLr/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 16 jun. 2021.

FIRMO, W. da C. A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, v. 18, n. Especial, p. 90–95, 2011. Disponível em: <<http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/cadernosdepesquisa/article/view/746>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

FRANÇA, I. S. X. de et al. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 201–208, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/reben/a/dYkMVhNDT7ydC55WTzknHxs/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 13 jun. 2021.

GOODFELLOW, F. T. et al. Zika virus induced mortality and microcephaly in chicken embryos. **Stem Cells and Development**, v. 25, n. 22, p. 1691–1697, 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27627457/>>. Acesso em: 16 jun. 2021.

GREEN, K.; BRAND, M. D.; MURPHY, M. P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**, v. 53, n. February, p. 1–9, 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14749275/>>. Acesso em: 17 jun. 2021.

GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 899, p. 136–147, 2000. Disponível em: <<https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06182.x?sid=nlm%3Apubmed>>. Acesso em: 21 set. 2021.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. [s.l.] Oxford, 2007.

HAMBURGER, V.; HAMILTON, H. A series of normal stages in the development of the chick embryo. **Journal of morphology**, v. 88, n. 1, p. 231–272, 1993. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1304821/>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

HOLST, L. et al. The use and the user of herbal remedies during pregnancy. **Journal Of Alternative And Complementary Medicine**, v. 15, n. 7, p. 787–792, 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19538045/>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

JOSÉ C. R. VELLOSA, VANESSA DE F. BARBOSA, O. M. M. de F. O. Pesquisa De Produtos Naturais : Plantas E Radicais Livres. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. IV, n. 2, p. 119–130, 2007. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/REF/article/download/3026/3048/12160#:~:text=A pesquisa de produtos naturais,torna-se de grande importância.>>. Acesso em: 21 set. 2021.

KAUTZKY-WILLER, A. et al. Uso de plantas medicinais para o tratamento do Diabetes Mellitus no Vale do Paraíba-SP. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, n. 4, p. 10–20, 2019. Disponível em: <<https://www.revistaeletronicafunvic.org/index.php/c14ffd10/article/view/84/73>>. Acesso em: 21 set. 2021.

KHARAZI, A. et al. Chicken embryonic brain: An in vivo model for verifying neural stem cell potency. **Journal of Neurosurgery**, v. 119, n. 2, p. 512–519, 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23451907/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

LAM, L. K. T.; SPARNINS, V. L.; WATTENBERG, L. W. Isolation and identification of kahweol palmitate and cafestol palmitate as active constituents of green coffee beans that enhance glutathione s-transferase activity in the mouse. **Cancer Research**, v. 42, n. 4, p. 1193, 1982. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7059995/>>. Acesso em: 18 jun. 2021.

MARKLUND, S. L. **Pyrogallol Autoxidation**. 1. ed. [s.l.] CRC Press, 1985. Disponível em: <<https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9781351072922-50/pyrogallol-autoxidation-stefan-marklund>>. Acesso em: 8 jun. 2021.

MARTINS, M. C.; GARLET, T. M. B. Desenvolvendo e divulgando o conhecimento sobre plantas medicinais. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 438, 2016. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/583e/acee0a837d16464ac1b5c756bc1ee00de248.pdf>>. Acesso em: 21 set. 2021.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0003269779907383>>. Acesso em: 7 jun. 2021.

OZGOLI, G.; GOLI, M.; SIMBAR, M. Effects of ginger capsules on pregnancy, nausea, and vomiting. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 15, n. 3, p. 243–246, 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19250006/>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

PEREIRA, M. C. L. et al. Estratégias para neurorestauração em modelos experimentais de doença de Parkinson. **Einstein**, v. 5, n. 4, p. 387–391, 2007. Disponível em: <[http://apps.einstein.br/revista/arquivos/PDF/808-Einstein\\_P1\\_Vol5N4\\_Miolo\\_Pag.387 a 391.pdf](http://apps.einstein.br/revista/arquivos/PDF/808-Einstein_P1_Vol5N4_Miolo_Pag.387%20a%20391.pdf)>. Acesso em: 20 set. 2021.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. de. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308–313, 2004. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbme/a/wwCFLrKpJhzX8fyYQG7zw5b/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 17 jun. 2021.

STERN, C. D. The Chick: A Great Model System Becomes Even Greater. **Developmental Cell**, v. 8, n. 1, p. 9–17, 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21547250/>>. Acesso em: 18 jun. 2021.

STOLP, H. B. et al. Effects of neonatal systemic inflammation on blood-brain barrier permeability and behaviour in juvenile and adult rats. **Cardiovascular Psychiatry and Neurology**, v. 2011, 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21547250/>>. Acesso em: 21 jun. 2021.

TORRES, M. C. L.; SOARES, N. de F. F.; MAIA, J. F. Parâmetros cinéticos da Glutathione S-Transferase e sua ativação por extratos de vegetais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 243–248, 2004. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/SwxGqzmzNLVHMPcqJ53LhvNB/?lang=pt>>. Acesso em: 19 jun. 2021.

VASCONCELOS, J.; VIEIRA, J. G. de P.; VIEIRA, E. P. de P. Plantas tóxicas: conhecer para prevenir. **Revista Científica da UFPA**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2009. Disponível em: <[http://www.gege.agrarias.ufpr.br/plantastoxicas/textos/euphorbia mili.pdf](http://www.gege.agrarias.ufpr.br/plantastoxicas/textos/euphorbia%20mili.pdf)>. Acesso em: 19 jun. 2021.

WENDEL, A. Glutathione Peroxidase. **Methods in Enzymology**, v. 77, n. C, p. 325–333, 1981. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7329310/>>. Acesso em: 17 jun. 2021.

WOLPERT, L. et al. **Princípios de Biologia do Desenvolvimento**. 3. ed. [s.l.] Artmed, 2008.

ZHAO, Z. C.; LI, F.; MAIESE, K. Oxidative stress in the brain: Novel cellular targets that govern survival during neurodegenerative disease. **Progress in Neurobiology**, v. 75, n. 3, p. 207–246, 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15882775/>>. Acesso em: 18 jun. 2021.

ZHENG, X. B. et al. Halogenated flame retardants during egg formation and chicken embryo development: Maternal transfer, possible biotransformation, and tissue distribution. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 8, p. 1712–1719, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24888473/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.