

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

KÁSSIA FABÍOLA OLIVEIRA DA SILVA

Avicennia schaueriana: **AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE**
REPARO ALVEOLAR APÓS EXTRAÇÃO DE MOLAR
SUPERIOR EM RATOS

RECIFE

2017

KÁSSIA FABÍOLA OLIVEIRA DA SILVA

***Avicennia schaueriana*: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE
REPARO ALVEOLAR APÓS EXTRAÇÃO DE MOLAR
SUPERIOR EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde para obtenção do Grau de Mestre em Patologia, da Universidade Federal de Pernambuco

Área de concentração: Patologia

Orientadora: Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio
Co-Orientador: Prof. Dr. Jeymesson Raphael
Cardoso Vieira

RECIFE

2017

Catálogo na fonte:
bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4: 1895

S586a Silva, Kássia Fabíola Oliveira da.
Avicennia Schaueriana: avaliação do processo de reparo alveolar após extração de molar superior em ratos / Kássia Fabíola Oliveira da Silva. – Recife: o autor, 2017.
65 f.; 30 cm.

Orientadora: Liriane Baratella Evêncio.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em patologia. Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Alveolite. 2. Avicennia. 3. fitoterapia. I. Evêncio, Liriane Baratella (orientadora). II. Título.

616.07 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2018 - 024)



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Centro de Ciências da Saúde - UFPE

Av. Prof. Moraes Rego 1235 - Cidade Universitária - CEP: 50670-901 - Recife – PE
Prédio da Pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde (CCS) - térreo

Fone/Fax: (81) 2126.8529 <http://www.ppgpatologiaufpe.com>

DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM PATOLOGIA

AUTORA: Kássia Fabíola Oliveira da Silva

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Patologia

NOME DA DISSERTAÇÃO: “ *Aviccenia Schaueriana*: avaliação do processo de reparo alveolar após extração de molar superior em ratos”

ORIENTADORA: Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio

DATA DA DEFESA E APROVAÇÃO: 24 de julho de 2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

Prof^a. Dr^a. Juliana Pinto de Medeiros

Prof. Dr. Jaciel Benedito de Oliveira

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

R E I T O R

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE- REITOR

Prof^a Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

Prof^a. Adriana Maria da Silva Teles

COORDENADOR DO MESTRADO DE PATOLOGIA

Prof. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas

VICE-COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Lucas André Cavalcante Brandão

R E C I F E

2017

Silva, K.F.O. *Avicennia schaueriana: avaliação do processo de reparo alveolar...*

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Liriane Baratella Evêncio, pela orientação deste trabalho e pelo exemplo de didática que apresenta ao ministrar o espetáculo que se convencionou denominar suas aulas. Uma inspiração em pessoa e em ciência.

Ao Professor Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira, pela forma mágica com que resolve problemas aparentemente impossíveis; pela luz que sua coorientação representou no desenvolvimento deste trabalho.

À Professora Sylvania Paz, obrigada pela inestimável contribuição no processamento e preparo de todas as minhas lâminas; pelo capricho em obter a melhor coloração; e pela sua dedicação à ciência, à qual doa diariamente o melhor de si.

Às funcionárias da PosPat, pelo acolhimento e por serem sempre tão prestativas em tirar minhas dúvidas e em processar minhas solicitações e agendamentos.

Aos funcionários do Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) pela empatia e pelo cuidado que tiveram com os animais utilizados para esta pesquisa.

À CAPES pela concessão da bolsa durante o período de realização deste mestrado;

Aos meus amigos e familiares, por se alegrarem com minhas conquistas, pela parceria, pelas palavras de motivação, por me fazerem lembrar do que é realmente importante, e por manterem meus pés no chão.

À Helena, Nelson, e Karla. Obrigada por serem meu porto seguro, meu apoio incondicional, e acima de tudo, por me amarem. Sem vocês, nem essa nem nenhuma vitória em minha vida seria possível. Em tudo que eu faça e onde quer que eu esteja, meu amor e minha gratidão por vocês são indescritíveis, inestimáveis e infidáveis.

A Deus, cujo amor e misericórdia me fazem mais que vencedora.

“Tudo quanto fizerdes, fazei-o de todo o coração, como para o Senhor e não para homens, cientes de que recebereis do Senhor a recompensa da herança. A Cristo, o Senhor, é que estais servindo;”

Colossenses 3:23-24

RESUMO

A condição clínica da alveolite é caracterizada por dor intensa relatada entre o primeiro e o quarto dia pós-operatório e é a complicação mais comum após extrações dentárias. A droga atualmente disponível para este tratamento consiste de uma pasta base de cera de abelha (PBCA) em associação ao própolis a 10% e iodofórmio a 5% (PBPI). O uso de fitoterápicos perpetua-se pelos anos e poucas plantas nacionais apresentam suas propriedades biológicas detalhadas. *Avicennia schaueriana* (AS) é uma planta presente nos manguezais pernambucanos com potencial capacidade estimulante da regeneração tecidual. Este estudo teve como objetivo avaliar as propriedades estimulantes da pasta base de AS a 5% (PBAS) na regeneração tecidual alveolar e, para tanto, 45 ratos foram submetidos a avulsão dentária do 2º molar superior, seguida de indução experimental da alveolite com uso de vasoconstrictor. Os animais foram divididos em grupo padrão (tratados com PBPI), grupo controle do veículo (PBCA), e grupo experimental (PBAS) e eutanasiados aos 6º, 15º e 21º dia após a constatação da alveolite. As hemimaxilas do lado das extrações dentárias foram fixadas e cortadas em lâminas a serem submetidas a estudo comparativo histomorfométrico. Como resultado, aos 6, 15 e 21 dias após constatação da alveolite, os subgrupos PBAS apresentaram maior quantidade de osso neoformado que PBCA e PBPI em estágios correspondentes, entretanto, os resultados foram estatisticamente significativos apenas em comparação ao grupo tratado com PBCA aos 21 dias. Observou-se ainda que os grupos PBCA e PBPI não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos estágios. Concluiu-se que PBAS pode representar uma alternativa para o tratamento da alveolite como estimulante da regeneração óssea alveolar em todos os estágios da cicatrização, sendo suas propriedades mais evidentes após decorridos 21 dias da sua aplicação.

Palavras-chave: Alveolite. *Avicennia*. Fitoterapia.

ABSTRACT

The clinical condition of alveolitis is characterized by severe pain reported between the first and fourth postoperative day and represents the most common complication after dental extractions. Currently the most available drug for this treatment consists of a beeswax base paste (PBCA) in combination with 10% propolis and 5% iodoform (PBPI). The use of phytotherapies is perpetuated over the years and very few plants of the Brazilian flora have had their biological properties detailed. *Avicennia schaueriana* (AS) is a plant present in Pernambuco mangroves with potential stimulating capacity for tissue regeneration. This study proposed to evaluate the stimulating properties of a base paste containing AS at 5% (PBAS) in alveolar tissue regeneration, therefore 45 rats were submitted to 2nd upper molar avulsion, followed by experimental induction of alveolitis by usage of vasoconstrictor. The animals were divided into vehicle control group (treated PBCA), standard group (treated with PBPI), and experimental group (PBAS) and sacrificed at the 6th, 15th and 21st day after alveolitis was confirmed. The hemimaxillae on the side of the dental extractions were fixated and cut into slides to be submitted to a comparative histomorphometric study. As result, at 6, 15 and 21 days after alveolitis was diagnosed, PBAS subgroups revealed higher amounts of bone tissue in comparison to PBCA and PBPI in all correspondent subgroups. However, the results were only statistically significant when comparing PBAS to PBCA subgroup at 21 days post diagnosis. This study also revealed no statistically significant differences between PBCA and PBPI subgroups at any stage. It has been concluded that PBAS could represent an alternative treatment for alveolitis as it stimulates alveolar bone repair in all stages of healing and its properties have been more evident 21 days after its application.

Keywords: Dry socket. *Avicennia*. Phytotherapy

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

	<i>Sigla</i>
<i>Avicennia schaueriana</i>	AS
Comissão de Ética no Uso de Animais-UFPE	CEUA-UFPE
Cromatografia líquida de alta eficiência (High Performance Liquid Chromatography)	HPLC
Agência Estadual do Meio Ambiente	CPRH
Grupo experimental	GE
Grupo padrão	GP
Organização Internacional de Padronização (International Standard Organization)	ISO
Organização Para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (Organization for Economic Cooperation and Development)	OECD
Pasta base de cera de abelha associada ao extrato de <i>A. schaueriana</i> a 5%	PBAS
Pasta base de cera de abelha	PBCA
Pasta base de cera de abelha em associação a própolis a 10% e iodofórmio a 5%	PBPI

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fig 1 – Espalhabilidade de PBAS.....	46
Fig 2 – Posição de contenção do animal para cirurgia.....	49
Fig 3 – Aspecto clínico de alveólite instalada.....	49
Fig 4 – Hemimaxila obtida para processamento histológico.....	49
Fig 5 – Gráfico de substâncias sugeridas pela HPLC.....	50
Fig 6 – Fotomicrografias de secção frontal de alveolo aos 6 dias.....	53
Fig 7 – Fotomicrografias de secção frontal de alveolo aos 15 dias.....	54
Fig 8 – Fotomicrografias de secção frontal de alveolo aos 21 dias.....	55
Gráfico 1 – Comparativo inter-subgrupo para crescimento ósseo.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição da pasta contendo extrato metanólico bruto de <i>A. Schaueriana</i>	46
Tabela 2 – Resultados do teste ANOVA para área de tecido ósseo em diferentes estágios de cicatrização.....	56

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	Propriedades terapêuticas do gênero <i>Avicennia</i>	15
2.2	Reparo ósseo alveolar.....	17
2.3	Alveolite.....	20
2.4	PBPI.....	22
3	OBJETIVOS.....	24
3.1	Geral.....	24
3.2	Específicos.....	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1	Material vegetal.....	25
4.1.1	Obtenção do extrato metanólico das folas de <i>A. schaueriana</i>	25
4.1.2	Método de Cromatografia HPLC do extrato da <i>A. schaueriana</i>	26
4.1.3	Confecção da pasta com extrato de <i>A. schaueriana</i>	26
4.2	Animais.....	28
4.3	Procedimento cirúrgico.....	28
4.4	Obtenção da alveolite.....	29
4.5	Tratamento dos animais e coleta dos espécimes.....	29
4.6	Processamento do material para microscopia de luz.....	30
4.7	Análise estatística.....	30
5	RESULTADOS.....	31
6	CONCLUSÃO.....	32
	REFERÊNCIAS.....	33
	APÊNDICE - Artigo científico.....	43
	ANEXO A - Autorização de Coleta.....	63
	ANEXO B - Registro Herbário.....	64
	ANEXO C - Parecer do Comitê de Ética.....	65

1. INTRODUÇÃO

A alveolite é uma das principais complicações clínicas decorrentes da extração dentária, havendo relatos de até 45% dos casos de exodontia de terceiros molares inferiores, apresentando manifestações dolorosas dificilmente controladas pelo uso de analgésicos (JENSEN, 1978). O tratamento atualmente mais utilizado é a irrigação intra-alveolar com solução salina, seguida do uso da medicação atualmente disponível, constituída de pasta base de cera de abelha (PBCA) em associação ao própolis a 10% e iodofórmio a 5% (PBPI). Ressalta-se a importância da medicação local, uma vez que esta fornece maiores concentrações do fármaco diretamente à região onde sua ação é esperada, diminuindo efeitos colaterais provocados pelo aumento dos níveis séricos (VEZEAU, 2000; CARDOSO et al, 2010).

A utilização de plantas medicinais é considerada uma alternativa de tratamento para 80% da população mundial, segundo a Organização Mundial de Saúde, representando um comportamento cultural resistente aos séculos, embora muito frequentemente negligenciado de investigações e deficiente de respaldo científico (BHIMBA et al ,2010). A fitoterapia tem sido empregada devido à facilidade de obtenção das plantas, reduzindo o custo do fármaco pronto pela diminuição do tempo de desenvolvimento laboratorial do mesmo em comparação à confecção laboratorial de princípios ativos. Além disso, sua utilização é estimulada economicamente, pois a elaboração de drogas sintéticas, por possuírem processamento mais complexo, favorecem o aumento do custo do fármaco (RATES, 2001). O Brasil possui um dos ecossistemas mais ricos do planeta, contudo, apenas um pequeno percentual de todas as plantas nativas foram estudadas quanto às suas capacidades terapêuticas (menos de 5%), sendo que, os fitoterápicos somavam apenas 5% do total de prescrições médicas no Brasil em meados da década de 1990 (FERREIRA, 1996). Os tratamentos desenvolvidos com plantas medicinais e fitoterápicos se apresenta ainda como uma alternativa terapeutica pouco utilizada tanto nos serviços públicos de saúde como privados. (GUIZARDI, PINHEIRO, 2008)

Pertencentes à família Verbenaceae, as plantas do gênero *Avicennia* possuem vasta aplicabilidade na medicina tradicional em diversas regiões do mundo, o que se associa à presença de diversos compostos químicos com atividade antiinflamatória, antimicrobiana, e citotóxica (BLOOR, 1995). *Avicennia germinans* teve sua aplicação empírica relatada no tratamento da malária (NFOTABONG-ATHEULL et al, 2011), no reumatismo, dor de

garganta e ulcerações orais (BANDARANAYAKE, 1998; SHARMA, 1996) e há indícios de que o extrato etanólico *Avicennia marina* possuiria atividade antiplasmodial contra o *Plasmodium falciparum* (RAVIKUMAR et al, 2010). Em 2010, ao estudar a atividade antibacteriana de *Avicennia schaueriana*, Dos Santos et al comprovaram a atividade inibitória dos extratos hidro-alcoólicos da casca, folha e raízes contra o crescimento in vitro de *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* e *Klebsiella pneumoniae*.

Tendo em vista as poucas alternativas disponíveis para tratamento da alveolite e o potencial antibiótico e antiinflamatório do gênero *Avicennia*, este trabalho propôs-se a investigar a ação reparadora de AS sobre a alveolite induzida experimentalmente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Propriedades terapêuticas do gênero *Avicennia*

Avicennia schaueriana é uma planta de mangue encontrada no estado de Pernambuco, cujas propriedades biológicas são promissoras no auxílio ao tratamento do quadro clínico da alveolite. As plantas têm sido uma fonte medicinal alternativa para 80% da população mundial. Entretanto, estima-se que somente 5% da flora brasileira tenha sido estudada quanto ao seu perfil fotoquímico e apenas 1% quanto às suas propriedades biológicas. Bioquimicamente, os manguezais são únicos, sendo utilizados terapeuticamente de forma extensiva pela cultura popular, apresentando agentes antivirais, antifúngicos e antibacterianos. Esta flora é fonte de esteróides, triterpenos, saponinas, flavonóides, alcalóides, e taninos (BHIMBA et al, 2010), e por isso são importante alternativa natural ao uso de antibióticos.

As Avicenniaceae são plantas pantropicais, encontradas em habitats marítimos das costas, compreendendo um total estimado de oito espécies, pertencentes ao gênero *Avicennia*. As espécies de *Avicennia* desenvolveram um sistema radicular único que permite a respiração mesmo durante períodos de saturação do solo. (SMITH et al 2004)

Em 2010, Abeysinghe publicou um estudo relacionando o uso de extratos de plantas oriundas dos manguezais no combate a microorganismos resistentes a antibióticos. Diferentes tipos de extratos de folhas e cascas das espécies *Avicennia marina*, *Avicennia officinalis*, *Bruguiera sexangula*, *Exoecaria agallocha*, *Lumnitzera racemosa*, e *Rhizophora apiculata* foram testados contra *Streptococcus aureus* e *Proteus sp.* Os extratos de todas as plantas revelaram efeitos antimicrobianos, entretanto, os extratos feitos com as plantas ainda frescas apresentaram maior atividade antimicrobiana do que aqueles feitos com as plantas secas. Em contrapartida, alguns pesquisadores optam por utilizar o extrato destas plantas secas à sombra a fim de evitar a fotólise e a degradação térmica (BHIMBA, 2010). Ao screening fitoquímico, o gênero *Avicennia* revela presença de vários constituintes que podem apresentar diversas propriedades farmacológicas, como alcalóides, esteróides, flavonóides e triterpenos (ABEYSINGHE, 2010; GHANI, 1998; VADLAPUDI, 2012), que contribuem para a ação medicamentosa desta planta.

No estudo de Bhimba (2010), onde a atividade antibacteriana fora testada para as espécies gram negativas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, os extratos brutos de *Avicennia officinalis* não forneceram a resposta desejada, mas suas porções fracionadas demonstraram ação de amplo espectro.

Alguns cientistas reportaram a ação de extratos das raízes de *Avicennia marina* contra patógenos em peixes. (ABU et al, 2005).

Avicennia schaueriana teve sua eficácia testada quanto ao combate a alguns fungos patogênicos na agricultura, apresentando suave inibição do desenvolvimento de *Sclerotium rolfsii* (DOMINGUES et al, 2011)

Em 2005, Jones et al estudaram o potencial citotóxico do extrato de *Avicennia germinans* em linhagens de células cancerígenas humanas. Neste estudo, chegou-se à conclusão de que um metabólito secundário obtido do extrato dissolvido em clorofórmio apresentava citotoxicidade às células cancerígenas humanas KB, responsáveis pelo carcinoma epidermóide oral.

Akter et al (2014), utilizando o extrato metanólico de folhas de *Avicennia alba*, mostraram que essa planta apresenta potencial antitumoral pela citotoxicidade contra células cancerígenas, porém não demonstrou atividade citotóxica em células Vero. Behbahani et al. (2013) concluíram que o extrato metanólico de *A. marina* não afetou a viabilidade das células Vero, não demonstrando efeito citotóxico em concentrações iguais ou menores que 32 µg/mL. De acordo com Bueno et. al (2014), os taninos influenciam na fisiologia das células da pele através das suas propriedades farmacológicas, aumentando a proliferação celular. Sendo assim, seus resultados sugerem uma ação mitogênica do extrato de *A. schaueriana* por possivelmente possuir este composto.

Em 2015, Igrejas Lopes et al avaliaram a citotoxicidade do extrato de *Avicennia schaueriana* através do método colorimétrico de brometo, adotando metodologia que seguiu as normas da *International Standard Organization (ISO) 10993-5* (2009). O extrato de *Avicennia schaueriana* fora testado as concentrações de 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL e 6,25 µg/mL. Este estudo comprovou a ausência de citotoxicidade do extrato de *A. schaueriana*, uma vez que em todas as concentrações testadas, houve capacidade de proliferação de células Vero.

Diferentes porções da *Avicennia schaueriana* podem apresentar atividades mais ou menos antimicrobianas, conforme demonstrado por Dos Santos et al em 2010. Os extratos brutos da casca, raízes e folhas foram aplicados segundo a técnica de diluição seriada e testados contra *S. aureus* e *M. luteus*, sendo aqueles das raízes os mais eficazes.

Sumithra et al em 2011 avaliaram a ação antiinflamatória do extrato metanólico de *Avicennia officinalis* em diferentes concentrações. A toxicidade fora testada segundo os parâmetros OECD (*Organization for Economic Co-operation and Development*), onde revelou-se que não haveria sinais de toxicidade em dosagens de até 4000mg/kg de peso corporal.

Fardim e Marx Young (2015) estudaram a toxicidade antifúngica contra *Cladosporium sphaerospermum*, *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lagenarium* pelo extrato de folhas e caule secos de *Avicennia schaueriana* coletada de diferentes regiões da mata atlântica do estado de São Paulo, e constataram diferenças quanto aos compostos fenólicos. A comparação do perfil químico entre *A. schaueriana* coletada das diferentes regiões mostrou que existem divergências quantitativas de acordo com o perfil cromatográfico, e qualitativas quanto à identificação dos compostos que provavelmente se relacionam com a atividade antifúngica.

2.2 Reparo ósseo alveolar

O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo, composto por células e por um material extracelular calcificado, denominado matriz óssea. A parte orgânica da matriz é composta primordialmente de colágeno tipo I e de proteínas não colagênicas (BMPs, osteocalcina, osteonectina, sialoproteínas e proteoglicanas). O componente mineral da matriz extracelular é formado principalmente por cristais de fosfato de cálcio, sob forma de hidroxiapatita, alojada na matriz de colágeno. As células que compõem o tecido ósseo são os osteócitos, os osteoblastos e os osteoclastos. Os osteócitos situam-se em cavidades no interior da matriz; os osteoblastos são os sintetizadores da porção orgânica da matriz e estão distribuídos em sua periferia; e os osteoclastos, células gigantes, multinucleadas e móveis, são

capazes de reabsorver tecido ósseo e participam do processo de remodelação (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

Após qualquer lesão do tecido ósseo, a remodelação dá-se num processo cujas etapas principais são: 1) a resposta inflamatória imediata, caracterizado pelo aporte de células mesenquimais indiferenciadas, precursoras dos osteoblastos, os quais serão responsáveis pela produção de matriz orgânica extracelular ou osteóide; 2) surgimento de osso neoformado a partir da mineralização da matriz; e 3) remodelação óssea com absorção do osso neoformado, dando conformação à uma estrutura anatômica que ofereça suporte adequado para a absorção das cargas mecânicas (CANHÃO, 2005).

Semelhantemente às lesões ósseas das demais regiões corporais, após uma exodontia, o organismo objetiva preencher o alvéolo dental por tecido ósseo num fenômeno que terá a mesma sequência de eventos presentes nas respostas reparativas, apresentando, contudo, peculiaridades específicas à cavidade oral. Denomina-se reparo alveolar o conjunto de eventos desencadeados após a exodontia que tem como finalidade o preenchimento do alvéolo dental por tecido ósseo (KAWASAKI; SHIMIZU, 2000). Os estudos destes processos de reparo tiveram início com os experimentos em cães por Euler, divulgados em 1923, e desde então várias espécies foram empregadas para o entendimento das suas etapas.

Em roedores a regeneração óssea ocorre de maneira consideravelmente mais rápida que em humanos, porém as etapas da cicatrização alveolar descritas são compartilhadas. (STEINER, 2008). Independente da espécie animal com a qual se desenvolve o estudo do reparo alveolar, a sequência de eventos se estabelece da seguinte forma: conforme sua proliferação, as células endoteliais e fibroblastos provenientes dos restos do ligamento periodontal migram em direção à porção central do alvéolo, onde ocorre reabsorção do coágulo sanguíneo, o qual preencherá o alvéolo imediatamente após o procedimento cirúrgico da exodontia. Tal migração dá origem ao o tecido de granulação. Os fibroblastos, uma vez diferenciados em osteoblastos, passam a sintetizar matriz óssea, dando origem a um trabeculado ósseo imaturo. Este tecido então submete-se à mineralização através da deposição cálcica. (NICCOLI-FILHO, 1993, OKAMOTO et al, 1993; LISBOA NETO et al, 1998; AUKHIL, 2000; MAGRO FILHO, 2003; ARAÚJO; LINDHE, 2005).

Carvalho e Okamoto (1987) consideraram quatro fases morfológicas fundamentais durante a reparação alveolar de feridas não perturbadas pós-extração dentária: Proliferação

celular, desenvolvimento do tecido conjuntivo, maturação do tecido conjuntivo e mineralização ou diferenciação óssea. Tais fases não se dão de maneira isolada, podendo haver indícios destas quatro fases ocorrendo simultaneamente em torno de 7 dias após a exodontia em ratos. (OKAMOTO; RUSSO, 1973; CARVALHO et al., 1982; RODRIGUES; CARVALHO, 1983)

Durante a proliferação celular, processo iniciado após a exodontia, nota-se a vasoconstricção no ligamento periodontal, favorecendo a formação de um coágulo ou hematoma, composto por células intramedulares de do sangue periférico, o qual ocasionará num tamponamento pela oclusão de pequenos vasos após o preenchimento do alvéolo por sangue. Em seguida, a trombina e o fibrinogênio combinar-se-ão, formando um coágulo de fibrina. Tal coágulo permitirá a migração do epitélio através da superfície do coágulo e será gradualmente invadido por fibroblastos originados por mitose dos fibroblastos preexistentes e por diferenciação de células adjacentes, ambos presentes nos remanescentes do ligamento periodontal. Simultaneamente, capilares novos serão formados através da proliferação de células endoteliais. (CARVALHO, OKAMOTO, 1987; GERSTENFELD et al., 2003). A resposta inflamatória, conjuntamente com o hematoma coagulado entre e ao redor das extremidades do defeito ósseo formam um modelo para a formação do calo ósseo, um tecido fibroso reparador onde será depositada a matriz óssea (GERSTENFELD et al., 2003).

Na fase de desenvolvimento do tecido conjuntivo, nota-se uma grande quantidade de capilares e de células, principalmente fibroblastos, os quais se encarregam da síntese de fibras e substância fundamental amorfa (CARVALHO; OKAMOTO, 1987). Alguns destes fibroblastos serão responsáveis pela reorganização do coágulo de fibrina. Há um aumento da permeabilidade dos vasos do ligamento periodontal provocado pela vasodilatação e ocorre a fibrinólise pela plasmina durante a formação de um tecido de granulação. Segue-se a formação coordenada de uma rede vascular internamente ao alvéolo.

A maturação dá-se pelo aumento do número de fibras colágenas e pelo decréscimo da quantidade de vasos e células no tecido conjuntivo intra-alveolar. (CARVALHO; OKAMOTO, 1987). Nas paredes alveolares e na região de fundo de alvéolo, os osteoblastos, originários de células osteoprogenitoras, formam um tecido osteóide através da deposição de matriz orgânica, caracterizando a diferenciação óssea ou mineralização. Este tecido osteóide, também

denominado de calo ósseo, toma por completo o alvéolo num período de aproximadamente quatro semanas, formando trabéculas ósseas ao se mineralizar. A transição dessa formação da periferia para o centro do alvéolo fornece uma estrutura semi-rígida que confere resitência ao avéolo (GERSTENFELD et al., 2006). O pico de formação do calo ósseo é atingido geralmente em 14 dias em modelos animais, conforme definido pela histomorfometria de tecido mineralizado, mas também pela mensuração de marcadores de matriz extracelular, como o colágeno tipo I, osteocalcina, fosfatase alcalina e osteonectina (EINHORN, 1998).

O calo ósseo não representa a restauração completa das propriedades biomecânicas do osso normal. Para que tal normalização seja alcançada, no período pós-operatório inicial, a crista alveolar passa por reabsorção e, em sequência, apresenta indícios de mineralização, sendo a crista óssea vestibular a mais afetada pela osteoclase em comparação à lingual (CARVALHO; OKAMOTO, 1987; GERSTENFELD et al, 2006). O processo de remodelação é realizado por meio de um lento equilíbrio entre a reabsorção do calo pelos osteoclastos, e deposição de osso lamelar pelos osteoblastos. Embora o processo tenha início em torno de três a quatro semanas em modelos animais e humanos, a remodelação pode levar anos para ser completada e alcançar uma estrutura óssea totalmente regenerada. O processo pode ocorrer mais rapidamente em animais e pacientes jovens (EINHORN, 1998; GERSTENFELD et al., 2003). A proximidade do terço cervical com a cavidade oral pode acarretar no atraso da formação do tecido duro na região (CARDAROPOLI, ARAÚJO, LINDHE, 2003). A reabsorção da crista óssea alveolar residual é um processo crônico, progressivo, irreversível e cumulativo, podendo representar a causa para vários problemas estéticos e funcionais em edêntulos (AL-OBAIDI, 2014).

2.3 Alveolite

A condição clínica da alveolite foi inicialmente descrita por Crawford em 1896, sendo ainda a complicação mais freqüente após extrações dentárias. Dentre mais de uma dezena de descrições já divulgadas, a realizada por BLUM em 2002 sumariza o quadro clínico em dor pós-operatória referida internamente e no entorno do local da exodontia, a qual se intensifica

severamente entre o primeiro e o terceiro dia pós-operatório com total ou parcial desintegração do coágulo sanguíneo, com ou sem presença de halitose. A mesma condição refere-se a uma variedade de termos, tais como alvéolo seco, osteíte alveolar, osteíte localizada, osteíte localizada alveolar, alveolíte seca dolorosa, alveolíte fibrinolítica, alvéolo séptico, alvéolo necrótico e alveolalgia (ALEXANDER 2000, BLUM 2002, TORRES-LAGARES 2005).

Dentre os fatores etiológicos destacam-se o insuficiente suprimento sanguíneo, a intensificação da atividade fibrinolítica no coágulo, a infecção no decorrer ou após a exodontia, bem como o trauma ao osso alveolar durante o procedimento cirúrgico (BIRN, 1973). A ausência do coágulo sanguíneo deixa exposto o osso alveolar, permitindo a entrada de alimentos e líquidos, causando dor e retardando o recobrimento epitelial pela falta de suporte (ZHANG et al, 1983). Por sua vez, devido à infecção, há um retardo na neoformação óssea, atrasando o processo de cicatrização (LOPES CARDOSO, 2011).

A incidência da alveolite pode variar de 0,5 a 5% das extrações dentárias (FIELD 1985, MACGREGOR 1968, TURNER 1982), ocorrendo com maior prevalência nas extrações de molares inferiores, podendo chegar a 45% dos casos em extrações de terceiros molares inferiores (BLUM 2002, FAZAKERLEV, 1991). A alveolite pode afetar mulheres em uma prevalência de até 5:1 em relação aos homens, possivelmente devido ao uso de contraceptivos orais (BLUM, 2002). O estrogênio e outras drogas poderiam indiretamente ativar o sistema fibrinolítico, promovendo uma lise prematura do colágeno através do aumento dos fatores II, VII, VIII, X e o plasmonogênio (TORRES-LARGARES, 2005). Estudos realizados por Meechan et al (1988) comprovaram que o tabagismo reduz significativamente o preenchimento por sangue nos alvéolos dentários cirurgicamente expostos, havendo maior incidência de alveolíte em pessoas que fumam intensamente (20 cigarros por dia) devido à ação vasoconstrictora da nicotina absorvida pela mucosa.

Como medida preventiva, a realização de enxágües bucais com clorexidina a 0,12% mostrou-se eficiente em reduzir a incidência dos casos em até 60% das extrações de terceiros molares (LARSEN, 1991)

As condutas de tratamento são divergentes. Preocupados com o não agravamento do quadro clínico, Lehtinen (1977) e Abrão (1981) contra-indicam a curetagem e ressaltam o risco de exacerbação do processo infectioso decorrentes da instrumentação local. Em contrapartida, Bresco-Salinas (2006) preconiza que, no evento de contaminação, faz-se obrigatória a limpeza

cirúrgica da lesão associada à prescrição antibiótica. Ressalta-se que a via local de administração de medicamentos é capaz de fornecer doses mais altas do que a via sistêmica, com menor influência sobre as concentrações plasmáticas (BETTS 1995, ERICKSON 1960). Desta forma, evitam-se os efeitos colaterais promovidos quando os fármacos são utilizados por períodos prolongados e os riscos de interações medicamentosas.

2.4 Pasta base de cera de abelha contendo própolis e iodofórmio (PBPI)

A droga mais amplamente disponível no Brasil para o tratamento e prevenção da alveolite e defeitos ósseos da cavidade oral, substituinte ao medicamento anteriormente preconizado (associação de lanolina, ácido acetil salicílico, bálamo do peru, eugenól, lanolina), o medicamento composto por PBPI ainda carece de estudos científicos isentos de conflitos de interesse que determinem sua forma de atuação ou mesmo que comprovem sua eficácia. O composto de própolis (10%) e iodofórmio (5%), tendo como base a cera de abelha, tem sido utilizado com finalidade de acelerar a cicatrização alveolar após a exodontia, reduzindo o risco de alveolite e amenizando a dor pós-operatória, bem como no tratamento para a alveolite já instalada. O própolis, um dos seus princípios ativos, é uma conhecida substância sintetizada por abelhas a partir de produtos coletados de plantas. É um potente agente antimicrobiano, fungicida, antioxidante e antiinflamatório. (KANO et al, 2008). Sabe-se que tal produto contém aminoácidos, flavonóides, terpenos e derivados do ácido cinâmico (SFORCIN, 2007) e é composto em geral por 50% de resina e bálamo vegetal, 30% de cera, 10% de óleos aromáticos e essenciais, 5% pólem e 5% de substâncias que podem variar de acordo com o momento e local de coleta. Também chamado de triiodometano, o iodofórmio (CHI₃) é um composto orgânico halógeno que apresenta-se na forma sólida com coloração amarelo-cristalino, cujas propriedades antissépticas tem sido estudadas desde 1880. Os benefícios de seu uso em ferimentos devem-se à sua capacidade protetora, tanto mecânica quanto como na promoção da assepsia. (SINGH et al, 2012)

Em estudo experimental comparativo, Pereira et al em 2012 avaliaram a eficácia de PBPI em comparação com o coágulo sanguíneo e com uma associação de PBPI e a proteína

morfogenética humana recombinante do tipo 2 (rhBMP-2) em defeitos ósseos formados experimentalmente. Após estudo histomorformétrico, concluiu-se que não houve diferença estatística significativa entre o grupo tratado com PBPI isoladamente e o grupo onde manteve-se o coágulo sanguíneo (controle). O grupo tratado com rhBMP-2 também não demonstrou resultados significativamente melhores no processo de reparo ósseo em relação ao grupo controle, entretanto seus resultados foram mais satisfatórios que aqueles demonstrados com a utilização apenas do PBPI. A diferença estatística deu-se nos grupos onde fora utilizada a associação PBPI e rhBMP-2.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar histologicamente a ação da *Avicennia schaueriana* em pasta a 5% no reparo alveolar de molar superior de ratos com processo de alveolite induzida experimentalmente.

3.2 Específicos

- Analisar compostos presentes no extrato de *Avicennia schaueriana* através de cromatografia líquida de alta eficiência (em inglês: HPLC)
- Avaliar histologicamente a evolução do reparo ósseo em alvéolos sépticos tratados com pasta base de cera de abelha associada ao extrato de *Avicennia schaueriana* (PBAS) em relação a alvéolos sépticos dos demais grupos estudados;
- Comparar histomorfometricamente o reparo ósseo em alvéolos sépticos tratados com PBAS em relação a alvéolos sépticos dos demais grupos.

4. MATERIAIS E METODOS

4.1. Material vegetal

As folhas da espécie *Avicennia schaueriana* foram coletadas do mangue da Ilha de Itamaracá, com autorização da Agência Estadual de Meio Ambiente (CPRH) sob número 120/2014 (Anexo A), no dia 7 de maio de 2016, com índice pluviométrico médio de 7.4mm, na região de Vila Velha, no litoral norte do Estado de Pernambuco, Brasil, entre as coordenadas 07°48.716' latitude sul e 34°51.347' longitude oeste, aproximadamente às 9:00 da manhã. Uma excisada do material botânico foi depositada no acervo do Herbário Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e identificada sob número 75.458 (Anexo B).

4.1.1. Obtenção do extrato metanólico de folhas de *Avicennia schaueriana*

Vinte e quatro horas após a coleta, o material foi levado ao Instituto Nacional do Semiárido (INSA, Campina Grande – PB) para processamento e obtenção do HPLC. Após pesagem, 1kg de folhas frescas de *A. schaueriana* foram trituradas em pulverizador Pulverisette.14 Classic Line Variable Speed Rotor Mill (Fritsch). O material pesado e triturado foi extraído por infusão com metanol sob pressão por 25 minutos. Procedeu-se à filtração para remoção do resíduo sólido e a eliminação do metanol ocorreu por rotoevaporação.

A extração em fluxo ocorreu em duplicata utilizando o extrator Dionex ASE 350 (Thermo Scientific), com até 9 células por ciclo, sendo cada célula com capacidade de 100ml. Foram inseridas 30g de folhas trituradas adicionadas com 7,5g *Diatomaceous earth*, na proporção de 20 para 5, com a finalidade de evitar caminhos preferenciais. As células foram aquecidas à temperatura de 40° C durante 5 minutos. O volume obtido de cada extração variou de 130 a 190 ml.

A seguir realizou-se a rotoevaporação do solvente metanol em equipamento The Genevac Rocket TM Evaporation System (Genvac) através do método Low BP à temperatura de 40.3°C. A temperatura de refrigeração manteve-se em 3.8° C e a diferença de temperatura entre o líquido de refrigeração e vapores foi aproximadamente 1.93°C. Houve estabelecimento

da rotação em 648 rpm à pressão de 72 mbar. O processo de rotoevaporação durou aproximadamente 1 hora e 40 minutos por ciclo, para certificação de eliminação e todo resíduo metanólico. Os tubos de centrifugação tinham capacidade de até 400 ml sendo inseridos até 6 tubos por ciclo.

4.1.2 Método de Cromatografia HPLC do extrato metanólico da *Avicennia schaueriana*

Para realização do HPLC adotou-se o método Gradiente Polar 27 minutos, onde no canal A (fase móvel) utilizou-se água com 0,3% ácido acético e no Canal B utilizou-se Acetonitrila.

De 0-10 minutos, o 1º gradiente ocupou 98-90% do canal A e de 10-27 minutos o 2º gradiente o fluxo ocupou de 90%-15% do canal A. O fluxo estabelecido foi de 2,4 ml/min, com temperatura da coluna determinada em 30°C e tempo total de 27 minutos. O volume da injeção foi de 5 µl e o comprimento de onda foi variável entre 256 a 365nm. Utilizou-se a Coluna C18 Zorbax SB-C18 Agilent Stable Bond Analytical 4.6x250mm 5 microns. As análises foram feitas por meio do software OpenLap Control Panel Version A.01.05 (Agilent Technologies).

4.1.3 Confecção da pasta com extrato de *Avicennia schaueriana*

O extrato metanólico das folhas de *A. schaueriana* foi enviado à Farmácia de Manipulação da UFPE, onde foi submetido à mistura com pasta base de cera de abelha em proporção de 5:100 e envasado em seringas, obedecendo os parâmetros conforme disposto na tabela 1.

Tabela 1: Composição da pasta contendo extrato metanólico bruto de *A. schaueriana*

Extrato metanólico de <i>A. schaueriana</i>	5%
Cera de abelha	2%
Óleo mineral	10%
Lanolina anidra qsp	50g

Para o preparo da formulação, todos os componentes foram pesados e levados em béquer para aquecimento até fusão da cera de abelha e lanolina e incorporação do extrato. A

formulação resultou em uma preparação semi-sólida, inodora, opaca com coloração castanha a marrom.

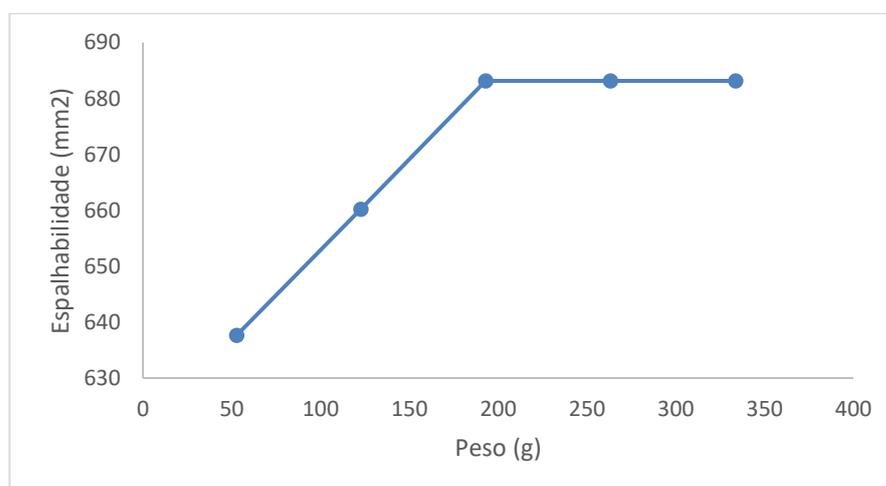
O pH foi aferido por imersão direta do eletrodo previamente calibrado em soluções tampão pH 4,0 e 7,0 a temperatura de 25° C, onde o valor de pH obtido foi 6,45.

A determinação da espalhabilidade foi realizada por método adaptado de Borghetti e Knorst (2006). Em uma placa de vidro disposta sobre papel milimetrado, aplicou-se 1 g da amostra e sobre a mostra foi colocada uma placa de vidro de peso conhecido. Após um minuto de espalhamento, o diâmetro foi aferido em posições opostas e calculado o diâmetro médio. Subseqüentemente, o mesmo procedimento foi repetido até um total de 5 placas. Os resultados foram expressos em espalhabilidade da amostra em função do peso aplicado, de acordo com a equação abaixo e plotado um gráfico disposto na figura 1 com os dados obtidos:

$$E_i = d^2 \times \frac{\pi}{4}$$

Onde, E_i = espalhabilidade da amostra para um determinado peso i (mm^2); d = diâmetro médio (mm).

Figura 1 – espalhabilidade X peso acumulado das placas



4.2 Animais

Conforme aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE (Anexo C), foram utilizados 45 ratos Wistar (*Ratus norvegicus albinus*), machos, com idade variando entre 70 e 90 dias e peso entre 280 e 330g, provenientes do Biotério do Departamento de Nutrição - UFPE, mantidos no Biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE) - UFPE em gaiolas de polipropileno com iluminação claro/escuro de 12:12 horas, dieta sólida e água *ad libitum*.

Os animais foram divididos em 3 grupos de 15 animais cada:

Grupo CA – Controle do veículo: animais submetidos a alveolite e tratados com pasta base de cera de abelha (PBCA).

Grupo LEX – Controle padrão: animais submetidos a alveolite e tratados com a droga disponível comercialmente, constituída de pasta base de cera de abelha em associação ao própolis a 10% e iodofórmio a 5%, doravante denominada PBPI;

Grupo AV – Experimental: animais submetidos a alveolite e tratados com pasta de cera de abelha contendo extrato bruto de *A. schaueriana* a 5% (PBAS).

Cada grupo foi dividido em 3 subgrupos, de 5 animais cada, relacionando-se ao tempo de tratamento dos mesmos: grupo 6) observados no 6º dia após a constatação clínica da alveolite; grupo 15) observados no 15º dia após a constatação clínica da alveolite; e grupo 21) observados no 21º dia após a constatação clínica da alveolite.

4.3 Procedimento cirúrgico

Os animais foram anestesiados com cloridrato de quetamina (10mg/kg de peso) + xilazina (50 mg/Kg de peso), associados na mesma seringa e administrados por via intramuscular. O nível de anestesia foi determinado pela observação dos reflexos das pálpebras, movimentos respiratórios e estímulos cutâneos, sendo considerado anestesiado o animal com a respiração regular e ausência de reflexos a estímulos.

Após a obtenção do efeito anestésico, a mesa operatória foi coberta com campo cirúrgico esterilizado e o animal imobilizado por meio de um equipamento especialmente desenvolvido para este fim, em decúbito dorsal para a exodontia do segundo molar superior direito (Fig2).

4.4 Indução da alveolite

Após a exodontia, o processo de alveolite foi induzido através da introdução de um chumaço de algodão estéril embebido em adrenalina 1:1000 durante 15 minutos. Uma vez obtida a isquemia, os animais permaneceram em observação por mais 15 minutos com a finalidade de comprovar a ausência de formação de coágulo sanguíneo no interior do alvéolo (DE ARAÚJO, 2009). Não foram realizadas suturas.

Posteriormente à exodontia, os animais foram supervisionados diariamente para constatação da alveolite através da presença de odor fétido, edema local, hiperemia, formação de abscesso e secreção purulenta (Fig3). Em todos os animais, diagnosticou-se o quadro clínico da alveolite 48 horas após o procedimento cirúrgico.

4.5 Tratamento dos animais e coleta dos espécimes

Constatada a alveolite, os animais do grupo CA foram tratados com PBCA. Os animais do grupo LEX com PBPI e os do grupo AV, com PBAS.

Com os animais anestesiados, as pastas colocadas em seringas foram levadas ao interior do alvéolo através de uma agulha hipodérmica adaptada, com 20mm de comprimento e 0,8mm de diâmetro, com curvatura aproximada à do alvéolo dental. A agulha foi introduzida até o fundo do alvéolo e removida à medida em que se pressionou o êmbolo da seringa. O excesso de material foi removido com o auxílio de gaze estéril.

No 6º, 15º e 21º dias de tratamento, após a constatação da alveolite, os animais foram novamente anestesiados pelo mesmo procedimento descrito anteriormente. A seguir, as

maxilas removidas para processamento histológico o qual foi realizado no laboratório de histotécnica do Programa de Pós-graduação em Patologia –UFPE.

Para a coleta dos espécimes, a maxila direita foi separada da esquerda com uso de lâmina de bisturi nº 11. A seguir, da mesma forma foi realizado um corte transversal ao palato, tangencialmente a face distal do 3º molar, o que permitira a obtenção completa do alvéolo a ser estudado. (Fig4)

4.6 Processamento do material para microscopia de luz

Posteriormente à exérese, os espécimes foram mantidos *in toto* em solução de formol a 10% tamponado durante 24 horas, lavados em água corrente e descalcificados em solução de ácido nítrico a 10% por 6 horas (DE CARVALHO DA SILVA, 2010). A seguir, foram desidratados em etanol, diafanizados em xilol e incluídos em parafina histológica de modo a se obter cortes nos alvéolos no sentido longitudinal. Cortes de aproximadamente 5µm foram corados com hematoxilina e eosina e pelo tricrômico de Masson. As preparações foram montadas em “entellan®”, submetidas a análise por microscopia de luz e escaneadas pelo equipamento Panoramic MIDI (3DHISTECH Ltd) no Programa de Pós Graduação em Odontologia, UFPE. As imagens foram coletadas com auxílio do software Panoramic Viewer 1.15.4 RTM (3DHISTECH Ltd.). Os percentuais de área alveolar ocupada por tecido ósseo aos 6, 15 e 21 dias foram obtidos a partir da análise de imagens com programa GIMP (GNU Image Manipulation Program 2.8.22) para todos os animais de todos os grupos.

Para a descrição histológica, o alvéolo foi dividido em terços apical, médio e cervical, averiguando em cada um deles o estágio de cicatrização segundo a formação de tecido conjuntivo, neoformação vascular, presença ou ausência de exsudato inflamatório e processo de ossificação.

4.7 Análise estatística

Os dados histomorfométricos foram analisados pelo programa GraphPad Prism 7.03. A estatística descritiva foi obtida através de mediana, valores mínimo e máximo. O valor “p” foi

encontrado realizando-se o teste t pareado para os dados paramétricos e do teste de Mann-Whitney para os dados não paramétricos na comparação entre dois grupos. Para comparação entre 3 ou mais grupos distintos, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) a fim de analisar os dados paramétricos e o teste de Kruskal-Wallis para dados não paramétricos. A significância estatística considerada foi de $p < 0.05\%$.

5. RESULTADOS

Os resultados obtidos no presente trabalho estão descritos no APÊNDICE expressos em forma de artigo a ser submetido: “*Avicennia schaueriana*: Avaliação do processo de reparo tecidual após indução experimental da alveolite em ratos”

Revista: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology

ISSN: 0944-7113

Fator de impacto: 3.526

Qualis capes (Odontologia): A2

6. CONCLUSÃO

O presente estudo sugere que a *Avicennia schaueriana* possui propriedades estimulantes ao crescimento ósseo em todos os estágios da cicatrização alveolar, e representa uma alternativa de tratamento para os casos de alveolite, sendo tais propriedades mais significativamente evidenciadas decorridos 21 dias da sua ministração em ratos.

REFERÊNCIAS

ABRÃO A: (Alveolitis: Its treatment). **Quintessencia** 8:21, 1981

ABEYSINGHE, P.D. Antibacterial Activity of some Medicinal Mangroves against Antibiotic Resistant Pathogenic Bacteria **Indian J Pharm Sci.** Mar-Apr; 72(2): 167–172, 2010.

ABU, E.A., ADO, S.A., JAMES, D.B. Raw starch degrading amylase production by mixed culture of *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* grown on sorghum pomace. **Afr J Biotechnol**; 4(8): 785-90, 2005.

AL-OBAIDI, M.M. J., AL-BAYATY, F. H., AL BATRAN, R., HASSANDARVISH, P., ROUHOLLAHI, E., Protective effect of ellagic acid on healing alveolar bone after tooth extraction in rat – a histological and immunohistochemical study, **Archives of Oral Biology**, vol. 59, no. 9, pp. 987–999, 2014.

AKTER, R., UDDIN, S.J., GRICE, I.D., TIRALONGO, E.; Cytotoxic activity screening of Bangladeshi medicinal plant extracts. **J. Nat. Med.** 68, 246-252, 2014.

ALEXANDER, R.E., “Dental extraction wound management: a case against medicating postextraction sockets,” **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, vol. 58, no. 5, pp. 538–551, 2000.

ARAÚJO, M. G.; LINDHE, J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction: an experimental study in the dog. **Journal of Clinical Periodontology**. 32 (2), 212-219, 2005.

AUKHIL, I. Biology of wound healing. **Periodontology** 22, 44-50, 2000.

BANDARANAYAKE, W.M. Traditional and medicinal uses of mangroves. **Mangroves and Salt Marshes** 2: 133-148, 1998.

BETTS, N. J. et al. Evaluation of topical viscous 2% lidocaine jelly as an adjunct during the management of alveolar osteitis. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.53, n.10, p.2140-4, 1995.

BEHBAHANI, M., ZADEH, M.S., MOHABATKAR, H. Evaluation of antiherpetic activity of crude extract and fractions of *Avicenna marina*, in vitro. **Antiviral Res.** 97, 376-380, 2013.

BIRN, H. Etiology and pathogenesis of fibrinolytic alveolitis ("dry socket"). **J. Oral Surg.**, v.2, p.211-63, 1973.

BHIMBA, V., MEENUPRIYA, J., JOEL, E.L. et al; Antibacterial activity and characterization of secondary metabolites isolated from mangrove plant *Avicennia officinalis*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**; p 412-420, 2010.

BLOOR, S.J.; A survey of extracts of New Zealand indigenous plants for selected biological activities. **New Zeal J Bot.** 33: 523-540, 1995.

BLUM, I.R.. "Contemporary views on dry socket (alveolar osteitis): a clinical appraisal of standardization, aetiopathogenesis and management: a critical review," **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, vol. 31, no. 3, pp. 309–317, 2002.

BORGHETTI, G. S., KNORST, M.T.; Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42(4), 2006.

BRESCO-SALINAS, N., COSTA-RIU, N., BERINI-AYRTEZ, L. et al: Antibiotic susceptibility of the bacteria causing odontogenic infections. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal** 11:E70, 2006

BUENO, F.G., PANIZZON, G.P., MELLO, E.V., LECHTENBERG, M., PETEREIT, F., DE MELLO, J.C., HENSEL, A. Hydrolyzable tannins from hydroalcoholic extract from

poincianella pluviosa stem bark and its wound-healing properties: phytochemical investigations and influence on in vitro cell physiology of human keratinocytes and dermal fibroblasts. **Fitoterapia**. 99,252-260, 2014.

CANHÃO, H., FONSECA, J.E., QUEIROZ, M.V. Epidemiologia da osteoporose, mecanismos de remodelação óssea e factores protectores do osso. **Acta Reuma Port**; v. 30, p. 225-240, 2005.

CARDAROPOLI, G.; ARAÚJO, M.; LINDHE, J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites: an experimental study in dogs. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 30, n9, p. 809-817, 2003.

CARDOSO, C. L., RODRIGUES, M. T. V., JÚNIOR, O. F., GARLET, G. P. & CARVALHO, P. S. P. **Clinical concepts of dry socket**. **Journal of Oral Maxillofacial Surgery**, 68, 1922-1932. doi: 10.1016/j.joms.2009.09.085, 2010.

CARVALHO, P. S. P.; OKAMOTO, T.; CARVALHO, A. C. P. The influence of intra-alveolar curettage on wound healing after tooth extraction: a histological study in rats. **J. Nihon Univ. Sch. Dent.**, v.24, n.1, p.28- 34, Mar. 1982.

CARVALHO, P. S. P; OKAMOTO, T. ; CARVALHO, A.C.P. Influência de fragmentos de dentina/esmalte ou de dentina/cimento sobre a cronologia do processo de reparo em feridas de extração dental: estudo histológico em ratos. **Rev. OdoRt. UNESP**, São Paulo, 13(112): 13-20, 1984.

CARVALHO, P.S.P.; OKAMOTO, T. **Cirurgia bucal. Fundamentos experimentais aplicados à clínica**. São Paulo: Panamericana, 1987.

CARVALHO, P. S. P.; OKAMOTO, T. Influência da limpeza cirúrgica e/ou aplicação de “Alveosan” no processo de reparo em feridas de extração dental infectadas: Estudo histológico em ratos. **Revista de Odontologia da UNESP**, V.20, P.165-173,1994.

CHEN, Y.J., SHIAO, M.S., WANG, S.Y. The antioxidant caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic HL-60 cells. **Anticancer Drugs**. 12:143–9, 2001.

CRAWFORD, J.Y.: Dry sockets after extraction. **Dental Cosmos**; 38:929-31, 1896

DE CARVALHO DA SILVA, K.; BIZARRIA, et al. Effects of nutritional replacement on somatic and bone tissue growth in young malnourished rats. **The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, Vol.5(5), pp. e208-e212, 2010.

DOMINGUES, R.J., MARX YOUNG, M.C., *et al*; Potencial antifúngico de extratos de plantas e de basidiomicetos nativos sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 37, n. 3, p. 149-151, 2011.

DOS SANTOS, S.C., FERREIRA, F.S., DAMIÃO, A.O. Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos de *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. *ex* Moldenke, Verbenaceae, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20(1): 124-129, Jan./Mar. 2010.

EINHORN, T. A. The cell and molecular biology of fracture healing. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, New York, v.355, p.S7-S21, 1998.

ELSUBEIHI, E.S.; HEERSCHKE, J.N.M. Quantitative assessment of post-extraction healing and alveolar ridge remodelling of the mandible in female rats. **Archives of oral biology**, v.49, p. 401-412, 2004.

EULER H. Die Heilung Von extraction wunden, eine tiexperimentellestudie. **Dtsch. Mschr. Zahnheilk**, v.41, p. 687-700, 1923.

ERICKSON, R. T., WATTE, D. E., WILKISON, R. H. A study of dry sockets. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.13, n.9, p.1046-50, 1960.

FARDIM, K., MARX YOUNG, M.C.M., Antifungal potential of *Avicennia schaueriana* Stapf & Leech. (Acanthaceae) against *Cladosporium* and *Colletotrichum* species. **Letters in Applied Microbiology**, V.61 (1), p. 50–57, 2015.

FAZAKERLEV M., FIELD E.A.: Dry socket: A painful post-extraction complication (a review). **Dent Update** 18:31, 1991.

FERREIRA, B.: Fitoterapia: plante essa idéia. **Rev. ABO Nac.** 4: 4–6, 1996.

FESSEN, M.R., KOHN, K.W., LETEURTRE, F., POMMIER, Y. Inhibitors of human immunodeficiency virus integrase. **Proc Natl Acad Sci U S A** ; 90:2399–403, 1993.

FIELD, E.A., SPEECHLEY, J. A., ROTTER, E., SCOTT, J. “Dry socket incidence compared after a 12 year interval,” **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, vol. 23, no. 6, pp. 419–427, 1985.

GERSTENFELD, L. C.; CULLINANE, D. M.; BARNES, G. L. Fracture healing as a postnatal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. **Journal of Cellular Biochemistry**, New York, v.88, n.5, p.873-884, 2003.

GERSTENFELD, L. C.; ALKHIARY, Y. M.; KRALL, E. A.; NICHOLLS, F. H.; STAPLETON, S. N.; FITCH, J. L. Three-dimensional reconstruction of fracture callus morphogenesis. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, Baltimore, v.54, p.1215-1228, 2006.

GHANI, A., Medicinal Plants of Bangladesh: Chemical constituents and uses. **Asiatic Society of Bangladesh**, p. 212-216, 1998.

GUIZARDI, F.L., PINHEIRO, R.; Novas práticas sociais na constituição do direito à saúde: a experiência de um movimento fitoterápico comunitário. **Interface Comun saúde Educ**; 12(24):109-122; 2008.

IGREJAS LOPES, CAROLINE M., BARATELLA EVENCIO, L., VIEIRA, J.R.C.; Estudo de Bioprospecção de *Avicennia schaueriana*: desenvolvimento de um creme cicatrizante, **Dissertação de Mestrado**, UFPE, 2015.

HOWE, G.L. Algumas complicações da cirurgia oral. **Cirurgia Oral Menor**. 3 ed. São Paulo, P. 376-397, 1990.

HUEBSCH, R.F.; COLEMAN, R.D., FRANDBSEN, A.M., BECKS, H. The healing process following molar extraction. I. Normal male rats (long-evans strain). **Oral Surg. Med. Oral Pathol.** Aug;5(8):864-76, 1952.

ISO 10993-5. **International standard: Biological Evaluation of Medical Devices Part 5: Tests for Cytotoxicity: *in vitro* methods**, 2009.

JONES, W.P., LOBO-ECHEVERRI, T., CHAI, Q.M.H. *et al*, Antitumour activity of 3-chlorodeoxylapachol, a naphthoquinone from *Avicennia germinans* collected from an experimental plot in southern Florida, **JPP**, 57: 1101–1108, 2005.

JENSEN, J.O., Alveolar osteitis (dry socket) – A review. **Aust. Dent. J.** 23: 159-193, 1978.

JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J. **Histologia Básica**; 12.ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 132-48, 2013.

KANO, Y., *et al*; Artepillin C derived from propolis induces neurite outgrowth in PC12m3 cells via ERK and p38 MAPK pathways. **Neurochem Res** 33:1795–1803, 2008.

KAWASAKI, K, SHIMIZU, N. Effects of low-energy laser irradiation on bone remodeling during experimental tooth movement in rats. **Lasers Surg Med**; 26(3):282-91, 2000.

LARSEN P.E. The effect of a chlorhexidine rinse on the incidence of alveolar osteitis following the surgical removal of impacted third molars. **J Oral Maxillofac Surg**;49:932-7, 1991.

LEHTINEN, R. Analgesic effect of Apemyl and phenol-camphor solution on alveolitis. **Int. J. Oral Surg.**, v. 4, p. 157-9, 1975.

LISBOA NETO, J. A.; MACHADO, J. L. MELO JUNIOR, E. J. M.; RAPOSO, M. J. Avaliação do efeito cicatrizante da aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e do mastruço (*Chenopodium ambrosioides*) em feridas de extração dental em ratos: estudo histológico. **Revista ABO Nacional**. 6 (3) 66-69, 21, 1998.

LOPES CARDOSO C, FERREIRA JÚNIOR O, PERRI DE CARVALHO PS, DIONÍSIO TJ, CESTARI TM, POMPERMAIER GARLET G. Experimental dry socket: Microscopic and molecular evaluation of two treatment modalities. **Acta Cir Bras**; 26:365–72, 2011.

MACGREGOR, A.J., “Aetiology of dry socket: a clinical investigation,” **British Journal of Oral Surgery**, vol. 6, no. 1, pp. 49–58, 1968.

MADA, E.Y.; et al. Effects of green tea and bisphosphonate association on dental socket repair of rat **Archives of Oral Biology** 75, 1–7, 2017.

MAGRO FILHO, O.; TOLEDO, F.M.C.; OKAMOTO, T.; RANGEL GARCIA JUNIOR, I. Influência da anti-sepsia intrabucal com clorexidina 0,2% na reparação de alvéolo dental. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas**, 50 (3), 1996.

MARZOLA, C. Processo de reparo alveolar. **Técnica Exodôntica**. 2ed. São Paulo: Pancast, P.303-326, 1994.

MEECHAN, J.G., MACGREGOR, I.D., ROGERS, S.N., HOBSON, R.S., BATE, J.P., DENNISON, M. The effect of smoking on immediate post-extraction socket filling with blood and on the incidence of painful socket. **Br J Oral Maxillofac Surg**; 26:402-9, 1988.

NFOTABONG-ATHEULL et al. Assessing forest products usage and local residents' perception of environmental changes in peri-urban and rural mangroves of Cameroon, Central Africa **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, 7:41, 2011.

NICCOLI-FILHO, W. D., OKAMOTO, T., CARDENUTO, N., & PICON, L. C., The effect of green helium-neon laser on the healing of extraction wounds: Histological study in rats. **Revista de Odontologia da UNESP**; 22: 213–221, 1993.

OKAMOTO, T.; RUSSO, M. C. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. **Revista da Faculdade de Odontologia de Araçatuba**, Araçatuba, v. 2, p. 153-169, Set. 1973.

OKAMOTO, T. HAYACIBARA, R. M., SATO, M. T., NICCOLI FILHO, W. D. Processo de reparo em feridas de extração dental após implante de colágeno esponjoso: estudo histomorfológico. **Revista Paulista de Odontologia**, v. 15, n.5, p. 26-36, 1993.

PEREIRA, N. T., *et al* Effect of Alveolex on the Bone Defects Repair Stimulated by rhBMP-2: Histomorphometric Study. **Microscopy Research and Technique** 75:36–41, 2012.

RATES, S.K.F.; Plants as source of drugs. **Toxicon** 39: 603-613; 2001.

RODRIGUES, M.V.T. et al; Experimental alveolitis in rats: Microbiological, acute phase response and histometric characterization of delayed alveolar healing. **JAOS**; 19(3): 260-8, 2011.

RAVIKUMAR, S. et al, Mangrove plants as a source of lead compounds for the development of new antiplasmodial drugs from South East coast of India. **Parasitology Research**, 108 (6), p. 1405-1410, 2011.

RODRIGUES, S. O.; CARVALHO, A. C. P. Boxe wax implantation intodental sockets. Clinical and histological evaluation in patients. **J. NihonUniv. Sch. Dent.**; 25:248-292, 1983.

SHARMA, G. Iridoid glycosides from *Avicennia officinalis*. **Indian J Chem** 35: 459-462, 1996.

SINGH, V.; DAS, S.; SHARMA, N.K. IODOFORM: A boon in disguise. **Open Journal of Stomatology**. 2: 322-325, 2012.

SFORCIN, J.M. Propolis and the immune system: A review. **J Ethnopharmacol** 113:1-14, 2007.

SMITH, N. *et al* **Flowering plants of the neotropics**. Princeton University Press, 2004.

STEINER G.G., FRANCIS W., BURRELL R., KALLET M.P., STEINER D.M., MACIAS R. The healing socket and socket regeneration. **Compend Contin Educ Dent**;29 (2):114-24, 2008.

SUMITHRA, M., JANJANAM VIJAY KUMAR, VIDHYA SAGAR KANCHARANA. **International Journal of PharmTech Research**, Abril-Junho 2011, 3(2), pp 763-768.

TORRES-LAGARES, D., SERRERA-FIGALLO, M.A., ROMERO-RUIZ, M.M.P. et al "Update on dry socket: a review of the literature," **Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal**, vol. 10, no. 1, pp. 77-85, 2005.

TURNER, P.S. "A clinical study of 'dry socket'," **International Journal of Oral Surgery**, vol. 11, no. 4, pp. 226-231, 1982.

VADLAPUDI, V., In vitro antimicrobial activity of plant extracts of *Avicennia alba* against some important pathogens. **Asian Pac. J. Trop. Dis.** 2, 408-411; 2012.

VEZEAU P. "Dental extraction wound management: medicating postextraction sockets". **Journal Oral Maxillofacial Surgery**; 58: 531- 537; 2000

ZHANG, E.X., ZHANG, K.H., GENG, W.Q., ZHANG, G.X. ; Chin Experimental dry socket and evaluation of common clinical treatments. **Med J (Engl)**; 96:539–46, 1983.

APÊNDICE

ARTIGO CIENTÍFICO

***Avicennia schaueriana*: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REPARO TECIDUAL APÓS INDUÇÃO EXPERIMENTAL DA ALVEOLITE EM RATOS**

Silva, K.F.O.¹, Evêncio, L.B.¹, Vieira, J.R.C.¹; Paz, S.T.¹; Leal, L.B.¹; da Silva, V. F.²

RESUMO

Contextualização: A condição clínica da alveolite é caracterizada por dor intensa relatada entre o primeiro e o quarto dia pós-operatório e é a complicação mais comum após extrações dentárias. A droga atualmente mais disponível para este tratamento consiste de uma pasta base de cera de abelha (PBCA) em associação ao própolis a 10% e iodofórmio a 5% (PBPI).

Proposta: Com intuito de ampliar a escassa gama de alternativas medicamentosas disponíveis para o tratamento da alveolite atualmente, este estudo teve como objetivo avaliar as propriedades estimulantes da pasta base de cera de abelha contendo AS a 5% (PBAS) na regeneração tecidual alveolar.

Tipo de estudo: Experimental

Metodologia: 45 ratos foram submetidos a avulsão dentária do 2º molar superior, seguida de indução experimental da alveolite com uso de vasoconstrictor. Os animais foram divididos em grupo padrão (tratados com PBPI), grupo controle do veículo (PBCA), e grupo experimental (PBAS) e eutanasiados aos 6º, 15º e 21º dia após a constatação da alveolite. As hemimaxilas do lado das extrações dentárias foram fixadas e cortadas em lâminas a serem submetidas a estudo comparativo histomorfométrico.

Resultados: Aos 6,15 e 21 dias após constatação da alveolite, os subgrupos PBAS apresentaram maior quantidade de osso neoformado que PBCA e PBPI em estágios correspondentes, entretanto, os resultados foram estatisticamente significativos apenas em comparação ao grupo tratado com PBCA aos 21 dias. Observou-se ainda que os grupos PBCA e PBPI não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos estágios.

Conclusão: Concluiu-se que PBAS pode representar uma alternativa para o tratamento da alveolite como estimulante da regeneração óssea alveolar em todos os estágios da cicatrização, sendo suas propriedades mais evidentes após decorridos 21 dias da sua aplicação.

Palavras-chave: Alveolite. *Avicennia*. Fitoterapia

Kássia Fabíola Oliveira da Silva

kassiaortodontia@gmail.com

1 Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Brasil

2 Instituto Nacional do Semiárido – Campina Grande – Brasil.

Introdução

A alveolite é uma das principais complicações clínicas decorrentes da extração dentária, havendo relatos de até 45% dos casos de exodontia de terceiros molares inferiores, apresentando manifestações dolorosas dificilmente controladas pelo uso de analgésicos (JENSEN 1978). O tratamento atualmente mais utilizado é a irrigação intra-alveolar com solução salina, seguida do uso da medicação atualmente disponível, constituída de pasta base de cera de abelha (PBCA) em associação ao própolis a 10% e iodofórmio a 5% (PBPI). Ressalta-se a importância da medicação local, uma vez que esta fornece maiores concentrações do fármaco diretamente à região onde sua ação é esperada, diminuindo efeitos colaterais provocados pelo aumento dos níveis séricos. (VEZEAU, 2000; CARDOSO et al, 2010)

Avicennia schaueriana é uma planta de mangue encontrada no estado de Pernambuco, cujas propriedades biológicas são promissoras no auxílio ao tratamento do quadro clínico da alveolite. Esta flora é fonte de esteróides, triterpenos, saponinas, flavonóides, alcalóides, e taninos (BHIMBA et al, 2010), e por isso são importante alternativa natural ao uso de antibióticos. Ao *screening* fitoquímico, o gênero *Avicennia* revela presença de vários constituintes que podem apresentar diversas propriedades farmacológicas, como alcalóides, esteróides, flavonóides e triterpenos (ABEYSINGHE, 2010; GHANI, 1998; VADLAPUDI, 2012), que contribuem para a ação medicamentosa desta planta. Itigowa et al (2011) atribuiu aos derivados naftoquinona presentes no gênero *Avicennia* ao seu potencial antitumoral. Diferentes porções da *Avicennia schaueriana* podem apresentar atividades mais ou menos antimicrobianas, conforme demonstrado por Dos Santos et al em 2010. Os extratos brutos da casca, raízes e folhas foram aplicados segundo a técnica de diluição seriada e testados contra *Streptococcus aureus* e *Micrococcus luteus*, sendo aqueles das raízes os mais eficazes.

Em 2015, Igrejas Lopes et al avaliaram a citotoxicidade do extrato de *Avicennia schaueriana* através do método colorimétrico de brometo, adotando metodologia que seguiu as normas da *International Standard Organization (ISO) 10993-5 (2009)*. O extrato de *Avicennia schaueriana* fora testado as concentrações de 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL e 6,25 µg/mL. Este estudo comprovou a ausência de citotoxicidade do extrato de *A. schaueriana*, uma vez que em todas as concentrações testadas, houve capacidade de proliferação de células Vero.

Fardim e Marx Young (2015) estudaram a toxicidade antifúngica contra *Cladosporium sphaerospermum*, *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lagenarium* pelo extrato de folhas e caule secos de *Avicennia schaueriana* coletada de diferentes regiões da mata atlântica do estado de São Paulo, e constataram diferenças quanto aos compostos fenólicos. A comparação do perfil químico entre *A. schaueriana* coletada das diferentes regiões mostrou que existem divergências quantitativas de acordo com o perfil cromatográfico, e qualitativas quanto à identificação dos compostos que provavelmente se relacionam com a atividade antifúngica.

Este estudo tem como objetivo avaliar histologicamente a ação da *Avicennia schaueriana* em pasta a 5% no reparo alveolar de molar superior de ratos com processo de alveolite induzida experimentalmente.

Materiais e Métodos

Material vegetal

As folhas da espécie *Avicennia schaueriana* foram coletadas do mangue da Ilha de Itamaracá, com autorização da Agência Estadual de Meio Ambiente (CPRH) sob número 120/2014, no mês de Maio de 2016, na região de Vila Velha, no litoral norte do Estado de Pernambuco, Brasil, entre as coordenadas 07°48.716' latitude sul e 34°51.347' longitude oeste. Uma exsicata do material botânico foi depositada no acervo do Herbário Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e identificada sob número 75.458.

O extrato metanólico obteve-se por infusão a partir de 1kg de folhas frescas de *Avicennia schaueriana*. O material pesado e triturado foi extraído com metanol sob pressão por 25 minutos. Procedeu-se à filtração para remoção do resíduo sólido e a eliminação do metanol ocorreu por rotoevaporação. Uma vez pesados 1kg de folhas frescas de *A. Schaueriana*, as mesmas foram trituradas em pulverizador Pulverisette.14 Classic Line Variable Speed Rotor Mill (Fritsch). A extração em fluxo ocorreu em duplicata utilizando o extrator Dionex ASE 350 (Thermo Scientific), com até 9 células por ciclo, tendo cada célula capacidade de 100ml. Foram inseridas 30g de folhas trituradas adicionadas a 7,5g *Diatomaceous earth*, na proporção de 20 para 5, com a finalidade de evitar caminhos preferenciais. As células foram aquecidas à temperatura de 40° C durante 5 minutos. O volume obtido de cada extração variou de 130 a 190 ml.

A seguir realizou-se a rotoevaporação do solvente metanol em equipamento The Genevac Rocket TM Evaporation System (Genevac) através do método Low BP à temperatura de 40.3°C. A temperatura de refrigeração manteve-se em 3.8° C e a diferença de temperatura entre o líquido de refrigeração e vapores foi aproximadamente 1.93°C. Houve estabelecimento da rotação em 648 rpm à pressão de 72 mbar. O processo de rotoevaporação durou aproximadamente 1 hora e 40 minutos por ciclo, para certificação de eliminação e todo resíduo metanólico. Os tubos de centrifugação tinham capacidade de até 400 ml sendo inseridos até 6 tubos por ciclo.

Para realização do HPLC estabeleceu-se adotou-se o método Gradiente Polar 27 minutos, onde no canal A (fase móvel) utilizou-se água com 0,3% ácido acético e no Canal B utilizou-se Acetonitrila. De 0-10 minutos, o 1° gradiente ocupou 98-90% do canal A e de 10-27 minutos o 2° gradiente o fluxo ocupou de 90%-15% do canal A. O fluxo estabelecido foi de 2,4 ml/min, com temperatura da coluna determinada em 30°C e tempo total de 27 minutos. O volume da injeção foi de 5 µl e o comprimento de onda foi variável entre 256 a 365nm. Utilizou-se a Coluna C18 Zorbax SB-C18 Agilent Stable Bond Analytical 4.6x250mm 5 microns. As análises foram feitas por meio do software OpenLap Control Panel Version A.01.05 (Agilent Technologies).

O extrato metanólico das folhas de *A. schaueriana* foi enviado à Farmácia de Manipulação da UFPE, onde foi submetido à mistura com pasta base de cera de abelha em proporção de 5:100 e envasado em seringas, obedecendo os parâmetros conforme disposto na tabela 1.

Tabela 1: Composição da pasta contendo extrato metanólico bruto de *A.schaueriana*

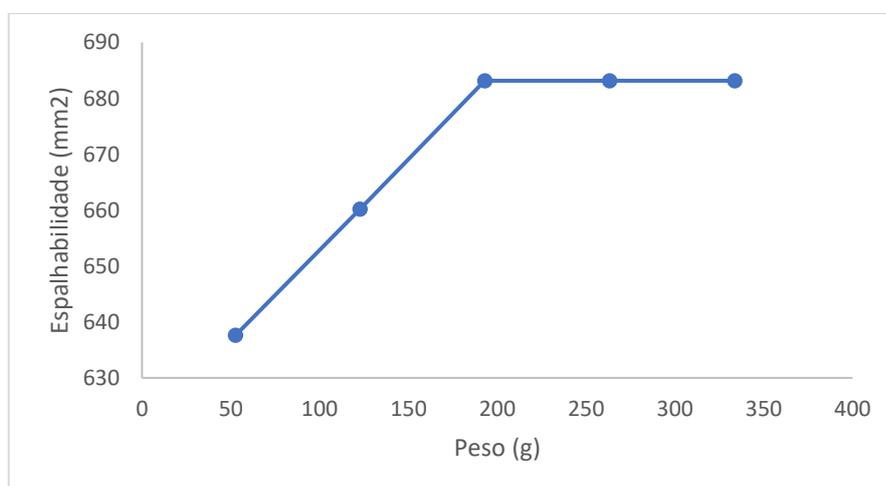
Extrato metanólico de <i>A. schaueriana</i>	5%
Cera de abelha	2%
Óleo mineral	10%
Lanolina anidra qsp	50g

Para o preparo da formulação, todos os componentes foram pesados e levados em béquer para aquecimento até fusão da cera de abelha e lanolina e incorporação do extrato. A formulação resultou em uma preparação semi-sólida, inodora, opaca com coloração castanha a marrom. O pH foi aferido por imersão direta do eletrodo previamente calibrado em soluções tampão pH 4,0 e 7,0 a temperatura de 25° C, onde o valor de pH obtido foi 6,45. A determinação da espalhabilidade foi realizada por método adaptado de Borghetti e Knorst (2006). Em uma placa de vidro disposta sobre papel milimetrado, aplicou-se 1 g da amostra e sobre a mostra foi colocada uma placa de vidro de peso conhecido. Após um minuto de espalhamento, o diâmetro foi aferido em posições opostas e calculado o diâmetro médio. Subseqüentemente, o mesmo procedimento foi repetido até um total de 5 placas. Os resultados foram expressos em espalhabilidade da amostra em função do peso aplicado, de acordo com a equação abaixo e plotado um gráfico na figura 1 com os dados obtidos:

$$E_i = d^2 \times \frac{\pi}{4}$$

Onde, E_i = espalhabilidade da amostra para um determinado peso i (mm^2); d = diâmetro médio (mm).

Fig.1 – espalhabilidade X peso acumulado das placas



Animais

Foram utilizados 45 ratos Wistar (*Ratus norvegicus albinus*), machos, com idade variando entre 70 e 90 dias e peso entre 280 e 330g, provenientes do Biotério do Departamento de Nutrição - UFPE, mantidos no Biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental - UFPE em gaiolas de polipropileno com iluminação claro/escuro de 12:12 horas, dieta sólida e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em 3 grupos de 15 animais cada:

Grupo CA – Controle do veículo: animais submetidos a alveolite e tratados com pasta base de cera de abelha (PBCA).

Grupo LEX – Controle padrão: animais submetidos a alveolite e tratados com a droga disponível comercialmente, constituída de pasta base de cera de abelha em associação ao própolis a 10% e iodofórmio a 5%, doravante denominada PBPI;

Grupo AV – Experimental: animais submetidos a alveolite e tratados com pasta de cera de abelha contendo extrato bruto de *A. schaueriana* a 5% (PBAS).

Cada grupo foi dividido em subgrupos 3, de 5 animais cada, relacionando-se ao tempo de tratamento dos mesmos: grupo 6) observados no 6º dia após a constatação clínica da alveolite; grupo 15) observados no 15º dia após a constatação clínica da alveolite; e grupo 21) observados no 21º dia após a constatação clínica da alveolite.

Procedimento cirúrgico e coleta de material

Os animais foram anestesiados com cloridrato de quetamina (10mg/kg de peso) + xilazina (50 mg/Kg de peso), associados na mesma seringa e administrados por via intramuscular. O nível de anestesia foi determinado pela observação dos reflexos das pálpebras, movimentos respiratórios e estímulos cutâneos, sendo considerado anestesiados os animal com a respiração regular e ausência de reflexos a estímulos.

Após a obtenção do efeito anestésico, a mesa operatória foi coberta com campo cirúrgico esterilizado e o animal imobilizado por meio de um equipamento especialmente desenvolvido para este fim, em decúbito dorsal para a extração do segundo molar superior direito (Fig2). Após a avulsão dentária, o processo de alveolite foi obtido através da introdução de um chumaço de algodão estéril embebido em adrenalina 1:1000 durante 15 minutos. Uma vez obtida a isquemia, os animais permaneceram em observação por mais 15 minutos com a finalidade de comprovar a ausência de formação de coágulo sanguíneo no interior do alvéolo (DE ARAÚJO, 2009) Não foram realizadas suturas.

Posteriormente ao procedimento cirúrgico da exérese dentária, os animais foram supervisionados diariamente para constatação da alveolite através da presença de odor fétido, edema local, hiperemia, formação de abscesso e secreção purulenta. (Fig3)

Constatada a alveolite, os animais do grupo CA foram tratados com PBCA. Os animais do grupo LEX com PBPI e os do grupo AV, com PBAS.

Com os animais anestesiados, as pastas colocadas em seringas foram levadas ao interior do alvéolo através de uma agulha hipodérmica adaptada, com 20mm de comprimento e 0,8mm de diâmetro, com curvatura aproximada à do alvéolo dental. A agulha foi introduzida até o fundo do alvéolo e removida à medida em que se pressionou o êmbolo da seringa. O excesso de material foi removido com o auxílio de gaze estéril.

No 6º, 15º e 21º dias de tratamento, após a constatação da alveolite os animais foram novamente anestesiados pelo mesmo procedimento descrito anteriormente. A seguir, as maxilas removidas para processamento histológico o qual foi realizado no laboratório de histotécnica do Programa de Pós-graduação em Patologia –UFPE.

Para a coleta dos espécimes, a maxila direita foi separada da esquerda com uso de lâmina de bisturi nº 11. A seguir, da mesma forma foi realizado um corte transversal ao palato, tangencialmente a face distal do 3º molar, o que permitirá a obtenção completa do alvéolo a ser estudado. (Fig4)

Posteriormente à exérese, os espécimes foram mantidos *in toto* em solução de formol a 10% tamponado durante 24 horas, lavados em água corrente e descalcificados em solução de ácido nítrico a 10% por 6 horas (DE CARVALHO DA SILVA, 2010). A seguir, foram desidratados em etanol, diafanizados em xilol e incluídos em parafina histológica de modo a se obter cortes nos alvéolos no sentido longitudinal. Cortes de aproximadamente 5µm foram corados com hematoxilina e eosina e pelo tricrômico de Masson. As preparações foram montadas em “entellan®”, submetidas a análise por microscopia de luz, e selecionadas para serem escaneadas pelo equipamento Panoramic MIDI (3DHISTECH Ltd) no Programa de Pós Graduação em Odontologia, UFPE. As imagens foram coletadas com auxílio do software Panoramic Viewer 1.15.4 RTM (3DHISTECH Ltd.). Os percentuais de área alveolar ocupada por tecido ósseo aos 6, 15 e 21 dias foram obtidos a partir da análise de imagens com programa GIMP (GNU Image Manipulation Program 2.8.22) para todos os animais de todos os grupos. Para a descrição histológica, o alvéolo foi dividido em terços apical, médio e cervical, averiguando em cada um deles o estágio de cicatrização segundo a formação de tecido conjuntivo, neoformação vascular, presença ou ausência de exsudato inflamatório e processo de ossificação

Os dados histomorfométricos foram analisados pelo programa GraphPad Prism 7.03. A estatística descritiva foi obtida através de mediana, valores mínimo e máximo. O valor “p” foi encontrado realizando-se o teste t pareado para os dados paramétricos e do teste de Mann-Whitney para os dados não paramétricos na comparação entre dois grupos. Para comparação entre 3 ou mais grupos distintos, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) a fim de analisar os dados paramétricos e o teste de Kruskal-Wallis para dados não paramétricos. A significância estatística considerada foi de $p < 0.05\%$.



Fig2 – Posição de contenção do animal anestesiado



Fig3 – Seta vermelha indica alvéolo com sinais de deficiente aporte sanguíneo e áreas necróticas, apresentando secreção purulenta, caracterizando a alveolite.



Fig4 – Hemimaxila obtida para processamento histológico.

Resultados

HPLC

Quando submetido ao exame por HPLC, o extrato metanólico das folhas de *Avicennia schaueriana* coletadas para a presente pesquisa foi altamente sugestivo da presença do ácido elágico (pico de retenção de 700966289 V, tempo de retenção de aproximadamente 20 segundos) e, em menores expressões, ácido caféico (pico de retenção: 302245826 V, tempo de retenção: aprox. 30 segundos) e rutina (pico de retenção: 302245826 V; tempo de retenção: aprox. 10 segundos). (Fig.5)

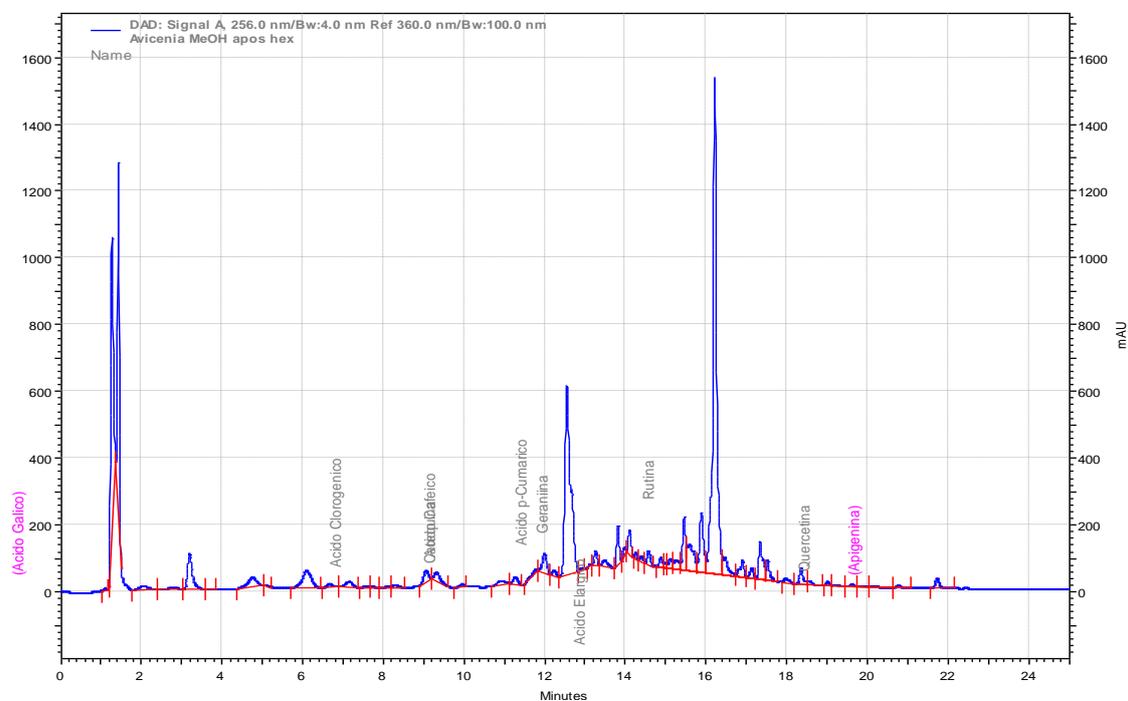


Fig.5 – Gráfico obtido a partir da HPLC demonstrando tempo de retenção/pico de retenção para substâncias com maior probabilidade de presença no extrato metanólico de AS.

Aspectos histomorfológicos

No que se refere aos achados histológicos, os alvéolos do subgrupo CA06 (integrantes do grupo controle positivo, tratados com PBCA, eutanasiados aos 6 dias), apresentam em sua região apical trabéculas ósseas maduras e confluentes. No terço médio, o trabeculado ósseo intercala-se ao tecido ósseo cortical remanescente das paredes alveolares, os quais apresentam

sinais de remodelação. Há forte presença de tecido conjuntivo osteogênico, o qual se estende e se mescla no terço cervical às abundantes células inflamatórias, onde a atividade osteoclástica ocorre com maior intensidade. Nesta região, observamos também diversas áreas circulares pronunciadas contendo secreção purulenta, bem como remanescentes de coágulos sanguíneos. Vasos capilares se dispõem em maior quantidade nos terços médio e apical. (Fig6-A)

No subgrupo LEX06 (integrantes do grupo controle padrão, tratados com PBPI, 6 dias), os remanescentes do coágulo sanguíneo apresentam-se mais difusos. Notam-se vesículas purulentas em menor quantidade e tamanho. O trabeculado ósseo estende-se profusamente do terço apical ao terço médio. São identificados pequenos capilares sanguíneos principalmente nos terços médio e apical. Células inflamatórias apresentam-se em maior concentração no terço cervical, porém em menor intensidade comparado à mesma região nos alvéolos do subgrupo CA06. (Fig.6-B)

O subgrupo AV06 (tratados com PBAS, eutanasiados aos 6 dias) vesículas contendo secreção purulenta encontram-se dispostas mais profusamente no terço cervical, onde há intensa atividade osteoclástica nos remanescente das paredes alveolares corticais. (Fig.6-C) O terço cervical apresenta a maior concentração de células inflamatórias em comparação às demais regiões do alvéolo. No terço médio, semelhantemente aos demais subgrupos nesta mesma fase, há indícios de neoformação óssea ativa. Pequenos capilares sanguíneos são vistos principalmente nos terços médio e apical.

O terço apical do subgrupo CA15 (CA, eutanasiados aos 15 dias) apresenta intensa atividade osteoblástica e aposição óssea, com maior presença de células inflamatórias em seu rebordo intercalando-se à matriz óssea neoformada. O terço médio apresenta coloração mais intensa indicando a presença de colágeno e de tecido de granulação, o que sugere a progressão da osteogênese. Os vasos sanguíneos apresentam-se em maior calibre e quantidade em relação ao estágio anterior. Ainda no terço médio, os remanescentes ósseos corticais das paredes alveolares sofrem intensa osteoclase. Na porção cervical do alvéolo denota-se intensa atividade inflamatória, onde o remanescente do septo interradicular apresenta tanto áreas celulares como acelulares, havendo maior recobrimento epitelial apicalmente em relação à sua porção acelular. (Fig.7-A)

Nos alvéolos tratados do subgrupo LEX15 (PBPI, 15 dias), os terços apical, médio e cervical estão bem delimitados, havendo indícios de aposição óssea ativa no terço apical, neoformação óssea e deposição de colágeno primordialmente no terço médio. O terço cervical apresenta intensa atividade inflamatória. Os remanescentes do septo interradicular e dos rebordos alveolares sofrem intensa osteoclase, apresentando tanto áreas celulares como acelulares. Nota-se maior epitelização do alvéolo apicalmente às porções acelulares dos remanescentes do septo interradicular. Vasos sanguíneos de diversos calibres são encontrados principalmente no terço médio. (Fig 7-B)

No subgrupo AV15 (PBAS, 15 dias), o terço apical é caracterizado por trabeculados ósseo maduro e neoformado, apresentando células inflamatórias em suas margens, as quais são confluentes com áreas de aposição colagenosa. No terço médio, a coloração indicativa de colágeno é mais intensa em relação ao do subgrupo correspondente no estágio anterior, AV06. São observados capilares sanguíneos de diversos calibres além de regiões inflamatórias circunscrevendo corpos estranhos. O terço cervical apresenta intensa osteoclase dos

remanescentes corticais das paredes alveolares e células inflamatórias difundidas por todo o terço cervical. (Fig7-C)

O terço apical dos alvéolos tratados no subgrupo CA21 (PBCA, 21 dias) apresenta-se alongado, infiltrando-se e mesclando-se ao terço médio. No terço médio, nota-se a presença de vasos sanguíneos de diversos calibres, e a coloração indicativa da presença de colágeno apresenta-se mais vibrante em comparação ao subgrupos correspondentes nos demais períodos de eutanásia. Em alguns cortes de lâminas deste subgrupo, o terço cervical apresentou a maior epitelização em comparação com demais subgrupos tratados neste mesmo estágio (21 dias), porém não houve completa epitelização em nenhum dos alvéolos investigados (Fig 8-A). Os osteoblastos estão presentes por todo o alvéolo, evidenciando-se mais significativamente no terço cervical em comparação com o observado nos estágios anteriores. Alguns alvéolos ainda apresentaram fragmentos de osso necrótico (acelular), abaixo dos quais a reepitelização ocorreu de forma mais intensa, porém ainda incompleta. Observamos áreas de circunscrição inflamatória contendo alguns corpos estranhos. Este grupo apresentou níveis mais variados de cicatrização, havendo menor previsibilidade do estágio de regeneração tecidual.

No subgrupo LEX21 (PBPI, 21 dias) foram observadas áreas circulares inflamatórias delimitando corpos estranhos. A neoformação vascular é mais pronunciada no terço médio, porém existem vasos de pequeno calibre por toda a extensão do alvéolo. O osso neoformado tem mais indícios de amadurecimento no terço apical, porém há sinais aposição óssea por todo o alvéolo. O terço médio apresenta indícios de formação de trabeculado ósseo, com maior condensação do colágeno. Existem fragmentos remanescentes da cortical óssea das paredes alveolares e do septo interradicular, as quais apresentam áreas celulares e acelulares, ambas sofrendo osteoclastose. A porção cervical é ainda rica em células inflamatórias, localizadas em toda a superfície alveolar, bem como nas superfícies de tecidos ósseos corticais remanescentes. (Fig 8-B)

No subgrupo AV21 (PBAS, 21 dias) o terço apical demonstra trabeculado ósseo bem mesclado ao terço médio, onde então a área indicativa da presença de colágeno sobrepõe-se à das células inflamatórias. O osso neoformado apresenta-se mais compacto e condensado na região cervical em comparação aos estágios previamente analisados. A epitelização ainda é incompleta. Observamos áreas de inflamação circunscrevendo corpos estranhos, o que possivelmente motiva o atraso na completa cicatrização do alvéolo. Existem vasos de diversos calibres em proporções semelhantes no terço médio e no terço apical, distribuindo-se estes em menor quantidade no terço cervical. Comparativamente aos outros estágios e aos outros grupos em estágio semelhante, nota-se maior presença e condensação de tecido ósseo. (Fig 8-C)

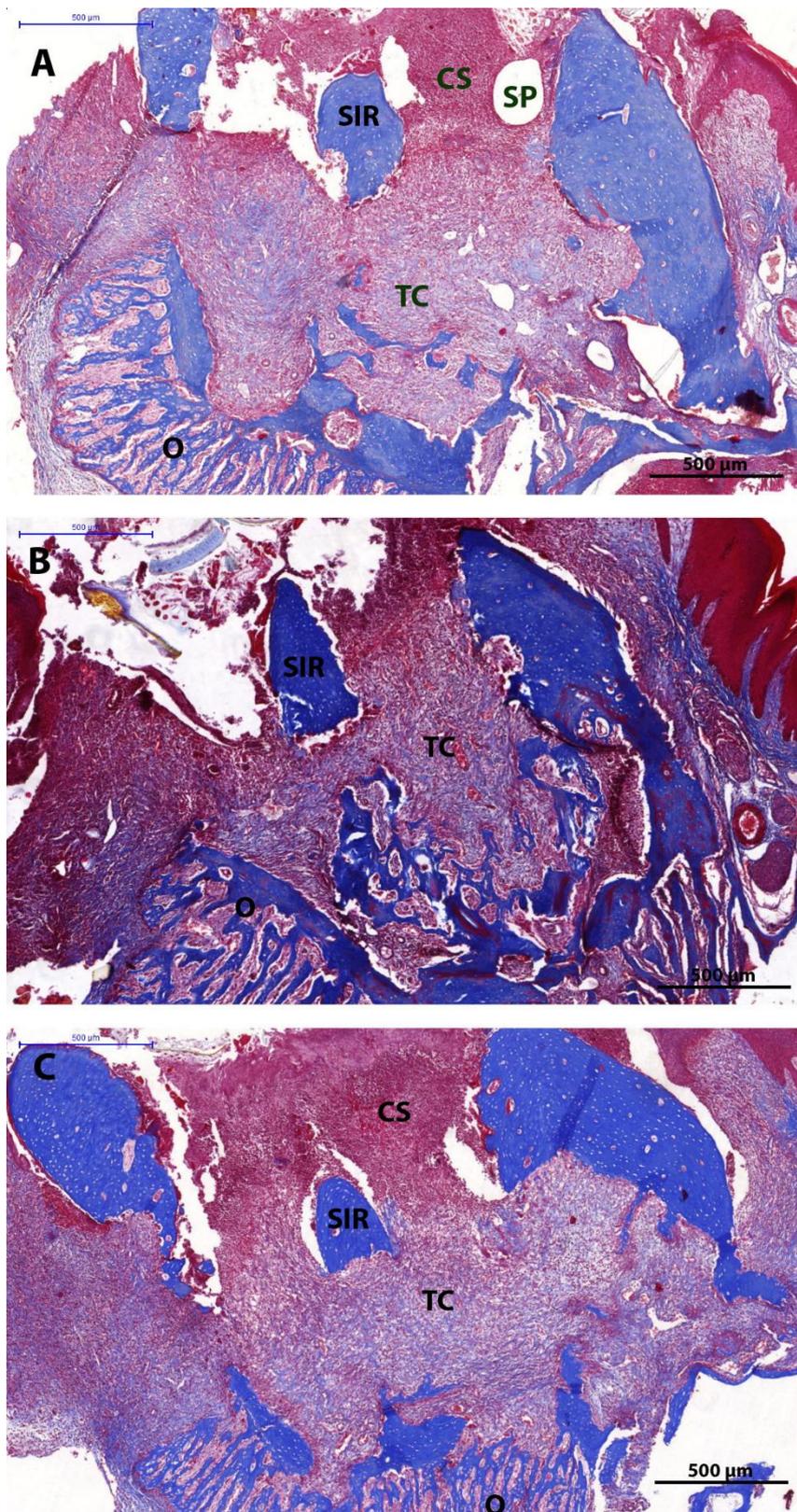


Fig. 06- Fotomicrografias de secção frontal de alvéolo de 2º molar superior de ratos dos subgrupos CA06 (A); Lex06(B) e AV06 (C). CS – coágulo sanguíneo; O - trabeculado ósseo; TC - tecido conjuntivo; SIR- remanescente do septo interradicular; SP - secreção purulenta. Coloração: Tricrômico de Masson.

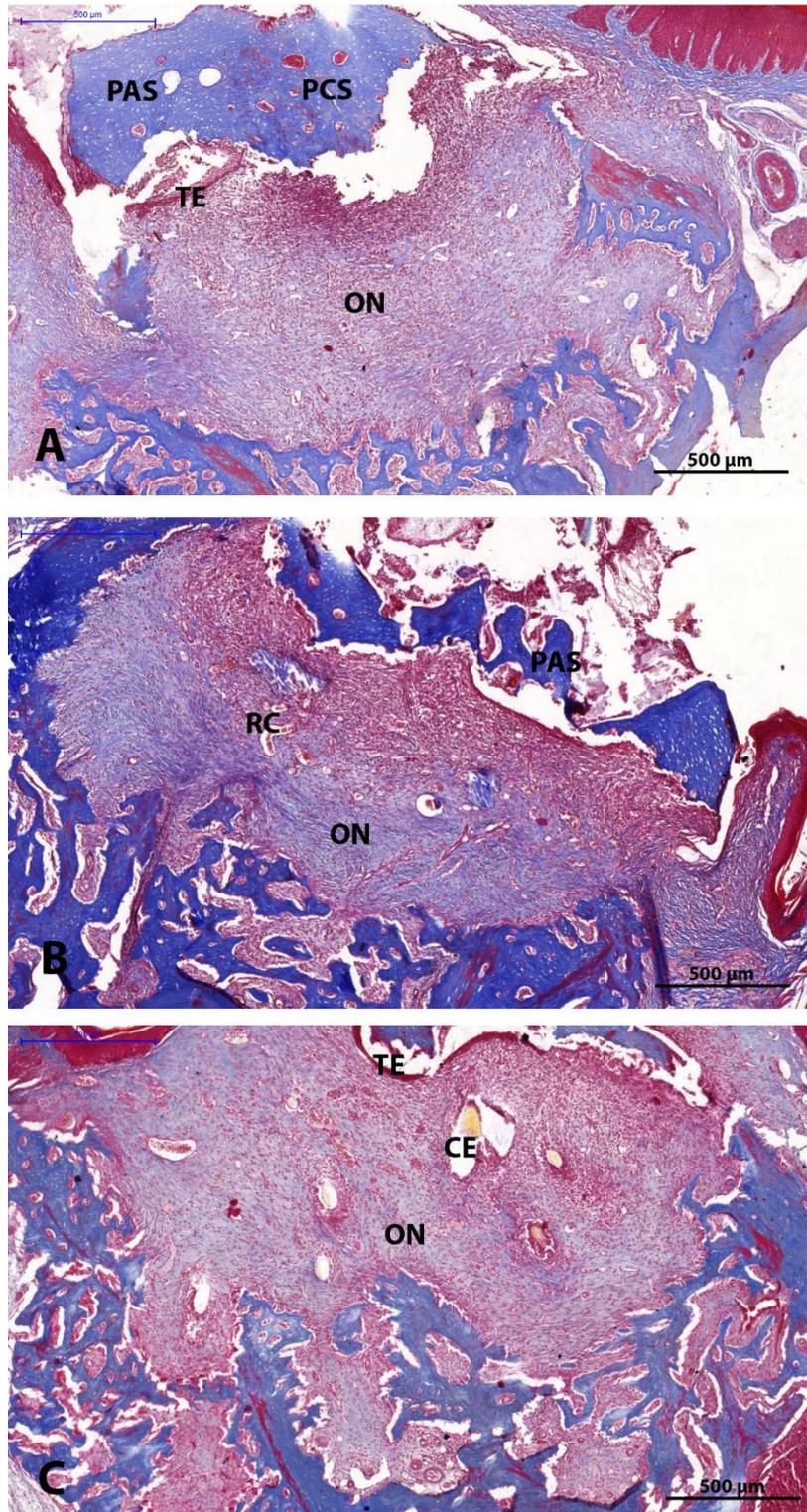


Fig. 07- Fotomicrografias de secção frontal de alvéolo de 2ºmolar superior de ratos dos subgrupos CA15 (A); Lex15(B) e AV15 (C). CE – Corpo estranho; ON – Osso neoformado; PAS – Porção acelular do remanescente do septo interradicular; PCS – Porção celular do remanescente do septo interradicular; TE- Tecido epitelial;; RC – Remanescente de coágulo sanguíneo. Coloração: Tricrômico de Masson

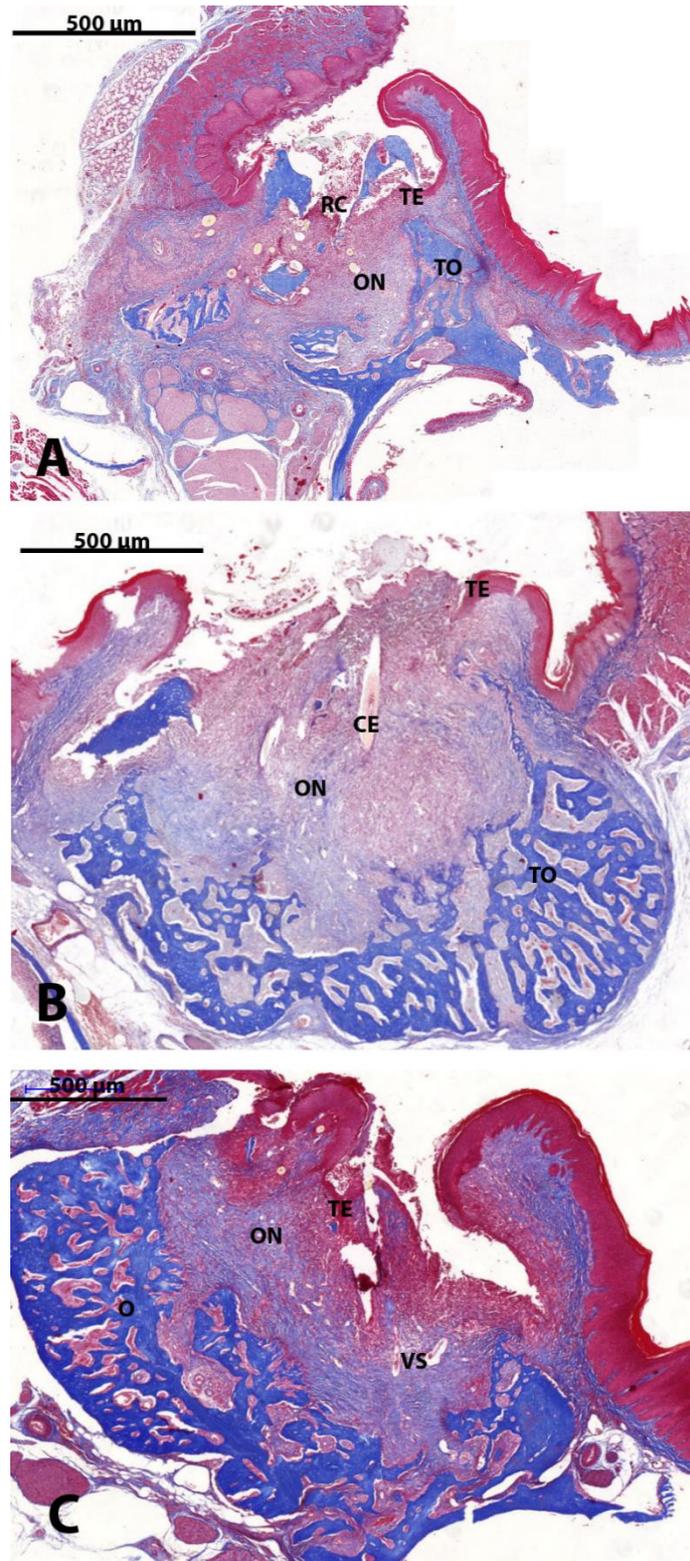


Fig. 08- Fotomicrografias de secção frontal de alvéolo de 2ºmolar superior de ratos dos subgrupos CA21 (A); Lex21(B) e AV21 (C). CE – Corpo estranho; ON – Osso neoformado; TE – Tecido Epitelial; TO – trabeculado ósseo; RC – remanescente do coágulo sanguíneo; VS – vaso sanguíneo.

Resultados estatísticos

Ao se analisar as substâncias separadamente, de acordo com a época pós cirúrgica de eutanásia de seus subgrupos, as 3 substâncias utilizadas apresentaram diferenças estatísticas entre seus subgrupos, o que denota que todas apresentaram aumento progressivo da área óssea em relação à área total do alvéolo.

Tabela 2: Resultados do teste ANOVA para o área de tecido ósseo em diferentes estágios de cicatrização

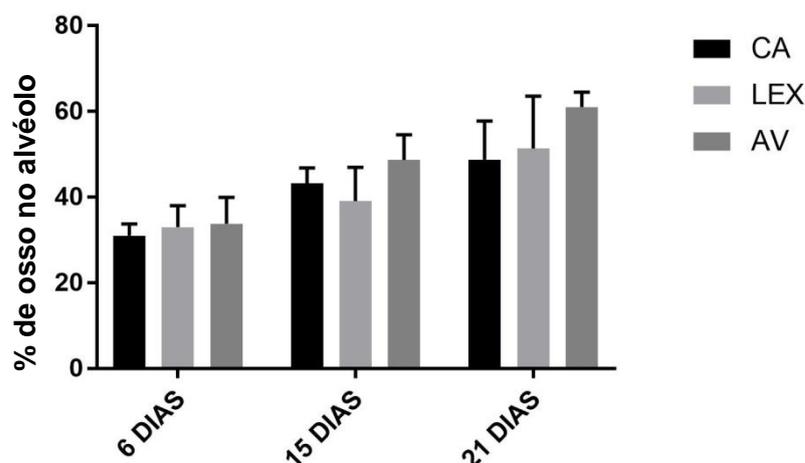
	CA	LEX	AV
F	12.15	5.571	33.34
P	0.0013	0.0194	<0.0001
R quadrado	0.6694	0.4815	0.8475

No período de 6 dias, o percentual médio da área ocupada por tecido ósseo em toda extensão do alvéolo foi maior no subgrupo AV06 (33,86%) do que nos subgrupos CA06 (31,06%) e LEX06 (33,03%), porém não houve significância estatística ($AV06 = 33,86 \pm 2,721$, $CA06 = 31,06 \pm 1,222$ e $LEX06 = 33,03 \pm 2,241$).

Aos 15 dias, o percentual de área alveolar ocupada por osso foi maior no subgrupo AV15, com valor médio de 48,71%, em comparação com as médias dos subgrupos LEX15 (39,11%) e CA15 (43,23%), entretanto, não houve significância estatística entre os subgrupos ($AV = 48,71 \pm 2.607$; $LEX = 39.11 \pm 3.523$; $CA = 43,23 \pm 1,603$)

Nos testes realizados para os subgrupos referentes aos 21 dias, foram obtidas significâncias estatísticas tanto quando utilizados o Teste t não-pareado quanto o teste Mann-Whitney entre AV21 ($61,01 \pm 1,558$) e CA21 ($48,75 \pm 4,92$), porém esta significância não se repetiu quando comparamos AV21 ao LEX21 ($51,38 \pm 5,446$), nem quando comparados LEX21 a CA21.

Gráfico 1 – Comparativo inter-subgrupo do crescimento do percentual de tecido ósseo no alvéolo.



Discussão

Tão importante quanto conhecer a ação da espécie botânica e sua aplicabilidade medicinal, a contribuição científica deste estudo é dependente do conhecimento dos componentes fitoquímicos presentes em *Avicennia schaueriana* que justifiquem suas propriedades. Para tanto, houve predileção à elaboração do extrato metanólico a fim de favorecer a análise por HPLC, sendo o extrato final completamente rotoevaporado antes da confecção do fármaco. Considera-se a possibilidade de resultados ainda mais expressivos na cicatrização alveolar caso o extrato de AS seja confeccionado com solvente mais biocompatível.

Ao considerar o dinamismo e o fluxo salivar da cavidade oral, optou-se pela elaboração de um medicamento cuja apresentação tivesse consistência a qual favorecesse tanto a fluidez necessária para inserção e maior contato às paredes alveolares, e que também conferisse estabilidade do fármaco no seu local de deposição. Para tanto, optou-se pela elaboração de uma pasta.

No presente estudo, todos os animais utilizados para análise histológica tiveram o diagnóstico de alveolite 48 horas após o procedimento cirúrgico, sendo este quadro patológico constatado clinicamente através da presença de edema, hiperemia, formação de abscesso, e secreção purulenta. Tais parâmetros para diagnóstico da alveolite estiveram de acordo com os achados bibliográficos. (HOWE,1990, MARZOLA,1994, ALEXANDER, 2000; BLUM, 2002; NEVILLE, 2004; TORRES-LAGARES, 2005). O retardo no reparo tecidual alveolar uma vez estabelecido este quadro já fora descrito por Lopes Cardoso et al (2011)

Apesar das divergências de períodos de eutanásia para estudo do reparo tecidual alveolar encontrados na literatura, levou-se em consideração a qualidade descritiva, a amostragem citada e a quantidade de estudos referindo-se aos 6°, 15° e 21° dias após a constatação da alveolite e, portanto, tais períodos foram adotados para os procedimentos de eutanásia nesta pesquisa. (YUGOSHI et al, 2002; RODRIGUES, 2011)

Ao 6° dia após a constatação da alveolite, os 3 subgrupos estudados neste trabalho tiveram características histológicas condizentes com o que se encontra na literatura, com exposição óssea e ausência de tecido de revestimento (MADA et al 2017, NICCOLI-FILHO et al 1993). Em concordância com o descrito por Kim et al em 2012, houve um decréscimo gradual quantitativo e em intensidade do tecido inflamatório entre todos os subgrupos de 6 e 15 dias, além de maior evidência da proliferação vascular aos 15 dias. Os resultados comparativos entre os grupos tratados com PBCA e PBPI em todos os estágios de cicatrização sugerem que a droga atualmente disponível no comércio local (PBPI) tenha suas propriedades osteo-estimulantes atribuídas à presença da cera de abelha

Através dos intervalos de eutanásia utilizados neste estudo, foram notados os estágios histológicos descritos por Weinmann & Sicher (1955) e Smith (1974). Em concordância com os achados de Steiner (2008) as etapas de regeneração óssea encontradas neste estudo em roedores ocorreram de maneira significativamente mais rápida que em humanos, porém com características compartilhadas.

Carvalho e Okamoto (1987) consideraram quatro fases morfológicas fundamentais durante a reparação alveolar de feridas não perturbadas pós-extração dentária: Proliferação celular, desenvolvimento do tecido conjuntivo, maturação do tecido conjuntivo e mineralização ou diferenciação óssea, as quais foram replicados no presente trabalho. Contrapondo-se a demais estudos em roedores (HUEBSCH, 1952; CARVALHO et al, 1994; POI et al,1998; ELSUBEIHI, 2004), o presente trabalho não apresentou cicatrização alveolar completa aos 21 dias pós cirúrgicos. Tal achado deve-se provavelmente às diferentes densidades alveolares da cavidade oral em roedores, havendo maior velocidade reparativa na região de incisivo superior do que em região de molares, eleita para o presente estudo. Estudos mais recentes de cicatrização alveolar em ratos mostram uma tendência a considerar a cicatrização por completada somente após transcorridos 28 dias do procedimento cirúrgico (SILVA et al, 2007; RODRIGUES et al 2011; MADA et al, 2017; YAMAMOTO et al, 2017).

A partir do 15º dia pós cirúrgico, o presente trabalho relata a presença de corpos estranhos nos alvéolos analisados. Acredita-se que estas estruturas possam motivar o retardo na cicatrização, impedido o recobrimento total dos alvéolos por epitélio nos terços cervicais. O atraso na cicatrização do terço cervical presente neste estudo correlaciona-se ao citado por Cardaropoli et al em 2003, cuja pesquisa concluiu que a proximidade do terço cervical com a cavidade oral é a causa do atraso na cicatrização devido à ação bacteriana e à maior propensão à traumas.

A alteração mais evidente ao se comparar as diferentes modalidades de tratamento neste estudo foi a maior promoção do crescimento ósseo evidenciado em todos os estágios de cicatrização pela *Avicennia schaueriana* em pasta. Tal propriedade pode ser atribuída aos composto nela presentes, conforme sugeridos nos resultados de HPLC, sendo o mais pronunciado o ácido elágico. Em estudos anteriores, este composto fenólico teve suas propriedades antibacterianas, antivirais, antiaterogênicas, antimutagenênicas e anticancerígenas comprovadas e detalhadas (WANG 2004). Os efeitos antiinflamatórios promovidos pelo ácido elágico foram descritos após estudo *in vivo* realizado por Pryiadarsini et al em 2002.

Os resultados cromatográficos sugerem também a presença de ácido cafeico, um flavonóide natural cujas propriedades tem sido descritas como anti-inflamatórias (CHEN et al., 2001), antioxidantes (MICHALUART et al., 1999; OZGUNER et al., 2005), antiviral, imunomoduladora e anticarcinogênica (FESEN et al., 1993).

Conclusão

O presente estudo sugere que a *Avicennia schaueriana* possui propriedades estimulantes ao crescimento ósseo em todos os estágios da cicatrização alveolar, e pode representar uma alternativa de tratamento para os casos de alveolite, sendo tais propriedades mais significativamente evidenciadas decorridos 21 dias da sua ministração em ratos.

Referências

ABEYSINGHE, P.D. Antibacterial Activity of some Medicinal Mangroves against Antibiotic Resistant Pathogenic Bacteria **Indian J Pharm Sci.** Mar-Apr; 72(2): 167–172, 2010.

ALEXANDER, R.E., “Dental extraction wound management: a case against medicating postextraction sockets,” **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, vol. 58, no. 5, pp. 538–551, 2000.

BHIMBA, V., MEENUPRIYA, J., JOEL, E.L. *et al*; Antibacterial activity and characterization of secondary metabolites isolated from mangrove plant *Avicennia officinalis*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine** 412-420, 2010

BLUM, I.R.. “Contemporary views on dry socket (alveolar osteitis): a clinical appraisal of standardization, aetiopathogenesis and management: a critical review,” **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, vol. 31, no. 3, pp. 309–317, 2002.

BORGHETTI, G. S., KNORST, M.T.; Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42(4), 2006.

CARDAROPOLI, G.; ARAÚJO, M.; LINDHE, J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites: an experimental study in dogs. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 30, n9, p. 809-817, 2003.

CARVALHO, P.S.P.; OKAMOTO, T. **Cirurgia bucal. Fundamentos experimentais aplicados à clínica**. Ed. Panamericana; São Paulo, 1987.

CARVALHO, P. S. P.; OKAMOTO, T. Influência da limpeza cirúrgica e/ou aplicação de “Alveosan” no processo de reparo em feridas de extração dental infectadas: Estudo histológico em ratos. **Revista de Odontologia da UNESP**, V.20, P.165-173, 1994.

CHEN, Y.J., SHIAO, M.S., WANG, S.Y. The antioxidant caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic HL-60 cells. **Anticancer Drugs**; 12:143–9, 2001.

DE ARAÚJO, F.R.G., DE CASTRO, C.M.M.B, SEVERO, M.S., DINIZ, M.F.; VIANA, M. T., EVÊNCIO, L.B.; *Effect of Mercurius solubilis on the bacteriological response in the alveolitis process in rats*. **Homeopathy**, Volume 98, Issue 3, 160 – 164; 2009.

DE CARVALHO DA SILVA, K.; BIZARRIA, et al. Effects of nutritional replacement on somatic and bone tissue growth in young malnourished rats. **The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, Vol.5(5), pp.e208-e212, 2010.

DOS SANTOS, S.C., FERREIRA, F.S., DAMIÃO, A.O. Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos de *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke, Verbenaceae, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20(1): 124-129, Jan./Mar. 2010.

ELSUBEIHI, E.S.; HEERSCH, J.N.M. Quantitative assessment of post-extraction healing and alveolar ridge remodelling of the mandible in female rats. **Archives of oral biology**, v.49, p. 401-412, 2004.

FARDIM, K.M., MARX YOUNG, M.C. Antifungal potential of *Avicennia schaueriana* Stapf & Leech. (Acanthaceae) against *Cladosporium* and *Colletotrichum* species. **Letters in Applied Microbiology**, V.61 (1), p. 50–57, 2015.

GHANI, A., Medicinal Plants of Bangladesh: Chemical constituents and uses. **Asiatic Society of Bangladesh**, p. 212-216. 1998.

ITIGOWA, M., ITO, C., TAN, H.T., OKUDA, M., TOKUDA, H., NISHINO, H., FURUKAWA, H., Cancer chemopreventive activity of naphthoquinones and their analogs from *Avicennia* plants. **Cancer Letters** 174, 135–139; 2001.

HOWE, G.L. Algumas complicações da cirurgia oral. **Cirurgia Oral Menor**. 3 ed. São Paulo, 376-397, 1990.

HUEBSCH, R.F.; COLEMAN, R.D., FRANDSEN, A.M., BECKS, H. The healing process following molar extraction. I. Normal male rats (long-evans strain). **Oral Surg. Med. Oral Pathol.** Aug;5(8):864-76, 1952.

ISO 10993-5, **International standard: Biological Evaluation of Medical Devices Part 5: Tests for Cytotoxicity: *in vitro* methods**, 2009.

JENSEN, J.O., Alveolar osteitis (dry socket) – A review. **Aust. Dent. J.** 23: 159-193, 1978.

KIM, D.J. et al, Changes in periodontium after extraction of a periodontally-involved tooth in rats, **J Periodontal Implant Sci**, Oct; 42(5): 158–165, 2012.

LOPES CARDOSO, C, et al. Experimental dry socket: Microscopic and molecular evaluation of two treatment modalities. **Acta Cir Bras**; 26:365–72, 2011.

MADA, E.Y.; et al. Effects of green tea and bisphosphonate association on dental socket repair of rat **Archives of Oral Biology**, 75: 1–7, 2017.

MARZOLA, C. Processo de reparo alveolar. **Técnica Exodôntica**. 2ed. São Paulo: Pancast, P.303-326, 1994.

MICHALUART, P., MASFERRER, J.L., CAROTHERS, A.M., et al. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on the activity and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in a rat model of inflammation. **Cancer Res**;59:2347–52, 1999.

NEVILLE, B.W.; DAMM, D.D.; ALLEN, C.M.; BOUQUOT, J.E. Doenças da polpa e do periápice. **Patologia Oral e Maxilofacial**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 105-132, 2004.

NICCOLI-FILHO, W. D., OKAMOTO, T., CARDENUTO, N., & PICON, L. C., The effect of green helium-neon laser on the healing of extraction wounds: Histological study in rats. **Revista de Odontologia da UNESP**, 22: 213–221, 1993.

OKAMOTO, T.; RUSSO, M. C. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. **Revista da Faculdade de Odontologia de Araçatuba**, Araçatuba, v. 2, p. 153-169, Set. 1973.

OZGUNER, F., ARMAGAN, A., KOYU, A., CALISKAN, S., KOYLU H. A novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester prevents shock wave-induced renal tubular oxidative stress. **Urol Res**; 33:239–43, 2005.

POI, W.R.; CARVALHO, S.P.; ANDRADE, E.D. Influência da pasta à base de metronidazole a 10% e lidocaína a 2% sobre o processo de reparo em alvéolo dental infectado: análise histológica e histométrica em ratos. **Revista de Odontologia da UNESP**, v27, n1, p 53-72, 1998.

RODRIGUES, M.V.T. et al; Experimental alveolitis in rats: Microbiological, acute phase response and histometric characterization of delayed alveolar healing. **JAOS**; 19(3): 260-8, 2011.

SILVA, E. M.; GOMES S. P.; ULBRICH, L. M. GIOVANINI A. F.; Avaliação histológica da laserterapia de baixa intensidade na cicatrização de tecidos epitelial, conjuntivo e ósseo: estudo experimental em ratos. **RSBO** v. 4, n. 2, 2007.

SMITH N. A comparative histological and radiographic study of extraction socket healing in the rat. **Aust Dent J**;19(4):250–4, 1974.

STEINER G.G., FRANCIS W., BURRELL R., KALLET M.P., STEINER D.M., MACIAS R. The healing socket and socket regeneration. **Compend Contin Educ Dent**;29 (2):114–24, 2008.

TORRES-LAGARES, D., SERRERA-FIGALLO, M.A., ROMERO-RUIZ, M.M.P. et al “Update on dry socket: a review of the literature,” **Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal**, vol. 10, no. 1, pp. 77–85, 2005.

VADLAPUDI, V., In vitro antimicrobial activity of plant extracts of *Avicennia alba* against some important pathogens. **Asian Pac. J. Trop. Dis.** 2, 408-411. 2012.

VEZEAU P. “Dental extraction wound management: medicating postextraction sockets”. **Journal Oral Maxillofacial Surgery**; 58: 531- 537; 2000

WANG, R.F.; Xie, W.D.; W.D. Z. Zhang, W. D.; et al, Bioactive compounds from the seeds of *Punica granatum* (pomegranate) **J. Nat. Prod.** 67: 2096–2104, 2004.

WEINMANN, J. P., SICHER, H.: **Bone and Bones**, St. Louis, The C. V. Mosby Company, 1955.

YAMAMOTO, M. K.; NOVELLI, M.D.; CORRÊA, L.; et al. Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Plasma on Alveolar Wound Healing in Rats. **Int. J. Morphol.** 35(1):251-258, 2017.

YUGOSHI, L. I.; SALA, M. A.; BRENTAGANI, L.G.; LAMANO CARVALHO, T. L.; Histometric Study of Socket Healing after Tooth Extraction in Rats Treated with Diclofenac **Braz Dent J** 13(2): 92-96, 2002.

ANEXO A

AUTORIZAÇÃO DE COLETA

CPRH Agência Estadual de Meio Ambiente  GOVERNO DE PERNAMBUCO

CA DRFB N° 120/2014 24 de outubro de 2014.

Ao Senhor
JEYMESSON RAPHAEL CARDOSO VIEIRA

Prezado Senhor,

Cumprimentando Vossa Senhoria, nos reportamos ao Processo CPRH n° 013520/2014, referente ao requerimento para realização de atividades de pesquisa na APA de Santa Cruz e na APA Estuarina de Santa Cruz, sendo o local de coleta às margens do Canal de Santa Cruz e Rio Paripe, próximo a Vila Velha, Ilha de Itamaracá - PE.

Após análise da documentação apresentada vimos informar que o projeto "**Tecnologia Morfológica Aplicada à Inovação Terapêutica: Uma Perspectiva de Investigação de Produtos Naturais da Região de Mangue**" foi aprovado, estando autorizada a realização da citada pesquisa. No entanto, em caso de realização de atividades em áreas particulares, estas somente poderão ocorrer mediante a anuência do proprietário das terras. Salientamos ainda, que esta autorização permite as atividades de campo e coleta de material para estudo, entretanto, o acesso ao patrimônio genético deverá ser autorizado pelos órgãos competentes.

Informamos que a Unidade de Conservação APA de Santa Cruz possui sede e administração local, desta forma, caso haja necessidade de apoio para a realização das atividades de campo, faz-se necessário contato prévio com a equipe de gestão da Unidade.

Atenciosamente,


CINTHIA RENATA VIEIRA DE LIMA
Diretoria de Recursos Florestais e Biodiversidade

ANEXO B

REGISTRO HERBÁRIO



**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Botânica
Herbário UFP – Geraldo Mariz**

Nº: UFP 75.458

Fam.: Avicenniaceae

Sp.: *Avicennia schaueriana*

Nome vulgar: mangue-preto

Col.: Jeymesson Raphael Cardoso Vieira (nº
coleta- 01) 03/10/ 2011.

Det.: Marlene Barbosa 07/0V/2012

Proc.: PE. Itamaracá (Coletada no mangue da
Região de Vila Velha)

Obs.:

ANEXO C

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA (CEUA)



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 6351
fax: (55 81) 2126 6350
www.cdb.ufpe.br

Recife, 13 de maio de 2016.

Ofício nº 38/16

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.ª Liriane Baratella Evencio**
Departamento de Histologia e Embriologia
Centro de Biociências
Universidade Federal de Pernambuco
Processo: 23076.007275/2016-61

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "**Avaliação do extrato de *Avicennia Schaueriana* no tratamento da alveolite induzida em ratos**".

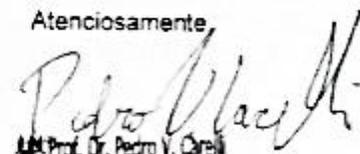
Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados

Ongem dos animais: Biotério José Paulino Departamento de Nutrição: ratos heterogênicos Linhagem: Wistar, Sexo: machos, Idade: 2-3, Peso: 250-320g, Número total de animais previsto no protocolo: 72 animais
--

Atenciosamente,


Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CB-UFPE
UFPE SIAPE 1801584