

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DE SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA E ODONTOLOGIA PREVENTIVA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

LÍVIA MIRELLE BARBOSA

**EFEITO DO GEL DE BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR NO REPARO
TECIDUAL DE ÚLCERA TRAUMÁTICA ORAL: estudo experimental**

Recife

2019

LÍVIA MIRELLE BARBOSA

**EFEITO DO GEL DE BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR NO REPARO
TECIDUAL DE ÚLCERA TRAUMÁTICA ORAL: estudo experimental**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Clínica Integrada.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy

Co-orientador: Prof. Dr. Martinho Dinoá Medeiros Jr.

Recife

2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4:1790

B238e Barbosa, Livia Mirelle

Efeito do gel de biopolímero de cana-de-açúcar no reparo tecidual de úlcera traumática oral: estudo experimental/ Livia Mirelle Barbosa. – 2019.

65 f. : il.

Orientador: Gustavo Pina Godoy.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Odontologia. Recife, 2019.

Inclui referências e anexo.

1. Úlceras orais. 2. Cicatrização. 3. Celulose. 4. Cana-de-açúcar. 5. Fitoterapia. I. Godoy, Gustavo Pina. (orientador). II. Título.

617.6 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2019 - 247)

LÍVIA MIRELLE BARBOSA

**EFEITO DO GEL DE BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR NO REPARO
TECIDUAL DE ÚLCERA TRAUMÁTICA ORAL: estudo experimental**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Aprovada em: 06 / 02 / 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Danyel Elias Da Cruz Perez (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Suzana Célia De Aguiar Soares Carneiro (Examinadora Externa)

Universidade Tiradentes/Pernambuco

Profa. Dra. Déborah Pitta Paraíso Iglesias (Examinadora Externa)

Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Andreza Veruska Lira Correia (Examinadora Externa)

Hospital da Restauração

Dedico este trabalho a pessoas aqui na terra que considero as mais importantes na minha vida. Por vocês e graças a vocês eu tenho força para lutar pelos meus sonhos e alcançar meus objetivos. Lucas Filipe Cândido Barbosa (filho), Paulo Cândido Barbosa (pai), Maria das Dores Barbosa (avó) e Severina Cândido Barbosa (tia/mãe) a vocês todo meu amor e dedicação.

AGRADECIMENTOS

À Deus

Agradeço a Deus, pois Ele está sempre à frente dos meus caminhos, me abençoando todos os dias. Somente a ti seja dada toda honra e toda glória. Agradeço-te por me dar saúde, sabedoria, paz e alegria. Deus é meu refúgio e minha fortaleza, não sou merecedora, mas o Senhor é sempre fiel em minha vida.

À minha família,

Meu pai, Paulo Cândido e minha mãe, Selma Maria pelos quais tenho enorme gratidão pela compreensão, amizade, afeto, carinho e educação que recebi durante toda minha vida. Pelo incentivo aos estudos e exemplo de trabalho que sempre me deram. Vocês são muito especiais para mim.

Meu amado filho Lucas Filipe, criança tão especial que enche minha vida de alegria, você me encanta a cada dia meu filho.

Minha avó Maria das Dores, minha tia Severina Cândido, meu tio Jairo Cândido pelo amor, incentivo, paciência e apoio incondicional.

Meu esposo Thiago Resende e minha sogra Luziane Resende pelo amor, carinho, amizade, respeito e dedicação, sou muito feliz por ter vocês na minha vida.

Todos vocês foram indispensáveis para a concretização dessa conquista.

Ao meu Orientador,

Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy pela orientação, aprendizado, pelo tempo disponibilizado para este trabalho, pelos conselhos e amizade. Mais que um professor o senhor é um exemplo de caráter, seriedade, profissionalismo, capacidade de trabalho, competência e principalmente afeto. Tenho muito orgulho de ser sua orientada, o senhor será sempre uma inspiração para mim e para todos que o cercam. Muito obrigada de coração, mais que um professor o senhor se tornou um grande amigo e mentor.

Ao meu Co-Orientador

Prof. Dr. Martinho Dinoá Medeiros Júnior pela sua orientação inestimável e conhecimentos transmitidos. Muito obrigada pela disponibilidade de tempo para esse trabalho,

paciência, conselhos e importantes correções. Obrigada pela sua amizade e contribuição na minha formação de Cirurgiã Buco-Maxilo-Facial.

Aos acadêmicos de Odontologia

Diego Belmiro, Caio Ribeiro, Rachel Pereira, Caroline Lemos agradeço pelo trabalho voluntário de vocês na minha pesquisa em nome da amizade e dedicação a mim.

Camylla Pinheiro e Bruna Andrade, alunas de iniciação científica, obrigada pela disponibilidade de tempo. A dedicação de vocês foi muito importante no desenvolvimento desse trabalho.

Aos amigos de turma da pós-graduação,

Adriano Costa, Fabiana Menezes, Livia Brito, Helder Rebelo, Thames Bruno, Augusto César, Andressa Lins, Thiago Coelho, Erivaldo Mendes, Jhony Herick agradeço pela amizade, parceria e troca de aprendizado. Um agradecimento especial para Livia Lopes, além da amizade e parceria tão especial para mim ao longo do mestrado, agradeço pela sua dedicação nesse trabalho.

À Universidade Federal de Pernambuco,

Instituição de Ensino que permitiu a realização de um sonho que é fazer o mestrado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia

Em especial a Prof^a. Andrea Pontual, Prof^a. Jurema Freire, Prof. Gustavo Godoy, Prof. Arnaldo Caldas e Prof. Danyel Elias pelos ensinamentos e apoio no mestrado.

Aos amigos de profissão,

Renatha Cristina, Amanda Domingos, Angélica Mandú, Stefanny Torres, Daniela Cristina, Patrícia Borba, Alípio Miguel, Diogo Brainer, Maria Eunice, Josimário Silva, muita grata pela amizade e apoio.

Um agradecimento especial para João Monteiro, além da amizade e parceria tão importante para mim ao longo da vida acadêmica, agradeço pela sua dedicação nesse trabalho.

Ao coordenador do grupo de pesquisa do biopolímero da cana-de-açúcar,

Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar, que nos confiou oportunidade de trabalharmos com o gel biopolímero da cana de açúcar, um dos mais atuais e versáteis materiais colocados a serviço da pesquisa.

Aos funcionários do Núcleo de Cirurgia Experimental (NCE),

Agradeço a todos os funcionários especialmente Dr. Joaquim, Paulo, Antônio, Rodrigo, Rosilda pela dedicação na execução desse trabalho.

Ao técnico do laboratório de Patologia Oral da UFPE

Rogério, obrigada pela sua grande ajuda na confecção das lâminas para o estudo histológico.

Aos veterinários do biotério de nutrição e do departamento de fisiologia,

Dr. França e Dra. Claudia obrigada por ter fornecido os animais para essa pesquisa.

Aos funcionários da Pós-Graduação,

Oziclere, Tamires Cibelly, Tânia Maria e Isaac Simoni pelo apoio e atenção.

Ao Estatístico,

Agradeço a Edmilson Massa pela consultoria e análise estatística desse trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq),

Agradeço pelas bolsas recebidas na iniciação científica quando eu era aluna de graduação e pela bolsa do mestrado. Muito grata pelo incentivo e apoio em minhas pesquisas.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho eu expresse minha gratidão.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi investigar clínica e histologicamente a ação do gel de biopolímero de cana-de-açúcar no processo de reparo de úlceras traumáticas induzidas em mucosa oral de ratos. Úlceras traumáticas foram induzidas cirurgicamente na mucosa do lábio inferior de 45 ratos Wistar machos, utilizando-se um punch de 5 mm de diâmetro. Os animais foram distribuídos em três grupos: controle negativo (não receberam tratamento), controle positivo (tratados com pomada de triancinolona em orabase) e grupo experimental (tratados com o gel de biopolímero de cana-de-açúcar). Em cada grupo foram eutanasiados 5 animais nos dias 1, 3 e 7 após a indução da lesão. Os animais foram monitorados diariamente, seu peso foi documentado no dia da indução da lesão (dia 0) e no dia da eutanásia. A análise clínica da evolução temporal da cicatrização foi feita através da comparação do tamanho da área da lesão no dia 0 e no dia da eutanásia. Os parâmetros histológicos avaliados foram o tipo e intensidade do infiltrado inflamatório, presença de necrose e de granuloma do tipo corpo estranho, bem como grau de reepitelização da lesão. Na análise estatística, para a comparação entre os grupos ou entre os tempos de eutanásia em relação às variáveis, foram utilizados os testes F (ANOVA) e Kruskal-Wallis. Ocorreu perda média de peso em todos os grupos de animais ao longo da pesquisa, sendo o valor de perda mais elevado no grupo controle negativo ($p < 0,05$). O grupo de animais tratados com triancinolona apresentou uma média de área da lesão mais elevada no 7º dia de avaliação ($p < 0,05$). Nos intervalos de 3 e 7 dias após a indução da lesão, não ocorreu diferença na intensidade do infiltrado inflamatório entre os grupos estudados ($p > 0,05$). Os resultados da pesquisa sugerem que a aplicação tópica do gel de biopolímero de cana-de-açúcar em úlceras traumáticas orais de animais promove uma cicatrização mais rápida que a pomada de triancinolona, sem aumentar a intensidade do infiltrado inflamatório.

Palavras-chave: Úlceras orais. Cicatrização. Celulose. Cana-de-açúcar. Fitoterapia.

ABSTRACT

The objective of the present study was to clinically and histologically investigate the action of the sugarcane biopolymer gel in the process of repair of induced traumatic ulcers in the oral mucosa of rats. Traumatic ulcers were surgically induced on the lower lip mucosa of 45 male Wistar rats using a 5 mm diameter punch. The animals were divided into three groups: negative control (no treatment), positive control (treated with triamcinolone ointment) and experimental group (treated with sugarcane biopolymer gel). In each group 5 animals were euthanized on days 1, 3 and 7 after induction of the lesion. The animals were monitored daily, their weight was documented on the day of injury induction (day 0) and on the day of euthanasia. The clinical analysis of the temporal evolution of healing was done by comparing the size of the lesion area at day 0 and on the day of euthanasia. The histological parameters evaluated were the type and intensity of the inflammatory infiltrate, presence of necrosis and granuloma due to foreign body type and degree of reepithelialization of the lesion. In the statistical analysis, the F (ANOVA) and Kruskal-Wallis tests were used for the comparison between the groups or between the euthanasia times in relation to the variables. Mean weight loss occurred in all groups of animals throughout the study, with the highest loss in the negative control group ($p < 0.05$). The group of animals treated with triamcinolone presented a higher mean area of the lesion on the 7th day of evaluation ($p < 0.05$). At intervals of 3 and 7 days after injury induction, no difference in intensity of inflammatory infiltrate was observed between groups ($p > 0.05$). Our results suggest that the topical application of sugarcane biopolymer gel in traumatic oral ulcers of animals promotes a faster healing than triamcinolone ointment without increasing the intensity of the inflammatory infiltrate.

Key words: Oral ulcers. Cicatrization. Cellulose. Sugarcane. Phytotherapy.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BPCA	Biopolímero de cana-de-açúcar
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
PTFE	Politetrafluoretileno
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
UTO	Úlcera Traumática Oral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.	12
1.1	ÚLCERA TRAUMÁTICA ORAL	13
1.2	BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	15
1.3	APLICABILIDADE DO BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR	17
1.4	OBJETIVOS.....	19
1.4.1	Objetivo Geral.	19
1.4.2	Objetivos Específicos.	19
2	METODOLOGIA.	20
2.1	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	20
2.2	CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO	20
2.3	LOCALIZAÇÃO DA PESQUISA E SELEÇÃO DOS ANIMAIS	20
2.4	AMOSTRA.	21
2.5	GEL DE BPCA.....	21
2.6	PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS.	22
2.7	ANÁLISE CLÍNICA.....	23
2.8	CUIDADOS E MONITORAMENTO PÓS-OPERATÓRIO.	23
2.9	REMOÇÃO E ACONDICIONAMENTO DOS ESPÉCIMES.....	23
2.10	ESTUDO MORFOLÓGICO.....	24
3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
4	RESULTADOS.....	27
4.1	AVALIAÇÃO CLÍNICA.	28
4.2	AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	33
5	ARTIGO- EFEITO DO GEL CELULÓSICO DE CANA-DE-AÇÚCAR NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERA TRAUMÁTICA ORAL: ESTUDO EXPERIMENTAL.	39
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
	REFERÊNCIAS.	54
	ANEXO A - NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA PHYTOTHERAPY RESEARCH.....	58
	ANEXO B - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	65

1 INTRODUÇÃO

As lesões ulcerativas orais são comuns na prática odontológica, no entanto, a definição da sua etiologia às vezes é dificultado pelo grande número de doenças que levam a essa condição. Normalmente as lesões ulcerativas orais apresentam etiologia traumática, inflamatória ou autoimune (CHAVAN et al., 2012; FELIX et al., 2012).

A úlcera traumática oral (UTO) pode resultar de agressões físicas ou químicas à mucosa oral. Os agentes etiológicos incluem mordedura, próteses mal adaptadas, bandas ortodônticas, trauma cirúrgico, queimaduras químicas, queimaduras elétricas, contato direto com alimentos excessivamente quentes ou frios, entre outros (MURRAY et al., 2005; COMPILATO et al. 2009).

O tratamento mais efetivo dessas lesões não foi totalmente estabelecido, sendo descritos vários protocolos que utilizam medicamentos tópicos ou sistêmicos cujo objetivo é aliviar os sintomas e acelerar o reparo da região para permitir a reconstituição do tecido que foi lesado (EMING et al., 2007; de CARVALHO et al., 2015).

O uso de medicamentos à base de plantas na cicatrização de feridas tem sido amplamente estudado, uma vez que as plantas possuem vários ingredientes ativos como alcalóides, triterpenos e biomoléculas que interferem em uma ou mais fases de reparo (FERNANDES et al., 2010; MARTINS et al., 2011; MOGOSANU et al., 2013).

Recentemente, um biomaterial de estrutura química polimérica foi obtido a partir do melaço da cana-de-açúcar. Esse polissacarídeo celulósico, produzido através da bactéria *Zoogloea* sp, foi denominado biopolímero de cana-de-açúcar (BPCA), e apresenta características físicas e químicas adequadas para a confecção de diversos materiais como géis, membranas, esponjas, grânulos e próteses (MARQUES et al., 2007). Na forma *in natura*, ainda com açúcares residuais, foi inicialmente empregado em pesquisas para o tratamento de feridas acidentais em animais domésticos, demonstrando capacidade de reduzir a contaminação bacteriana e o tempo de cicatrização (COELHO et al., 2002).

O biopolímero de cana-de-açúcar é um material regional do Nordeste brasileiro, de fácil produção e baixo custo que apresenta propriedades como biocompatibilidade e baixa toxicidade, o que lhe permite ser um material com alto potencial a ser explorado na área médica e odontológica. Por ser um material de recente produção, ainda há um amplo campo a ser

estudado e acrescentado a respeito de sua aplicabilidade e formas de atuação.

Com o intuito de ampliar os conhecimentos sobre a aplicabilidade do biopolímero derivado da cana-de-açúcar no reparo tecidual, o presente estudo avaliou as alterações clínicas e histológicas provocadas pelo material sob a forma de gel, no reparo tecidual de UTOs induzidas em ratos.

1.1 ÚLCERA TRAUMÁTICA ORAL

As lesões de aspecto ulcerado na mucosa oral são um achado comum na clínica odontológica, e geralmente são ocasionados por trauma mecânico devido a próteses mal adaptadas, aparelhos ortodônticos e dentes com coroas ou restaurações fraturadas. As UTOs são usualmente encontradas em superfícies não queratinizadas como a mucosa jugal, a borda da língua, mucosa interna dos lábios, a gengiva e o palato mole (COMPILATO et al. 2009).

As lesões na gengiva e na mucosa jugal podem ser causadas durante a escovação dentária, que provoca erosão linear ao longo da margem gengival livre, podendo atingir áreas de hiperqueratose. Essas úlceras geralmente são ovoides e dolorosas, sendo limitadas à área submetida ao dano. As úlceras podem apresentar-se com um centro necrótico branco-amarelado, cercado por uma ampla área eritematosa. Geralmente, medem cerca de 1 cm e evoluem para a cicatrização espontânea em um período que pode variar de 10 a 14 dias, sem deixar uma cicatriz (MURRAY et al., 2015).

As lesões de aspecto ulcerado na mucosa oral frequentemente causam bastante dor e desconforto para o paciente, e sua sintomatologia normalmente é acompanhada de dificuldades mastigatórias e alterações ganglionares, provocando comprometimento direto na qualidade de vida do paciente (LAMEY E LEWIS, 2000).

Do ponto de vista microscópico, a mucosa que recobre a cavidade oral é representada por epitélio pavimentoso estratificado suportado por tecido conjuntivo de constituição variável. Esta mucosa funciona como barreira protetora para o organismo, impedindo a penetração de qualquer agente externo que possa ser prejudicial à saúde (LIMA et al., 2005).

As ulcerações apresentam descontinuidade da superfície epitelial acompanhada de infiltrado inflamatório – uma mistura de linfócitos, macrófagos, neutrófilos e ocasionalmente

plasmócitos. A constituição deste infiltrado varia de acordo com a fase de evolução da úlcera. Nas fases iniciais, predominam os neutrófilos, caracterizando um quadro de inflamação aguda. Após sofrer apoptose, os neutrófilos são progressivamente substituídos por macrófagos. Além disso, os fatores quimiotáticos para neutrófilos e monócitos são ativados durante os diferentes períodos de inflamação, mantendo a migração de monócitos após a cessação da migração de neutrófilos. A infiltração celular torna-se predominantemente linfoplasmocitária, aproximadamente três dias após o trauma epitelial, caracterizando uma inflamação crônica. É nessa fase que ocorre a proliferação de vasos sanguíneos e fibroblastos, sinalizando a evolução do processo de reparo (TARNAWSKI, 2005).

Apesar da variedade de agentes tópicos, antibióticos, anestésicos locais, anti-histamínicos, anti-inflamatórios não esteroidais e preparações enzimáticas usadas para alívio de sintomas, não há consenso sobre a eficácia de medicamentos disponíveis para o tratamento das UTOs (LEVIN e MAIBACH, 2002).

Os corticoides têm sido amplamente utilizados no tratamento da UTO, com base na sua eficácia para o tratamento de doenças inflamatórias. A supressão da resposta inflamatória promovida por esse grupo de medicamentos é dada em função do seu mecanismo de ação farmacodinâmico. Tais fármacos impedem a formação da enzima fosfolipase A2, que será responsável por ativação do ácido araquidônico, este ainda se metabolizará em duas enzimas ativadoras do processo inflamatório – a ciclooxigenase e a lipooxigenase que, por sua vez, originam outros mediadores químicos (prostaglandinas, prostaciclina, leucotrienos) que estão intrinsecamente ligados ao processo inflamatório (PRAMICK E WHITMORE, 2009).

O efeito dos corticoides tópicos torna-se maior, quanto maior for o período de contato com o tecido lesado. Logo é imprescindível que o paciente, ao aplicar este medicamento na mucosa lesada, o mantenha o maior tempo possível, e que sempre o faça após a escovação. Além disso, as preparações de corticoides utilizadas para aplicação oral devem estar na forma de Orabase, ou seja, uma formulação de carboximetilcelulose, polietileno e óleo mineral, que conferem maior adesão à mucosa e resistência à dissolução e deslocamento. Os principais corticoides de uso tópico são Omcilon-A (Bristol): 1mg – aplicação 2 a 3 vezes ao dia, por 7 dias; Triancinolona: 1mg – aplicação 2 a 3 vezes ao dia, por 7 dias. Outra formulação também prescrita para alívio da dor provocada pelas UTOs é a benzocaína (Orabase-B) (LEVIN e MAIBACH, 2002; BURGESS et al., 2008; PRAMICK E WHITMORE, 2009).

O problema da administração de medicamentos tópicos viscosos na mucosa oral está no fato de os mesmos poderem ser removidos ou enxaguados pela saliva. Essa dificuldade pode ser resolvida através da combinação destes medicamentos com cianoacrilato. As formulações de cianoacrilato formam uma película sem usar um solvente, e têm várias aplicações médicas. Nos Estados Unidos, um dos produtos de cianoacrilato rotulado para uso em úlceras aftosas é Orabase® Sooth-N-Seal® (Colgate Oral Pharmaceuticals, New York, NY, EUA) (BURGESS et al., 2008).

O uso de extratos vegetais também aparece como uma alternativa segura e eficaz neste contexto. Plantas medicinais apresentam propriedades curativas de feridas devido à sua vasta variedade de constituintes diferentes, como alcalóides, óleos essenciais, flavonóides, entre outros, tornando-os um alvo importante para uso na prática clínica (PAULO FILHO et al. 2000; BOTELHO et al., 2007; BAHRAMSOLTANI et al., 2014; BOTELHO et al., 2016; PUSPASARI et al., 2018).

O uso de extratos vegetais também aparece como uma alternativa segura e eficaz neste contexto. Plantas medicinais apresentam propriedades curativas de feridas devido à sua vasta variedade de constituintes diferentes, como alcalóides, óleos essenciais, flavonóides, entre outros, tornando-os um alvo importante para uso na prática clínica (PAULO FILHO et al. 2000; BOTELHO et al., 2007; BAHRAMSOLTANI et al., 2014; BOTELHO et al., 2016; PUSPASARI et al., 2018).

1.2 BIOPOLÍMERO DA CANA-DE-AÇÚCAR

Os biopolímeros são definidos como macromoléculas de alto peso molecular compostos por uma repetição de unidades fundamentais, denominados monômeros, que se dispõem unidos numa sequência e são produzidos por diversas espécies de sistemas biológicos. Uma grande variedade de bactérias sintetiza polímeros extracelulares, independentemente de sua propagação em culturas de suspensão ou biofilmes. Nesse processo de síntese, os polímeros bacterianos apresentam-se capsulares e altamente hidratados anexados às células. Os polímeros bacterianos, quase exclusivamente polissacarídeos, têm sido estudados em virtude de sua aplicação industrial (FRANCOLINI et al., 2004).

A síntese de exopolissacarídeos através da produção biológica “in vivo” envolve

macromoléculas como proteínas, ácidos nucleicos e polissacarídeos. Os exopolissacarídeos são produzidos largamente por bactérias e microalgas e, menos frequentemente, por leveduras e fungos. Os polímeros de origem bacteriana apresentam maior viabilidade industrial e comercial. Entretanto, apenas uma pequena fração tem sido comercializada, apesar da potencialidade para substituir as gomas obtidas a partir de plantas e algas marinhas (MADLA et al., 2005).

A *Zoogloea ramigera*, uma bactéria Gram-negativa, foi primeiramente isolada por Friedman & Dugan em 1968, e produziu um exopolissacarídeo denominado de Zooglan, demonstrando uma forte afinidade por íons metálicos e aminoácidos. Investigações estruturais nesse biopolímero estabeleceram que o Zooglan é um exopolissacarídeo altamente ramificado composto de D-glicose, D-galactose e ácido pirúvico (CAVALCANTE et al., 2006).

O biopolímero da cana-de-açúcar é um polissacarídeo celulósico obtido através de síntese bacteriana (*Zoogloea sp.*), a partir do melaço da cana-de-açúcar na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, Divisão de Indústria da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A identificação do micro-organismo foi realizada no Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Esse polissacarídeo foi hidrolisado em duas fases, sendo uma a frio com ácido trifluoroacético resultando em 88% de material solúvel, e outra a quente resultando em 100% de hidrólise. Os componentes dos polissacarídeos foram expressos com respectivas concentrações que somam 100%, demonstrando pureza absoluta do produto. Os principais monossacarídeos presentes na fração solúvel foram glicose (87,6%), xilose (8,6%), manose (0,8%), ribose (1,7%), galactose (0,1%), arabinose (0,4%) e ácido glicurônico (0,8%) (PATERSON-BEEDLE et al., 2000).

A composição do polímero revelou uma pureza absoluta, constituída apenas de açúcares. As suas características físicas de elasticidade, flexibilidade e ponto de fusão, associadas, despertaram os pesquisadores para a possibilidade de uso desse material nas áreas de Saúde, Física, Química Industrial e Farmacologia. A importância se dá pela transformação de um produto de baixo valor agregado, como o melaço de cana, em outro de alto valor, como material para uso médico e odontológico (CASTRO et al. 2004).

Para verificar o potencial uso desse biomaterial na área biomédica, testes de citotoxicidade *in vitro* foram realizados. Macrófagos de ratos em cultura foram expostos ao biopolímero e a dois materiais sintéticos utilizados na cirurgia convencional, o politetrafluoretileno e tela de

polipropileno. O biopolímero de cana-de-açúcar apresentou alta biocompatibilidade *in vitro* (CASTRO et al. 2004).

1.3 APLICABILIDADE DO BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR

A primeira publicação que relatou o emprego do biopolímero de cana-de-açúcar (BPCA) foi feita por Coelho et al. (2002), que o utilizaram sob a forma de películas sobre ferimentos resultantes de traumas diversos, em animais atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE, ficando demonstrada a cicatrização por segunda intenção.

Os autores do estudo anteriormente referido consideraram que houve redução gradual da secreção purulenta presente nas feridas, crescimento acelerado de tecido de granulação e recomendaram o uso da membrana em feridas cutâneas, levando em conta os aspectos relacionados ao comportamento terapêutico, baixo custo econômico e simplicidade de aplicação.

A partir do estudo de Coelho et al. (2002), diversos trabalhos foram e estão sendo desenvolvidos no núcleo de cirurgia experimental da Universidade Federal de Pernambuco, avaliando o BPCA em diferentes formas de apresentação e em diversas áreas da Medicina (TEIXEIRA et al, 2014).

A membrana de BPCA foi estudada como material para reconstrução de artérias femorais de cães, do ponto de vista hemodinâmico e histopatológico, sendo comparada com o Politetrafluoretileno (PTFE). No período de avaliação de 180 dias, nos dois grupos, não foram observados casos de infecção da ferida operatória, dilatação, ruptura, falso-aneurisma ou trombose. Os autores concluíram que a membrana do BPCA é um substituto arterial adequado, quando utilizado sob forma de enxerto de artérias femorais de cães (MARQUES et al., 2007).

A resposta tecidual, provocada pela membrana do BPCA substituindo a dura-máter de ratos, foi estudada e comparada com a membrana PTFE. Nos achados histológicos referentes à resposta inflamatória e à reação de corpo estranho não foi demonstrada diferença entre os dois grupos (LIMA, 2008).

O fio de sutura de BPCA foi utilizado na síntese de tecido epitelial em ratos, e sua resposta tecidual foi comparada com a do fio de sutura Mononylon 5-0[®] e do adesivo tecidual etil-

cianoacrilato. Observou-se que a resposta tecidual foi semelhante entre os três grupos, permitindo considerar o BPCA uma alternativa viável na síntese de ferimentos cirúrgicos (PEREIRA, 2009).

Mayer et al. (2011) avaliaram a resposta inflamatória da membrana de BPCA em defeitos do tímpano na orelha média de ratos, comparando com a fascia abdominal autóloga. Os autores constataram, por meio do experimento, a biocompatibilidade da mesma.

O uso do BPCA na forma de gel foi estudado para o tratamento de olhos eviscerados de coelho, através da análise clínica e histológica. Durante o experimento não foram observados sinais clínicos de infecção, alergias, intoxicação ou extrusão. O gel se mostrou biocompatível e integrado às órbitas (CORDEIRO-BARBOSA et al., 2012).

Leão et al. (2014) avaliaram a resposta histológica do gel de biopolímero da cana-de-açúcar infiltrado nas pregas vocais de coelhos, onde observou-se inflamação leve a moderada em todas as pregas vocais infiltradas com o biopolímero, entretanto não houve casos de necrose ou calcificação. Tais respostas sugerem que o biopolímero na sua forma de gel pode ser bioativo e preservar a função vibratória normal do epitélio.

Mayer et al. (2014) estudaram a resposta histológica provocada pelo uso da esponja do biopolímero da cana-de-açúcar em defeitos da mucosa da orelha média de ratos, comparando com a esponja de gelatina absorvível derivada da derme do porco (Gelfoam®). Constatou-se que a esponja do BPCA provocou reação inflamatória mais intensa que a esponja de gelatina absorvível, evidenciando que a esponja do biopolímero não apresentou as características necessárias para o uso como material de suporte dentro da bula timpânica, em contato direto com a mucosa. Entretanto os autores ressaltaram que é possível o uso da esponja do biopolímero em contato com a face epidérmica da membrana timpânica e com o conduto auditivo externo, pois o material apresentou-se não-absorvível a curto prazo (MAYER et al., 2014).

A aplicação do biopolímero, em forma de grânulos, associados à membrana do mesmo material foi estudada em defeitos ósseos de calota craniana de ratos. O material estudado mostrou-se biocompatível no preenchimento de cavidades ósseas, evitando a deformidade do defeito e proporcionando a reparação óssea (ABREU et al., 2016).

Teixeira et al. (2014) avaliaram a ação do filme esponjoso de biopolímero da cana-de-açúcar, no reparo de úlceras traumáticas orais provocadas em coelhos. Observou-se que o filme

permaneceu no leito da úlcera, funcionando como uma barreira mecânica. O tempo de cicatrização completa da lesão não diferiu entre as feridas que receberam o filme e aquelas que não receberam.

Não há, até o momento na literatura, qualquer trabalho envolvendo a utilização do gel a base de biopolímero de cana-de-açúcar em mucosa oral, ressaltando o caráter inédito e inovador do presente estudo.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo Geral

O objetivo desse estudo foi investigar clinicamente e histologicamente a ação do gel de biopolímero de cana-de-açúcar no processo de reparo de úlceras traumáticas induzidas em mucosa oral de ratos, em comparação com o uso da pomada de triancinolona em orabase.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Acompanhar o ganho ou perda de peso dos animais ao longo da pesquisa, como forma de avaliação indireta da dor relacionada à presença da UTO.
- Analisar clinicamente a evolução temporal da cicatrização de UTOs tratadas com gel de BPCA e pomada de triancinolona em orabase, através do acompanhamento e registro do tamanho da lesão.
- Avaliar histologicamente o tipo e a intensidade do processo inflamatório, a presença ou ausência de necrose e de granuloma do tipo corpo estranho, bem como o grau de reepitelização de UTOs tratadas com gel de BPCA e pomada de triancinolona em orabase.

2 METODOLOGIA

2.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente estudo foi submetido à apreciação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco e aprovado segundo o protocolo 0010/2018.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

Este estudo foi experimental, longitudinal e de caráter analítico. Foram analisadas características clínicas e histológicas do comportamento do BPCA, sob a forma de gel, no tratamento de úlceras traumáticas orais induzidas em ratos, comparando com a pomada de Triancinolona.

2.3 LOCALIZAÇÃO DA PESQUISA E SELEÇÃO DOS ANIMAIS

O estudo foi realizado no biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental e no laboratório de Patologia Oral da Universidade Federal de Pernambuco. Foram utilizados ratos albinos (raça: *Rattus norvegicus*, família: *Muridae*, da variedade *Wistar*), machos, com faixa etária média de 2 a 3 meses de idade, com peso de 200 a 300 gramas.

Os animais foram alojados em condições de temperatura e iluminação controlada (21-23 °C; 12 horas de luz/ 12 horas de escuro) para que não houvesse aumento do nível de estresse, e a oferta de alimentos e água filtrada foi livre. A alimentação utilizada foi ração sólida peletizada (Labina - Purina®), com alto teor de proteína (20 a 27%) e os animais estiveram sempre sob supervisão veterinária, ficando em gaiolas coletivas com 4 (quatro) ratos por gaiola, e após o procedimento cirúrgico eram acondicionados em gaiolas individuais.

2.4 AMOSTRA

A amostra desta pesquisa foi constituída por 45 (quarenta e cinco) animais adultos machos. Os animais foram aclimatados por um período de um mês antes do início do experimento e distribuídos aleatoriamente, por sorteio, em três grupos: controle negativo (grupo 1), controle positivo (grupo 2) e experimental (grupo 3).

2.5 GEL DE BPCA

A síntese do polissacarídeo celulósico a partir do melaço da cana-de-açúcar através da bactéria *Zoogloea* sp é bem descrita na pesquisa de Paterson-Beedle et al., (2000). O gel hidrossolúvel foi produzido a partir da matriz polissacarídica desse biopolímero que, após a sua síntese, foi clarificado com uma solução diluída de hipoclorito de sódio na concentração de 2,0%; os resíduos do tratamento de clareamento foram retirados com sucessivas lavagens em água destilada; a primeira etapa de lavagem foi feita em quatro tempos de 6 horas de permanência em tanques com um volume de água 10 vezes o volume de biopolímero; em seguida, em dois tempos de 6 horas em tanques com água bidestilada em um volume 10 vezes o volume do biopolímero; após a lavagem foram retiradas amostras de 1% de diferentes pontos da massa polimérica tratada para análise laboratorial; foram realizadas medição do pH que ficou igual a da água bidestilada utilizada para a lavagem; a massa polimérica tratada foi gelificada por hidratação mecânica forçada de micropartícula do biopolímero por meio de homogeneizadores que promoveram a formação de micropartícula do biopolímero e consequente hidratação e gelificação (AGUIAR et.al., 2004).

A concentração do gel obtido foi ajustada com água bidestilada para uma concentração final na proporção de uma parte sólida (biopolímero), para 50 partes de água, para obtenção de géis com as concentrações de 2,0% de biopolímero em água respectivamente (AGUIAR et.al., 2004). A amostra foi obtida de um único lote, acondicionada em seringas e esterilizadas com irradiação gama, no Laboratório de Metrologia do Departamento de Engenharia Nuclear da UFPE.

2.6 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Os animais foram pesados e receberam uma injeção intramuscular de cloreto de xilazina (Rompum; Bayer do Brasil, São Paulo; 10mg/kg de peso corporal) e de Ketamina (Ketalar®; Parke-Davis, Aché Laboratórios, São Paulo; Brasil; 75mg/kg de peso corporal) para alcançar o relaxamento muscular e sedação profunda. Os animais depois de sedados eram colocados individualmente em decúbito dorsal sobre uma mesa de trabalho de 30x30 cm.

Após antisepsia oral com clorexidina 0,12% e instalação de campos operatórios, realizou-se anestesia infiltrativa com lidocaína 2% no lábio inferior do animal, de forma superficial promovendo uma hidrodissecção entre o epitélio da mucosa e o tecido conjuntivo. A ulceração foi induzida na mucosa do lábio inferior de forma padronizada, por um mesmo operador. O tamanho da lesão foi demarcado com um punch de 5mm de diâmetro, aplicado de forma superficial na mucosa do lábio inferior atingindo apenas a profundidade epitelial. O epitélio demarcado pelo punch foi dissecado e removido utilizando-se uma tesoura de Iris. A metodologia de indução da úlcera foi uma adaptação da metodologia Cavalcante et al. (2011) e Pusparasi et al. (2018).

Os 45 (quarenta e cinco) animais submetidos à indução da úlcera foram divididos em três grupos aleatoriamente por sorteio. Os animais do grupo experimental (15 ratos) receberam aplicação tópica diária do gel de biopolímero na lesão, o grupo controle positivo (15 ratos) receberam aplicação tópica diária de pomada de triancinolona em orabase na lesão, já os animais do grupo controle negativo não receberam tratamento para a úlcera induzida.

A aplicação dos medicamentos no grupo experimental e no grupo controle positivo era feita logo após a indução da úlcera. Nos dias seguintes, a aplicação era feita uma vez por dia, pela manhã, sob anestesia geral. O animal ficava sedado por duas horas após aplicação do medicamento, para garantir sua manutenção e ação sobre a área ulcerada.

Os animais de cada grupo foram divididos aleatoriamente em três subgrupos de 5 (cinco) animais, para avaliação do reparo tecidual em diferentes intervalos de tempo.

A eutanásia foi realizada nos animais no período de 1, 3 e 7 dias após a indução da úlcera. Este intervalo de avaliação seguiu a metodologia adaptada de Cavalcante et al., (2011), Oliveira et al. (2015) e Pusparasi et al., (2018). Para a eutanásia foi utilizada uma dose de 150mg/kg do anestésico geral Pentobarbital Sódico (Tiopental®) por via intraperitoneal.

2.7 ANÁLISE CLÍNICA

As úlceras orais foram medidas nos dias 1, 3 e 7 após a indução da lesão, antes da eutanásia dos animais. Os diâmetros maiores e menores das úlceras foram medidos com um paquímetro digital, sendo a medida do raio a metade do comprimento do diâmetro, e o cálculo da área ulcerada (A) foi realizado seguindo a metodologia de Cavalcante et al. (2011):

$$(R = \text{maior raio e } r = \text{menor raio}) (A = \pi \cdot r \cdot R)$$

O peso inicial dos animais, assim como o peso no período de 1, 3 e 7 dias, foram registrados, para avaliação indireta da ingestão alimentar e, conseqüentemente, presença de dor associada à lesão intra-oral, de acordo com a metodologia de Cavalcante et al. (2011).

2.8 CUIDADOS E MONITORAMENTO PÓS-OPERATÓRIO

Após o procedimento cirúrgico, os ratos eram alimentados com uma dieta umedecida, nutricionalmente completa, rica em carboidrato. Foi administrado analgésico pós-operatório apenas no primeiro dia após a lesão (dipirona 50mg/ml- 1gota por kg de peso, diluída na água que o animal bebia).

2.9 REMOÇÃO E ACONDICIONAMENTO DOS ESPÉCIMES

Sob anestesia geral realizou-se a exérese do lábio inferior do animal com o mínimo de traumatismo, utilizando-se uma tesoura Metzembaum, em seguida o mesmo foi submetido à eutanásia. As peças cirúrgicas foram fixadas em solução de formol a 10% e, posteriormente, encaminhadas ao Laboratório de Patologia Oral da UFPE para confecção das lâminas que foram utilizadas para o estudo morfológico.

2.10 ESTUDO MORFOLÓGICO

As peças cirúrgicas foram processadas e incluídas em parafina, em seguida foram submetidas a cortes de 5µm de espessura, no sentido do longo eixo da ferida. As lâminas foram coradas pela técnica de rotina da Hematoxilina/Eosina e avaliadas em microscopia de luz, por um examinador, patologista oral, cego quanto à forma de tratamento de cada animal correspondente à lâmina avaliada. Os critérios estabelecidos como eventos celulares relacionados ao processo de cicatrização foram: tipo e intensidade do infiltrado inflamatório; presença ou ausência de granuloma por reação de corpo estranho; presença ou ausência de necrose e grau de reepitelização do tecido.

O infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo foi analisado com aumento de 200x na microscopia de luz. Este foi classificado em crônico ou agudo de acordo com os tipos de células encontradas. A presença de células polimorfonucleares (neutrófilos PMN), caracterizou o infiltrado inflamatório agudo, enquanto, a presença de células mononucleares (macrófagos, linfócitos e plasmócitos) caracterizou infiltrado inflamatório crônico, seguindo o disposto por Filho (2016).

A intensidade do infiltrado inflamatório foi avaliada de acordo com critérios de Peixoto et al. (2012), os quais foram adequados para avaliação de espécimes animais, e também observados com aumento de 200x.

Os espécimes cujo infiltrado inflamatório se apresentou restrito a um terço do campo microscópico foram classificados como grau I (leve infiltrado); as lesões com células inflamatórias presentes entre um e dois terços foram definidas como de grau II (moderado infiltrado); e as lesões que exibiram infiltrado inflamatório superior a dois terços foram categorizadas como de grau III (intenso infiltrado).

A presença de granuloma do tipo corpo estranho foi considerada mediante a ocorrência de um aglomerado de células gigantes multinucleadas, macrófagos epitelióides, linfócitos e eventualmente plasmócitos (RIBEIRO et al., 2005; PEREIRA et al., 2009).

A necrose foi reconhecida diante da observação de algumas alterações morfológicas das células, como aumento da eosinofilia, retração e adensamento do núcleo (picnose), fragmentação do núcleo picnótico (cariorrexe) e coloração nuclear pálida e fraca (cariolise). A presença de destruição completa das células e arcabouço tissular, produzindo espaços vazios,

foi considerada processo de necrose por liquefação. Se ocorresse preservação do arcabouço tissular da mucosa foi considerada processo de necrose por coagulação (FILHO, 2016).

Para medir o grau de reepitelização, foram utilizados os critérios adaptados da pesquisa de Sinha e Gallagher (2003). Grau 1, reepitelização menor que a metade da ferida; grau 2, reepitelização cobrindo pelo menos de metade da ferida; grau 3, reepitelização cobrindo toda a ferida (aumento de 200x).

3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram digitados na planilha EXCEL e o programa utilizado para obtenção dos cálculos estatísticos foi o IBM - SPSS versão 23. Os dados foram expressos através das medidas estatísticas: média e desvio padrão (média $\pm$ DP), mediana e percentis 25 e 75 para as variáveis numéricas e de frequências absolutas e percentuais para as variáveis categóricas. Os dados foram analisados inferencialmente através dos testes estatísticos.

Para a comparação entre os grupos ou entre os tempos de avaliação (tempo de sacrifício) em relação às variáveis numéricas foram utilizados os testes F (ANOVA) ou Kruskal-Wallis. Na comparação entre as duas avaliações (inicial e final) foram utilizados o t-Student pareado ou Wilcoxon pareado. A escolha dos testes F (ANOVA) ou t-Student pareado, ocorreu devido a verificação da normalidade dos dados ou das diferenças entre os tempos de avaliação. Os testes de Kruskal-Wallis e Wilcoxon pareado ocorreu nas situações com 5 amostras por subgrupo. Na comparação entre os grupos em relação às variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher quando a condição para o teste Qui-quadrado não foi verificada. A verificação da hipótese de normalidade foi através do teste de Shapiro-Wilk. O nível de significância adotado para todos os testes realizados foi de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA

A Tabela 1 apresenta a análise estatística da variação de peso dos animais ao longo da pesquisa, nos diferentes grupos de tratamento. As médias das variações absoluta e percentual foram todas positivas, o que indica perda média de peso em todos os grupos ao longo da pesquisa, sendo o valor de perda mais elevado no grupo 1 (controle negativo) e menos elevado no grupo 3 (grupo experimental). Observou-se diferença estatisticamente significativa na variação absoluta de peso entre o grupo 1 (controle negativo) e o grupo 3 (experimental); e entre os grupos 1 (controle negativo) e 2 (controle positivo). Não ocorreu diferença estatisticamente significativa na variação de peso entre o grupo 2 e o grupo 3.

Tabela 1 – Análise estatística da variação de peso em (g) dos animais ao longo da pesquisa nos diferentes grupos de tratamento.

	Grupo 1 CONTROLE NEGATIVO	Grupo 2 CONTROLE POSITIVO	Grupo 3 GRUPO EXPERIMENTAL
Avaliação	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
	Mediana (P25, P75)	Mediana (P25, P75)	Mediana (P25, P75)
Início	308,33 ± 86,60 ^(A)	238,00 ± 31,95 ^(B)	253,07 ± 22,12 ^(A)
	322,00 (220,00; 370,00)	233,00 (207,00; 253,00)	254,00 (239,00; 267,00)
Final	279,73 ± 88,71 ^(A)	222,53 ± 25,78 ^(B)	248,00 ± 24,96 ^(A)
	309,00 (167,00; 368,00)	219,00 (200,00; 234,00)	247,00 (229,00; 262,00)
Médias diferenças			
Absoluta (I – F)	28,60 ^(A)	15,47 ^(AB)	5,07 ^(B)
Percentual	10,00	6,23	1,84
Valor p	p ⁽³⁾ = 0,006*	p ⁽³⁾ < 0,001*	p ⁽³⁾ = 0,262

Fonte: Autor. (*) Diferença significativa ao nível de 5,0%. (1) Teste Kruskal-Wallis com comparações do referido teste.

(2) Teste de F (ANOVA) com comparações do teste de Tukey. (3) Teste t-Student pareado.

O tamanho inicial da lesão (no dia D0) foi padronizado em todos os grupos, apresentando 5 mm de diâmetro e portanto correspondeu ao valor aproximado para duas decimais igual a 19,63 mm² (figura 1). No dia seguinte, após a indução da lesão, já era possível observar a presença de ulceração coberta por uma membrana amarelo- esbranquiçada correspondente à camada de fibrina (figura 2). A figura 3 apresenta a evolução clínica das úlceras nos diferentes grupos. Ao longo da pesquisa, apenas três animais do grupo experimental e três animais do grupo controle negativo tiveram reparo completo da lesão observado no sétimo dia.

Figura 1- Aspecto inicial da UTO, após a indução cirúrgica padronizada



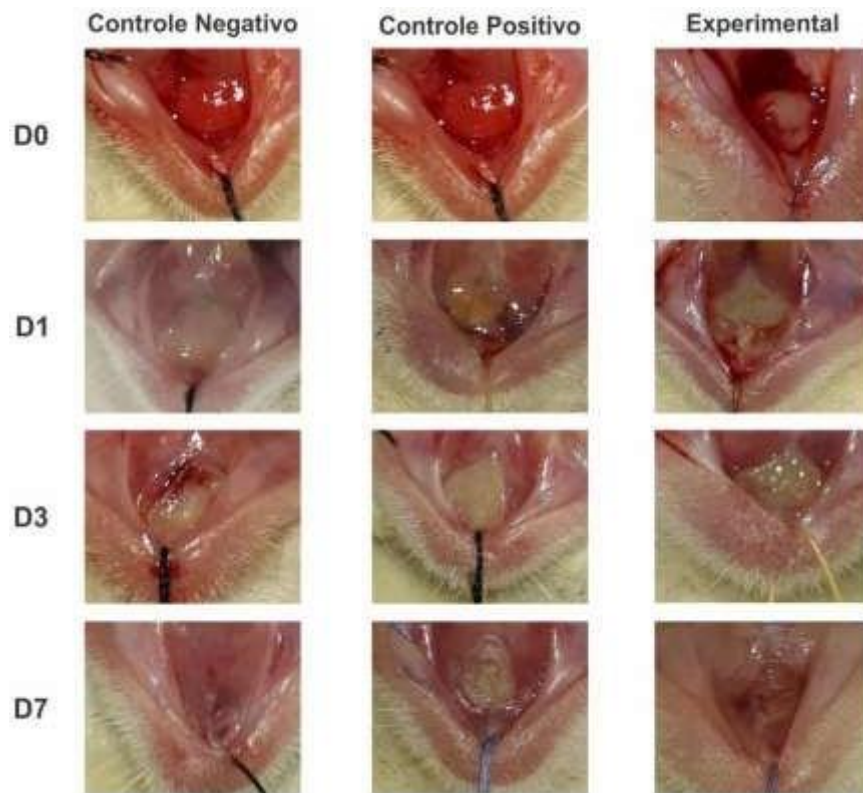
Fonte: Autor.

Figura 2- Aspecto clínico da UTO no primeiro dia após a indução cirúrgica, em rato do grupo controle negativo.



Fonte: Autor. A área de ulceração apresenta-se coberta por uma membrana amarelo-esbranquiçada correspondente à camada de fibrina.

Figura 3- Fotos da evolução clínica das UTOs nos diferentes grupos pesquisados



Fonte: Autor.

A Tabela 2 apresenta a análise estatística da área das lesões no dia de sacrifício (área final) comparando-se com a área inicial da lesão, segundo os grupos de tratamento. Na tabela 2 é possível verificar que, nos três grupos, as médias da área da ferida reduziram significativamente ($p < 0,05$) nos três intervalos de tempo avaliados. Ao comparar a regressão da lesão entre os grupos, a única diferença significativa ($p < 0,05$) ocorreu no 7º dia após a indução da lesão. O grupo 2 (controle positivo) apresentou uma média de área mais elevada que o grupo 1 (controle negativo) e que o grupo 3 (experimental) no 7º dia após a indução da lesão. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa na média de área entre os grupos 1 e 3. O gráfico 1 apresenta as médias das áreas das feridas (mm^2) nos grupos estudados segundo os intervalos de tempo.

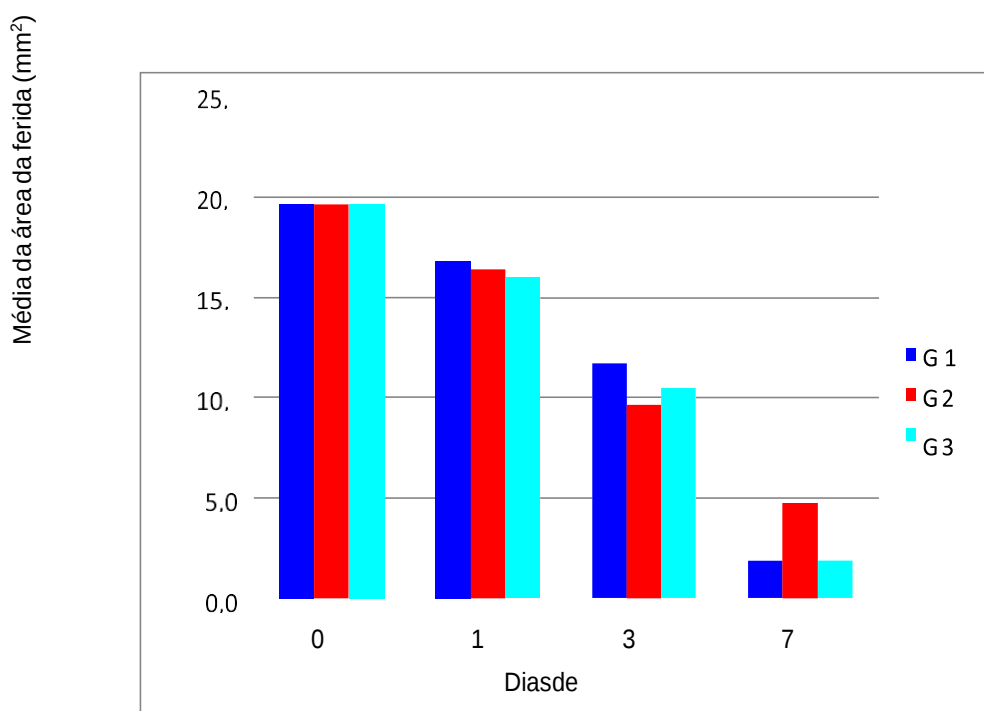
Tabela 2 – Análise estatística da área da lesão em (mm²) segundo o dia de sacrifício e grupo de tratamento.

Dias de infiltração	Grupo 1 Controle negativo	Grupo 2 Controle positivo	Grupo 3 Experimental	Valor de p
	Média ± DP Mediana (P25, P75)	Média ± DP Mediana (P25, P75)	Média ± DP Mediana (P25, P75)	
1 dia	16,80 ± 2,95 (a)	16,37 ± 2,41 (a)	15,99 ± 2,67 (a)	p ⁽¹⁾ = 0,925
	17,50 (13,81; 19,45)	15,62 (14,20; 18,92)	15,73 (13,47; 18,63)	
Média diferença absoluta (I – F)	2,83	3,26	3,65	p ⁽¹⁾ = 0,925
Média diferença percentual (I – F)	14,42	16,62	18,58	p ⁽¹⁾ = 0,925
Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,080	p ⁽²⁾ = 0,043*	p ⁽²⁾ = 0,043*	
3 dias	11,70 ± 2,03 (b)	9,62 ± 2,87 (b)	10,47 ± 2,92 (b)	p ⁽¹⁾ = 0,512
	11,40 (10,00; 13,55)	10,24 (7,15; 11,79)	10,64 (7,55; 13,31)	
Média diferença absoluta (I – F)	7,93	10,01	9,16	p ⁽¹⁾ = 0,512
Média diferença percentual (I – F)	40,42	50,99	46,67	p ⁽¹⁾ = 0,512
Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,042*	p ⁽²⁾ = 0,043*	p ⁽²⁾ = 0,043*	
7 dias	1,84 ± 2,47 (A,c)	4,79 ± 0,41 (B,c)	1,85 ± 1,21 (A,c)	p ⁽¹⁾ = 0,049*
	1,38 (0,00; 3,92) (A)	4,79 (4,47; 5,11)	1,33 (0,82; 3,13) (A)	
Média diferença absoluta (I – F)	17,79 (A)	14,84 (B)	17,78 (A)	p ⁽¹⁾ = 0,049*
Média diferença percentual (I – F)	90,61 (A)	75,60 (B)	90,60 (A)	p ⁽¹⁾ = 0,049*
Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,042*	p ⁽²⁾ = 0,042*	p ⁽²⁾ = 0,043*	
Valor de p	p ⁽³⁾ = 0,003*	p ⁽³⁾ = 0,002*	p ⁽³⁾ = 0,003*	

Fonte: Autor. (*) Diferença significativa ao nível de 5,0%. Grupo 1 = Controle negativo; Grupo 2 = Controle positivo; Grupo 3 = grupo experimental. (1) Através do teste de Kruskal-Wallis para comparações entre os grupos em cada tempo de avaliação com comparações do referido teste (2) Através do teste Wilcoxon pareado entre pré e cada tempo de avaliação em cada grupo

(3) Através do teste de Kruskal-Wallis para comparações entre os tempos de avaliação em cada grupo com comparações do referido teste. Obs1. Se todas as letras maiúsculas entre parêntesis são distintas se comprova diferenças significativas entre os grupos correspondentes. Obs2. Se todas as letras minúsculas entre parêntesis são distintas se comprova diferença significativas entre os grupos correspondentes

Gráfico 1 – Médias das áreas das feridas (mm²) segundo os intervalos de tempo e os grupos.



Fonte: Autor. Grupo 1 = Controle negativo; Grupo 2 = Controle positivo; Grupo 3 = grupo experimental.

4.2 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Os resultados da análise histológica estão presentes na tabela 3. No presente estudo observou-se a presença de infiltrado inflamatório agudo em todos os animais eutanasiados no primeiro dia após a indução da lesão, já no terceiro e sétimo dia de análise observou-se entre os grupos a predominância do infiltrado inflamatório crônico. Não ocorreu diferença, estatisticamente significativa, no tipo de infiltrado inflamatório entre os grupos nos períodos avaliados.

Quanto à análise da intensidade do infiltrado inflamatório, observou-se que apenas no D1 ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos, no qual o grupo controle positivo apresentou menor intensidade do infiltrado inflamatório. No D3 e D7 não ocorreu

diferença estatisticamente significativa na intensidade do infiltrado inflamatório entre os grupos estudados.

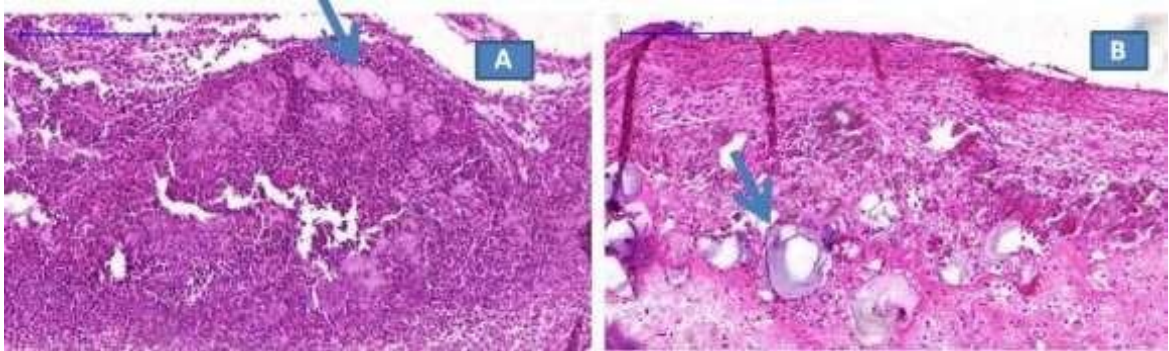
Tabela 3 – Análise histológica das variáveis: tipo de infiltrado inflamatório e intensidade do infiltrado inflamatório segundo os dias de avaliação e grupo.

Dias de avaliação	Variável	Grupo				Valor de p
		Grupo 1 (n = 5)	Grupo 2 (n = 5)	Grupo 3 (n = 5)	Grupo total (n = 15)	
	Tipo de infiltrado inflamatório					**
1 dia	Agudo	5	5	5	15	$p^{(1)} = 1,000$
	Crônico	-	-	-	-	
	Tipo de infiltrado inflamatório					$p^{(1)} = 1,000$
3 dias	Agudo	1	-	-	1	$p^{(1)} = 1,000$
	Crônico	4	5	5	14	
	Tipo de infiltrado inflamatório					$p^{(1)} = 1,000$
7 dias	Agudo	1	-	-	1	$p^{(1)} = 0,004$ *
	Crônico	4	5	5	14	
1 dia	Intensidade do infiltrado inflamatório					$p^{(1)} = 0,190$
	I	3	-	-	3	
	II	-	5	2	7	$p^{(1)} = 0,134$
	III	2	-	3	6	
3 dias	Intensidade do infiltrado inflamatório					$p^{(1)} = 0,134$
	I	-	2	-	2	
	II	2	-	3	5	$p^{(1)} = 0,134$
	III	3	3	2	8	
7 dias	Intensidade do infiltrado inflamatório					$p^{(1)} = 0,134$
	I	1	1	4	6	
	II	2	4	1	7	$p^{(1)} = 0,134$
	III	2	-	-	2	

Fonte: Autor. (*) Diferença significativa ao nível de 5,0% (**) Não foi determinado devido as respostas terem ocorrido em uma única categoria (1) Através do teste Exato de Fisher. Grupo 1 = Controle negativo; Grupo 2 = Controle positivo; Grupo 3 = Experimental.

Em nenhum grupo observou-se a presença de necrose e granuloma do tipo corpo estranho. Foi possível avaliar microscopicamente a presença da pomada de triancinolona em orabase e o gel do BPCA entre a área de ulceração e a membrana de fibrina (figura 4).

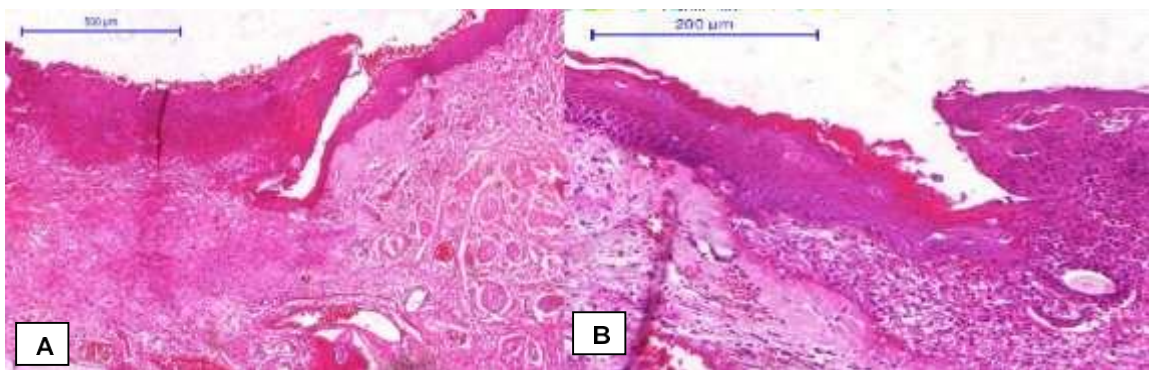
Figura 4- Avaliação histológica da área ulcerada, no primeiro dia após a indução em animais dos grupos experimental (imagem A) e controle positivo (imagem B).



Fonte: Autor. Observa-se a presença do gel do BPCA (imagem A) e da pomada de triancinolona em orabase entre a área de ulceração e a membrana de fibrina.

Quanto ao grau de reepitelização das áreas ulceradas, observou-se no presente estudo que, no primeiro dia após a indução da lesão, o grau de reepitelização foi semelhante entre os grupos ($p > 0,05$). No terceiro dia, observou-se reepitelização cobrindo pelo menos metade da ferida em todos os animais do grupo 1 e 3, já em todos os animais do grupo 2 a reepitelização foi menor que a metade da ferida no terceiro dia de avaliação ($p < 0,05$) (Figura 5). No sétimo dia, observou-se que três dos cinco animais dos grupos controle negativo e três do grupo experimental apresentaram grau reepitelização completa da ferida, enquanto que nenhum animal do grupo controle positivo apresentou reepitelização completa da lesão ($p = 0,09$). Tais resultados podem ser observados na tabela 4. Na figura 6 é possível analisar histologicamente o processo de reepitelização da úlcera traumática entre os grupos pesquisados, nos três períodos de avaliação.

Figura 5- Análise histológica do processo de reepitelização da úlcera traumática entre os grupos controle positivo (A) e experimental (B), no terceiro dia de avaliação.



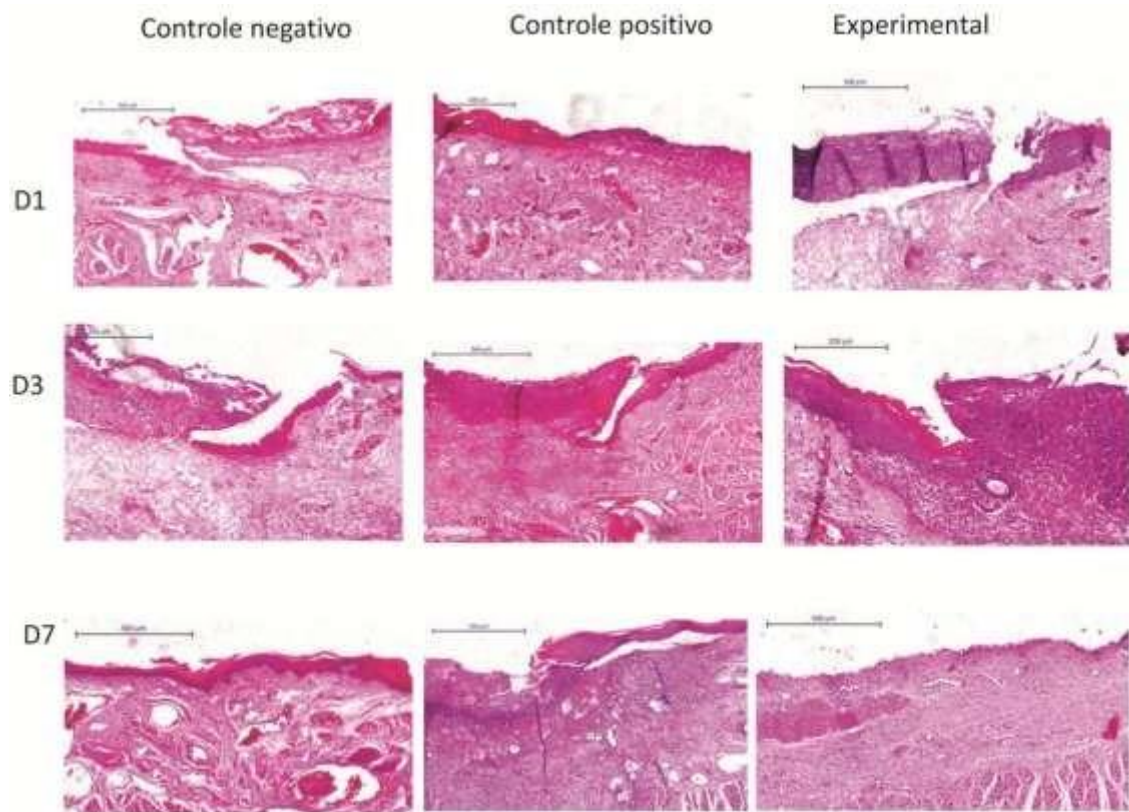
Fonte: Autor.

Tabela 4 – Análise histológica do grau de reepitelização das áreas ulceradas segundo os dias de avaliação e grupos de tratamento.

Dias de Avaliação	Grau de reepitelização	Grupo				Valor de p
		Grupo 1 (n = 5)	Grupo 2 (n = 5)	Grupo 3 (n = 5)	Grupo total (n = 15)	
1 dia	1	5	5	5	15	$p^{(1)} = 1,000$
	2	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	
3 dias		(A)	(B)	(A)		$p^{(1)} = 0,001^*$
	1	-	5	-	5	
	2	5	-	5	10	
	3	-	-	-	-	
7 dias	1	-	-	-	-	$p^{(1)} = 0,097$
	2	2	5	2	9	
	3	3	-	3	6	

Fonte: Autor. (*) Diferença significativa a 5% ,(1) Através do teste de Kruskal-Wallis com comparações do referido teste, Grupo 1 = Controle negativo; Grupo 2 = Controle positivo; Grupo 3 = Experimental. Obs. Se as letras entre parêntesis são diferentes existe diferenças significativas entre os grupos correspondentes

Figura 6- Análise histológica do processo de reepitelização da úlcera traumática entre os grupos pesquisados, nos três intervalos de sacrifícios.



Fonte: Autor. D1: Presença de coágulo de fibrina na área ulcerada. D3: Formação inicial de epitélio nas bordas da lesão. D7: reepitelização completa da lesão apenas nos grupos 1 e 3.

5 ARTIGO- EFEITO DO GEL CELULÓSICO DE CANA-DE- AÇÚCAR NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERA TRAUMÁTICA ORAL: ESTUDO EXPERIMENTAL

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo investigar a biocompatibilidade do gel celulósico de cana-de-açúcar e sua influência no processo de cicatrização de úlceras traumáticas orais em ratos, comparando com a pomada de triancinolona. Úlceras traumáticas foram induzidas cirurgicamente na mucosa do lábio inferior de 45 ratos Wistar machos, utilizando-se um punch de 5 mm de diâmetro. Os animais foram divididos em três grupos: controle negativo (não receberam tratamento), controle positivo (tratados com pomada de triancinolona em orabase) e grupo experimental (tratados com o gel celulósico de cana-de-açúcar). Em cada grupo foram eutanasiados 5 animais nos dias 1, 3 e 7 após a indução da lesão. Os animais foram monitorados diariamente, seu peso foi documentado no dia da indução da lesão (dia 0) e no dia da eutanásia. A análise clínica da evolução temporal da cicatrização foi feita através da comparação do tamanho da área da lesão no dia 0 e no dia da eutanásia. Os parâmetros histológicos avaliados foram o tipo e intensidade do infiltrado inflamatório, presença de necrose e granuloma do tipo corpo estranho, bem como o grau de reepitelização da lesão. Na análise estatística para a comparação entre os grupos ou entre os tempos de sacrifício em relação às variáveis foram utilizados os testes F (ANOVA) ou Kruskal-Wallis. Ocorreu perda média de peso em todos os grupos de animais ao longo da pesquisa, sendo o valor de perda mais elevado no grupo controle negativo ($p < 0,05$). O grupo de animais tratados com triancinolona apresentou uma média de área da lesão mais elevada no 7º dia de avaliação ($p < 0,05$). Nos intervalos de 3 e 7 dias após a indução da lesão não ocorreu diferença na intensidade do infiltrado inflamatório entre os grupos estudados ($p > 0,05$). Os resultados encontrados no presente estudo sugerem que o gel celulósico de cana-de-açúcar é biocompatível aos tecidos de animais, e que seu uso tópico em úlceras traumáticas orais promove uma cicatrização mais rápida que a pomada de triancinolona em orabase.

Palavras-chave: Úlceras orais. Cicatrização. Celulose. Cana-de-açúcar. Fitoterapia.

INTRODUÇÃO

As lesões ulcerativas orais são comuns na prática odontológica, entretanto, seu diagnóstico às vezes é dificultado pelo grande número de doenças que levam a essa condição. Normalmente as lesões ulcerativas orais apresentam etiologia traumática, inflamatória ou autoimune. A úlcera traumática oral pode resultar de agressões físicas ou químicas à mucosa oral. Os agentes etiológicos incluem mordedura, próteses mal adaptadas, bandas ortodônticas, trauma cirúrgico, queimaduras químicas, queimaduras elétricas, contato direto com alimentos excessivamente quentes ou frios, entre outros (Murray et al., 2005; Compilato et al. 2009; Chavan et al., 2012; Felix et al., 2012).

O tratamento mais efetivo dessas lesões não foi totalmente estabelecido, sendo descritos vários protocolos que utilizam medicamentos tópicos ou sistêmicos cujo objetivo é aliviar os sintomas e acelerar o reparo da região para permitir a reconstituição do tecido que foi lesado (Eming et al., 2007; de Carvalho et al., 2015). O uso de medicamentos à base de plantas na cicatrização de feridas tem sido amplamente estudado, uma vez que as plantas possuem vários ingredientes ativos como alcalóides, triterpenos e biomoléculas que interferem em uma ou mais fases de reparo (Coelho et al., 2015; Duarte et al., 2011; Kang et al., 2018).

Há alguns anos, um biomaterial de estrutura química polimérica foi obtido a partir do melaço da cana-de-açúcar, que é o líquido semelhante ao mel, obtido como resíduo da fabricação do açúcar cristalizado. Esse polissacarídeo celulósico, produzido através da bactéria *Zoogloea* sp, foi denominado biopolímero de cana-de-açúcar, e apresenta características físicas e químicas adequadas para a confecção de diversos materiais como géis, membranas, esponjas, grânulos e próteses. Os componentes dos polissacarídeos são expressos com respectivas concentrações que somam 100% de açúcares, demonstrando pureza absoluta do produto. Os principais monossacarídeos presentes na fração solúvel foram glicose (87,6%), xilose (8,6%), manose (0,8%), ribose (1,7%), galactose (0,1%), arabinose (0,4%) e ácido glicurônico (0,8%) (Paterson-Beedle et al., 2000).

A primeira publicação que relatou o emprego do biopolímero de cana-de-açúcar foi realizada por Coelho et al. (2002), que o utilizaram sob a forma de películas sobre ferimentos resultantes de traumas diversos, em animais domésticos. Neste estudo, foi demonstrada a redução gradual da secreção purulenta presente nas feridas, crescimento acelerado de tecido de granulação e reparo total das feridas cutâneas.

O uso do BPCA na forma de gel foi estudado para o tratamento de olhos eviscerados de coelho, através da análise clínica e histológica. Durante o experimento não foram observados sinais clínicos de infecção, alergias, intoxicação ou extrusão tecidual. O gel se mostrou biocompatível e integrado às órbitas (Cordeiro-Barbosa et al., 2012).

Leão et al. (2014) avaliaram a resposta histológica do gel de biopolímero da cana-de-açúcar infiltrado nas pregas vocais de coelhos, onde observou-se inflamação leve a moderada em todas as pregas vocais infiltradas com o biopolímero, entretanto não houve casos de necrose ou calcificação. Tais respostas sugerem que o biopolímero na sua forma de gel pode ser bioativo e preservar a função vibratória normal do epitélio.

A aplicação do biopolímero, em forma de grânulos, associados à membrana do mesmo material foi estudada em defeitos ósseos de calota craniana de ratos. O material estudado mostrou-se biocompatível no preenchimento de cavidades ósseas, evitando a deformidade do defeito e proporcionando a reparação óssea (Medeiros Júnior et al., 2013; Abreu et al., 2016;).

Teixeira et al. (2014) avaliaram a ação do filme esponjoso de biopolímero da cana-de-açúcar, no reparo de úlceras traumáticas orais provocadas em coelhos. Observou-se que o filme permaneceu no leito da úlcera, funcionando como uma barreira mecânica. O tempo de cicatrização completa da lesão não diferiu entre as feridas que receberam o filme e aquelas que não receberam.

Diante dos resultados positivos encontrados nos estudos experimentais envolvendo esse biopolímero, no reparo tecidual em diferentes estruturas orgânicas, o presente estudo optou por investigar a ação do gel a base de biopolímero de cana-de-açúcar, na cicatrização de úlcera traumática oral. Ressalta-se que não há até o momento na literatura, qualquer trabalho envolvendo o uso desse gel em mucosa oral, reforçando o caráter inédito e inovador do presente estudo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do gel de polissacarídeo celulósico da cana-de-açúcar

A síntese do polissacarídeo celulósico a partir do melaço da cana-de-açúcar através da bactéria *Zoogloea* sp, é bem descrito na pesquisa de Paterson-Beedle et al., (2000). O gel hidrossolúvel foi produzido a partir da matriz polissacarídica desse biopolímero que, após a sua síntese, foi clarificado com uma solução diluída de hipoclorito de sódio na concentração

de 2,0%; os resíduos do tratamento de clareamento foram retirados com sucessivas lavagens em água destilada; a primeira etapa de lavagem foi feita em quatro tempos de 6 horas de permanência em tanques com um volume de água 10 vezes o volume de biopolímero; em seguida, em dois tempos de 6 horas em tanques com água bidestilada em um volume 10 vezes o volume do biopolímero; após a lavagem foram retiradas amostras de 1% de diferentes pontos da massa polimérica tratada para análise laboratorial; foram realizadas medição do pH que ficou igual a da água bidestilada utilizada para a lavagem; a massa polimérica tratada foi gelificada por hidratação mecânica forçada de micropartícula do biopolímero por meio de homogeneizadores que promoveram a formação de micropartícula do biopolímero e consequente hidratação e gelificação (Aguilar et al.2004).

A concentração do gel obtido foi ajustada com água bidestilada para uma concentração final na proporção de uma parte sólida (biopolímero), para 50 partes de água, para obtenção de géis com as concentrações de 2,0% de biopolímero em água respectivamente (Aguilar et al., 2004). A amostra foi obtida de um único lote, acondicionada em seringas e esterilizadas com irradiação gama.

Amostra

O presente estudo foi submetido à apreciação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco e aprovado segundo o protocolo 0010/2018. Quarenta e cinco ratos machos (raça: *Rattus norvegicus*, família: *Muridae*, da variedade *Wistar*), de 200 a 300 g de peso, foram alojados em condições de temperatura e iluminação controlada (21-23 °C; 12 horas de luz/ 12 horas de escuro) para que não houvesse aumento do nível de estresse, enquanto a oferta de alimentos (Labina - Purina®) e água filtrada foi livre.

Os animais foram divididos aleatoriamente por sorteio em três grupos de 15 animais cada: Grupo 1- Controle negativo (sem tratamento), Grupo 2- Controle positivo (tratados com pomada de triancinolona em orabase) e Grupo 3- Experimental (tratados com o gel de polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar).

Indução da úlcera em mucosa oral e protocolo de tratamento

Os animais foram submetidos a anestesia geral através de injeção intramuscular de cloreto de xilazina (Rompum; Bayer do Brasil, São Paulo; 10mg/kg de peso corporal) e de Ketamina (Ketalar®; Parke-Davis, Aché Laboratórios, São Paulo; Brasil; 75mg/kg de peso corporal). Após antissepsia oral com clorexidina 0,12% e instalação de campos operatórios,

realizou-se anestesia infiltrativa com lidocaína 2% no lábio inferior do animal, de forma superficial promovendo uma hidrodissecção entre o epitélio da mucosa e o tecido conjuntivo. A ulceração foi induzida na mucosa do lábio inferior de forma padronizada, por um mesmo operador. O tamanho da lesão foi demarcado com um punch de 5mm de diâmetro, aplicado de forma superficial na mucosa do lábio inferior atingindo apenas a profundidade epitelial, em seguida o epitélio demarcado pelo punch foi dissecado e removido utilizando-se um tesoura de Iris. A metodologia de indução da úlcera foi uma adaptação da metodologia de Cavalcante et al. (2011) e Pusparasi et al. (2018).

A aplicação dos medicamentos no grupo experimental e no grupo controle positivo era feita logo após a indução da úlcera usando um cotonete para cobrir totalmente a ferida. Nos dias seguintes, a aplicação era feita uma vez por dia, pela manhã, sob anestesia geral. O animal ficava sedado por duas horas após aplicação do medicamento, para garantir sua manutenção e ação sobre a área ulcerada. Cinco ratos de cada grupo foram eutanasiados, utilizando-se uma dose de 150mg/kg do anestésico geral Pentobarbital Sódico (Tiopental®) por via intraperitoneal, em dias 1, 3 e 7 dias após o procedimento cirúrgico.

Análises Clínicas

Os animais foram monitorados diariamente, seu peso foi documentado no dia da indução da lesão (dia 0) e no dia da eutanásia, para avaliação indireta da ingestão alimentar, e consequentemente presença de dor associada à lesão intra-oral, de acordo com metodologia de Cavalcante et al. (2011). A análise clínica da evolução temporal da cicatrização foi feita através da comparação do tamanho da área da lesão no dia 0 e no dia da eutanásia. Os diâmetros maiores e menores das úlceras foram medidos com um paquímetro digital, a medida do raio foi considerada a metade do comprimento do diâmetro, e o cálculo da área ulcerada (A) foi realizado seguindo a metodologia de Cavalcante et al. (2011): R = maior raio e r = menor diâmetro; $A = \pi \cdot r \cdot R$. Sob anestesia geral realizou-se a exérese do lábio inferior do animal com o mínimo de traumatismo, em seguida o mesmo foi submetido à eutanásia. O material removido foi condicionado em formol a 10% e foi encaminhado para a análise histológica.

Análise histológica

As peças cirúrgicas foram processadas e incluídas em parafina, em seguida foram submetidas a cortes de 5µm de espessura, no sentido do longo eixo da ferida, coradas pela técnica de rotina da Hematoxilina/Eosina e avaliadas em microscopia de luz, por um

examinador patologista oral, cegado quanto à forma de tratamento de cada animal correspondente à lâmina avaliada. Os critérios estabelecidos como eventos celulares relacionados ao processo de cicatrização foram: tipo e intensidade do infiltrado inflamatório; presença ou ausência de granuloma por reação de corpo estranho; presença ou ausência de necrose e grau de reepitelização do tecido seguindo metodologias adaptadas dos estudos de Peixoto et al. (2012) e Sinha e Gallagher (2003). Os espécimes cujo infiltrado inflamatório se apresentou restrito a um terço do campo microscópico foram classificados como grau I (leve infiltrado); as lesões com células inflamatórias presentes entre um e dois terços foram definidas como de grau II (moderado infiltrado); e as lesões que exibiram infiltrado inflamatório superior a dois terços foram categorizadas como de grau III (intenso infiltrado). A classificação do grau de reepitelização seguiu os seguintes escores: Grau 1, reepitelização menor que a metade da ferida; grau 2, reepitelização cobrindo pelo menos de metade da ferida; grau 3, reepitelização cobrindo toda a ferida

Análise estatística

Os dados foram digitados na planilha EXCEL e o programa utilizado para obtenção dos cálculos estatísticos foi o IBM - SPSS versão 23. Para a comparação, entre os grupos ou entre os tempos de sacrifício, foram utilizados os testes F (ANOVA) ou Kruskal-Wallis, e na comparação entre as duas avaliações (inicial e final) foram utilizados o t-Student pareado ou Wilcoxon pareado. Na comparação entre os grupos em relação às variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher quando a condição para o teste Qui-quadrado não foi verificada.

RESULTADOS

Análises Clínicas

A Tabela 1 apresenta a análise estatística da variação de peso dos animais ao longo da pesquisa, nos diferentes grupos de tratamento. As médias das variações absoluta e percentual foram todas positivas, o que indica perda média de peso em todos os grupos ao longo da pesquisa, sendo o valor de perda mais elevado no grupo 1 (controle negativo) e menos elevado no grupo 3 (grupo experimental). Observou-se diferença estatisticamente significativa na variação absoluta de peso entre o grupo 1 (controle negativo) e o grupo 3(experimental); e entre os grupos 1(controle negativo) e 2 (controle positivo). Não ocorreu diferença estatisticamente significativa na variação de peso entre o grupo 2 e grupo 3.

A área inicial da lesão (no dia D0) foi padronizada em todos os grupos, apresentando 5 mm de diâmetro e portanto correspondeu ao valor aproximado para duas decimais igual a 19,63 mm². No dia seguinte após a indução da lesão, já era possível observar a presença de ulceração coberta por uma membrana amarelo-esbranquiçada correspondente à camada de fibrina. A figura 1 apresenta a evolução clínica das úlceras nos diferentes grupos. Ao longo da pesquisa, apenas dois animais do grupo experimental e três animais do grupo controle negativo tiveram reparo completo da lesão observado no sétimo dia. A Tabela 2 apresenta a análise estatística da área das lesões no dia de sacrifício (área final) comparando-se com a área inicial da lesão, segundo os grupos de tratamento. Na tabela 2 foi verificado que nos três grupos as médias da área da ferida reduziram significativamente ($p < 0,05$) nos três intervalos de tempo avaliados. Ao comparar a regressão da lesão entre os grupos, a única diferença significativa ($p < 0,05$) ocorreu no 7º dia após a indução da lesão. O grupo 2 (controle positivo) apresentou uma média de área mais elevada que o grupo 1 (controle negativo) e que o grupo 3 (experimental) no 7º dia após a indução da lesão. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa na média de área entre os grupos 1 e 3.

Análise histológica

Os resultados da análise histológica referentes ao infiltrado inflamatório estão presentes na tabela 3. No presente estudo observou-se a presença de infiltrado inflamatório agudo em todos os animais eutanasiados no primeiro dia após a indução da lesão, já no terceiro e sétimo dia de avaliação observou-se entre os grupos a predominância do infiltrado inflamatório crônico. Não ocorreu diferença, estatisticamente significativa, no tipo de infiltrado inflamatório entre os grupos nos períodos avaliados.

Quanto à análise da intensidade do infiltrado inflamatório, observou-se que apenas no D1 ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos, no qual o grupo controle positivo apresentou menor intensidade do infiltrado inflamatório. No D3 e D7 não ocorreu diferença estatisticamente significativa na intensidade do infiltrado inflamatório entre os grupos estudados.

Em nenhum grupo observou-se a presença de necrose e granuloma do tipo corpo estranho. Foi possível avaliar microscopicamente a presença da pomada de triancinolona em orabase e o gel de polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar entre a área de ulceração e a membrana de fibrina (figura 2).

Quanto ao grau de reepitelização das áreas ulceradas observou-se no presente estudo que, no primeiro dia após a indução da lesão, o grau de reepitelização foi semelhante entre os grupos ($p>0,05$). No terceiro dia, observou-se reepitelização cobrindo pelo menos metade da ferida em todos os animais do grupo 1 e 3, já em todos os animais do grupo 2 a reepitelização foi menor que a metade da ferida no terceiro dia de avaliação ($p<0,05$). No sétimo dia, observou-se que três dos cinco animais dos grupos controle negativo e experimental apresentaram grau de reepitelização completa da ferida, enquanto que nenhum animal do grupo controle positivo apresentou reepitelização completa da lesão ($p=0,09$). Tais resultados podem ser observados na tabela 4 e figura 3.

DISCUSSÃO

A resposta clínica e histológica a um material num modelo de estudo animal representa um importante passo na avaliação de seu uso futuro em ensaios clínicos. Diversos produtos sintéticos e fitoterápicos são utilizados em estudos experimentais para tratamento de ulcerações orais induzidas em animais (Lemos-Júnior et al. 2005; Karavana et al., 2011; Duarte et al., 2011; Martins et al., 2011; Kovalik et al., 2014). O presente estudo optou por avaliar a ação do biopolímero de cana-de-açúcar no tratamento de úlceras induzidas cirurgicamente em lábio inferior de ratos.

A principal razão para estudar esse novo material é sua biocompatibilidade, avaliada em estudos anteriores, bem como o fato desse gel de polissacarídeo celulósico ser produzido a partir do melaço da cana-de-açúcar, um material renovável e de fácil aquisição no nordeste do Brasil, de fácil produção e baixo custo (Coelho et al., 2002; Aguiar et al., 2007; Marques et al., 2007; Mayer et al., 2014; Abreu et al., 2016). Diante da ampla utilização da triancinolona em orabase na prática clínica odontológica, para o tratamento de úlceras traumáticas orais, o presente estudo optou por utilizar esse corticoide como medicamento de comparação com o gel de biopolímero de cana-de-açúcar.

A criação de um modelo cirúrgico de úlcera oral em ratos no presente estudo foi adaptada do estudo de Cavalcante et al. (2011), modificando-se apenas a localização da lesão. No presente estudo, a lesão traumática foi induzida no lábio inferior devido a maior facilidade de manipulação da região, tendo em vista a não necessidade de abertura forçada da boca do animal, que poderia interferir no processo de cicatrização em razão da necessária manipulação tecidual. Esta localização, adicionalmente, permitiu um maior tempo de contato da pomada e

do gel com a área da lesão induzida.

Outros estudos realizaram a indução da ulcera em lábio inferior, no entanto as lesões eram produzidas mediante aplicação de agentes químicos como ácido acético e formocresol ou de instrumentos aquecidos no lábio inferior do animal (Karavana et al., 2011; Carvalho et al., 2015; Puspasari et al., 2018). Na presente pesquisa optou-se pela indução cirúrgica e não química, para mimetizar as úlceras traumáticas comuns na cavidade oral de humanos, geralmente causadas por próteses mal adaptadas, coroas dentárias ou restaurações fraturadas, e até por mordidas acidentais durante a mastigação (Cavalcante et al., 2011). Outro fator importante na escolha da realização da indução cirúrgica foi à padronização do tamanho de ferida, de maneira mais fidedigna e reprodutível, já que foi utilizado um punch.

Quanto à análise da variação de peso dos animais ao longo da pesquisa, observou-se no presente estudo perda média de peso em todos os grupos de animais, sendo o valor de perda mais elevado no grupo 1 (grupo controle negativo), com diferença estatisticamente significativa desse grupo em comparação com os outros grupos pesquisados. Dessa forma, entende-se que os animais que não receberam nenhum medicamento tópico na lesão oral tiveram maior perda de peso, e esse achado pode estar relacionado a uma maior dificuldade alimentar em decorrência da dor provocada pela presença da lesão oral sem tratamento. De acordo com estudos pregressos (Cavalcante et al., 2011; Kovalik et al., 2014; Teixeira et al., 2014; Kang et al., 2018) o acompanhamento do peso dos animais submetidos à indução de úlcera oral é uma forma indireta de avaliação da dor do animal.

Teixeira et al. (2014) ao avaliarem o tratamento de úlcera traumática oral em coelhos, utilizando o filme esponjoso adesivo do polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar, não observaram diferença significativa na variação de peso entre os animais dos grupos experimental e controle negativo. No entanto, a aplicação do gel, do mesmo biopolímero, realizada no presente estudo promoveu redução do impacto de danos físicos causados por alimentos e produtos químicos diretamente no local da lesão, produzindo maior conforto para os ratos, resultando em menor perda de peso em comparação com os animais do grupo controle negativo. Também se pode ressaltar a hipótese que a composição polimérica do gel, com alta pureza de açúcares (glicose - 87,6%, xilose -8,6%, manose -0,8%, ribose-1,7%, galactose - 0,1%, arabinose -0,4% e ácido glicurônico - 0,8%) promoveu ação analgésica sob a lesão, favorecendo o conforto para alimentação dos animais do grupo experimental, resultando numa menor média de perda de peso entre esse grupo. A ação analgésica desse gel pode resultar da

redução do edema local, pois se sabe que o açúcar tem capacidade de reduzir edema e melhorar a circulação local em feridas (Pieper e Caliri, 2003; Murandu et al., 2011).

No D7 identificou-se que o grupo 2 (controle positivo) apresentou uma média de área da lesão mais elevada que o grupo 1 (controle negativo) e que o grupo 3 (experimental). Esse resultado permite inferir que o grupo de animais tratados com o biopolímero da cana-de-açúcar apresentou maior redução do tamanho da lesão em comparação com os animais tratados com pomada de triancinolona em orabase.

Estudos que avaliaram o tratamento de úlcera traumática oral em ratos utilizando o extrato de aloe vera e óleo de copaíba comparando-os com o uso de corticoide tópico também encontraram uma média de área ulcerada maior nos animais tratados com o corticoide tópico, em semelhança com o presente estudo (Coelho, et al., 2015; Wagner et al., 2017). Esses resultados permitem inferir que o uso tópico de corticoide em úlceras traumáticas em mucosa oral pode provocar um retardo no processo de reparo tecidual, apesar de um maior conforto para os animais. Tal achado pode ser explicado pela ação moduladora do processo inflamatório provocada pelo medicamento, visto que o reparo tecidual está atrelado ao processo inflamatório, logo a supressão do processo inflamatório implicará no retardo do reparo tecidual (Levin e Maibach, 2002; Pramick e Whitmore, 2009).

O presente estudo não encontrou diferença estatisticamente significativa na média de área entre os grupos controle negativo e experimental. Tal achado também foi observado em pesquisas que avaliaram o tratamento de úlcera traumática oral em ratos utilizando extratos de aloe vera, açaí, camomila e copaíba (Duarte et al., 2011; Coelho, et al., 2015; Wagner et al., 2017; Kang et al., 2018).

Como resultados da análise histológica, foi possível observar a presença de infiltrado inflamatório agudo em todos os animais sacrificados no primeiro dia após a indução da lesão, já no terceiro e sétimo dia de sacrifício observou-se entre os grupos a predominância do infiltrado inflamatório crônico. Não ocorreu diferença no tipo de infiltrado inflamatório entre os grupos nos intervalos de sacrifício avaliados. Tais achados são compatíveis com o processo de reparo tecidual normal, caracterizado por ausência de processo infeccioso (Lima et al., 2005; Tarnawski, 2005).

O uso do gel de polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar não provocou aumento da intensidade do infiltrado inflamatório nos animais avaliados, divergindo dos resultados

encontrados em outras pesquisas envolvendo esse material. Esperava-se que o grupo experimental apresentasse maior intensidade do infiltrado inflamatório, visto que o polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar libera uma quantidade de açúcar capaz de concentrar o meio causando uma hiperosmolaridade, que é considerada irritante aos tecidos. Sabe-se que essa hiperosmolaridade é um fator positivo para o processo cicatricial, por estimular a formação de tecido de granulação (Coelho et al., 2002; Aguiar et al., 2007; Marques et al., 2007; Medeiros Júnior et al., 2013; Mayer et al., 2014; Teixeira et al., 2014). Mediante o fato do gel de cana-de-açúcar não ter provocado um infiltrado inflamatório tão intenso, no presente estudo, pode-se inferir que essa substância tem potencial atividade moduladora da inflamação.

A ausência de necrose e granuloma do tipo corpo estranho entre os animais pesquisados corrobora com estudos envolvendo o polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar, confirmando a biocompatibilidade desse material com os tecidos. Tais achados permitem inferir que esse material poderia seguir em testes futuros, dentre eles as pesquisas envolvendo seres humanos. (Coelho et al., 2002; Aguiar et al., 2007; Marques et al., 2007; Medeiros- Júnior et al., 2013; Mayer et al., 2014; Teixeira et al., 2014).

No presente estudo foi possível avaliar microscopicamente a presença da pomada de triancinolona e do gel de polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar entre a área da ulceração e a membrana de fibrina formada sobre a lesão. Esse achado é de grande relevância, pois diferentemente da pomada de triancinolona, o gel do polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar não tem em sua composição o veículo orabase, que atua como um adesivo, proporcionando uma cobertura protetora, que mantém a triancinolona em contato com os tecidos orais por mais tempo. Tal achado pode ser explicado pela semelhança da composição química, visto que ambos os materiais apresentam celulose em sua composição (Paterson-Beedle et al., 2000; Burgess et al., 2008).

Quanto à avaliação histológica do grau de reepitelização da ulceração oral dos animais, o presente estudo encontrou um grau de reepitelização da lesão maior entre os grupos controle negativo e experimental no terceiro e sétimo dia de avaliação, com diferença estatisticamente significativa no D3. Tais achados histológicos são compatíveis com os achados clínicos de acompanhamento da área da lesão, permitindo ressaltar a importância da correlação clínica e histológica em estudos experimentais. Os melhores resultados no grau de reepitelização entre os grupos experimental e controle ressalta a ação retardante do corticoide tópico, no processo

de reparo tecidual da ulceração oral. Diferente do corticoide tópico, o gel do polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar apresentou atuação considerada desejável na prática clínica, pois esse biomaterial foi capaz de promover alívio dos sintomas sem retardar o reparo tecidual das úlceras traumáticas orais induzidas em animais.

CONCLUSÃO

Os resultados da presente pesquisa sugerem que a aplicação tópica do gel de polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar em úlceras traumáticas orais de animais promove uma cicatrização mais rápida que a pomada de triancinolona, sem aumentar a intensidade do infiltrado inflamatório sob a lesão. Apesar do processo de reparo ter sido semelhante entre o grupo controle negativo e o grupo experimental, o uso do gel de polissacarídeo celulósico de cana-de-açúcar se mostrou efetivo no controle da dor dos animais, produzindo maior conforto alimentar, permitindo menor perda de peso em comparação com os animais que não receberam tratamento. Ademais, esse medicamento não é irritante aos tecidos de animais, podendo ser pesquisado em humanos.

REFERÊNCIAS DO ARTIGO

Abreu TC, Lima RP, Souza VSB, Albuquerque AV, Vasconcelos BCE. 2016. The biopolymer sugarcane as filling material of critical defects in rats. *Acta Cir Bras*. 31(22) 49 – 53.

Aguiar JLA, Lima Filho JEC, Coelho ARB, Câmara Neto RDC, Melo FAD. Patente Brasileira MU840214-2 (14/05/2004). Disponível em: <
<https://gru.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=879680&SearchParameter=PI%201103709-1%20%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=> >
 Acessado em: 23/04/2017.

Aguiar JLA, Lins E, Marques S, Coelho A, Rossiter R, Melo R. 2007. Sugarcane Biopolymer Patch in Femoral Artery Angioplasty on Dogs. *Acta Cir Bras*. 22 (7):77-81.

Burgess J, Van Der Vem P, Martin M, Sherman J, Haley J. 2008. Review of Over-the-counter Treatments for Aphthous Ulceration and Results from Use of a Dissolving Oral Patch Containing Glycyrrhiza Complex Herbal Extract. *J Contemp Dent Pract*. 3(9):088-098.

Carvalho FB, Andrade AS, Rasquin LC. 2015. Effect of laser (λ 660 nm) and LED (λ 630 nm) photobiomodulation on formocresol-induced oral ulcers: a clinical and histological study on rodents. *Lasers Med Sci* . 30(14): 389–396.

Cavalcante GM, Paula RJ, Souza LP, Souza FB, Mota MR, Alves AP. 2011. Experimental

model of traumatic ulcer in the cheek mucosa of rats. *Acta Cir Bras.* 26(3):227-34.

Chavan M, Jain H, Diwan N, Khedkar S, Shete A, Durkar S. 2012. Recurrent aphthous stomatitis: a review. *J Oral Pathol Med* 41(8): 577–583.

Coelho HF, Salvadori G, Rados PV, Magnusson A, Vicz CK, Meurer L. 2015. Topical aloe vera (*aloe barbadensis miller*) extract does not accelerate the oral wound healing in rats. *Phytother. Res.* 29(20): 1102–1105.

Coelho MCOC, Carrazini PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota RAA. 2002. Biopolímero Produzido a Partir da Cana-de-Açúcar para Cicatrização Cutânea, *Acta Cir Bras.* 17(1): 11-13.

Compilato D, Cirillo N, Termine N, Kerr AR, Paderni C, Ciavarella D, Campisi G. 2009. Long-standing oral ulcers: proposal for a new “S-C-D classification system”. *J Oral Pathol Med*, 38 (7): 577–583.

Cordeiro-Barbosa F, Aguiar JLA, Bernardino-Araújo S, Pontes Filho NT. 2012. Use of a gel biopolymer for the treatment of eviscerated eyes: experimental model in rabbits. *Arq. Bras. Oftalmol.* 75 (6): 267–272.

Duarte CM, Quirino MR, Patrocínio MC, Anbinder AL. 2011. Effects of *Chamomilla recutita* on oral wound healing in rats. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 16 (6):716-21.

Eming SA, Krieg T, Davidson JM. 2007. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *J. Invest. Dermatol.* 16 (6):716-21

Felix DH, Luker J, Scully C. 2012. Oral medicine: 1. Ulcers: aphthous and other common ulcers. *Dent Update* 39 (13): 513– 516, 518–519.

Kang MH, Kim BH. 2018. Oral Wound Healing Effects of Acai Berry Water Extracts in Rat Oral Mucosa. *Toxicol. Res.* 80(3): 97-102.

Karavana SY, Sezer B, Guneri P, Veral A, Boyacioglu H, Ertan G, Epstein JB. 2011. Efficacy of topical benzydamine hydrochloride gel on oral mucosal ulcers: an in vivo animal study. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 40 (59): 973–978.

Kovalik AC, Bisetto P, Pochapski MT, Campagnoli EB, Pilatti GL, Santos GSfA. 2014. Effects of an Orabase Formulation with Ethanolic Extract of *Malva sylvestris* L. in Oral Wound Healing in Rats. *J. Med. Food.* 17(5):618-24.

Leão RAS, Assis RC, Caldas SS, Lira MMM, Vasconcelos S. 2014. Effect of sugar cane biopolymer gel injected in rabbit vocal fold. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.* 28 (2): 577–583.

Lemos-Júnior CA, Pinto Junior DS, Lotufo MA, Amorim CG, Silveira FRX. 2005. Análise da cicatrização de lesões traumáticas em língua de ratos com uso da própolis, Omcilon-A em orabase. *Braz Oral Res.* 19 (18):238.

Levin C, Maibach HI. 2002. Topical corticosteroid-induced adrenocortical insufficiency: clinical implications. *Am J Clin Dermatol.* 3(3): 141–147.

Lima AS, Grégio AMT, Tanaka O, Machado M, França B. 2005. Tratamento das ulcerações traumáticas bucais causadas por aparelhos ortodônticos. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial.* 10(5):30-6.

Marques SRB, Lins EM, Aguiar JLA, Albuquerque MCS, Rossiter RO, Montenegro LT, Vieira RJ. 2007. A new vascular substitute: femoral artery angioplasty in dogs using sugarcane

- biopolymer membrane patch – hemodynamic and histopathologic evaluation. *J Vasc Bras.* 6(4):309-15.
- Martins MD, Fernandes KPS, Pavesi VC, França CM, Mesquita RA, Bussadori SK. 2011. Healing properties of papain-based gel on oral ulcers. *Braz J Oral Sci* 10 (20): 120–123.
- Mayer DLB, Lins N, Leal AMC, Lira MMM, Neto SSC. 2014. Middle ear packing materials : comparison between absorbable hemostatic gelatine sponge and sugarcane biopolymer sponge in rats. *BraZ. J of Otorhinol.* 2 (80):237–244.
- Medeiros Júnior MD, Carvalho EJA, Catunda IS, Araújo SB, Aguiar JLA. 2013. Hydrogel of polysaccharide of sugarcane molasses as carrier of bone morphogenetic protein in the reconstruction of critical bone defects in rats. *Acta Cir Bras.* 28 (7): 233- 239
- Murandu M, Webber M, Simms MH, Dealey C. 2011. Use of granulated sugar therapy in the management of sloughy or necrotic wounds: a pilot study. *J Wound Care.* 20(5), 206–216.
- Murray B, McGuinness N, Biagioni P, Hyland P, Lamey PJA. 2015. A comparative study of the efficacy of Aphtheal™ in the management of recurrent minor aphthous ulceration. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 36 (6):123-128.
- Paterson-Beedle M, Kennedy JF, Melo FAD, Lloyd LL, Medeiros V. 2000. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zoogloea* sp. *Carbohydr Polym.* 42: (5) 375-83.
- Peixoto RF, Pereira JS, Nonaka CFW, Silveira EJD, Miguel MCC. 2012. Immunohistochemical analysis of FoxP3+ cells in periapical granulomas and radicular cysts. *Arch. of oral biol.* 57: (4) 1159 – 1164.
- Pieper B. 2003. Nontraditional wound care: A review of the evidence for the use of sugar, papaya/papain, and fatty acids. *J WOCN,* 30(4), 175–183.
- Pramick M, Whitmore SE. 2009. Cushing’s syndrome caused by mucosal corticosteroid therapy. *Int J Dermatol.* 48(1): 100–101.
- Puspasari A, Harijanti K, Soebadi B, Hendarti HT, Radithia D, Ernawati DS. 2018. Effects of topical application of propolis extract on fibroblast growth factor-2 and fibroblast expression in the traumatic ulcers of diabetic *Rattus norvegicus*. *J Oral Maxillofac Pathol.* 22(1):54-58.
- Sinha UK, Gallagher LA. 2003. Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO2 laser, and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in guinea pig oral mucosa. *Laryngoscope* 113(2): 228–236.
- Tarnawski A.S. 2005. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. *Dig Dis Sci.* 20 (50): 24–33.
- Teixeira FMF, Pereira MF, Ferreira NLG, Miranda GM, Aguiar JLA. 2014. Spongy film of cellulosic polysaccharide as a dressing for aphthous stomatitis treatment in rabbits. *Acta Cir Bras.* 29 (4) 231 – 236.
- Wagner VP, Webber LP, Ortiz L, Rados PV, Meurer L, Lameira OA, Lima RR, Martins MD. 2017. Effects of Copaiba Oil Topical Administration on Oral Wound Healing. *Phytother. Res.* 31(8):1283-1288

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados dessa pesquisa, é possível afirmar que o gel do BPCA promove uma resposta clínica e histológica satisfatória, quando utilizado no tratamento de UTO de animais. Ficou demonstrado que o gel, derivado do melaço de cana-de-açúcar, material regional e de baixo valor agregado, tem potencial de trazer benefícios a pacientes portadores de UTO, tendo em vista que não interfere negativamente no tempo de reparo das lesões, e proporciona um conforto maior aos animais. É necessário o seguimento de mais pesquisas utilizando esse material no tratamento de UTO em humanos.

REFERÊNCIAS

- ABREU, T.C.; LIMA, R. P.; SOUZA, V. S. B.; ALBUQUERQUE, A. V.; VASCONCELOS, B. C. E. The biopolymer sugarcane as filling material of critical defects in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, V. 31, n. 4, p. 53-56, ago. 2016.
- AGUIAR, J.L.A.; LIMA FILHO J.E.C.; COELHO, A.R.B.; CÂMARA NETO, R.D.C.; MELO, F.A.D. Patente Brasileira MU840214-2 (14/05/2004). Disponível em: < <https://gru.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=879680&SearchParameter=PI%201103709-1%20%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=> > Acessado em: 23/04/2017.
- AGUIAR, J. L. A.; LINS, E.; MARQUES, S.; COELHO, A.; ROSSITER, R.; MELO, R. Sugarcane Biopolymer Patch in Femoral Artery Angioplasty on Dogs. **Acta Cirúrgica Brasileira**, V. 22, n. 5, p. 77-81, abr. 2007.
- BURGESS, J.; VAN DER VEM, P.; MARTIN, M.; SHERMAN, J.; HALEY, J. Review of Over-the-counter Treatments for Aphthous Ulceration and Results from Use of a Dissolving Oral Patch Containing Glycyrrhiza Complex Herbal Extract. **Journal of Contemporary Dental Practice**, V. 9, n.11, p. 88-98, set. 2008.
- CAVALCANTE, A. H. M.; CARVALHO, J.R.; CARNEIRO, M. G. Cellulosic Exopolysaccharide produced by *Zoogloea sp* as a film support for trypsin immobilisation. **Biomedical Engineering Journal**. V. 29, n. 4, p. 258-261. ago. 2006.
- CAVALCANTE, G. M.; PAULA, R. J.; SOUZA, L. P.; SOUSA, F. B.; MOTA, M. R.; ALVES, A. P. Experimental model of traumatic ulcer in the cheek mucosa of rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, V. 26, n. 8, p. 227-234, abr. 2011.
- CARVALHO, F.B.; ANDRADE, A.S.; RASQUIN, L.C.; Effect of laser (λ 660 nm) and LED (λ 630 nm) photobiomodulation on formocresol-induced oral ulcers: a clinical and histological study on rodents. **Lasers in Medical Science**. V. 136, n. 6, p. 119–124, jan. 2015.
- CASTRO, C.M.M.B.; AGUIAR, J.L.A.; MELO, F.A.D.; SILVA, W.T.F.; MARQUES, E.; SILVA, D.B. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, V. 48. n. 5, p. 119-123, ago. 2004.
- CHAVAN, M.; JAIN, H.; DIWAN, N.; KHEDKAR, S.; SHETE, A.; DURKAR, S. Recurrent aphthous stomatitis: a review. **Journal of Oral Pathology e Medicine**, V. 8, n. 7, p. 577–583, jan. 2012.
- COELHO, M. C. O. C.; CARRAZINI, P. G.; MONTEIRO, V. L. C.; MELO, F. A. D.; MOTA, R. A. A. Biopolímero Produzido a Partir da Cana-de-Açúcar para Cicatrização Cutânea. **Acta Cirúrgica Brasileira**. V. 17, n. 4, p. 11–13, jan. 2002.
- COELHO, H. F.; SALVADORI, G.; RADOS, P.V.; MAGNUSSON, A.; VICZ, C.K.; MEURER, L. Topical aloe vera (*aloe barbadensis miller*) extract does not accelerate the oral wound healing in rats. **Phytotherapy Research**, V.29, n.8, p. 601-607, ago. 2015.
- COMPILATO, D.; CIRILLO, N.; TERMINE, N.; KERR, A.R.; PADERNI, C.; CIAVARELLA, D.; CAMPISI, G. Long-standing oral ulcers: proposal for a new “S-C-D classification system”. **Journal of Oral Pathology e Medicine**, V. 38, n. 7, p. 577–583, jan. 2009.

- CORDEIRO-BARBOSA, F.; AGUIAR, J. L. A. L. A.; BERNARDINO-ARAÚJO, S. ; PONTES FILHO, N. T. Use of a gel biopolymer for the treatment of eviscerated eyes: experimental model in rabbits. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, V. 75, n. 6, p. 267– 272, jan. 2012.
- DUARTE, C.M.; QUIRINO, M. R.; PATROCÍNIO, M.C.; ANBINDER, A.L. Effects of Chamomilla recutita (L.) on oral wound healing in rats. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirurgia Bucal**, V. 6, n. 6, p. 716-721, set. 2011.
- EMING, S.A.; KRIEG, T; DAVIDSON, J.M. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. **Journal of Investigative Dermatology**, V. 75, n. 14, p. 512–525, jan. 2007.
- FELIX, D. H.; LUKER, J.; SCULLY, C. Oral medicine: 1. Ulcers: aphthous and other common ulcers. **Dental Update**. V. 39, n. 4, p. 513–516, mai. 2012.
- FILHO, G. B. Bogliolo Patologia: 9. Ed. Rio de Janeiro : Guanabara-Koogan, 2016
- FRANCOLINI, I.; NORRIS, P.; PIOZZI, A.; DONELLI, G.; STOODLEY, P. Usnic acid, a natural antimicrobial agent able to inhibit bacterial biofilm formation on polymer surfaces. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, V. 48, n. 6, p. 360-365, jan. 2004.
- KANG, M.H.; KIM, B.H. Oral Wound Healing Effects of Acai Berry Water Extracts in Rat Oral Mucosa. **Toxicology Research**, V. 3, n. 6, p. 97-102, mar. 2018.
- KARAVANA, S.Y.; SEZER, B.; GUNERI, P.; VERAL A.; BOYACIOGLU, H.; ERTAN, G.; EPSTEIN, J. B. Efficacy of topical benzydamine hydrochloride gel on oral mucosal ulcers: an in vivo animal study. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, V. 40, n. 6, p. 973-978, jan. 2011.
- KOVALIK, A.C.; BISETTO, P.; POCHAPSKI, M.T.; CAMPAGNOLI, E.B.; PILATTI, G.L.; SANTOS, F.A. Effects of an Orabase Formulation with Ethanolic Extract of Malva sylvestris L. in Oral Wound Healing in Rats. **Journal of Medicinal Food**, V. 17, n. 6, p. 618-624, mai. 2014.
- LAMEY, P. J.; LEWS, M. A. O. Manual clínico de medicina oral. Ed. Santos, 2ª ed., 2000.
- LEÃO, R. A. S.; ASSIS, R. C.; CALDAS, S. S.; LIRA, M. M. M.; VASCONCELOS, S. Effect of sugarcane biopolymer gel injected in rabbit vocal fold. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**. V. 80, n. 6, p. 220-225, mar. 2014.
- LEMOES-JÚNIOR, C.A.; PINTO JUNIOR, D.S.; LOTUFO M.A.; AMORIM C.G.; SILVEIRA F.R.X. Análise da cicatrização de lesões traumáticas em língua de ratos com uso da própolis, Omcilon-A e orabase. **Brazilian Oral Research**, V. 19, n. 5, p. 210- 214, mar. 2005.
- LEVIN, C.; MAIBACH, H.I. Topical corticosteroid-induced adrenocortical insufficiency: clinical implications. **American Journal of Clinical Dermatology**, V.3, n. 8, p. 141-147, mar. 2002.
- LIMA, A.S.; GRÉGIO, A.M.T.; TANAKA, O.; MACHADO, M.; FRANÇA, B. Tratamento das ulcerações traumáticas bucais causadas por aparelhos ortodônticos. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**. V.10, n. 8, p. 30-38, mai. 2005.
- LIMA, F. M. T. Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como substituto de dura- máter em ratos Wistar. 2008. 73f. Tese (Doutorado em Cirurgia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2008.
- MADLA, S.; METHACANONB, P.; PRASITSILB, M.; KIRTIKARA, K. Characterization of biocompatible fungi-derived polymers that induce IL-8 production. **Carbohydrate**

polymers, V.59, n. 6, p. 275-280, mai. 2005.

MARQUES, S. R. B.; LINS, E. M.; AGUIAR, J.L.A.; ALBUQUERQUE, M. C.S.; ROSSITER, R.O.; MONTENEGRO, L.T.; VIEIRA, R.J. A new vascular substitute: femoral artery angioplasty in dogs using sugarcane biopolymer membrane patch – hemodynamic and histopathologic evaluation. **Jornal Vascular Brasileiro**, V.6, n. 6, p. 309-315, abr. 2007.

MARTINS, M.D.; FERNANDES, K.P.S.; PAVESI, V.C.; FRANÇA, C.M.; MESQUITA, R.A.; BUSSADORI, S.K. Healing properties of papain-based gel on oral ulcers. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, V.10, n. 4, p. 120-123, abr. 2011.

MAYER, D. L. B.; ARAÚJO, J. G.; LEAL, M. C.; CALDAS NETO, S. S.; ATAÍDE, R. F.; MELLO, R. J. V. Membrana do biopolímero da cana-de-açúcar: avaliação experimental na orelha média. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**. V.77, n. 7, p. 44-50, abr. 2011.

MAYER, D. L. B. ; LINS, N., LEALA, M. C. ; LIRA, M. M. M. ; NETO, S. S. C. Middle ear packing materials : comparison between absorbable hemostatic gelatine sponge and sugarcane biopolymer sponge in rats. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, V.80, n. 8, p. 237-244, abr. 2014.

MEDEIROS JÚNIOR, M.D.; CARVALHO, E.J.A; CATUNDA, I.S.; ARAÚJO, S.B.; AGUIAR, J.L.A; Hydrogel of polysaccharide of sugarcane molasses as carrier of bone morphogenetic protein in the reconstruction of critical bone defects in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, V.28, n. 7, p. 233-239, set. 2013.

MURANDU, M.; WEBBER, M.; SIMMS, M.H.; DEALEY, C. Use of granulated sugar therapy in the management of sloughy or necrotic wounds: a pilot study. **Journal of Wound Care**, V.20, n.5, p. 206–216, abr. 2011.

MURRAY, B.; MCGUINNESS, N.; BIAGIONI, P.; HYLAND, P.; LAMEY, P.J. A comparative study of the efficacy of Aphtheal™ in the management of recurrent minor aphthous ulceration. **Journal of Oral Pathology e Medicine**, V.34, n. 9, p. 413-423, jan. 2015.

OLIVEIRA, B.V.; BARROS SILVA, P.G.; NOJOSA, J.S.; BRIZENO, L.A.C.; FERREIRA, J.M.; SOUSA, F.B.; MOTA, M.R.L.; ALVES, A.P.N.N. TNF-alpha expression, evaluation of collagen, and TUNEL of Matricaria recutita L. extract and triamcinolone on oral ulcer in diabetic rats. **Journal of Applied Oral Science**, V.24, n. 13, p. 278-290, mar. 2015.

PATERSON-BEEDLE, M.; KENNEDY, J. F.; MELO, F. A. D.; LLOYD, L. L.; MEDEIROS, V. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zoogloea* sp. **Carbohydrate Polymers**. V.42, n. 9, p. 375-383, jan. 2000.

PAULO FILHO, W.; RIBEIRO, J. E.; PINTO, D.S. Safety and efficacy of Eupatorium laevigatum paste as therapy for buccal aphthae: randomized, double-blind comparison with triamcinolone 0.1% orabase. **Advances in therapy**, V.32, n. 4, p. 375-378, jul. 2000.

PEREIRA, A. M. Avaliação histológica da reação tecidual do fio de sutura à base de biopolímero de cana-de-açúcar comparado com o adesivo tecidual etil-cianoacrilato e o Mononylon 5-0[®]: estudo em ratos. 2009. 43f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2009

PEIXOTO, R. F.; PEREIRA, J.S.; NONAKA, C.F.W.; SILVEIRA, E.J.D.; MIGUEL, M.C.C. Immunohistochemical analysis of FoxP3+ cells in periapical granulomas and radicular cysts. **Archives of oral biology**. V.57, n. 6, p. 159-164, jul. 2012.

- PIEPER, B. Nontraditional wound care: A review of the evidence for the use of sugar, papaya/papain, and fatty acids. **Journal of Wound Care**, V.10, n.2, p. 175–183, abr. 2003.
- PRAMICK, M.; WHITMORE, S.E. Cushing's syndrome caused by mucosal corticosteroid therapy. **Journal International of Dermatology**. V.48, n. 5, p. 100-104, jul. 2009.
- PUSPASARI, A.; HARIJANTI, K.; SOEBADI, B.; HENDARTI, H.T.; RADITHIA, D.; ERNAWATI, D.S. Effects of topical application of propolis extract on fibroblast growth factor-2 and fibroblast expression in the traumatic ulcers of diabetic *Rattus norvegicus*. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, V.22, n. 5, p. 54-58, jan. 2018.
- RIBERO, C.M.B.; JÚNIOR, V.A.S.; NETO, J.C.S.; VASCONCELOS, B.C.E. Estudo clínico e histopatológico da reação tecidual às suturas interna e externa dos fios monofilamentares de nylon e poliglecaprone 25 em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, V.20, n. 5, p. 64-68, abr. 2005.
- SINHA, U.K.; GALLAGHER, L.A. Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO2 laser, and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in guinea pig oral mucosa. **Laryngoscope**, v. 36, n. 8, p. 228 –236, dez. 2003.
- TARNAWSKI, A.S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 5, n. 8, p. 24 –33, jan. 2005.
- TEIXEIRA, F.M.F.; PEREIRA, M.F.; FERREIRA, N.L.G.; MIRANDA, G.M.; AGUIAR, J.L.A; Spongy film of cellulosic polysaccharide as a dressing for aphthous stomatitis treatment in rabbits. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 24 –27, jan. 2014.
- WAGNER, V.P.; WEBBER, L.P.; ORTIZ, L.; RADOS, P.V.; MEURER, L.; LAMEIRA, O. A.; LIMA, R.R.; MARTINS, M.D. Effects of Copaiba Oil Topical Administration on Oral Wound Healing. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 6, p. 283 –288, jan.

ANEXO A - NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA *PHYTOTHERAPY RESEARCH*

Author Guidelines

Phytotherapy Research is a monthly, international journal for the publication of original research papers, short communications, reviews and letters on medicinal plant research. Key areas of interest are pharmacology, toxicology, and the clinical applications of herbs and natural products in medicine, from case histories to full clinical trials, including studies of herb-drug interactions and other aspects of the safety of herbal medicines. Papers concerned with the effects of common food ingredients and standardised plant extracts, including commercial products, are particularly welcome, as are mechanistic studies on isolated natural products.

Short communications dealing with the pharmacology and screening of crude or uncharacterised extracts will be considered for publication only if they are clearly of interest to our international readership and are not deemed more suitable for a regional audience.

Phytotherapy Research does not publish agricultural, phytochemical, structure elucidation, quality control or botanical identification papers unless directly pertinent to the pharmacological effects or overall safety of plant based medicines currently in use.

Manuscript Submission. *Phytotherapy Research* operates an online submission and peer review system that allows authors to submit articles online and track their progress via a web interface. Please read the remainder of these instructions to authors and then click <http://mc.manuscriptcentral.com/ptr> to navigate to the *Phytotherapy Research* online submission site.

All papers must be submitted via the online system.

Authors are welcome to submit the names and contact details of up to three suggested reviewers, using the online system. Submission of a manuscript will be held to imply that it contains original unpublished work and is not being submitted for publication elsewhere at the same time.

File types. Preferred formats for the text and tables of your manuscript are *.doc, *.docx and *.rtf. Figures must be provided in *.tiff or *.eps format.

Upon acceptance, authors **must** supply by e-mail to the Production Editor: permission grants, quoting the manuscript code. If the manuscript contains extracts, including illustrations, from other copyright works (including material from on-line or intranet sources) it is the author's responsibility to obtain written permission from the owners of the publishing rights to reproduce such extracts using the Wiley Permission Request Form.

Manuscript Style. The language of the journal is English. Please ensure that your manuscript has been checked by an English language expert if there is concern for grammatical or other errors. All submissions including book reviews must have a title, be double-line spaced with type no smaller than 12 point, and have a margin of 3cm all round. Tables must be on separate pages after the reference list, and not be incorporated into the main text. Figures should be uploaded as separate Image files.

- The **title page** must list the full title, short title of up to 60 characters and names and affiliations of all authors. Give the full address, including email, telephone and fax, of the author who is to check the proofs.
- Include the name(s) of any **sponsor(s)** of the research contained in the paper, along with **grant number(s)**.
- Supply an **abstract** of up to 200 words for all articles. An abstract is a concise summary of the whole paper, not just the conclusions, and is understandable without reference to the rest of the paper. It should contain no citation to other published work.
- Include up to six **keywords** that describe your paper for indexing purposes.
- Authors may suggest up to 3 potential reviewers
- A concise **introduction** is required of the background to the subject, its significance and its relationship to earlier works, with references.
- **Materials and methods** should be presented with clarity and detail. State the original and important findings in the **results**. Illustrate these with figures or tables where necessary but keep these to a minimum.
- **Results and discussion** may be combined as one section. Discuss the principal conclusions drawn from the results and their important implications.
- **Convention on biodiversity.** Authors must indicate that they have obtained authority to access plant samples (other than freely available commercial crops or herbal products) used for research and that this has been authorised by the appropriate agent of the government of the source country as required under the framework of the United Nations Convention on Biodiversity.
- **Botanical aspects.** Plant materials used must be adequately described using the Latin

binomial for the plant, author of the name, plant family, source (e.g. country and region of collection, name of the collector and collection number) means of unambiguous identification (e.g. name and affiliation of expert botanist or the results of comparison with a published monograph and/or authenticated reference specimen). The reference number and place of deposition of a voucher specimen of the plant material must be given. For papers relating to crude plant extracts, the method of extraction and the yield of dried extract as a percentage weight of the starting fresh or dried plant material must also be stated. These should be submitted as short communications (see below).

- **Experimental procedures.** Bioassay data for plant extracts or isolated compounds must be accompanied by data for positive and negative controls. All animal experiments should be conducted in accordance with the UK Animals (Scientific Procedures) Act 1986 and associated guidelines, the EEC Directive of 1986 (86/609/EEC) or the NIH guide for the care and use of laboratory animals (NIH Publication No. 80-23; revised 1978). The Editors will reject papers if there is any doubt about the suitability of the animal procedures used.
- Use Chemical Abstracts nomenclature for chemical names and structures. Use proper or proprietary names with caution. Common acronyms for biomedical names are acceptable but define all others when first mentioned. Define abbreviations when first mentioned and do not use in the title or abstract. Define non-standard units.
- Keep acknowledgements brief and place them at the end of the paper.
- **Original Papers.** These should not exceed five printed pages including a maximum of four figures and/or four tables and 30 references, (where one page comprises 800 words or the equivalent in illustrative and tabular material).
- **Short Communications.** These must be complete, self-contained papers, and not preliminary reports. These should not exceed two printed pages including a maximum of two figures and/or two tables and 10 references. To exceed the limit may delay acceptance or publication of the paper.
- **Reviews and Keynote Lecture Transcripts.** These will usually be written at the invitation of the Editors. Unsolicited reviews and manuscripts based on Conference Keynote Lectures will be welcome but authors wishing to submit these are requested to consult the Editor beforehand, ideally prior to commencement of writing. Reviews should include a Table of Contents and will normally be limited to 10,000 words including

references and should be submitted via the online system.

- **Correspondence.** Items submitted for the **correspondence columns**, which need have no fixed format are intended for constructive comments on published work or for putting forward new ideas and are published at the discretion of the Editors.
- **Pre-Submission English Language Editing** Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://www.blackwellpublishing.com/bauthor/english_language.asp. Japanese authors can also find a list of local English improvement services at <http://www.wiley.co.jp/journals.editcontribute.html>. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.
- **Reference style.** The APA system of citing sources should be used in all submissions. Citations should indicate the author's last name and the date, in parenthesis, within the text of the paper.
- **Journals:** Wright C.W., & Phillipson J.D. (1990). Natural products and the development of selective antiprotozoal drugs. *Phytotherapy Research*, 4(2), 127-139.
- **Books:** Wagner H., & Bladt S. (1996). *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas* (2nd edn). Springer-Verlag: Berlin Heidelberg.
- **Chapters in Books:** Kips R.H. (1985). Environmental aspects. In *Pesticide Application: Principles and Practice*, Haskel PT (ed). Oxford University Press: Oxford; 1-34.
- **Illustrations.** Upload each figure as a separate file in either .tiff or .eps format, with the lead author's name, the figure number and the top of the figure indicated. Compound figures e.g. 1a, b, c should be uploaded as one figure. Tints are not acceptable. Lettering must be of a reasonable size that would still be clearly legible upon reduction, and consistent within each figure and set of figures. Please supply artwork at the intended size for printing, sized to the text width of 84mm/single column, 176mm/double column. Where a key to symbols is required, please include this in the artwork itself, not in the figure legend. All illustrations must be supplied at the correct resolution:

- Black and white and colour photos - 300 dpi
- Graphs, drawings, etc. - 800 dpi preferred; 600 dpi minimum
- Combinations of photos and drawings (black and white and colour) - 500 dpi
- The cost of printing **colour** illustrations in the journal will be charged to the author. If colour illustrations are supplied electronically in either TIFF or EPS format, they **may** be used in the PDF of the article at no cost to the author, even if this illustration was printed in black and white in the journal. The PDF will appear on the *Wiley Online Library* site.
- **OnlineOpen.** OnlineOpen is available to authors of articles who wish to make their article open access. With OnlineOpen the author, their funding agency, or institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in PubMed Central and PMC mirror sites. In addition to publication online via Wiley Online Library, authors of OnlineOpen articles are permitted to post the final, published PDF of their article on a website, institutional repository, or other free public server, immediately on publication.
- **Copyright Transfer Agreement.** If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.
- **For authors signing the copyright transfer agreement.** If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:
- CTA Terms and Conditions
- **For authors choosing OnlineOpen.** If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):
- Creative Commons Attribution License OAA
- Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA
- Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

- To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on WileyAuthor Services and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/CopyrightLicense.html>.
- If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.
- **Further Information.** Proofs will be sent to the author for checking. This stage is to be used only to correct errors that may have been introduced during the production process. Prompt return of the corrected proofs, preferably within two days of receipt, will minimise the risk of the paper being held over to a later issue. Free access to the final PDF offprint of your article will be available via Author Services only (unless otherwise stated). Please therefore sign up for Author Services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers. Reprints of your article and copies of the journal may be ordered. There is no page charge to authors.
- **Authors Resources:** Manuscript now accepted for publication?
- If so, check out our suite of tools and services for [authors](#) and sign up for:
 - Article Tracking
 - E-mail Publication Alerts
 - Personalization Tool
- **PEER Project**
- This journal is participating in the [PEER Project](#), an EU-funded initiative to examine the impact on scholarly journals of depositing accepted manuscripts in web-based repositories. If the corresponding author is based in an EU country, we will deposit the accepted manuscript into a central project repository (DRIVER). The article's availability will be subject to a post-publication embargo. This project has no effect on your rights or obligations under the terms of the copyright agreement pertaining to this journal.

- **Conflict of Interest.** All authors must declare financial/commercial conflicts of interest. Even if there is none, this should be stated in a separate paragraph following on from the Acknowledgements section. This is a mandatory requirement for **all** articles.
- **Guidelines for Cover Submissions**
- If you would like to send suggestions for artwork related to your manuscript to be considered to appear on the cover of the journal, please follow these general guidelines.
- **Video Abstracts**
- Bring your research to life by creating a video abstract for your article! Wiley partners with Research Square to offer a service of professionally produced video abstracts. Learn more about video abstracts at www.wileyauthors.com/videoabstracts and purchase one for your article at <https://www.researchsquare.com/wiley/> or through your Author Services Dashboard. If you have any questions, please direct them to videoabstracts@wiley.com.

ANEXO B - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 12 de julho de 2018.

Ofício nº 58/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Gustavo Pina Godoy**
Centro de Ciências da Saúde
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº0010/2018

Certificamos que a proposta intitulada "**Efeitos do Gel de Biopolímero de Cana-de-Açúcar no Reparo Tecidual de Úlcera Traumática Oral: Estudo Experimental.**" Registrada com o nº **0010/2018** sob a responsabilidade de **Prof. Gustavo Pina Godoy** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 04/07/2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	13/07/2018 a 30/11/2018
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogenico
Nº de animais	24
Peso/Idade	250-300g/ 2 meses
Sexo	(24) Macho
Origem	Biotério do núcleo Experimental da UFPE

Atenciosamente,

Prof. Sebastião R. F. Silva
Vice-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691

