

**RENATA ZOCCAL NOVAIS**

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TECIDUAL DOS EXTRATOS  
VEGETAIS AQUOSO E HIDROALCOÓLICO DE ARAÇÁ (*Psidium  
cattleianum*) PELA ANÁLISE EDEMOGÊNICA E MORFOLÓGICA  
EM RATOS.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia  
de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de  
Mesquita Filho" - UNESP, como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre em  
ODONTOPEDIATRIA

*Orientador: Prof. Dr. Eloi Dezan Junior*

*Co-orientador: Prof. Dr. Élerson Gaetti-Jardim Júnior*

Araçatuba

2008

## Dados Curriculares

# RENATA ZOCCAL NOVAIS

|                    |                                                                                                      |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Nascimento:</b> | 22/04/1975, Araçatuba/SP                                                                             |
| <b>Filiação:</b>   | Francisco Manoel Zoccal<br>Doraci Paula da Silva Zoccal                                              |
| <b>1994-1997:</b>  | Curso de Graduação<br>Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP                                  |
| <b>1998-2000:</b>  | Curso de Especialização em Odontopediatria<br>Faculdade de Odontologia de Bauru – USP                |
| <b>2003-2004:</b>  | Curso de Ortodontia Preventiva e Interceptora<br>Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP       |
| <b>2006-2007:</b>  | Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria (Mestrado)<br>Faculdade de Odontologia de Araçatuba –UNESP |

## OFERECIMENTO

### **A Deus**

O alfa e o ômega.

O princípio e o fim.

Criador e pai.

Presente em todos os instantes,

E em todos os lugares.

Poder e glória eterna.

### **A Jesus e Maria**

Companheiros de vida, exemplos de perfeição divina.

Jesus, sinto-me honrada por ser sua escolhida desde o início da minha vida. Que assim seja até a eternidade.

Maria, orienta-me como mãe e mulher. Que sua doçura me abrace nos momentos de cansaço.

## DEDICATÓRIA

À minha filha,  
**Manuela**

Menininha do meu coração  
Eu só quero você  
A três palmos do chão  
Menininha não cresça mais não  
Fique pequeninha na minha canção  
Senhorinha levada  
Batendo palminha  
Fingindo assustada  
Do bicho-papão

Menininha, que graça é você  
Uma coisinha assim  
Começando a viver  
Fique assim, meu amor  
Sem crescer  
Porque o mundo é ruim, é ruim e você  
Vai sofrer de repente  
Uma decepção  
Porque a vida é somente  
Teu bicho-papão

Toquinho – Menininha

Alegria inebriante, amor gratuito, esperança envolvente...  
Meu anjo branco, a você que dá todo sentido à minha vida, toda minha gratidão, minha entrega e minha dor pelos momentos de ausência.

Se os olhares se cruzarem e, neste momento,  
houver o mesmo brilho intenso entre eles,  
pode ser a pessoa que você espera desde o dia em que nasceu.

Se o toque dos lábios for intenso, se o beijo  
for apaixonante, e os olhos se encherem d'água. Neste  
momento, perceba: existe algo mágico entre vocês.

Agradeça: O céu te mandou um presente divino: O AMOR.

Se um dia tiverem que pedir perdão um ao outro por algum  
motivo e, em troca, receber um abraço, um sorriso, um afago  
nos cabelos, entregue-se: vocês foram feitos um pro outro.

Se por algum motivo você estiver triste, e a outra pessoa  
sofrer o seu sofrimento, chorar as suas lágrimas e enxugá-las  
com ternura, que coisa maravilhosa: você poderá contar  
com ela em qualquer momento de sua vida.

Se você tiver a certeza que vai ver a outra envelhecendo e,  
mesmo assim, tiver a convicção que vai continuar sendo louco  
por ela...

É o amor que chegou na sua vida.

Carlos Drummond de Andrade  
Não deixe o amor passar

Ao meu esposo,  
**Fabício**

Generosidade, cumplicidade e determinação.  
Meu amor, viver ao seu lado me faz cada dia mais 'rica'. Seu amor nos aproximou e a superação constante das vicissitudes da vida nos torna mais unidos e fiéis.  
Hoje, você é minha fortaleza e meu refúgio.

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais,  
**Francisco e  
Doraci**

'Muitas vezes basta ser:  
Colo que acolhe,  
Braço que envolve,  
Palavra que conforta,  
Silêncio que respeita,  
Alegria que contagia,  
Lágrima que corre,  
Olhar que acaricia,  
Desejo que sacia,  
Amor que promove.'

Cora Coralina

Dedicação absoluta, com o mesmo entusiasmo do meu primeiro dia de vida.  
Exemplos de força, coragem e fé.  
Dedico as minhas lutas e as minhas vitórias a quem me fez 'gente'.  
Papai e mamãe, a vocês entrego meu coração, minha oração e meu cuidar.

À minha irmã,  
**Roberta**

'Ontem um menino que brincava me falou  
Hoje é semente do amanhã  
Para não ter medo que este tempo vai passar  
Não se desespere e nem pare de sonhar  
Nunca se entregue, nasça sempre com as manhãs  
Deixe a luz do sol brilhar no céu do seu olhar  
Fé na vida, fé no homem, fé no que virá  
**Nós podemos tudo, nós podemos mais'**

Gonzaguinha - Nunca Pare de Sonhar

Irmã, amiga, companheira, e por que não, um pouco filha.  
Sua inquietude te lança com sede ao mundo, te faz melhor.  
Sua amizade me dá sustento e apoio nos desafios da vida.  
Que meu amor, carinho e admiração nos mantenham unidas.

Aos meus tios-  
avós, **Antônio  
e Tereza**  
(*in memoriam*)

'Saudade é solidão acompanhada,  
quando o amor ainda não foi embora, mas o amado já...  
Saudade é amar um passado que ainda não passou,  
É recusar um presente que nos convida...  
Saudade é sentir que existe o que não existe mais...  
Saudade é o inferno dos que perderam,  
É a dor dos que ficaram para trás,  
É o gosto de morte na boca dos que continuam...  
E esse é o maior dos sofrimentos:  
não ter por quem sentir saudades,  
é passar pela vida e não viver.  
O maior dos sofrimentos é nunca ter sofrido...'

Pablo Neruda

Presenças constantes mesmo na ausência.  
Alicerce, sustentação e superação.  
Tio Antônio e tia Tereza, minha admiração, minha gratidão e o meu  
compromisso com os vossos valores.

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

### Aos meus pequenos pacientes

A quem devo minha paixão pela Odontologia.

Por alimentarem a criança dentro de mim, vivificando a transparência e a confiança na vida.

### Ao meu orientador, Eloi Dezan Junior

Amigo dedicado e professor paciente.

Por ser também responsável por esta conquista, meu carinho e gratidão.

Sabia que não tínhamos nascidos no mesmo exato dia sem um motivo especial.

### Ao meu co-orientador, Élerson Gaetti-Jardim Júnior

O nosso pouco contato não foi causa de sua menor motivação e contribuição.

Foi uma surpresa encontrá-lo e uma honra conviver com tamanha genialidade.

### A toda minha família,

Nas pessoas dos meus avós paternos, Gildemo e Maria, e maternos, Deoclides e Deolina.

Por estarem presentes em todos os momentos e pelos bons exemplos de caráter, seriedade e unidade.

### Aos meus sogros, Manoel e Elza

Por me acolherem tão carinhosamente em suas vidas.

Sr. Manoel, pelo carinho e admiração exaustivamente declarados, que eu possa um dia merecê-los.

D. Elza, por compartilhar comigo a gratificante tarefa de cuidar da nossa pequena Manuela.

### Aos meus cunhados Luciano e Alessandra e à minha sobrinha Catarina

Por dividirem comigo as pessoas mais especiais, minha irmã e meu marido.

Pela convivência sempre agradável e amiga.

### Aos amigos, companheiros de vida

A leveza da vida depende da coragem em compartilhar.

Aos que foram, aos chegam e aos que estão, meus maiores desejos de felicidades.

### Aos parceiros de trabalho em Araçatuba, em Birigüi, em Guararapes

e às colegas Denise e Alessandra

Vocês fazem parte da minha realização e do meu crescimento.

Por me proporcionarem um ambiente leve, agradável e rico em companheirismo e bondade.

Conte comigo meu amigo  
se for pra te dar a mão,  
mas se for pra correr perigo  
que seja boa a razão,  
conte comigo que eu brigo  
se for esta a condição.

Pra que a gente realize  
então, aquela velha,  
mas sincera ambição.

Conte comigo, eu te sigo  
para enfrentar o castigo  
ou ter glórias de um campeão.

Almir Sater/ Paulo Simões  
Razões

## AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, nas pessoas do diretor Prof. Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé e da vice-diretora Prof. Dra. Ana Maria Pires Soubhia.

Aos professores da disciplina de Odontopediatria, Prof. Dr. Célio Percinoto, Profa. Dra. Rosângela dos Santos Nery, Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, Profa. Dra. Sandra Maria Herondina Coelho Ávila de Aguiar em especial ao atual coordenador do Curso de Pós-Graduação Prof. Dr. Robson Frederico Cunha.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação de Odontopediatria, nível Mestrado.

Aos professores da disciplina de Endodontia, Prof. Dr. Roberto Holland, Prof. Dr. Valdir de Souza, Prof. Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé, Prof. Dr. Mauro Nery, Prof. Dr. José Arlindo Otoboni Filho, Prof. Dr. João Eduardo Filho e Prof. Dr. Eloi Dezan Junior.

Ao professor João Eduardo Gomes Filho, em especial, pela disponibilidade em contribuir de forma tão competente e clara à leitura microscópica e por nos receber com tanto carinho no seu 'espaço' de estudos.

Ao Prof. Dr. Cláudio Casatti, pelo pronto atendimento da rica colaboração na leitura histológica.

À professora Cristina Antonialli Silva, presidente da Comissão de Ética em Experimental Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP.

Aos funcionários da disciplina de Odontopediatria, Maria dos Santos Ferreira e Mário Luis da Silva.

Aos funcionários da Disciplina de Endodontia, Nelci Vieira, Neuza Angélica dos Santos e Hermelinda de Jesus Pereira Before.

Aos funcionários da Biblioteca, Ana Cláudia Grieger Manzatti, Cláudia de Souza Frare, Cláudio Hideo Matsumoto, Isabel Pereira de Matos, Ivone Rosa de Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Jéssica Durberg, Luzia Anderlini, Maria Cláudia de Castro Benez, Fernando Sukunishi e Cláudio Maciel Júnior.

Aos funcionários da seção de Pós-Graduação da FOA-UNESP, Marina Midori Sakamoto Hawagoe, Valéria de Queiroz Marcondes Zagatto e Diogo Reatto.

Aos funcionários do Biotério do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

Aos alunos da graduação durante os anos de 2006 e 2007, em especial Marcelle e Renato.

Ao assistente de laboratório da Disciplina de Fisiologia Mauro Alberto, pela presença insubstituível nos procedimentos cirúrgicos.

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Bauru, USP, na pessoa da responsável pela disciplina e coordenadora do Programa de Pós-graduação desta faculdade, Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado

À Prefeitura Municipal de Guararapes na pessoa do coordenador do Setor Odontológico, Sr. Jorge Gemeinder.

À teacher Natália Fuzete, da Cultura Inglesa da Araçatuba.

Aos amigos do curso de Graduação, Rodrigo, An Tien Li, Kelly, Cristiane, Heloísa, Tales, André, Thaís, Patrícia, Maria Fernanda, Ana Luiza.

Aos colegas do Curso da Pós-Graduação, Adriana, Carolina, Gilberto, Vanessa e a todos alunos que com quem convivi durante estes dois anos.

À tia Ivone Cardoso da Silva, pelo olhar de constante admiração e pelo incentivo no meu caminhar com o empréstimo de livros de Psicologia.

À família Caputo Pereira, Maria José, Luis Alberto, Nathália e Beatriz, pela confiança e entrega aos meus cuidados profissionais.

Às minhas queridas funcionárias Marlene e Camila Martins Dora, que tornam meu fardo mais leve, minha rotina mais terna e minha casa mais 'lar'.

A todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

**Sonhe com aquilo que você quiser.  
Seja o que você quer ser.  
Porque você possui apenas uma vida e nela só se tem uma chance  
de fazer aquilo que quer.  
Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.  
Dificuldades para fazê-la forte.  
Tristeza para fazê-la humana.  
E esperança suficiente para fazê-la feliz.  
A felicidade aparece para aqueles que choram.  
Para aqueles que se machucam.  
Para aqueles que buscam e tentam sempre.  
E para aqueles que reconhecem a importância das pessoas que passam por suas vidas.**

Clarice Lispector - O sonho

**A UMA ÁRVORE**

**De onde vem essa força  
de ressurreição e recomeço,  
quando os galhos já eram lenha  
na interdição da primavera?  
De onde vem esse viço de brota  
se houve tanto sol e tanto sal  
e tudo era devastação  
propagando em seu corpo e alma?  
Talvez haja uma outra seiva  
de que se alimentem  
suas raízes minérias.  
Ou talvez haja mesmo  
a aprendizagem do *cactus*:  
o ritmo de fluir para o corpo  
e para a seda de suas pétalas  
as suas cacimbas interiores.**

Darcy França Denófrio

**'A ignorância afirma ou nega veementemente, a ciência duvida.'**

Voltaire

## RESUMO

NOVAIS, R. Z. Avaliação da resposta tecidual dos extratos vegetais aquoso e hidroalcoólico de araçá (*Psidium cattleianum*) pela análise edemogênica e morfológica em ratos [Dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP; 2008.

Atualmente, tem se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos, farmacológicos e microbiológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. A demonstração de notável atividade antimicrobiana de extratos aquoso e hidroalcoólico de Araçá (*Psidium cattleianum*) sobre a microbiota bucal e a busca de substâncias que reúnam tais propriedades resguardando os princípios biológicos, nos levam a considerar uma possível utilização clínica desse extrato como coadjuvante na terapia odontológica. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta biológica imediata e tardia de soluções hidroalcoólica e aquosa preparadas à base de extrato vegetal de Araçá (*Psidium cattleianum*). Para a análise edemogênica (reação imediata), foram utilizados 18 ratos machos. Sob anestesia geral, os animais receberam injeção intravenosa de Azul de Evans 1%. Após 30 minutos, foi injetado 0,1mL de um dos extratos ou do controle (soro fisiológico), na região subcutânea dorsal do animal. Os animais foram sacrificados após 3 e 6 horas e as peças obtidas colocadas em formamida por 72 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 630nm. Para a análise morfológica (reação tardia), 30 ratos receberam implantes de tubos de polietileno contendo os extratos ou o soro na região dorsal, e sacrificados após 7 e 28 dias. As peças foram processadas, cortadas e coradas com Hematoxilina e Eosina. Os resultados obtidos através da leitura dos espécimes em microscópio óptico, em aumentos de 10 e 40x, para avaliação da espessura da cápsula fibrosa e contagem de células inflamatórias, que quantificam o infiltrado inflamatório. De acordo com os resultados, pode-se concluir que os extratos vegetais aquoso e hidroalcoólico de araçá apresentaram respostas biológicas, imediata e tardia, semelhantes ao soro fisiológico, portanto foram bem aceitos pelo organismo. O edema se apresentou constante com tempo, e o processo de reparo evoluiu de forma esperada no decorrer do tempo, não mostrando qualquer influência negativa dos extratos experimentais. Por fim, os extratos vegetais de araçá mostraram potencial para uso futuro em odontologia.

**Palavras-chave:** Teste de biocompatibilidade. Teste de materiais. Extratos vegetais. *Psidium*. Inflamação. Edema

## ABSTRACT

NOVAIS, R. Z. Evaluation of the tissue answer from the watery vegetable and hydro alcoholic extract of *araça* (*Psidium cattleianum*) according to edemogenic and morphological analysis in mice [Master]. Araçatuba: Dentistry College – University of São Paulo state “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp; 2008.

Nowadays, it's been seen great scientific advance involving chemistry, pharmacological and microbiological researches in medicinal plants. These researches can find new components with therapeutic property. The demonstration of great anti micro biotic activity of watery vegetable and hydro alcoholic extract of *araça* (*Psidium cattleianum*) on the oral microbiota and the search for substances which can put together these properties keeping the biological principles, make us consider a possible clinical use of this extract as supporting on dentistry therapy. This way, the objective of this paper (research) was evaluate the biological immediate and late answer of hydro alcoholic and watery solutions prepared with vegetable extract of *araça* (*Psidium cattleianum*). For the edemogenic analysis (immediate reaction), we used 18 male mice. Under general anesthesia, the animals received intra shot of Evans blue 1%. 30 minutes later, it was injected 0,1mL of one of the extracts or the control (physiological serum), on the dorsal under skin region of the animal. The animals were sacrificed after 3 and 6 hours and the obtained material were put in formamide for 72 hours. The reading was made for spectrophotometer with waves length of 630nm. For the morphological analysis (late reaction), 30 mice received duct implant of polyethylene with the extracts or the serum on the dorsal region, and sacrificed after 7 and 28 days. The material were processed, cut and printed with HE. The obtained results from the reading of the species in optical microscopy, with raisings of 10 and 40x, for the thickness evaluation of the fiber capsule and counting of the damaged cells, that quantified the damaged infiltrate. According to the obtained results, it is possible to conclude that watery vegetable and hydro alcoholic extract of *araça* show biological answers, immediate and late, similar to the physiological serum, so they were all well accepted by the organism. The edema behaved constant with time, and the process of repair evolved as expected during the days, showing no negative influence of the experimental extracts. Finally, the vegetable extracts of *araça* showed potential for the use in dentistry.

**Key words:** Biocompatibility test. Material test. Plants extracts. *Psidium*. Inflammation. Edema.

## LISTA DE FIGURAS

### Figura 1: Grupo Extrato de Araçá Aquoso.....37

1A - HE, 10X, 07 dias.

1B - HE, 40X, 07 dias.

1C - HE, 10X, 28 dias.

1D - HE, 40X, 28 dias.

### Figura 2: Grupo Extrato de Araçá Hidroalcoólico.....38

2A - HE, 10X, 07 dias.

2B - HE, 40X, 07 dias.

2C - HE, 10X, 28 dias.

2D - HE, 40X, 28 dias.

### Figura 3: Grupo Controle – Soro Fisiológico.....39

3A - HE, 10X, 07 dias.

3B - HE, 40X, 07 dias.

3C - HE, 10X, 28 dias.

3D - HE, 40X, 28 dias.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores da intensidade do exsudato inflamatório induzido pela inoculação das soluções experimentais, obtidos em densidade óptica (D.O).....30

Tabela 2: Marcação dos escores atribuídos aos eventos histológicos observados na análise microscópica dos grupos experimentais em função do tempo.....40

## LISTA DE GRÁFICOS

### Gráfico 1: Valores referentes à Análise Edemogênica.....33

1A - Valores de variação do edema conforme a variação do tempo em horas, 3 e 6 horas.

1B - Valores de variação do edema para as soluções avaliadas (Aquoso, Hidroalcoólico e Soro).

1C - Valores obtidos de densidade óptica de Azul de Evans extravasado no tecido pelo tempo estudado (3 e 6 horas), para as soluções avaliadas (Aquoso, Hidroalcoólico e Soro). Em destaque: Média dos valores para os tempos operatórios estudados.

### Gráfico 2: Valores referentes à Análise Morfológica.....42

2A - Influência do tempo pós-operatório nos resultados obtidos, valores em postos médios.

2B - Influência dos extratos analisados nos resultados obtidos, valores em postos médios.

2C - Escores médios atribuídos em diferentes tempos para os três grupos experimentais.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

|             |                                            |
|-------------|--------------------------------------------|
| UNESP.....  | Universidade Estadual Paulista             |
| FOA.....    | Faculdade de Odontologia de Araçatuba      |
| CEEA.....   | Comissão de Ética na Experimentação Animal |
| Lab.....    | Laboratório                                |
| D.O. ....   | densidade óptica                           |
| HE.....     | Hematoxilina e Eosina                      |
| SJRP.....   | São José do Rio Preto                      |
| Cm.....     | centímetro                                 |
| mm.....     | milímetro                                  |
| µm.....     | micrometro                                 |
| mg/ kg..... | miligrama por quilograma                   |
| mL.....     | mililitro                                  |
| °C.....     | Grau Celcius                               |
| et al.....  | e colaboradores                            |
| min.....    | minutos                                    |
| X.....      | vezes                                      |
| %.....      | porcentagem                                |
| '.....      | minutos                                    |
| +.....      | mais                                       |
| =.....      | igual                                      |
| p.....      | nível de significância                     |
| ®.....      | marca registrada                           |
| nº.....     | número                                     |
| &.....      | e                                          |

## SUMÁRIO

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| 1. Introdução.....                 | 17 |
| 2. Proposição.....                 | 23 |
| 3. Material e Método               |    |
| 3.1. Do Preparo dos Extratos.....  | 24 |
| 3.2. Animais.....                  | 25 |
| 3.3. Da Análise Edemogênica.....   | 26 |
| 3.4. Da Análise Morfológica.....   | 27 |
| 4. Resultado                       |    |
| 4.1. Da Análise Edemogênica.....   | 30 |
| 4.2. Da Análise Morfológica.....   | 34 |
| 5. Discussão                       |    |
| 5.1. Da Concepção.....             | 43 |
| 5.2. Da Metodologia                |    |
| 5.2.1. Animais.....                | 44 |
| 5.2.2. Da Análise Edemogênica..... | 44 |
| 5.2.3. Da Análise Morfológica..... | 46 |
| 5.3. Do Resultado                  |    |
| 5.3.1. Da Análise Edemogênica..... | 47 |
| 5.3.2. Da Análise Morfológica..... | 48 |
| 6. Conclusão.....                  | 49 |
| Referências Bibliográficas.....    | 50 |
| Anexos.....                        | 54 |

# 1. INTRODUÇÃO\*

"Que os nossos sonhos e esforços desafiem as possibilidades,  
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem  
foram conquistadas do que parecia impossível."  
Charles Chaplin

Nos últimos anos, tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Isto pode ser claramente observado pelo aumento de trabalhos publicados nesta área, e o surgimento de novos periódicos específicos sobre produtos naturais ativos (1).

Apesar do estudo das plantas medicinais ter surgido no século dezenove, acredita-se que a utilização das plantas como medicamento seja tão antiga quanto a própria humanidade (2-5). O uso de recursos naturais pela população é orientado por um conjunto de conhecimentos acumulados, resultantes da relação direta de seus membros com o meio ambiente, motivada por um modo de vida que ainda guarda acentuada dependência da natureza próxima (6). Numerosas etapas marcaram essa evolução da arte de curar, porém, torna-se difícil delimitá-las com exatidão, uma vez que a medicina esteve por muito tempo associada às práticas mágicas, místicas e ritualísticas (7).

A relação entre o conhecimento popular e o conhecimento científico pode ser enquadrada dentro da visão dialética proposta pelo filósofo Hegel (1770-1831) (8), que estabelece uma forma de se elaborar o raciocínio e conceber a evolução histórica dos fatos. De acordo com

---

\* Texto formatado de acordo com as normas de publicação do periódico 'Journal of Endodontics'.

Hegel, a maneira de se encarar a realidade resulta quando um pensamento inicial (*tese*) é contradito por um novo pensamento (*antítese*), aparecendo assim, duas formas de se pensar que se opõem. Um terceiro pensamento pode ser formulado, a partir do qual se reúne o que havia de melhor nos dois pontos de vistas precedentes. Tanto a afirmação quanto a negação são superadas, dando lugar à *síntese*. É a negação da negação de Empédocles (494-434a.c.), segundo a qual tudo flui, se transforma e o novo pensamento estabelece uma ponte entre dois pontos de vista opostos (8).

Assim, o conhecimento popular alicerçado sobre bases empíricas e em resultados práticos que contribuem para a solução de problemas defrontados no cotidiano, se contrapõe ao conhecimento científico, que se fundamenta em teorias comprovadas experimentalmente, com métodos aceitos pela classe científica. Em se tratando do uso de plantas medicinais, os dois lados, tese e antítese, podem ser claramente identificados (8).

Por um lado, a interação da comunidade com as plantas, na busca de melhor qualidade de vida ou ainda na tentativa de suprir deficiências do sistema de saúde oficial. Esta forma de se relacionar com as plantas é muitas vezes associada a práticas mágicas ou religiosas, pela existência de um limite incerto entre o que pode ser entendido pelo intelecto e o que ainda não pode ser explicado totalmente pela ciência, como no caso de interferências na capacidade sugestiva, de processos psicossomáticos, de intuição especial ou ainda do possível domínio das leis da natureza por uma entidade superior. Por outro lado, tem-se o estudo das plantas medicinais com métodos sofisticados, estabelecendo uma relação racional entre o uso das plantas medicinais e a cura das doenças por meio de substâncias biologicamente ativas existentes nas drogas vegetais, a fim de se administrar doses acuradas, com benefícios óbvios do ponto de vista experimental e terapêutico (8).

Segundo Castro e Ferreira (8), síntese, ou a unidade de contrários, entre estes dois aspectos é alcançada quando os cientistas, em busca de novos medicamentos, vão até a população e efetuam levantamentos etnobotânicos para, a partir destes, realizarem seus testes laboratoriais. A evolução é sempre conservativa, tomando parte do que é antigo e construindo algo

novo. Dessa forma, a busca do conhecimento e da melhoria da qualidade de vida deve ser vista como projeto de síntese, considerada a forma holística e adaptada às necessidades específicas (8).

A busca de novos medicamentos em plantas é, hoje, a esperança mais concreta para pacientes que possuem doenças graves. A indústria farmacêutica chega a gastar somas elevadas e anos de trabalho na pesquisa de novas drogas. Para o tratamento do câncer, por exemplo, já foram testadas mais de um milhão de formulações produzidas em laboratório, e, dessas, apenas 15 agiram eficazmente contra a doença, ou seja, uma relação de 100 (cem) mil tentativas para apenas 1 (uma) bem sucedida. A alternativa mais rápida e barata, portanto, são as plantas que produzem substâncias químicas que podem ser usadas como medicamentos. Partindo dos vegetais, as chances de acerto crescem para uma em cinco mil tentativas (8).

A importância dos produtos naturais na formulação dos medicamentos pode ser vista quando se considera que, mesmo nos países industrializados, 45% dos produtos farmacêuticos provêm de produtos naturais. Essa proporção é ainda maior nos países em desenvolvimento. Segundo Cechinel Filho e Yunes (1), cerca de um quarto das prescrições médicas nos Estados Unidos, em 1973, continha um ou mais ingredientes ativos de origem vegetal.

A Organização Mundial da Saúde (OMS), visando diminuir o número de excluídos dos sistemas governamentais de saúde, recomenda aos órgãos responsáveis pela saúde pública de cada país, que: procedam a levantamentos regionais das plantas usadas na medicina popular tradicional, estimulem e recomendem o uso daquelas plantas que tiverem comprovada eficácia e segurança terapêuticas, desaconselhem o emprego das práticas da medicina popular consideradas inúteis ou prejudiciais, desenvolvam programas que permitam cultivar e utilizar as espécies vegetais na forma de preparações dotadas de eficácia, segurança e qualidade (9). Ainda segundo a OMS, as plantas medicinais seriam a maior e melhor fonte de obtenção de fármacos para a humanidade (10).

Por séculos, na China, têm sido utilizados medicamentos contendo extratos de plantas medicinais para o tratamento da cárie e da doença periodontal. A efetividade desses extratos como medicamentos antiinflamatórios tem sido demonstrada, além de sua atividade antimicrobiana para microrganismos bucais (11).

No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças apresenta, fundamentalmente, influências da cultura européia, africana e, naturalmente, indígena (3). Até o século vinte, o Brasil era um país essencialmente rural, com amplo uso da flora medicinal, tanto nativa quanto a introduzida. Entretanto, o conhecimento tradicional passou a ser posto em segundo plano com o início da industrialização e subsequente urbanização do país (12).

Na população em geral, existe o costume de considerar a utilização de plantas medicinais como recursos farmacológicos eficientes no tratamento de patologias bucais, existindo também a idéia errônea de que estes compostos não possuem efeitos colaterais. Em países como o Brasil, que concentra uma parcela significativa da biodiversidade vegetal do planeta, cerca de 30% das florestas tropicais do planeta, estima-se que existam entre 55 e 80 mil espécies vegetais na Amazônia, e apenas 2% delas foram estudadas cientificamente (8). Esse aspecto apresenta grande importância, contudo, uma mínima parcela das denominadas "plantas medicinais" tem sido avaliada em experimentos *in vitro* ou *in vivo* capazes de comprovar sua eficácia, sendo que o ritmo de ocupação antrópica dos diferentes biomas é infinitamente maior do que a capacidade de avaliação das propriedades biológicas das plantas que se extinguem (13). Garcia (14), em 1998, avaliou a existência de numerosas plantas do cerrado, empregadas pelos índios guarani-kaiová, no tratamento de patologias infecciosas e inflamatórias, no entanto, a realização de ensaios experimentais que comprovassem o conhecimento etnobotânico registrado, ainda era inexistente na literatura.

Posteriormente, devido à preocupação com a biodiversidade e as idéias de desenvolvimento sustentável, surgiram novos motivos para o estudo das plantas medicinais, as quais, no Brasil, têm sido utilizadas em várias áreas da saúde como forma de alternativa de tratamento e prevenção (2).

Existem controvérsias, oriundas principalmente da imprecisão de dados e da falta de pesquisa, sobre o número de espécies vegetais existentes no Brasil. Segundo Maciel (15), o Brasil é o país com maior número de espécies vegetais no mundo, muitas com potencial para obtenção de novas drogas. Pouco se sabe sobre a composição química de 99,6% de nossa flora, sendo que a despeito dos mais de cinquenta anos de pesquisas de plantas medicinais, o número

de espécies estudadas é muito reduzido (16). Nos últimos vinte anos, o número de informações sobre plantas medicinais tem crescido 8% por ano. Isso mostra que, num país biologicamente tão rico, mas com ecossistemas ameaçados, pesquisas com plantas medicinais devem ser incentivadas. Afinal, elas poderiam levar à reorganização das estruturas de uso dos recursos naturais (em vista da necessidade de sua extração estar associada aos planos de manejo) e crescimento econômico, visto que há grande tendência mundial de aumento na utilização de fitoterápicos (17).

O estudo sistemático das plantas medicinais envolve conhecimento em várias áreas como antropologia, botânica, agronomia, química, farmácia, incluindo medicina e a odontologia. Por meio do estudo interdisciplinar é possível chegar às espécies realmente benéficas e à dosagem correta para cada espécie de acordo com a especificidade da sua aplicação, que estão relacionadas com as condições de cultivo e com a constituição genética da planta, fatores que interferem na variação do teor de princípios ativos e na toxicidade de algumas espécies.

No Brasil, deve-se destacar a utilização de plantas medicinais como forma alternativa de tratamento e prevenção de doenças, pois além do menor custo, nosso país apresenta rica biodiversidade vegetal, ainda pouco explorada e muito ameaçada. Além disso, deve-se considerar também o menor custo destas formas terapêuticas em relação a medicamentos industrializados (18).

Estudos realizados recentemente, utilizando extratos de plantas do cerrado brasileiro, têm evidenciado atividades antimicrobianas potentes, demonstrando resultados promissores sobre a microbiota bucal (19,20). Bianco (19), em 2004, concluiu que dentre as 18 (dezoito) espécies de vegetais avaliadas, apenas os extratos da folha de araçá (*Psidium cattleianum*), folha da aroeira do sertão (*Astronium urundeuva*) e folha da guajuvira (*Patagonula americana*), além da casca de jacarandá (*Platypodium elegans*) tiveram atividade inibitória frente a todos os microrganismos testados. As preparações hidroalcoólicas e aquosas mostraram a mesma atividade antimicrobiana em todas as modalidades de testes realizados, o que indica que o princípio ativo pode ser extraído por métodos simples, empregando-se água ou álcool como líquido extrator sem prejuízo para a atividade antimicrobiana. Até onde se pode verificar, essas plantas não são utilizadas no controle de biofilme microbiano e mesmo no tratamento das infecções superficiais da boca, embora possam ser encontradas referências ao seu uso como parte da

medicina popular em outras áreas, como anti-inflamatórios, anti-reumáticos, antidiarréicos e outros usos populares (19). Com relação a folha de araçá (*P. cattleianum*) não foram encontrados relatos na literatura sobre sua utilização, apenas o relato dos moradores das regiões onde a planta foi coletada. Entretanto, nenhum estudo procurou verificar se, de fato, essas indicações populares correspondiam a uma realidade passível de avaliação laboratorial, tampouco qual princípio ativo poderia exercer os alegados efeitos terapêuticos (20).

Também em 2005, Landucci (20) utilizando extratos semelhantes a Bianco (19), afirmou que, com relação à Máxima Diluição Inibitória (MDI), observa-se que as diluições inibitórias maiores foram vistas para o extrato da folha de araçá (*P. cattleianum*), tanto na forma hidroalcoólica quanto aquosa, e as menores para a casca de louro-de-mato-grosso (*C. glabrata*) em ambas as formas de apresentação.

Os resultados desses estudos sugerem que extratos aquoso e hidroalcoólico de plantas presentes no segundo maior bioma em extensão do Brasil podem exercer uma ação inibitória sobre cocos cariogênicos *in vitro*, evidenciando a necessidade de estudos em modelos animais para se avaliar a eficácia dos mesmos *in vivo*. A segurança de seu emprego clínico, associado a um maior conhecimento dos princípios ativos, poderia colaborar para um futuro emprego em ensaios clínicos (19).

Tendo em vista os resultados colhidos por Bianco (19) e Landucci (20), selecionou-se o araçá (*Psidium cattleianum*) como objeto para o presente trabalho, uma vez que o mesmo ocupava lugar dentre os melhores resultados de ambos os estudos. O araçá pertence à família Myrtaceae, espécie *Psidium cattleianum*, sendo conhecido como araçá-do-campo ou araçá-comum. É encontrado no Brasil em estado silvestre no Amazonas, Pará, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Mato Grosso e Santa Catarina, também na Argentina, Paraguai e México (21, 22). Trata-se de um arbusto grande ou de uma árvoreta, da mesma família da goiabeira, que floresce de junho a dezembro, frutifica de janeiro a maio, mas pode fornecer frutos o ano todo e perde quase todas as folhas na seca. Cresce bem em vários tipos de solos e não é exigente quanto ao clima (23, 24). As cascas contêm uma substância cerácea que distingue este araçá dos outros, sua raiz é diurética, antidiarréica e suas folhas, principalmente os brotos, são adstringentes e fornecem material tintorial (25). Seus frutos são comestíveis, também

adstringentes, possuem elevado teor de umidade, o que requer cuidados com o armazenamento devido ao acelerado processo de deteriorização, os carboidratos são seus maiores componentes orgânicos, além de efetivos teores de potássio, cálcio, magnésio, ferro e fósforo, semelhantes aos da maçã, pêssago, morango e abacaxi (22, 26).

Desta forma, evidenciando a necessidade do uso de medicamentos antimicrobianos para a eliminação das infecções bucais, e ainda, a preocupação atual, na busca de substâncias que reúnam propriedades que visem à ocorrência do processo de reparo não apenas do ponto de vista clínico e radiográfico, mas também histológico, julgamos necessária à avaliação da biocompatibilidade do extrato vegetal de araçá (*Psidium cattleianum*), com reconhecida ação antimicrobiana, que poderá, futuramente, auxiliar no tratamento de dentes decíduos e permanentes.

## 2. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta biológica imediata e tardia às soluções preparadas à base de extratos vegetais aquoso e hidroalcoólico de araçá e as comparar com o soro fisiológico, por meio de:

- Análise Edemogênica, quantificando o edema.
- Análise Morfológica, avaliando a resposta tecidual frente aos implantes subcutâneos em ratos.

### 3. MATERIAL E MÉTODO

“Sua tarefa é descobrir o seu trabalho,  
e então, com todo coração, dedicar-se a ele.”

Buda

Previamente ao início do experimento, o projeto de pesquisa foi submetido à apreciação da Comissão de Ética na Experimentação Animal, sendo aprovado em 09 de janeiro de 2008 (CEEA – FOA/UNESP – Processo nº 2008 - 000166 – ANEXO A).

#### **3.1. PREPARO DOS EXTRATOS VEGETAIS**

Foram preparados extratos vegetais aquoso e hidroalcoólico de araçá.

As plantas coletadas foram colhidas em áreas não desmatadas e mantidas como reserva permanente em propriedades rurais dos municípios de Carolina (MA), sendo o período da coleta, correspondente ao período chuvoso daquela região (dezembro a fevereiro).

##### ***3.1. a. Das folhas***

As folhas da espécie vegetal utilizada no preparo dos extratos, foram colhidas de plantas com aspecto sadio e bom desenvolvimento, sem sinais de envelhecimento, doenças e pragas. Antes de retirá-las, foi realizada uma leve raspagem para remoção de poeira ou insetos impregnados na superfície. As folhas foram lavadas em água corrente e colocadas para secagem inicial em locais ventilados à temperatura ambiente (média 27°C), então submetidas à secagem em estufa, até que se apresentassem secas e quebradiças. (27).

### **3.1. b. Do extrato hidroalcoólico**

O extrato hidroalcoólico foi obtido de acordo com metodologia empregada por Navarro (28). Após seleção do material considerado em bom estado de conservação ou representativo, foram utilizados 20 gramas da espécie vegetal. A seguir, foi realizada a etapa de fragmentação, que consiste na divisão em partículas grosseiras, com tamanho homogêneo, por meio de trituração manual. Após a fragmentação o pó foi transferido para frasco âmbar (500mL). Posteriormente, foi adicionado 250mL de etanol 80% (preparado com auxílio de alcoômetro), o frasco foi agitado vigorosa e manualmente durante três minutos. Esta operação foi realizada cinco vezes ao dia durante 12 dias, a fim de assegurar a adequada extração dos princípios ativos.

Finalmente, foi realizada a filtração da preparação por meio de filtração comum. O produto resultante foi transferido a frasco âmbar (100mL), de forma a obter-se um mínimo de 25mL. A seguir, o extrato foi esterilizado por filtração em membranas de éster de celulose de 0,22µm (Millipore®) e armazenado em frasco âmbar esterilizado.

### **3.1.c. Preparo do extrato aquoso**

O extrato aquoso de arará foi preparado de acordo com metodologia descrita por Landucci (20) com modificações. Assim, 20 gramas de folhas de arará foram adicionadas a 250mL de água destilada e mantidas por 5 minutos a 100°C, por 1 hora a 55°C e por 72 horas em temperatura ambiente. Cada mistura foi agitada a cada 24 horas. O extrato aquoso foi purificado por meio de filtração fracionada em membranas de éster de celulose de porosidade 0,65µm e esterilizado por filtração em membranas de 0,22µm (Millipore®) e armazenado em frascos âmbar esterilizado.

## **3.2. ANIMAIS**

Para a realização deste experimento foram utilizados 48 (quarenta e oito) ratos machos da variedade Wistar (*Rattus norvegicus*), que foram padronizados quanto à saúde, idade, sexo e peso corporal, com idade de 02 meses e massa corporal de aproximadamente 250 gramas, provenientes do Biotério do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da

Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, mantidos durante todo o período experimental com dieta sólida (Guabi Nutrilabor, Mogiana Alimentos SA, Brasil) e água *ad libitum*.

### **3.3. TESTE EDEMOGÊNICO - REAÇÃO IMEDIATA**

Para a quantificação do edema proporcionada pelos extratos vegetais, utilizou a metodologia descrita por Taveira (29), em 1988. Foram empregados 18 (dezoito) animais divididos em grupos de 03 (três) para cada período avaliado (03 e 06 horas) e para cada substância utilizada.

#### **3.3.a. Procedimentos cirúrgicos (ANEXO C)**

Os animais foram injetados com apenas um dos extratos de arará, aquoso ou hidroalcoólico, ou com soro fisiológico para o grupo controle. Em cada grupo, 06 (seis) animais receberam injeção para os dois períodos de avaliação, 03 e 06 horas.

Para realização da intervenção cirúrgica, os animais foram submetidos à anestesia geral com xilazina (Coopazine - Coopers), na proporção de 25mg/kg e quetamina (Vetaset – Fort Dodge), na proporção de 50mg/kg misturadas na mesma seringa, via intramuscular (parte posterior da coxa do animal).

A seguir, os animais receberam na veia peniana a injeção intravenosa de azul de Evans a 1% (Evans Blue Difco Lab.) aplicada com seringa de insulina na proporção de 0,2mL da solução para 100g de massa corporal.

Após 30 minutos da injeção do corante, os animais receberam no tecido conjuntivo da região dorsal, com auxílio de seringas hipodérmicas de 1mL e agulhas 13 x 0,3 descartáveis, 0,1mL do extrato correspondente ou controle. Foi injetado apenas um material em cada animal, na região dorsal, tendo a linha média como referência e próximo à região caudal.

Decorridos os períodos experimentais de 03 e 06 horas, os animais foram sacrificados por sobredose dos anestésicos anteriormente usados.

A seguir, foi realizada a tricotomia manual da região dorsal do animal, evidenciando a área de edema, representada por um halo de coloração azul. Com o auxílio de uma

tesoura, foi removida a pele dorsal dos animais, com margem de segurança. A padronização das peças removidas foi realizada por meio de um vazador de ferro com 23mm de diâmetro.

As peças padronizadas foram picotadas com tesoura cirúrgica e colocadas em frascos contendo 4mL de formamida (Vetec - Química- RJ – Brasil), permanecendo em estufa a 45°C por 72h para extração do corante, pela dissolução do tecido.

Decorrido este período, as soluções foram filtradas com auxílio de gaze hidrófila esterilizada e funil de vidro, e recolhidas em frascos apropriados para se proceder à análise em espectrofotômetro.

A leitura do filtrado foi realizada em um espectrofotômetro Cary 50 Bio (Varian), utilizando ondas com comprimento de 630nm, correspondente ao pico máximo de absorção do corante (29). Os dados obtidos foram tabelados e submetidos à análise estatística.

### **3.4. IMPLANTE EM TECIDO SUBCUTÂNEO DE RATOS – REAÇÃO TARDIA**

Para esta etapa foram utilizados 05 animais para cada grupo experimental e controle, em dois períodos de análise, 07 e 28 dias, totalizando 30 animais para o experimento. Cada animal recebeu dois implantes, hidroalcoólico, aquoso ou soro, portanto soma-se 10 implantes para cada grupo experimental e controle.

#### **3.4.a. Obtenção dos Tubos de Polietileno (Figura A, ANEXO F)**

Foram confeccionados tubos de polietileno a partir de cortes de sonda uretral número 4 (Mac Med, São Paulo, Brasil), com 7mm de comprimento e 1mm de diâmetro, os quais servirão para acomodação dos materiais experimentais.

Com objetivo de impedir extravasamento, uma das extremidades do tubo foi selada com auxílio de instrumento aquecido em lamparina e guta-percha.

Os extratos obtidos e o soro foram incorporados ao cone de papel acondicionado no interior dos tubos em diâmetro compatível.

### **3.4.b. Procedimentos cirúrgicos para implante (ANEXO D)**

Para realização da intervenção cirúrgica, os animais foram submetidos à anestesia geral com xilazina (25mg/kg) e quetamina (50mg/kg) misturadas na mesma seringa, via intramuscular (parte posterior da coxa do animal).

Após depilação da área dorsal e antissepsia com polivinilpirrolidona a 1% (Riodente, Rioquímica, São José do Rio Preto, Brasil), foi realizada uma incisão longitudinal com lâmina de bisturi número 15 acompanhando a linha mediana, com extensão de 2cm atingindo o tecido subcutâneo. A seguir, foi realizada a divulsão, com extensão de aproximadamente 3cm, em ambos os lados da incisão, com auxílio de uma tesoura de ponta romba. Desta forma, do lado direito e esquerdo foram implantados, no tecido subcutâneo dos animais, os tubos de polietileno contendo o mesmo extrato (aquoso ou hidroalcoólico) ou soro fisiológico (controle). A incisão longitudinal da pele foi posteriormente suturada com fio de seda 4-0 (Ethicon, Johnson & Johnson).

Os animais foram sacrificados aos 07 e 28 dias para obtenção das peças contendo o tubo de polietileno, circundado por tecido conjuntivo adjacente.

Uma vez removidos, os tecidos foram fixados em solução de formamida a 10%, por 48 horas e lavadas em água corrente por 12 horas. As peças foram então desidratadas, clarificadas e incluídas em parafina, sendo orientadas de maneira a permitir cortes histológicos do implante em seu sentido longitudinal. Os cortes, semi-seriados e com 6 micrômetros de espessura, foram corados com Hematoxilina e Eosina para análise morfológica.

Os resultados foram obtidos por meio da leitura dos espécimes em microscópio óptico das respostas teciduais tardias induzidas pelos extratos testados comparadas ao grupo controle, num aumento de 10x para a medição da espessura de cápsula fibrosa, e num aumento de 40x para a contagem do número de células inflamatórias que quantifica o infiltrado inflamatório. Foi avaliada apenas a extremidade do implante em que os extratos ficaram em contato com os tecidos (Figura B, ANEXO F).

Na avaliação da irritação tecidual produzida pelos extratos vegetais e controle, foi levado em consideração o critério descrito por Bernabé (30) e pelo 'Federation Dentaire International Recommended Standart' (31). Desta forma, o infiltrado inflamatório presente, do tipo

crônico ou agudo, foi assinalado em conformidade com o número aproximado de células inflamatórias presentes em aumento de 40X. A ausência de células inflamatórias recebeu escore 0 (zero). Quando o número de células inflamatórias foi inferior a 25, o infiltrado inflamatório foi considerado pequeno (escore 1). O critério moderado (escore 02) foi atribuído se foram detectadas de 25 a 125 células inflamatórias. Se essas células ocorreram em número superior a 125, o infiltrado inflamatório foi considerado severo ou intenso (escore 03).

Além disso, foram considerados também a extensão de tecido atingida pelas células inflamatórias e alguns dos sinais de irritação, como a ausência de proliferação celular, espessura da cápsula fibrosa e a presença de grande quantidade de pequenos vasos sanguíneos e de células junto ao material implantado. Quanto a espessura de cápsula fibrosa, os seguintes escores foram utilizados: escore 0 (zero) para cápsula fibrosa considerada fina, de espessura inferior a 150  $\mu\text{m}$  ou escore 3 para cápsula fibrosa considerada espessa, superior a 150 $\mu\text{m}$  (32, 33).

## 4. RESULTADOS \*

“Você tem o tamanho dos seus sonhos.”

Luis Villalobos

### 4.1. ANÁLISE EDEMOGÊNICA

#### Avaliação quantitativa da resposta tecidual imediata nos períodos experimentais

Os resultados das leituras da análise em espectrofotômetro, relativas a quantidade de edema, foram submetidos ao teste de análise de variância a 02 critérios de variação. Os resultados estão expressos na tabela 1:

Tabela 1: Valores da intensidade do exsudato inflamatório induzido pela inoculação das soluções experimentais, valores obtidos em densidade óptica (D. O.):

| Tempo<br>Solução               |         |         |
|--------------------------------|---------|---------|
|                                | 3 HORAS | 6 HORAS |
| ARAÇÁ AQUOSO                   | 0.588   | 0.597   |
|                                | 0.565   | 0.696   |
|                                | 0.472   | 0.931   |
| ARAÇÁ ALCOÓLICO                | 0.802   | 0.836   |
|                                | 0.887   | 0.762   |
|                                | 1.010   | 0.424   |
| SORO FISIOLÓGICO<br>(CONTROLE) | 0.339   | 0.541   |
|                                | 0.625   | 0.610   |
|                                | 0.482   | 0.554   |

\* Dados complementares à estatística presentes no ANEXO E.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA DA AVALIAÇÃO EDEMOGÊNICA

Os resultados das leituras da análise em espectrofotômetro, relativas a quantidade de edema, foram submetidos ao teste de análise de variância a 02 critérios de variação: Solução e Tempo (Tabela A – ANEXO E). Onde se verificou não haver diferença significativa ( $p= 24,06\%$ ) entre os tempos analisados, independentemente da solução empregada. Como pode ser observado no Gráfico 1A.

Pelo resultado da análise de variância, verifica-se haver diferença significativa ( $p=2,07\%$ ) entre as soluções analisadas, independentemente do tempo de estudo, observado no Gráfico 1B.

Tratando-se de três extratos foi feito teste de Tukey para identificar esta diferença, dispostos a seguir do melhor para o pior resultado:

- Soro fisiológico 0,5252a\*
- Araçá aquoso 0,6415ab  $t=0,2122$
- Araçá hidroalcoólico 0,7868b

\*letras diferentes diante das médias apresentam significância estatística

Na interação tempo X solução, percebe-se que o soro e extrato aquoso apresentam um ligeiro aumento do edema com o passar do tempo. O extrato hidroalcoólico apresenta edema inicial maior que diminui no período de 6 horas. Como pode ser observado no Gráfico 1C.

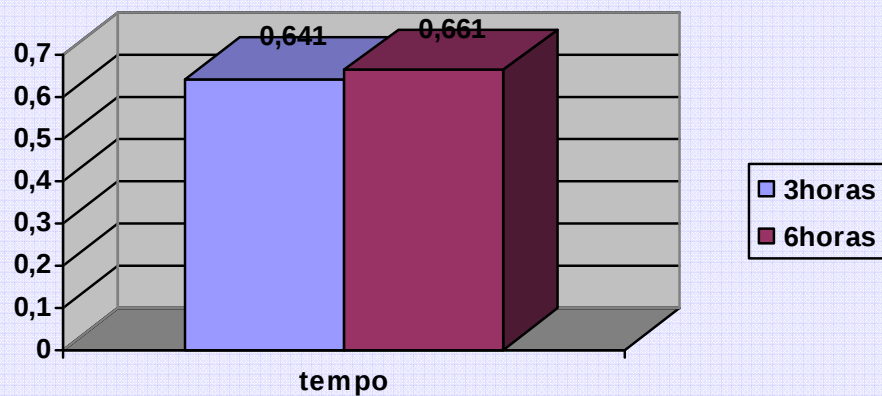
Tratando-se de seis grupos experimentais foi feito teste de Tukey para identificar esta diferença, dispostos a seguir do melhor para o pior resultado:

- Araçá hidroalcoólico x 3 h: 0.89967b\*
- Araçá hidroalcoólico x 6 h: 0.67400ab
- Araçá aquoso x 3 h: 0.54167ab  $t=0,378$
- Araçá aquoso x 6 h: 0.74133ab
- Soro fisiológico x 3 h: 0.48200a

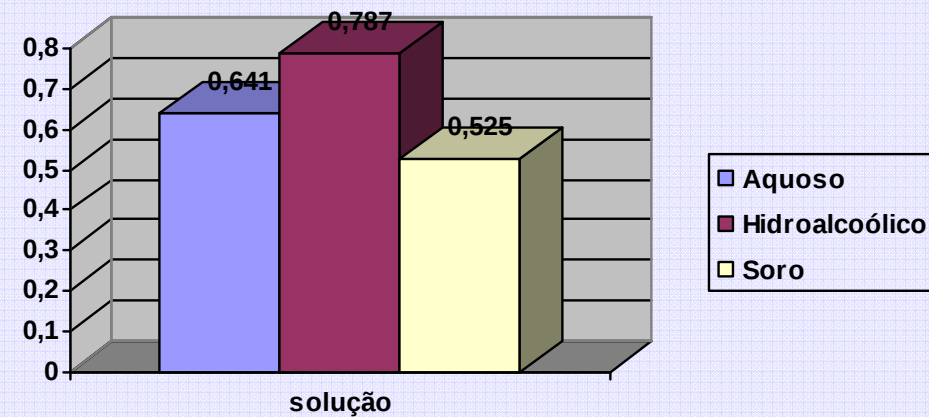
- Soro fisiológico x 6 h: 0.56833ab

\*letras diferentes diante das médias apresentam significância estatística

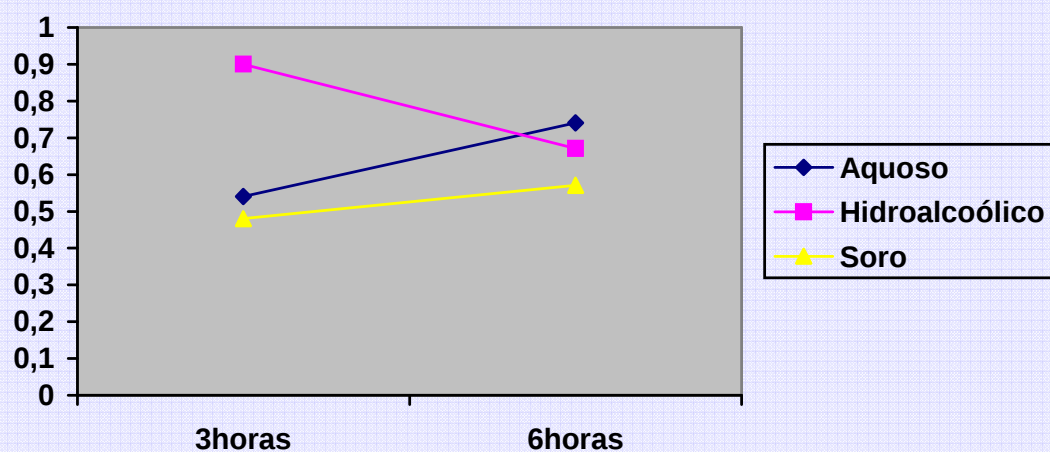
**1A**



**1B**



**1C**



## **Gráfico 1: Valores referentes à Análise Edemogênica**

- 1A** - Valores de variação do edema conforme a variação do tempo em horas, 3 e 6 horas.
- 1B** - Valores de variação do edema para as soluções avaliadas (Aquoso, Hidroalcoólico e Soro).
- 1C** - Valores obtidos de densidade óptica de Azul de Evans extravasado no tecido pelo tempo estudado (3 e 6 horas), para as soluções avaliadas (Aquoso, Hidroalcoólico e Soro). Em destaque: Média dos valores para os tempos operatórios estudados.

## **4.2. ANÁLISE MORFOLÓGICA**

### **Avaliação qualitativa da resposta tecidual aos implantes nos períodos experimentais**

#### **Araçá Aquoso – 7 dias**

De maneira geral, este grupo apresentou cápsula fibrosa espessa, com tecido conjuntivo adjacente em plena atividade de reparo, presença de numerosos fibroblastos jovens e fibras colágenas arranjadas paralelamente ao material testado e ligeiramente desorganizadas. Uma camada de macrófagos estava justaposta ao implante, sendo que algumas dessas células estavam dispersas pelo tecido de reparo. Além disso, foi possível observar alguns linfócitos e outras células mononucleadas, características de uma inflamação crônica. Pode-se observar angiogênese típica, com a presença de vasos sanguíneos e linfáticos de diâmetros menores no interior da cápsula e maiores nos tecidos adjacentes (Figuras 1A e 1B, Tabela 2).

#### **Araçá Aquoso - 28 dias**

As imagens microscópicas indicam que ocorreu uma grande diminuição do quadro inflamatório. Em geral a camada de macrófagos estava mais discreta, e a cápsula apresentava-se mais fina. Pode-se observar fibras colágenas mais organizadas, dispostas paralelamente ao implante e presença de menor quantidade de células, tanto fibroblastos quanto macrófagos e linfócitos. Foi verificado também vasos sanguíneos menos numerosos e calibrosos no interior do tecido conjuntivo e raros no interior da cápsula. Alguns cortes mostravam ainda, um quadro semelhante ao período de sete dias, caracterizando um atraso no processo de reparo não predominante no grupo (Figuras 1C e 1D, Tabela 2).

#### **Araçá Hidroalcoólico – 7 dias**

Este grupo apresentou um quadro morfológico semelhante ao anterior, com cápsula fibrosa ligeiramente mais espessa e desorganizada, porém mantendo o mesmo padrão de direcionamento das fibras colágenas. Em relação à quantidade de células, houve novamente um predomínio de fibroblastos jovens, macrófagos e linfócitos. A angiogênese acompanhou as

características do grupo anterior, porém observou-se presença esporádica de vasos linfáticos (Figuras 2A e 2B, Tabela 2).

#### **Araçá Hidroalcoólico – 28 dias**

Grupo que se mostrou mais homogêneo e que apresentou melhor reparo. A cápsula fibrosa mostrou-se nitidamente mais fina e condensada, as fibras colágenas além de mais organizadas apresentavam-se também mais espessas, num grau de maturação mais avançado em relação ao tempo anterior. Os fibroblastos apresentavam-se com núcleos mais alongados e finos (indicando uma diminuição do metabolismo do colágeno). Os macrófagos ao redor do implante apresentavam menor diâmetro, indicando uma diminuição no processo de atividade fagocitária, exercendo satisfatoriamente sua função de isolar o organismo da substância exógena.

Apesar da pouca quantidade de células inflamatórias, pode-se observar, ocasionalmente, a presença de plasmócitos (Figura C, ANEXO F) entre o implante e a camada de macrófagos, numa provável reação de base humoral entre o hospedeiro e possíveis substâncias do implante derivadas do extrato de araçá hidroalcoólico (Figuras 2C e 2D, Tabela 2).

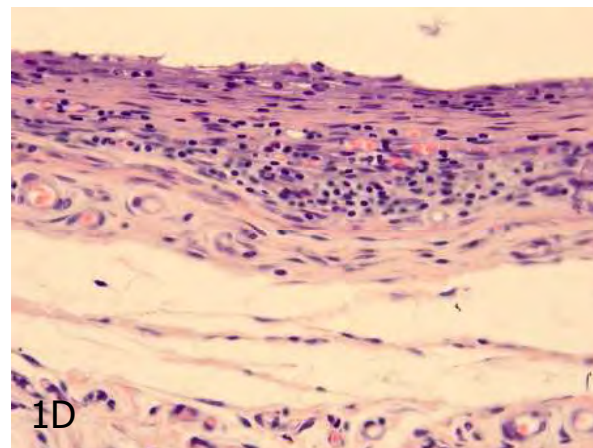
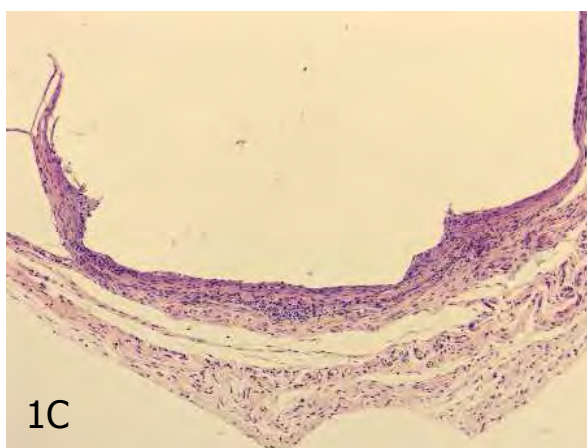
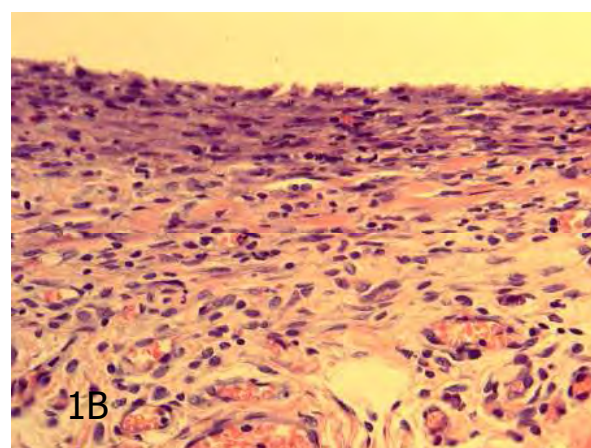
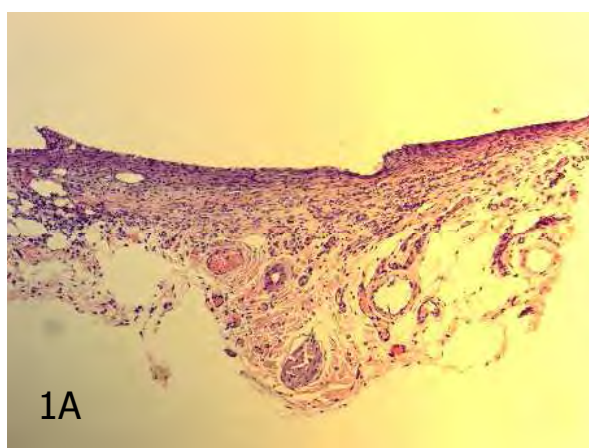
#### **Soro Fisiológico - 7 dias**

A resposta inflamatória do tecido conjuntivo próximo ao implante foi bem mais agressiva, uma vez que a extensão da área de reação tecidual apresentou-se nitidamente mais ampla. A cápsula fibrosa apresentou-se bastante espessa e povoada de células, com predomínio de macrófagos e fibroblastos jovens, além de linfócitos e outras células mononucleadas. Os numerosos fibroblastos jovens localizavam-se geralmente próximos das fibras colágenas, que se apresentavam em disposição complexa. Em apenas um espécime pode-se observar uma cápsula fibrosa mais condensada e menos espessa em relação ao restante das lâminas, porém não menos povoada de células reparadoras (Figuras 3A e 3B, Tabela 2).

#### **Soro Fisiológico – 28 dias**

Este grupo também apresentou um grau maior de organização tecidual em relação ao período anterior, a cápsula fibrosa mais fina e composta por fibras colágenas bem

organizadas, condensadas e dispostas paralelamente ao implante. Foi verificado um menor número de fibroblastos e células inflamatórias com características semelhantes às do grupo anterior, indicando uma maturação do reparo. Foi constatada a presença de vasos de menor calibre ao longo de toda área, mais distantes da cápsula (Figuras 3C e 3D, Tabela 2).



**Figura 1**

## **Figura 1: Grupo Extrato de Araçá Aquoso**

**1A** - HE, 10X, 07 dias.

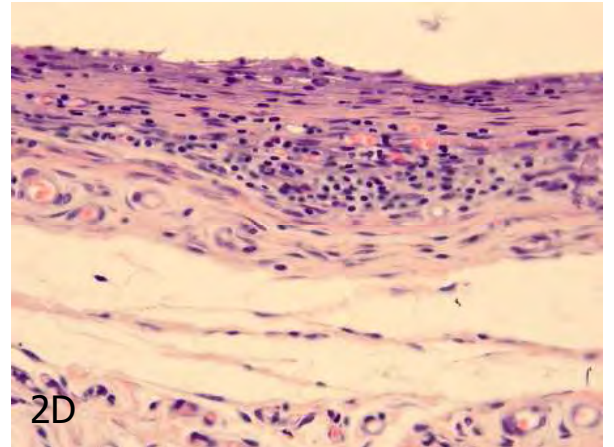
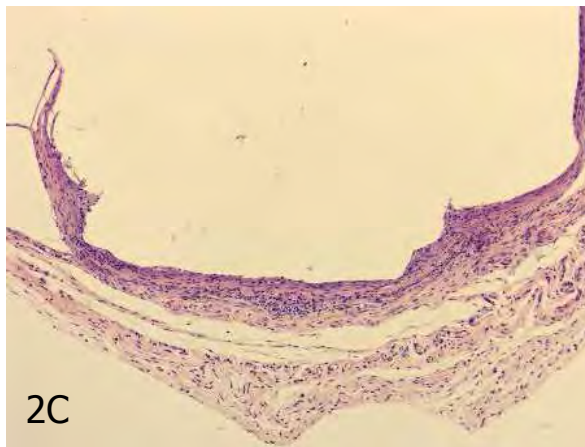
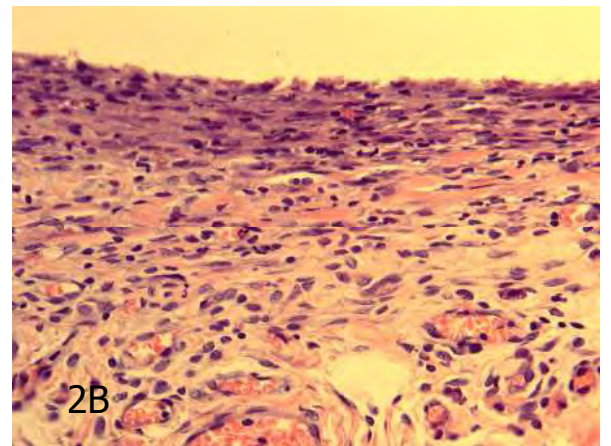
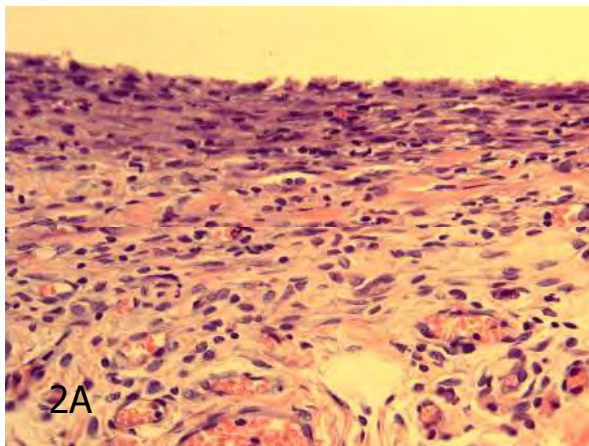
**1B** - HE, 40X, 07 dias.

Cápsula fibrosa espessa, tecido conjuntivo em reparo, numerosos fibroblastos jovens e fibras colágenas pouco desorganizadas, paralelas ao material testado. Camada de macrófagos justaposta ao implante e dispersas pelo tecido, linfócitos e outras células mononucleadas. Angiogênese típica com vasos sanguíneos e linfáticos.

**1C** - HE, 10X, 28 dias.

**1D** - HE, 40X, 28 dias.

Diminuição do quadro inflamatório. Camada de macrófagos discreta e fina cápsula, fibras colágenas mais organizadas, menor quantidade de células, fibroblastos, macrófagos e linfócitos. Vasos sanguíneos menores.



**Figura 2**

## **Figura 2: Grupo Extrato de Araçá Hidroalcoólico**

**2A** - HE, 10X, 07 dias.

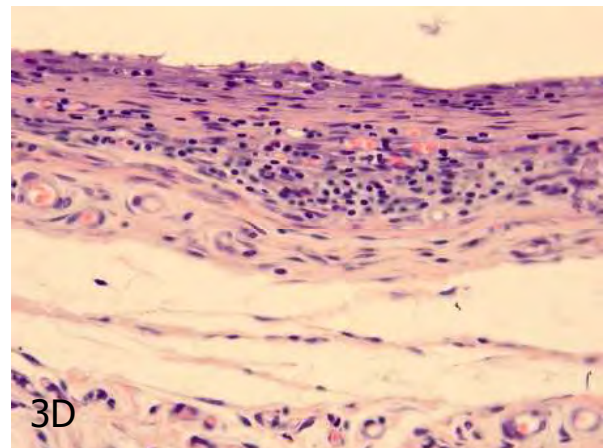
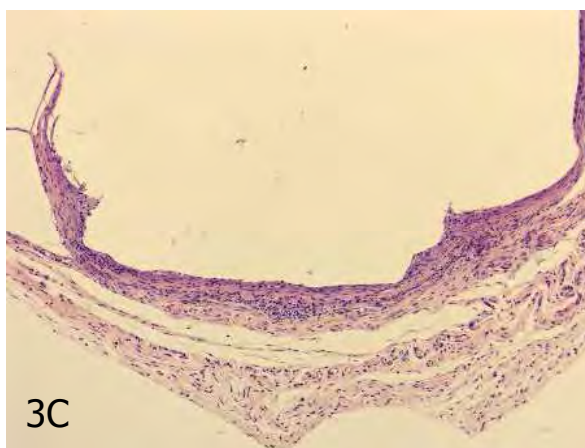
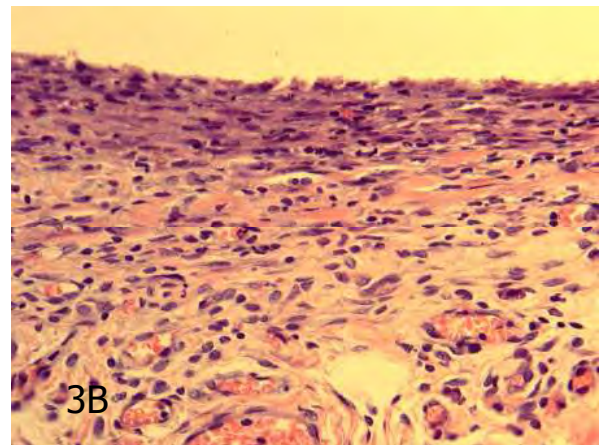
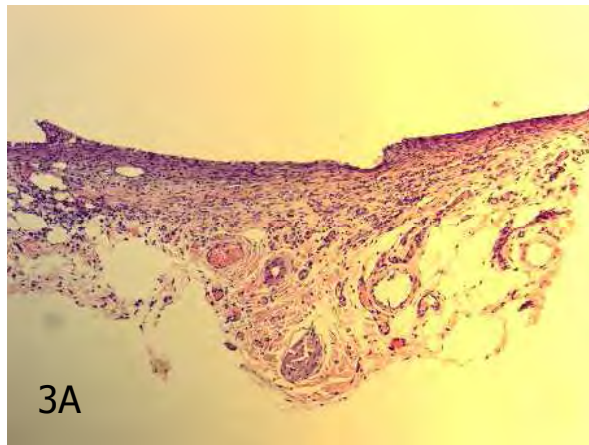
**2B** - HE, 40X, 07 dias.

Cápsula fibrosa espessa e desorganizada, com o mesmo padrão de direcionamento das fibras colágenas. Predomínio de fibroblastos jovens, macrófagos e linfócitos. Angiogênese com presença esporádica de vasos linfáticos.

**2C** - HE, 10X, 28 dias.

**2D** - HE, 40X, 28 dias.

Melhor reparo, cápsula fibrosa fina e condensada, fibras colágenas organizadas porém espessas, grau de maturação melhor relação ao tempo anterior. Fibroblastos com núcleos mais alongados e finos. Macrófagos de menor diâmetro, pouca quantidade de células inflamatórias.



**Figura 3**

### **Figura 3: Grupo Controle – Soro Fisiológico**

**3A** - HE, 10X, 07 dias.

**3B** - HE, 40X, 07 dias.

Resposta inflamatória mais agressiva, reação tecidual mais ampla. Cápsula fibrosa espessa e povoada de células, macrófagos e fibroblastos jovens, linfócitos e outras células mononucleadas. Fibroblastos jovens próximos às fibras colágenas, em disposição complexa.

**3C** - HE, 10X, 28 dias.

**3D** - HE, 40X, 28 dias.

Maior grau de organização tecidual, cápsula fibrosa mais fina, fibras colágenas bem organizadas, condensadas e dispostas paralelamente ao implante. Poucos fibroblastos e células inflamatórias, maturação do reparo. Vasos sanguíneos de menor calibre.

## Avaliação quantitativa da resposta tecidual tardia aos implantes nos períodos experimentais

Os resultados das leituras em microscópio óptico, relativas a quantidade de células inflamatórias (infiltrado inflamatório) e a espessura da cápsula fibrosa estão expressos na Tabela 2.

**Tabela 2.** Marcação dos escores atribuídos aos eventos observados na análise microscópica dos grupos experimentais em função do tempo:

| Tempo<br>Solução            | 7 DIAS                  |                      | 28 DIAS                 |                      |
|-----------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|
|                             | Infiltrado Inflamatório | Espessura da Cápsula | Infiltrado Inflamatório | Espessura da Cápsula |
| <b>ARAÇÁ AQUOSO</b>         | 2.2.1.2.1               | 0.0.0.0.0            | 1.1.2.1.2               | 0.0.3.0.0            |
|                             | 2.-.-.-.-               | 3.-.-.-.-            | 2.-.-.-.-               | 0.-.-.-.-            |
| <b>ARAÇÁ HIDROALCOÓLICO</b> | 2.1.1.2.2               | 3.0.0.3.3            | 0.2.2.2.1               | 0.0.0.0.0            |
|                             | 1.2.-.-.-               | 0.0.-.-.-            | 2.1.1.0.-               | 0.0.0.0.-            |
| <b>SORO FISIOLÓGICO</b>     | 2.3.2.2.2               | 3.3.3.3.0            | 1.1.0.2.2               | 0.3.0.0.0            |
|                             | 2.-.-.-.-               | 3.-.-.-.-            | 1.-.-.-.-               | 0.-.-.-.-            |

- espécimes perdidos

## ANÁLISE ESTATÍSTICA DA AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

Os dados referentes aos achados microscópicos, na forma de escores, referentes aos quesitos histológicos analisados, que se encontram na Tabela 2, foram submetidos à análise estatística. O teste de Kruskal-Wallis é o mais adequado ao modelo em questão, quando testa-se mais de dois tratamentos e o Teste de Mann-Whitney para dois tratamentos, por se tratarem de dados não paramétricos. Para tal utilizou-se o *software* GMC 2002. (Tabelas B, C, D e E) (ANEXO E)

A análise foi feita basicamente em três etapas; análise da influência dos períodos experimentais, dos extratos estudados e da interação entre extrato e período experimental.

Inicialmente foi analisada a influência dos dois períodos estudados, 7 e 28 dias, cujos resultados apresentam-se na Tabela B (ANEXO E ).

No geral, o período de 28 dias apresentou reparo superior ao de 7 dias, independentemente dos extratos empregados ( $p=0,01$ ). (Gráfico 2A)

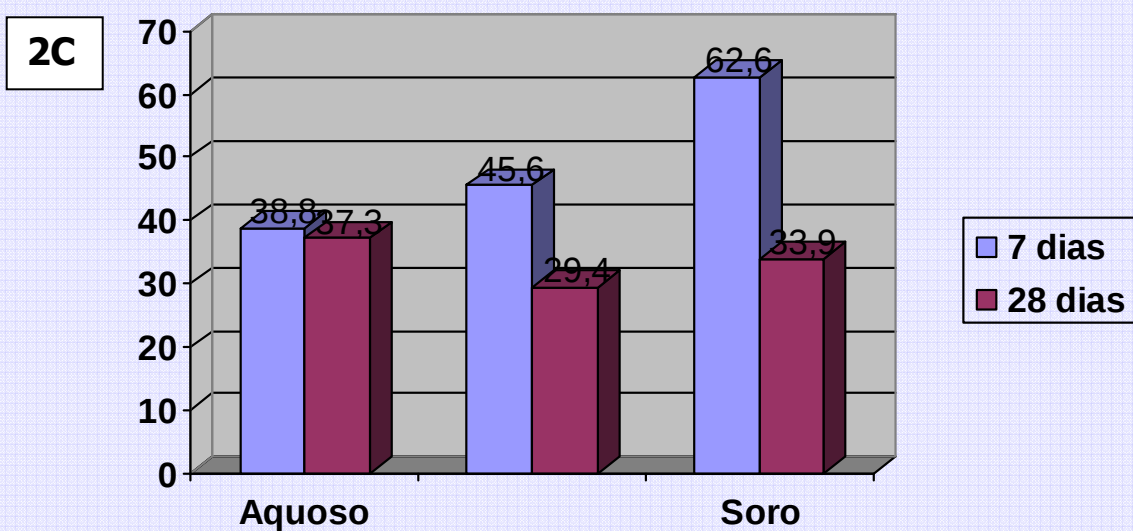
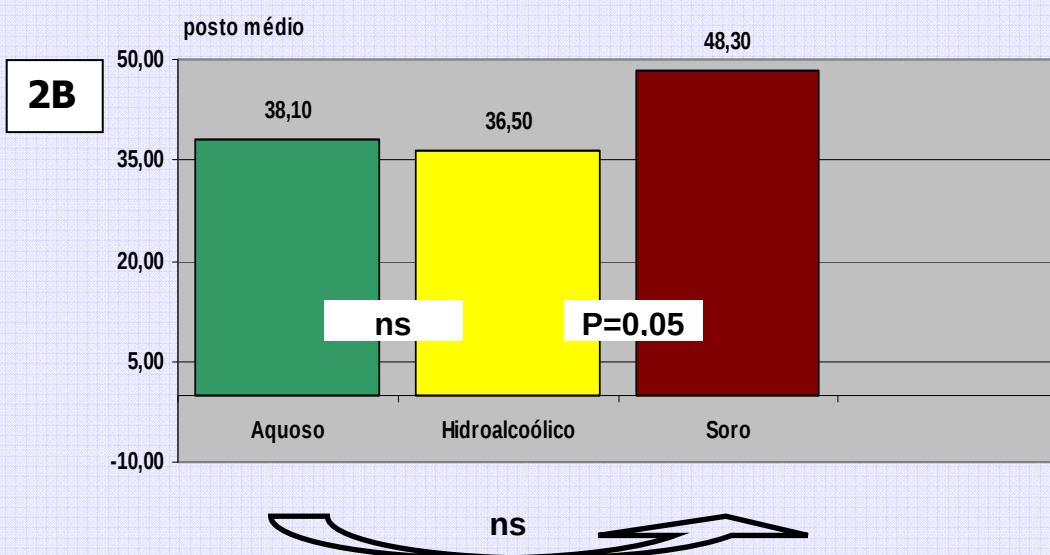
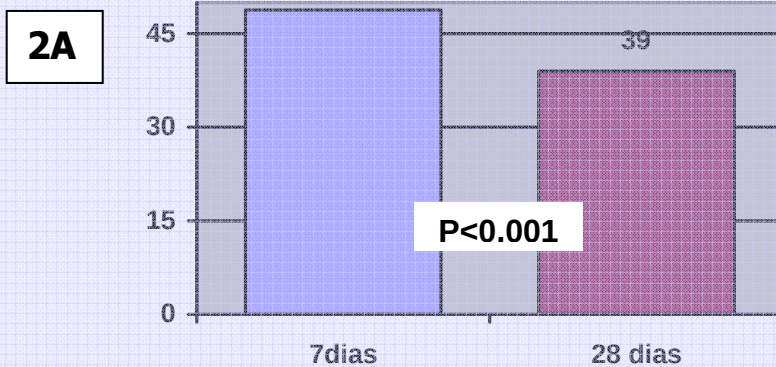
Na seqüência pode-se analisar a influência dos extratos sem considerar o tempo pós-operatório (Tabela C - ANEXO E) (Gráfico 2B):

- Pudemos observar diferença significativa entre o extrato hidroalcoólico e soro favorável ao primeiro;
- Apesar de não haver diferença significativa, houve uma tendência do extrato aquoso apresentar melhor resultado que o soro.

Em relação à interação das soluções e o período experimental, pode-se concluir que, do pior para o melhor resultado. (Tabela D - ANEXO E) (Gráfico 2C)

- Verifica-se que o grupo soro 7 dias apresentou os piores resultados, sendo diferente de todos os outros grupos analisados.
- O extrato hidroalcoólico 7 dias apresentou o segundo pior resultado;
- O extrato hidroalcoólico 28 dias apresentou os melhores resultados juntamente com o soro 28 dias.

Os demais grupos apresentaram resultados intermediários.



## **Gráfico 2: Valores referentes à Análise Morfológica**

**2A** - Influência do tempo pós-operatório nos resultados obtidos, valores em postos médios.

**2B** - Influência dos extratos analisados nos resultados obtidos, valores em postos médios.

**2C** - Escores médios atribuídos em diferentes tempos para os três grupos experimentais.

## 5. DISCUSSÃO

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,  
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.”  
anônimo

Não existem parâmetros pertinentes na literatura que possam ser usados na comparação direta dos resultados do presente estudo dado seu ineditismo, portanto discute-se sua concepção, a metodologia já consagrada, e os resultados são confrontados entre os próprios grupos experimentais.

### 5.1. Da concepção

É comum o pensamento de que plantas medicinais de uso tradicional já foram testadas e homologadas pelo uso prolongado em populações humanas, sendo considerados eficazes e que não apresentam efeitos colaterais, não necessitando, portanto, de avaliação laboratorial (5). Mesmo após a escolha da planta medicinal a ser coletada, deve-se observar se o vegetal oferece algumas dificuldades na uniformidade e estabilidade do produto a ser utilizado. Exemplos de uma mesma espécie, colhidos em épocas diferentes, não possuem necessariamente a mesma atividade biológica, tornando-se difícil seu controle químico, em virtude do grande número de substâncias presentes (5), portanto para o presente estudo foram retiradas folhas de um único exemplar da espécie e a coleta foi realizada de uma única vez, sendo a quantidade suficiente para a produção dos extratos utilizados em todos os testes.

A contribuição dos moradores locais no manejo e obtenção de plantas medicinais foi essencial, uma vez que os mesmos apresentam habilidade em localizar, identificar, extrair e manipular os recursos locais utilizados na elaboração de remédios caseiros há gerações.

O estudo dos efeitos desses princípios ativos sobre a resposta biológica é dificultado pela falta de conhecimento mais profundo sobre a estrutura química e atividade biológica dos mesmos, sendo assunto rico para futuras investigações (18, 20, 34).

## **5.2. Da metodologia**

### **5.2.1. Dos animais**

Os ratos albinos (Linhagem Wistar) são muito utilizados em experimentos na área médica e odontológica (35). São animais de fácil obtenção, manuseio e manutenção. Mittal (36) afirma que o rato é animal menos susceptível a infecções pós-operatórias que o cão, além de se tratar de um método mais econômico para determinação da biocompatibilidade tecidual.

Atualmente, também há grande preocupação por parte dos cursos de Pós-Graduação com relação ao tempo de duração dos cursos, desta forma o rato permite trabalhos com período pós-operatório mais breve devido ao seu metabolismo acelerado, assim optou-se por trabalhar com ratos albinos machos da linhagem Wistar.

### **5.2.2. Da Análise Edemogênica**

Um dos sinais cardinais da inflamação é o edema, levando ao aumento da permeabilidade vascular. Isto acontece quase que imediatamente após a agressão. Nos tecidos saudáveis a barreira tissular do sangue é livremente permeável à água, eletrólitos, e pequenas moléculas, porém, pouco permeável a proteínas. Devido ao aumento de permeabilidade, observa-se a passagem de plasma do interior dos vasos para a matriz extracelular, juntamente com proteínas, caracterizando o exsudato ou edema inflamatório. Corantes vitais como o Azul de Evans, quando administrados endovenosamente têm capacidade de se ligar a proteínas plasmáticas, principalmente a albumina, e a presença deste corante nos locais edemaciados, permite estimar a

intensidade da agressão (29, 37). Assim, avaliar a resposta tecidual frente às diferentes substâncias, e avaliando a biocompatibilidade de materiais a serem testados (38).

Segundo Rutberg et al. (37), o mecanismo de implantação subcutânea para a análise morfológica pode acarretar em inflamação devido ao trauma cirúrgico gerado. Por isso, a análise edemogênica seria uma maneira mais segura de se testar a biocompatibilidade de materiais odontológicos, por meio da quantificação do edema (38). Segundo Hidalgo et al. (39) este é um método adequado para avaliação da compatibilidade biológica.

Udaka et al. (40) afirmam que a avaliação de resultados experimentais em tais testes apresenta dificuldades na precisão dos dados, pois se pode verificar uma variedade muito grande de respostas aos corantes relacionadas ao preparo do material e a dose/resposta de cada animal. Pode-se constatar essa variedade de resposta neste trabalho, conforme os dados da Tabela 1, ainda que se tenha realizado a padronização dos procedimentos técnicos e a utilização de animais em condições semelhantes, não se pode evitar a variação dos resultados entre os vários espécimes. Para se obter resultados mais homogêneos são necessários, segundo Nelson-Filho et al. (41), ratos isogênicos, que são gerados em laboratório e geneticamente similares entre si, evitando-se interferências de fatores hereditários.

Para a Análise Edemogênica, foram tomados os cuidados necessários para evitar fatores de interferência, que pudessem influenciar na resposta inflamatória inicial. A injeção de corante foi realizada sob anestesia geral para se evitar movimentos bruscos, e a inoculação dos extratos no dorso do animal após 30 minutos do corante, tempo suficiente para a circulação do mesmo em todo sistema circulatório e conseqüente ligação à albumina. A tricotomia manual foi realizada apenas após o sacrifício dos animais para que não ocorressem alterações no teste, uma vez que, a depilação realizada antes do sacrifício, pode gerar inflamação.

### 5.2.3. Da Análise Morfológica

O implante subcutâneo em ratos é considerado uma metodologia adequada para avaliar a biocompatibilidade de novos materiais, Costa (42), em 2001, descreve dentre muitas

vantagens do método, a facilidade na execução e na manutenção dos animais, possibilitando uma amostra maior com vários animais em curto período de tempo, a rapidez no processamento laboratorial uma vez que não necessita da fase de descalcificação quando não envolve tecido calcificado e o baixo custo para o desenvolvimento da metodologia.

O tubo de polietileno funciona como um veículo para o acomodamento do material no interior dos tecidos. Segundo a literatura, os implantes em tecidos subcutâneos podem ser realizados em alguns tipos de tubos bem tolerados pelo organismo, como tubos de polietileno, dentina, teflon e silicone (43-47).

Tubos de polietileno foram utilizados por Makkes et al. (48), que concluíram que sua manipulação e implantação são fáceis, por não apresentarem reação aos tecidos circundantes e por serem estáveis não influenciam os materiais acondicionados em seu interior. Soma-se a essas vantagens, o fato de possuir uma certa flexibilidade, permitindo melhor ajuste ao corpo do animal, sendo mais confortável à sua movimentação, o que segundo Olsson et al. (45) permite minimizar o trauma cirúrgico após a sua implantação, tornando-se um teste indicado para avaliar a toxicidade dos materiais *in vivo*. Segundo Torneck (49) após duas semanas da implantação, os tubos iniciam o reparo de alguns sintomas da inflamação que induziram, e depois de três semanas a inflamação praticamente desaparece. Os tubos de polietileno foram indicados para este estudo pela não interferência nos princípios ativos do material testado e pela facilidade no seu manuseio.

Como o material testado estava no estado líquido, foram realizadas algumas adaptações na técnica comumente usada para materiais sólidos. Para tanto foi adaptado no interior do tubo um cone de papel endodôntico de diâmetro compatível para seu ajuste, deixando uma das extremidades livre para a avaliação do material e a outra selada com guta percha aquecida, a fim de manter a substância num único local no interior dos tecidos, evitando seu extrasamento e pontuando suas reações para interpretações futuras. A possibilidade de se utilizar um veículo gel foi descartada para se evitar qualquer interferência química nos princípios ativos dos extratos vegetais devido à ausência de estudos prévios como parâmetros, tratando-se de um material novo neste tipo de pesquisa *in vivo*.

### 5.3. Do resultado

Os resultados obtidos neste trabalho revelaram que os extratos vegetais testados apresentaram biocompatibilidade, imediata e tardia, quando comparados ao soro fisiológico.

#### 5.3.1. Da Análise Edemogênica

O edema apresentou-se semelhante nos períodos de tempo avaliados independente do grupo estudado, embora, no período de 6 horas tenha havido um ligeiro aumento na sua quantidade, estatisticamente não significativa. Para se avaliar a evolução das respostas biológicas pode-se planejar intervalos de tempo maiores em futuros estudos (Gráfico 1A).

Quando se avaliou o resultado geral das soluções, o soro fisiológico apresentou-se ligeiramente melhor, causando edema, porém estatisticamente não significativo, seguido do extrato de araquá aquoso e do extrato de araquá hidroalcoólico, pelo que, pode-se concluir que os extratos vegetais testados foram biologicamente bem aceitos pelo organismo, uma vez que o resultado geral do edema provocado pelo extrato hidroalcoólico ficou elevado devido ao período de 07 dias em que sua reação foi maior devido à presença do álcool (Gráfico 1B).

Tanto o extrato aquoso quanto o soro tiveram ligeiro aumento do edema no decorrer do tempo, o extrato hidroalcoólico apresentou um decréscimo, este fato pode ser explicado provavelmente devido ao efeito irritativo do álcool no período inicial, e sua metabolização pelo organismo no período de 6 horas (Gráfico 1C). Portanto, em trabalhos posteriores, pode-se pensar na eliminação do álcool antes da sua utilização, porque o mesmo se comportou bem como agente extrator dos princípios ativos, porém inadequado para o uso direto sobre os tecidos.

#### 5.3.2. Da Análise Morfológica

De acordo com os resultados obtidos da análise morfológica dos implantes subcutâneos, observou-se que a resposta tecidual tardia, em todos os grupos avaliados,

apresentou progresso do reparo em função do tempo, como era esperado (Gráfico 2A), ficando nítido que os implantes não impediram a progressão natural do reparo.

Os escores gerais dos extratos vegetais, quando avaliados desconsiderando a variável tempo, permitiram concluir que ambos, aquoso e hidroalcoólico, reagiram melhor que o próprio grupo controle, levando à sugestão de prováveis efeitos benéficos ao controle da inflamação (Gráfico 2B).

No período de 07 dias, observaram-se respostas inflamatórias moderadas devidas, principalmente, ao trauma causado durante os procedimentos cirúrgicos, próprias do método empregado. A reação tecidual foi semelhante entre os extratos aquoso e hidroalcoólico e estatisticamente inferior à do soro fisiológico (controle), esta informação nos permite desconfiar de ações positivas dos extratos usados sobre o reparo tecidual. Aos 28 dias, houve um controle do processo inflamatório em todos os grupos avaliados, sendo que o extrato hidroalcoólico mostrou as melhores respostas finais do experimento, com níveis de inflamação muito pequenos (Figuras 2C e 2D). Desta forma, pode-se verificar que os extratos testados foram bem aceitos pelo organismo, não interferindo ou até mesmo beneficiando, a resposta biológica durante o processo de reparo (Gráfico 2C).

De acordo com os resultados, os extratos de aracá (*Psidium cattleianum*) merecem mais atenção para sua utilização em futuros projetos de pesquisa, uma vez que se trata de uma planta praticamente inédita em estudos na área odontológica, com grande potencial antimicrobiano e comprovada compatibilidade biológica.

## 6. CONCLUSÃO

“A natureza é sábia e justa.  
O vento move os galhos, para que todas as folhas,  
tenham o seu momento de ver o sol.”  
Humberto de Campos

Considerando os resultados obtidos a partir da metodologia empregada no presente estudo, pode-se concluir que:

1. Os extratos vegetais aquoso e hidroalcoólico de araquá apresentaram respostas biológicas semelhantes ao soro fisiológico.
2. Em geral, o edema se apresentou constante com o tempo, porém o extrato hidroalcoólico apresentou edema inicial maior com decréscimo no período final, tornando-se semelhante às outras soluções estudadas.
3. O processo de reparo se conduziu de forma esperada no decorrer do tempo, não mostrando qualquer influência negativa dos extratos experimentais. O extrato de araquá aquoso, aos 07 dias, apresentou menor inflamação. O extrato hidroalcoólico apresentou o maior reparo biológico aos 28 dias.
4. Os extratos vegetais aquoso e hidroalcoólico de araquá mostraram potencial para futuro uso em odontologia.

## REFERÊNCIAS\*

1. Cechinel Filho V, Yunes RA. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. Quim Nova 1998; 21: 99-105. Medline. Disponível em: <http://www.bireme.br/scielo>. Acesso em: 25 mar. 2007.
2. Di Stasi LC. Plantas Medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora UNESP, 1995. 230p.
3. Martins ER et al Plantas medicinais. Viçosa: Editora UFV, 2000. 220p.
4. Lorenzi H. Árvores Brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4.ed. Nova Odessa - SP: Instituto Plantarum, 2002. 368p.
5. Volpato GT et al Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do *Diabetes mellitus*. Rev Bras PI Med 2002; 04: 35-45.
6. Castellucci S, Lima MIS, Nordi N, Marques JGW. Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na estação ecológica de Jataí, Município de Luís Antônio/SP: uma abordagem etnobotânica. Rev Bras PI Med 2000; 3: 51-60.
7. Cordeiro R, Nunes, VA, Almeida CR. Plantas que curam. 2ª. ed. São Paulo: Editora Três, 1996. 550p.
8. Castro HG, Ferreira FA. A dialética do conhecimento no uso das plantas medicinais. Rev Bras PI Med 2001; 3: 19-21.
9. Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil. Nativas e exóticas. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum, 2002. 512p.
10. Santos PRV, Oliveira ACX, Tomassini TCB. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. Rev Farm Bioquím Univ S Paulo 1995; 31: 35-8.
11. Wu-Yuan CD, Chen CY, Wu RT. Gallotannins inhibit growth, water-insoluble glucan synthesis, and aggregation of *mutans* streptococci. J Dent Res 1988; 67: 51-5.
12. Alves TMA et al Biological screening of brazilian medicinal plants. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000; 95: 367-73. Disponível em: <http://www.bireme.br/scielo>. Acesso em: 25 mar. 2007.
13. Vieira RF, Martins MVM. Recursos genéticos de plantas medicinais do cerrado: uma compilação de dados. Rev Bras PI Med 2000; 3: 13-36.

---

\* De acordo com as normas de publicação do periódico 'Journal of Endodontics'.

14. Garcia WG. Viagem de coleta etnológica aos kayová: recomendações úteis e instruções sumárias para coleta etnobotânica e etnozoológica a orientandos de pós-graduação. CEIMAM-UNESP: São Paulo; 1998, 373p.
15. Maciel MAM et al Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Quím Nova 2002; 25: 429-38.
16. Souza Brito ARM, Souza Brito AA. Forty years of brazilian medical plant research. J Ethnopharmacol 1993; 39: 53-67 apud Guarim Neto G, Moraes RG. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. Acta Bot Bras 2003; 17.
17. Guarim Neto G, Moraes RG. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. Acta Bot Bras 2003; 17:1-26. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/Scielo.br>. Acesso em: 27 jan. 2007.
18. Rehder VLG, Machado ALM, Delarmelina C, Sartoratto A, Figueira GM, Duarte MCT. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum applii* e *Origanum vulgare*. Rev Bras Pl Med 2004; 6: 67-71.
19. Bianco KG. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais da savana brasileira sobre *Streptococcus mutans* e a sua capacidade de desmineralização e a adesão à superfície de vidro [dissertação]. Araçatuba: FOA - Univ. Estadual Paulista, 2004.
20. Landucci LF. Atividade inibitória de extratos vegetais de plantas do cerrado brasileiro sobre microrganismos bucais [tese]. São José dos Campos: Univ. Estadual Paulista; 2005.
21. São Paulo (Estado). Secretaria da Agricultura. Coordenadoria da Pesquisa Agropecuária. Instituto de Tecnologia de Alimentos. Frutas tropicais: goiaba: da cultura ao processamento e comercialização. Campinas, 1978; 106p.
22. Caldeira SD. et al Caracterização físico-química do araçá (*Psidium guineense* S W) e do Tarumã (*Vitex cymosa* Bert.) do estado de Mato Grosso do Sul. C. Ceppa 2007; 22, jan/jun, Curitiba
23. Pott A, Pott VJ. Plantas do Pantanal. Brasília, DF: EMBRAPA 1994;320p.
24. Silva S, Tassara H. Frutas do Brasil. São Paulo: Empresa das Artes 1996; 230p.
25. Paroul N et al Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Psidium cattleianum* (Araçá-do-campo). 30ª. Reunião Anual da sociedade Brasileira de Química. E-mail: [nparoul@uricer.edu.br](mailto:nparoul@uricer.edu.br) Acesso em 20/11/07.
26. Galho AS et al Composição química e respiração de crescimento em frutos de *Psidium cattleianum* sabine durante o ciclo de desenvolvimento. Rev Bras Frutic 2007; 29, Jaboticabal.
27. Matos FJA. Farmácias vivas. Fortaleza: Editora UFC, 2002. 267p.

28. Navarro DF, Santos EAT, Rocha JCF, Bremm LL, Jukoski M, Ribeiro PG, Kozlowski Jr VA. Efeitos do digluconato de clorexidina, *Plantago major* e placebo sobre placa dental e gengivite: uma comparação clínica da eficácia de colutórios. Rev Bras Pl Med 1998; 01: 28-38.
29. Taveira LAA. Estudo do poder flogógeno da placa dental íntegra e tratada com diferentes soluções extratoras [dissertação]. Bauru: FOB - Univ. de São Paulo; 1988.
30. Bernabé PFE, Holland R, Paiva JG, Souza V, Nery MJ, Mello W. Behaviour of the subcutaneous connective tissue to the implantation of some materials employed in retrograde filling. Rev. Fac. Odont. Araçatuba 1978; 7: 07-17.
31. Federation Dentaire International Recommended standart practices for biological evaluation of dental materials. FDI Commission on Dental Materials, Equipment, and Therapeutics. Part 4.11: Subcutaneous implantation test. Int Dent J 1980; 30:173-4.
32. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. J Endod 2004 ; 30: 95-9.
33. Ozbas H, Yaltirik M, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to compomers, composite and amalgam root-end filling materials. Int Endod J 2003; 36: 281-7.
34. Rodrigues E. Etnofarmacologia no parque nacional do Jaú, AM. Rev Bras Pl Med 1998; 1: 1-14.
35. Gallottini MHC. Influência da pasta composta por Rifocort, iodofórmio e paramonoclorofenol canforado na reparação alveolar: estudo morfológico em ratos. 1989. 72f. Tese (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
36. Mittal M, Chandra S, Chandra S. Comparative tissue tolerance toxicity evaluation of four endodontic sealers. J Endod 1995; 21: 622-624.
37. Rutberg M, Spangberg E, Spangberg L. Evaluation of enhanced vascular permeability of endodontic medicaments in vivo. J Endod 1977; 3: 347-351.
38. Canova GC, TAVEIRA LAA, Dezan Junior E, Nishiuama CK, Spalding M. Estudo do poder flogógeno de quatro cimentos obturadores de canais radiculares por meio do teste edemogênico. Rev. Fac. Odontol. Bauru 2002; 10: 128-133.
39. Hidalgo MM, Kawana GRC, Gonçalves CEB, Oliveira RMMW, Bersani-Amado CA. Avaliação da tolerância tecidual a algumas substâncias utilizadas como curativo de demora no tratamento endodôntico. Rev Fac Odontol Lins 1999; 11:5-9.
40. Udaka K, Takeuchi Y, Movat HZ. Simple method for quantitation of enhanced vascular permeability. Proc Soc Exp Bio Med 1970; 133:1384- 1387.
41. Nelson-Filho P, Silva LAB, Leonardo MR, Uttrila LS, Figueiredo F. Connective tissue response to calcium hydroxide- based root canal medicaments. Int Endod J 1999; 32: 303-311.
42. Costa CAS. Testes de biocompatibilidade dos materiais odontológicos. In: Estrela C. Metodologia científica: ensino e pesquisa em odontologia. São Paulo: Artes Médicas 2001; 10: 167-94.

43. Nary Filho H, Okamoto T. Avaliação da biocompatibilidade de implantes de HapsetR (hidroxiapatita associada ao sulfato de cálcio) em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos. Rev Fac Odont Bauru 1996; 04: 55-64.
44. Holland R et al Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate. Braz Dent J 2002; 13: 23-6.
45. Olsson B, Sliwkowski A, Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. J Endod 1981; 7: 355-69.
46. Gomes-Filho JO, Faria MD, Bernabé PFE, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan-Junior E, Costa MMTM, Cannon M. Mineral Trioxide Aggregate but not Light-cure Mineral Aggregate Stimulated Mineralization. J Endod 2008; 34: 63-5.
47. Zmener O, Guglielmotti MS, Casrini, RL. Tissue response to an experimental calcium hydroxide-based endodontic sealer: a quantitative study in subcutaneous connective tissue of the rat. Endod Dent Traumatol 1990; 6: 66-72.
48. Makkes SK et al Polyethylene tubes as a model for the root canal. Oral Surg 1977; 44: 293-300.
49. Torneck CD. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. Oral Surg 1967; 24:674-83.

## ANEXO A

Certificado da Aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Araçatuba



### COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA)

## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TECIDUAL DOS EXTRATOS VEGETAIS AQUOSO E HIDROALCOÓLICO DE ARAÇÁ (*Psidium cattleianum*) PELA ANÁLISE EDEMOGÊNICA E MORFOLÓGICA EM RATOS" sob responsabilidade do Prof. Dr. ELÓI DEZAN JÚNIOR e colaboração de RENATA ZOCCAL NOVAIS e Prof. Dr. ÉLERTON GAETTI JARDIM JÚNIOR, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado *AD REFERENDUM* pela CEEA de acordo com o protocolo no. 2008-000166.

Araçatuba, 09 de janeiro de 2008.

Profª Drª CRISTINA ANTONIALI SILVA  
Presidente da CEEA - FOA/UNESP

Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária  
Rua José Bonifácio, 1193 CEP 16015-050 Araçatuba – SP  
Tel (16) 3636-3200

## ANEXO B

### Normas de publicação da revista Journal of Endodontics

[AAE Home](#) > [JOE](#) > [For Authors](#) > Guidelines for Publishing Papers in the JOE

## Guidelines for Publishing Papers in the JOE

Writing an effective article is a challenging assignment. The following guidelines are provided to assist authors in submitting manuscripts.

1. The *JOE* publishes original and review articles related to the scientific and applied aspects of endodontics. Moreover, the *JOE* has a diverse readership that includes full-time clinicians, full-time academicians, residents, students and scientists. Effective communication with this diverse readership requires careful attention to writing style.

2. **General Points on Composition**

Authors are strongly encouraged to analyze their final draft with both software (e.g., spelling and grammar programs) and colleagues who have expertise in English grammar. References listed at the end of this section provide a more extensive review of rules of English grammar and guidelines for writing a scientific article. Always remember that clarity is the most important feature of scientific writing. Scientific articles must be clear and precise in their content and concise in their delivery since their purpose is to inform the reader. The Editor reserves the right to edit all manuscripts or to reject those manuscripts that lack clarity or precision, or have unacceptable grammar. The following list represents common errors in manuscripts submitted to the *JOE*:

a. The paragraph is the ideal unit of organization. Paragraphs typically start with an introductory sentence that is followed by sentences that describe additional detail or examples. The last sentence of the paragraph provides conclusions and forms a transition to the next paragraph. Common problems include one-sentence paragraphs, sentences that do not develop the theme of the paragraph (see also section "c", below), or sentences with little to no transition within a paragraph.

b. Keep to the point. The subject of the sentence should support the subject of the paragraph. For example, the introduction of authors' names in a sentence changes the subject and lengthens the text. In a paragraph on sodium hypochlorite, the sentence, "In 1983, Langeland et al., reported that sodium hypochlorite acts as a lubricating factor during instrumentation and helps to flush debris from the root canals" can be edited to: "Sodium hypochlorite acts as a lubricant during instrumentation and as a vehicle for flushing the generated debris (Langeland et al., 1983)". In this example, the paragraph's subject is sodium hypochlorite and sentences should focus on this subject.

c. Sentences are stronger when written in the active voice, i.e., the subject performs the action. Passive sentences are identified by the use of passive verbs such as "was," "were," "could," etc. For example: "Dexamethasone was found in this study to be a factor that was associated with reduced inflammation", can be edited to: "Our results demonstrated that dexamethasone reduced inflammation". Sentences written in a direct and active voice are generally more powerful and shorter than sentences written in the passive voice.

d. Reduce verbiage. Short sentences are easier to understand. The inclusion of unnecessary words is often associated with the use of a passive voice, a lack of focus or run-on sentences. This is not to imply that all sentences need be short or even the same length. Indeed, variation in sentence structure and length often helps to maintain reader interest. However, make all words count. A more formal way of stating this point is that the use of subordinate clauses adds variety and information when constructing a paragraph. (This section was written deliberately with sentences of varying length to illustrate this point.)

e. Use parallel construction to express related ideas. For example, the sentence, “Formerly, Endodontics was taught by hand instrumentation, while now rotary instrumentation is the common method”, can be edited to “Formerly, Endodontics was taught using hand instrumentation; now it is commonly taught using rotary instrumentation”. The use of parallel construction in sentences simply means that similar ideas are expressed in similar ways, and this helps the reader recognize that the ideas are related.

f. Keep modifying phrases close to the word that they modify. This is a common problem in complex sentences that may confuse the reader. For example, the statement, “Accordingly, when conclusions are drawn from the results of this study, caution must be used”, can be edited to “Caution must be used when conclusions are drawn from the results of this study”.

g. To summarize these points, effective sentences are clear and precise, and often are short, simple and focused on one key point that supports the paragraph’s theme.

### General Points on the Organization of Original Research Manuscripts

- a. **Title Page:** The title should describe the major conclusion of the paper. It should be as short as possible without loss of clarity. Remember that the title is your advertising billboard—it represents your major opportunity to solicit readers to spend the time to read your paper. It is best not to use abbreviations in the title since this may lead to imprecise coding by electronic citation programs such as PubMed (e.g., use “sodium hypochlorite” rather than NaOCl). The author list must conform to published standards on authorship (see authorship criteria in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals at [www.icmje.org](http://www.icmje.org)).
- b. **Abstract:** The abstract should concisely describe the purpose of the study, the hypothesis, methods, major findings and conclusions. The abstract should describe the new contributions made by this study. The word limitations (150 words) and the wide distribution of the abstract (e.g., PubMed) make this section challenging to write clearly. This section often is written last by many authors since they can draw on the rest of the manuscript. Write the abstract in past tense since the study has been completed. Three to ten keywords should be listed below the abstract.
- c. **Introduction:** The introduction should briefly review the pertinent literature in order to identify the gap in knowledge that the study is intended to address. The purpose of the study, the tested hypothesis and its scope should be described. Authors should realize that this section of the paper is their primary opportunity to establish communication with the diverse readership of the *JOE*. Readers who are not expert in the topic of the manuscript are likely to skip the paper if the introduction fails to provide sufficient detail. However, many successful manuscripts require no more than a few paragraphs to accomplish these goals.

- d. **Material and Methods:** The objective of the methods section is to permit other investigators to repeat your experiments. The three components to this section are the experimental design, the procedures employed, and the statistical tests used to analyze the results. The vast majority of manuscripts should cite prior studies using similar methods and succinctly describe the particular aspects used in the present study. The inclusion of a "methods figure" will be rejected unless the procedure is novel and requires an illustration for comprehension. If the method is novel, then the authors should carefully describe the method and include validation experiments. If the study utilized a commercial product, the manuscript should state that they either followed manufacturer's protocol or specify any changes made to the protocol. Studies on humans should conform to the Helsinki Declaration of 1975 and state that the institutional IRB approved the protocol and that informed consent was obtained. Studies involving animals should state that the institutional animal care and use committee approved the protocol. The statistical analysis section should describe which tests were used to analyze which dependent measures; p-values should be specified. Additional details may include randomization scheme, stratification (if any), power analysis, drop-outs from clinical trials, etc.
- e. **Results:** Only experimental results are appropriate in this section (i.e., neither methods nor conclusions should be in this section). Include only those data that are critical for the study. Do not include all available data without justification, any repetitive findings will be rejected from publication. All Figs./Charts/Tables should be described in their order of numbering with a brief description of the major findings.

**Figures:** There are two general types of figures. The first type of figure includes photographs, radiographs or micrographs. Include only essential figures, and even if essential, the use of composite figures containing several panels of photographs is encouraged. For example, most photo-, radio- or micrographs take up one column-width, or about 185 mm wide X 185 mm tall. If instead, you construct a two columns-width figure (i.e., about 175 mm wide X 125 mm high when published in the *JOE*), you would be able to place about 12 panels of photomicrographs (or radiographs, etc.) as an array of four columns across and three rows down (with each panel about 40 X 40 mm). This will require some editing on your part given the small size of each panel, you will only be able to illustrate the most important feature of each photomicrograph. Remember that each panel must be clearly identified with a letter (e.g., "A", "B", etc.), in order for the reader to understand each individual panel. Several nice examples of composite figures are seen in recent articles by Chang, et al, (*JOE* 28:90, 2002), Hayashi, et al, (*JOE* 28:120, 2002) and by Davis, et al (*JOE* 28:464, 2002). At the Editor's discretion, color figures may be published at no cost to the authors. However, the Editor is limited by a yearly allowance and this offer does not include printing of reprints.

The second type of figure are graphs (i.e., line drawings) that plot a dependent measure (on the Y axis) as a function of an independent measure (usually plotted on the X axis). Examples include a graph depicting pain scores over time, etc. Graphs should be used when the overall trend of the results are more important than the exact numerical values of the results. For example, a graph is a convenient way of reporting that an ibuprofen treated group reported less pain than a placebo group over the first 24 hours, but was the same as the placebo group for the next 96 hours. In this case, the trend of the results is the primary finding; the actual pain scores are not as critical as the relative differences between the NSAID and placebo groups.

| % NaOCl | N/Group | % Inhibition of Growth |
|---------|---------|------------------------|
| 0.001   | 5       | 0                      |
| 0.003   | 5       | 0                      |
| 0.01    | 5       | 0                      |
| 0.03    | 5       | 0                      |
| 0.1     | 5       | 100                    |
| 0.3     | 5       | 100                    |
| 1       | 5       | 100                    |
| 3       | 5       | 100                    |

Instead, the results could simply state that there was no inhibition of growth from 0.001-0.03% NaOCl, and a 100% inhibition of growth from 0.03-3% NaOCl (N=5/group). Similarly, if the results are not significant, then it is probably not necessary to include the results in either a table or as a figure. These and many other suggestions on figure and table construction are described in additional detail in Day (1998).

- f. **Discussion:** The conclusion section should describe the major findings of the study. Both the strength and weaknesses of the observations should be discussed. What are the major conclusions of the study? How does the data support these conclusions? How do these findings compare to the published literature? What are the clinical implications? Although this last section might be tentative given the nature of a particular study, the authors should realize that even preliminary clinical implications might have value for the clinical readership. Ideally, a review of the potential clinical significance is the last section of the discussion.
- g. **References:** The reference style follows Index Medicus and can be efficiently learned from reading past issues of the *JOE*. Citations are placed in parentheses at the end of a sentence or at the end of a clause that requires a literature citation. Do not use superscript for references. Original reports are limited to 35 references. There are no limits in the number of references for review articles.

#### 4. Page Limitations for Manuscripts in the Category of Basic Science/Endodontic Techniques

- a. **What is the limitation?** Original research reports in the category of basic science/endodontic techniques are limited to no more than 2,000 words (total for the abstract, introduction, methods, results and conclusions), and a total of three Figs./Charts/Tables. If a composite figure is used (as described above), then this will count as two of the three permitted Figs./Charts/Tables.
- b. **Does this apply to me?** Manuscripts submitted to the *JOE* can be broadly divided into several categories including review articles, clinical trials (e.g., prospective or retrospective studies on patients or patient records, or research on biopsies excluding the use of human teeth for technique studies), basic science/biology (animal or culture studies on biological research related to endodontics, or relevant pathology or physiology), and basic science/techniques (e.g., stress/strain/compression/strength/failure/composition studies on endodontic instruments or materials). Manuscripts submitted in this last category are the only category subject to these limitations. If you are not sure whether your manuscript falls within this category please contact the Editor by e-mail at [jendodontics@uthscsa.edu](mailto:jendodontics@uthscsa.edu).
- c. **Why page limitations?** Most surveyed stakeholders of the *JOE* desire timely publication of submitted manuscripts and an extension of papers to include review articles and other features. To accomplish these goals, we must reduce the average length of manuscripts since increasing the *JOE*'s number of published pages is prohibitively expensive. Although a difficult decision, restricting this one category of manuscripts accomplishes nearly all of these goals since ~40-50% of published papers are in this category.
- d. **How do I make my manuscript fit these limitations?** Adhering to the general writing methods described in these guidelines (and in the resources listed below) will help to reduce the size of the manuscript. Authors are encouraged to focus on only the essential aspects of the study and to avoid inclusion of extraneous text and figures. The Editor will reject manuscripts that exceed these limitations.

**5. Available Resources:**

- a. Strunk W, White EB. The Elements of Style. Allyn & Bacon, 4th ed, 2000, ISBN 020530902X
- b. Day R.. How to Write and Publish a Scientific Paper. Oryx Press, 5th ed. 1998. ISBN 1-57356-164-9
- c. Woods G. English Grammar for Dummies. Hungry Minds:NY, 2001 (an entertaining review of grammar)
- d. Alley M. The Craft of Scientific Writing. Springer, 3rd edition 1996 SBN 0-387-94766-3.
- e. Alley M. The Craft of Editing. Springer, 2000 SBN 0-387-98964-1.

## ANEXO C

### Procedimentos cirúrgicos da Análise Edemogênica



1. Injeção intravenosa de azul de Evans a 1% (Evans Blue Difco Lab.) na veia peniana.
2. Injeção de 0,1mL do extrato correspondente ou controle.
3. Tricotomia manual da região dorsal do animal, na área de edema, representada por um halo de coloração azul.
4. Remoção de pele com margem de segurança.
5. Padronização da peça com 23mm de diâmetro.
6. Vazador de ferro utilizado.
7. Remoção dos excessos da peça.
8. Peça sendo picotada com tesoura cirúrgica.
9. Frasco de 4mL de formamida (Vetec.Química.RJ.Brasil) e peça picotada.
10. Frascos apropriados para se proceder à análise em espectrofotômetro.
11. Espectrofotômetro Cary 50 Bio (Varian).
12. Tela do espectrofotômetro com os dados resultantes da leitura.

## ANEXO D

### Procedimentos cirúrgicos da Análise Morfológica



1. Implantes embebidos em soro e em extrato.
2. Tricotomia manual da área dorsal.
3. Antissepsia com polivinilpirrolidona a 1% (Riodente, Rioquímica, SJRP, Brasil).
4. Incisão longitudinal com lâmina de bisturi número 15, de 2 cm.
5. Divulsão, com aproximadamente 3 cm, com tesoura de ponta romba.
6. Implantação dos tubos de polietileno no tecido subcutâneo dos animais.
7. Manobra para a manutenção dos implantes no interior dos tecidos.
8. Sutura com fio de seda 4-0 (Ethicon, Johnson & Johnson).
9. Aspecto do implante após o período experimental.
10. Aspecto do implante após o período experimental.
11. Aspecto do implante após o período experimental.
12. Remoção da peça contendo o tubo e os tecidos circundantes.
13. Cortes, semi-seriados, com 6 micrometros de espessura.
14. Leitura do espécime em microscópio num aumento de 2,5X.

## ANEXO E

### Dados complementares à Análise Estatística

**Tabela A** – Análise de Variância

| Fonte de variação | Soma de Quadr. | G. L. | Quadr. Méd. | ( F ) | Prob. H0 |
|-------------------|----------------|-------|-------------|-------|----------|
| Tempo (T)         | 0,00180        | 1     | 0,0018      | 0,10  | 24,052%  |
| Solução (S)       | 0,2062         | 2     | 0,1031      | 5,42  | 2,071%   |
| Interação TxS     | 0,1455         | 2     | 0,0728      | 3,82  | 5.892%   |
| Resíduo           | 0,2284         | 12    | 0,0190      |       |          |
| Variação total    | 0,5820         | 17    |             |       |          |

**Tabela B** – Teste de U de Mann-Whitney para as soluções utilizadas

|                                         |      |
|-----------------------------------------|------|
| <u>Valores de U:</u>                    |      |
| U (1): 07 dias                          | 1114 |
| U (2): 28 dias                          | 482  |
| Valor calculado de z: 3,0445            |      |
| Probabilidade de igualdade: 0,12%       |      |
| Significante ao nível de 0,12% (p<0,01) |      |

**Tabela C** – Teste de Kruskal-Wallis para as soluções analisadas

|                                              |        |
|----------------------------------------------|--------|
| Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado:       | 4,2766 |
| Valor do $\chi^2$ para 2 graus de liberdade: | 4,27   |
| Probabilidade de H0 para esse valor:         | 11,79% |
| Não Significante (p>0,05)                    |        |

| Comparação entre as médias dos postos das amostras |                               |                      |         |         |               |
|----------------------------------------------------|-------------------------------|----------------------|---------|---------|---------------|
| Amostras comparadas<br>(duas a duas)               | Diferenças<br>entre<br>médias | Valores críticos (p) |         |         | Significância |
|                                                    |                               | 0,05                 | 0,01    | 0,001   |               |
| Aquoso x Hidroalcoólico                            | 1,5833                        | 11,7382              | 15,5845 | 20,2197 | Ns            |
| Aquoso x Soro                                      | <b>10,1667</b>                | 12,5487              | 16,6605 | 21,6158 | ns            |
| Hidroalcoólico x Soro                              | <b>11,7500</b>                | 11,7382              | 15,5845 | 20,2197 | 5%            |

**Tabela D** – Teste de Kruskal-Wallis para comparar todos tratamentos realizados (seis grupos experimentais)

|                                              |         |
|----------------------------------------------|---------|
| Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado:       | 18,5591 |
| Valor do $\chi^2$ para 5 graus de liberdade: | 18,56   |
| Probabilidade de H0 para esse valor:         | 0,23 %  |
| Significante ao nível de 0,2% (p=0,0023)     |         |

| Comparação entre as médias dos postos das amostras |                               |                      |         |         |               |
|----------------------------------------------------|-------------------------------|----------------------|---------|---------|---------------|
| Amostras comparadas<br>(duas a duas)               | Diferenças<br>entre<br>médias | Valores críticos (p) |         |         | Significância |
|                                                    |                               | 0,05                 | 0,01    | 0,001   |               |
| Aquoso 7 x Aquoso 28                               | 1,5000                        | 16,2891              | 21,6332 | 28,0803 | ns            |
| Aquoso 7 x Alcoólico 7                             | 6,7381                        | 15,6966              | 20,8463 | 27,0589 | ns            |
| Aquoso 7 x Alcoólico 28                            | 9,3889                        | 14,8698              | 19,7484 | 25,6337 | ns            |
| Aquoso 7 x Soro 7                                  | 23,7500                       | 16,2891              | 21,6332 | 28,0803 | 1%            |
| Aquoso 7 x Soro 28                                 | 4,9167                        | 16,2891              | 21,6332 | 28,0803 | ns            |
| Aquoso 28 x Alcoólico 7                            | 8,2381                        | 15,6966              | 20,8463 | 27,0589 | ns            |
| Aquoso 28 x Alcoólico 28                           | 7,8889                        | 14,8698              | 19,7484 | 25,6337 | ns            |
| Aquoso 28 x Soro 7                                 | 25,2500                       | 16,2891              | 21,6332 | 28,0803 | 1%            |
| Aquoso 28 x Soro 28                                | 3,4167                        | 16,2891              | 21,6332 | 28,0803 | ns            |
| Alcoólico 7 x Alcoólico 28                         | 16,1270                       | 14,2183              | 18,8830 | 24,5105 | 5%            |
| Alcoólico 7 x Soro 7                               | 17,0119                       | 15,6966              | 20,8463 | 27,0589 | 5%            |
| Alcoólico 7 x Soro 28                              | 11,6548                       | 15,6966              | 20,8463 | 27,0589 | ns            |
| Alcoólico 28 x Soro 7                              | 33,1389                       | 14,8698              | 19,7484 | 25,6337 | 0,1%          |
| Alcoólico 28 x Soro 28                             | 4,4722                        | 14,8698              | 19,7484 | 25,6337 | ns            |
| Soro 7 x Soro 28                                   | 28,6667                       | 16,2891              | 21,6332 | 28,0803 | 0,1%          |

Alcoólico = Hidroalcoólico

**Tabela E** – Médias dos postos das amostras ordenadas do melhor para o pior resultado

| Médias dos postos das amostras |                |         |
|--------------------------------|----------------|---------|
| Amostra                        | Soma de postos | Média   |
| -----                          | -----          | -----   |
| Hidroalcoólico 28d             | 530            | 29.4 a  |
| Soro 28d                       | 407            | 33.9 ab |
| Aquoso 28d                     | 448            | 37.3 ab |
| Aquoso 7d                      | 466            | 38.8 ab |
| Hidroalcoólico 7d              | 638            | 45.6 b  |
| Soro 7d                        | 751            | 62.6 c  |

## ANEXO F

### Imagens Complementares

Figura A. Esquema Gráfico do Tubo de Polietileno utilizado para os implantes subcutâneos

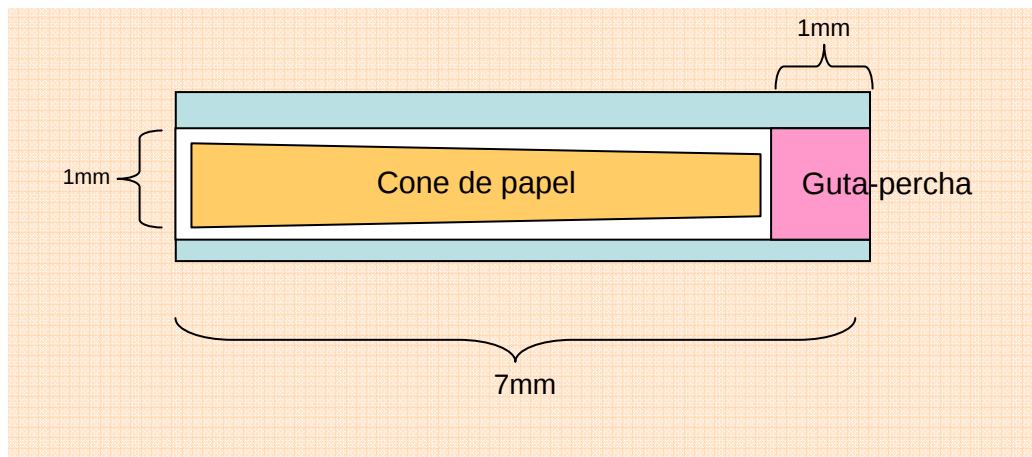


Figura B. Panorama dos aspectos microscópicos dos tecidos circundantes ao implante, coloração HE, aumento original 2,5X. Em destaque, região analisada em microscópio óptico (extremidade do extrato em contato os tecidos), a extremidade oposta (guta-percha) serve de controle negativo.



Figura C. Aspectos microscópicos do único espécime, pertencente ao grupo de aração hidroalcoólico, aos 28 dias, HE, em aumento original de 10 e 40x, que apresentou presença de células inflamatórias do tipo 'plasmócito'.

