



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TALITA GISELLY DOS SANTOS SOUZA

**ÓLEO FIXO DO *Syagrus coronata*: SEGURANÇA DO USO, REPARO TECIDUAL
EM FERIDA BUCAL E ATIVIDADE ANTIMUTAGÊNICA**

Recife

2020

TALITA GISELLY DOS SANTOS SOUZA

**ÓLEO FIXO DO *Syagrus coronata*: SEGURANÇA DO USO, REPARO TECIDUAL
EM FERIDA BUCAL E ATIVIDADE ANTIMUTAGÊNICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Produtos Naturais

Orientador: Prof^a. Dr^a. Márcia Vanusa da Silva

Coorientador: Prof^o. Dr^o. Cristiano Aparecido Chagas

Recife

2020

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Souza, Talita Giselly dos Santos

Óleo fixo do *Syagrus coronata*: segurança do uso, reparo tecidual em ferida bucal e atividade antimutagênica / Talita Giselly dos Santos Souza - 2020.

105 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Márcia Vanusa da Silva

Coorientador: Cristiano Aparecido Chagas

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Recife, 2020.

Inclui referências e anexo.

1. Plantas medicinais 2. Segurança toxicológica 3. Cicatrização
I. Silva, Márcia Vanusa da (Orientadora) II. Chagas, Cristiano
Aparecido (Coorientador) III. Título

615.3 CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2021-016

TALITA GISELLY DOS SANTOS SOUZA

**ÓLEO FIXO DO *Syagrus coronata*: SEGURANÇA DO USO, REPARO TECIDUAL
EM FERIDA BUCAL E ATIVIDADE ANTIMUTAGÊNICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 17/02/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Márcia Vanusa da Silva (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Thayza Christina Montenegro Stamford (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Elizabeth Arruda Carneiro Ponzi (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Alice Valença Araújo (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho aos meus queridos e amados avós (*in memoriam*), que sempre me serviram de inspiração.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que sempre me deu sabedoria e força para conquistar meus objetivos e chegar até aqui. Por ter sido meu refúgio nos momentos difíceis e o caminho correto nas incertezas.

Aos meus pais, Ednaldo Souza e Jedisía Silva, e ao meu irmão Saulo Souza, pelo apoio, por estarem sempre presentes, me aconselharem, por me incentivarem nos momentos mais complicados.

Aos meus tios, primos, avós (*in memoriam*), todos os familiares que de alguma forma contribuíram para essa conquista.

A Emmanoel Matos, que sempre foi um grande companheiro nos momentos difíceis. Obrigada por me aguentar nos dias de ansiedade, cansaço e tensão. As demais pessoas que estão comigo desde o início dessa jornada ou que passaram por ela e contribuíram de alguma forma. Em especial a Lucas, Adam, Gabriel, Diogenis, Palloma e Nana, sou muito grata por tudo.

À prof^a Dr^a Marcia Vanusa, a qual tenho imenso respeito e admiração. Obrigada por me acolher em seu grupo de pesquisa, pelos seus ensinamentos e disponibilidade.

Ao prof. Dr. Cristiano Chagas, com quem tive a oportunidade de conviver e estabelecer um vínculo científico bastante consistente. Sou grata por todo apoio, conselhos, pela paciência, por me acompanhar e ensinar praticamente tudo que sei desde o tempo de graduação. É um profissional que inspira seus alunos pela sua sabedoria, competência, dedicação e humildade.

À professora Dr^a Elizabeth Ponzi, pelo seu carinho, amizade, incentivo, apoio e orientação durante a graduação de Odontologia. Tenho muita admiração pela forma que você cuida dos seus orientandos e se dedica a sua vida profissional com tanto amor e simplicidade.

Ao Dr. Alexandre Gomes Silva, por toda disponibilidade e orientação desde a seleção do doutorado até o início desta pesquisa.

Ao professor Dr. Francisco Amanajás, por sua contribuição durante a fase experimental deste trabalho.

Aos meus queridos colegas de laboratório: Alexandre, Eduarda, Jaqueline, Pedro, Luiza, Geise, Anna Carolina, Lucas e George, por toda ajuda durante os dias exaustivos de experimento, pela amizade que foi construída, pelos conselhos e

boas risadas que deixaram o laboratório mais leve e prazeroso para trabalhar. Além dos colegas que também estiveram presentes e contribuíram em alguma fase de desenvolvimento deste trabalho (Marlyn, Danielle, Tamires, Allison).

A UFPE/CAV por toda a infraestrutura e recursos que utilizamos no desenvolvimento desta pesquisa, além do departamento de Bioquímica em Recife e ao Curso de Odontologia por todo conhecimento e momentos de aprendizado vividos.

A todos os Professores e Coordenadores do curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas pela oportunidade de aprendizagem.

À Cooperativa de Produção da Região do Piemonte da Diamantina (COOPES) por disponibilizar o óleo de licuri para análise.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar a segurança do consumo do óleo fixo do *Syagrus coronata* (licuri), além de verificar seu potencial antioxidante, cicatrizante, antígeno tóxico e antimutagênico *in vivo*. O óleo fixo utilizado foi disponibilizado pela Cooperativa de Produção da Região do Piemonte da Diamantina. Na análise química observou-se predominância de ácidos graxos saturados, sendo o ácido láurico o composto majoritário. Para a análise de segurança, no teste de citotoxicidade, o óleo não inibiu o crescimento das três linhagens de células analisadas (HEK-293, J774.A1 e Sarcoma-180). No ensaio de toxicidade oral, foi identificado através da análise bioquímica redução da glicose, ureia e proteínas totais nos grupos tratados com óleo. Na histomorfometria, células endoteliais do fígado apresentaram alterações, no entanto essas alterações não comprometeram a saúde dos animais. Não foi evidenciado efeitos de genotoxicidade, uma vez que o teste de micronúcleo e ensaio cometa não identificaram danos significativos no DNA. Diante da segurança observada, foi verificado o potencial cicatrizante do óleo fixo do licuri isolado e associado à laserterapia de baixa intensidade em lesões no ventre da língua de ratos. Os resultados mostraram que o óleo tanto isolado quando associado à laserterapia possui um efeito anti-inflamatório, além de auxiliar na proliferação de fibroblastos e fibras colágenas, contribuindo para o reparo tecidual. No teste de antioxidante, os métodos de DPPH e ATT demonstraram baixa atividade do óleo. Na avaliação antígeno tóxica e antimutagênica, os animais foram submetidos a danos genéticos através de uma injeção intraperitoneal de ciclofosfamida, então se realizou um pré-tratamento e tratamento simultâneo com o óleo fixo do licuri. Evidenciou-se efeito antígeno tóxico no pré-tratamento para fígado, sangue, rim e encéfalo, já no tratamento simultâneo apenas para sangue e fígado. Na análise antimutagênica, verificou redução significativa na mutação genética em todos os tratamentos. Conclui-se que, em nossas condições experimentais, o óleo fixo do licuri é seguro para consumo, além de apresentar resultados promissores no reparo de tecidos e proteção à danos no DNA. No entanto, é importante que mais estudos sejam realizados, garantindo o uso seguro do óleo e verificando seus efeitos biológicos a fim de gerar novas fontes de terapias para auxiliar nos tratamentos de doenças.

Palavras Chaves: Segurança toxicológica. Cicatrização. Antimutagênico. Plantas medicinais. Caatinga.

ABSTRACT

The objective of this work was to analyze the safety of consumption of *Syagrus coronata* (licuri) fixed oil, in addition to checking its antioxidant, healing, antigenotoxic and antimutagenic potential in vivo. The fixed oil used was made available by the Diamantina Piemonte Region Production Cooperative. In the chemical analysis, a predominance of saturated fatty acids was observed, with lauric acid being the major compound. For the safety analysis, in the cytotoxicity test, the oil did not inhibit the growth of the three cell lines analyzed (HEK-293, J774.A1 and Sarcoma-180). In the oral toxicity test, a reduction in glucose, urea and total proteins was identified through biochemical analysis in the groups treated with oil. In histomorphometry, liver endothelial cells showed changes, however these changes did not compromise the animals' health. There was no evidence of genotoxicity effects, since the micronucleus test and comet assay did not identify significant DNA damage. In view of the observed safety, the healing potential of the isolated licuri oil isolated and associated with low-level laser therapy in lesions in the belly of the tongue of rats was verified. The results showed that the oil, both isolated and associated with laser therapy, has an anti-inflammatory effect, in addition to assisting in the proliferation of fibroblasts and collagen fibers, contributing to tissue repair. In the antioxidant test, the DPPH and ATT methods demonstrated low oil activity. In the antigenotoxic and antimutagenic evaluation, the animals were subjected to genetic damage through an intraperitoneal injection of cyclophosphamide, then a pretreatment and simultaneous treatment with fixed licuri oil was performed. An antigenotoxic effect was evidenced in the pre-treatment for liver, blood, kidney and brain, while in the simultaneous treatment only for blood and liver. In the antimutagenic analysis, there was a significant reduction in the genetic mutation in all treatments. It is concluded that, in our experimental conditions, the licuri oil is safe for consumption, in addition to presenting promising results in tissue repair and protection against DNA damage. However, it is important that further studies are carried out, ensuring the safe use of oil and verifying its biological effects in order to generate new sources of therapies to assist in the treatment of diseases.

Key words: Toxicological safety. Healing. Antimutagenic. Medicinal plants. Caatinga.

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura		Pág.
Figura 1 –	Mapa indicando os biomas brasileiros, com realce ao domínio da caatinga.....	16
Figura 2 –	Palmeira da espécie <i>Syagrus coronata</i> , pertencente à família <i>Arecaceae</i>	18
Figura 3 –	<i>Fruto do Syagrus coronata (licuri)</i>	19
Figura 4 –	Produtos gerados a partir do <i>Syagrus coronata</i>	21
Figura 5 –	Características físico-químicas do óleo extraído da amêndoa da palmeira <i>S. coronata</i>	23
Figura 6 –	Composição de ácidos graxos presentes no óleo extraído da amêndoa do <i>S. coronata</i>	23
Figura 7 –	Comprimento de onda de lasers e seus espectros	29
Artigo 1		
Figura 1 –	Classificação visual dos danos no DNA dos nucleoides de acordo com a quantidade e tamanho de fragmentos no arrastro	40
Figura 2 –	Eritrócitos normocromáticos (seta vermelha) e eritrócito policromático micronucleado (asterisco amarelo)	41
Figura 3 –	Cromatograma de íon total típico (TIC) da amostra de óleo do <i>Syagrus coronata</i>	43
Figura 4 –	Percentual de viabilidade de células HEK-293, J774A.1 e S-180	44
Figura 5 –	Análise histomorfométrica do rim, fígado e baço	46
Figura 6 –	Resultados dos testes de micronúcleo e ensaio cometa <i>in vivo</i>	48
Artigo 2		
Figura 1 –	Procedimento cirúrgico para confecção da ferida em ventre de língua de rato	60
Figura 2 –	Densidade de células inflamatórias, de acordo com cada	64

	tratamento, no tecido cicatricial coletado no pós-operatório de 3, 5 e 7 dias	
Figura 3 –	Fotomicrografias dos grupos evidenciando o infiltrado inflamatório em 3, 5 e 7 dias pós-operatório	65
Figura 4 –	As fotomicrografias apresentam a densidade de fibras colágenas dos 7 grupos estudados no 7º dia pós-operatório	69
Artigo 3		
Figura 1 –	Análise antimutagênica em sangue periférico de camundongos <i>Swiss</i>	86
Figura 2 –	Avaliação do índice de dano, pelo ensaio cometa, no rim, sangue, encéfalo e fígado de camundongos <i>Swiss</i> tratados com 2000mg/kg do óleo fixo de lícuri frente a danos causados pela ciclofosfamida (tratamento simultâneo)	87
Figura 3 –	Avaliação da resposta antigenotóxica do encéfalo, rim e sangue de camundongos <i>Swiss</i> tratados com 2000mg/kg do óleo fixo de lícuri frente a danos causados pela ciclofosfamida (tratamento simultâneo)	88
Figura 4 –	Avaliação da resposta antigenotóxica do fígado de camundongos <i>Swiss</i> tratados com 2000mg/kg do óleo fixo de lícuri frente a danos causados pela ciclofosfamida (tratamento simultâneo)	89

LISTA DE TABELAS

Artigo 1		Pág.
Tabela 1 –	Constituintes de óleo de sementes do <i>Syagrus coronata</i>	42
Tabela 2 –	Avaliação sensorial, motora e comportamental no decorrer de 14 dias após a administração do óleo essencial	44
Tabela 3 –	Massa dos órgãos coletados no 14° dia após a administração oral da droga	45
Tabela 4 –	Análise bioquímica do sangue	46
Tabela 5 –	Análise histomorfométrica do Rim, Fígado e Baço.....	47
 Artigo 2		 Pág.
Tabela 1 –	Densidade de células inflamatórias, de acordo com cada tratamento no tecido cicatricial coletado no pós-operatório de 3, 5 e 7 dias	63
Tabela 2 –	Densidade de fibroblastos, de acordo com cada tratamento, no tecido cicatricial coletado no pós-operatório de 3, 5 e 7 dias	67
Tabela 3 –	Densidade de fibras colágenas, de acordo com cada tratamento, no tecido cicatricial coletado no pós-operatório de 3, 5 e 7 dias	68
 Artigo 3		 Pág.
Tabela 1 –	Atividade antioxidante (%) em diferentes concentrações do óleo fixo da <i>S. coronata</i> obtiva pelo método de DPPH e ATT. 85.....	84

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS	15
1.1.1	Objetivo geral	15
1.1.2	Objetivos específicos	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	BIOMA CAATINGA	16
2.2	<i>Syagrus coronata</i> (LICURI)	17
2.2.1	Importância socioeconômica	20
2.2.2	Óleo do <i>S. coronata</i> (licuri)	22
2.3	SEGURANÇA E POTENCIAL TERAPÊUTICO DAS PLANTAS MEDICINAIS	24
2.4	CICATRIZAÇÃO NA MUCOSA ORAL	27
2.5	LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE (LTBI)	28
3	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE, TOXIDADE ORAL AGUDA, GENOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE DO ÓLEO FIXO DA <i>Syagrus coronata</i> (MART.)	32
4	ESTUDO DO ÓLEO FIXO DO <i>Syagrus coronata</i> MAR. (LICURI) ISOLADO E ASSOCIADO À LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE PARA TRATAR FERIDAS EM MUCOSA ORAL DE RATOS	53
5	EFEITO ANTIGENOTÓXICO E ANTIMUTAGÊNICO <i>IN VIVO</i> DO ÓLEO FIXO DA <i>Syagrus coronata</i> (MART.) BECC. CONTRA DANOS INDUZIDOS PELA CICLOFOSFAMIDA	75
6	CONCLUSÃO	96
	REFERÊNCIAS	97
	ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	105

1 INTRODUÇÃO

A caatinga é uma floresta tropical sazonalmente seca que no Brasil está localizada predominantemente na região semiárida do Nordeste, abrangendo partes dos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Minas Gerais, Piauí e Ceará. Apresenta um clima predominante seco, altas temperaturas e uma vegetação xerófila (TABARELLI; VICENTE, 2004; DA SILVA TRENTIN et al., 2011; FRASSON et al., 2012). Acomoda uma rica diversidade de plantas, sendo a Umburana, aroeira, umbu, baraúna, maniçoba, a macambira, o mandacaru, o xiquexique, faceiro, juazeiro e Licuri as espécies mais predominantes desse bioma (GIULIETTI et al., 2004).

A *Syagrus coronata* (Martius) Beccari é uma palmeira pertencente à família Arecaceae, sendo popularmente conhecida como licuri, coqueiro cabeçudo, licurizeiro, ouricuri, nicuri ou urucuri (DRUMOND, 2007; DE LA et al., 2010; BELVISO et al., 2013). Essa palmeira nativa do semiárido se caracteriza por apresentar porte mediano, atingindo cerca de dez metros de altura e 25 cm de diâmetro, e consegue resistir às secas prolongadas, florescer e frutificar. Além disso, apresenta grande importância social, econômica e ecológica para a comunidade (TASSARA, 1996; LORENZI et al., 2004; DRUMOND, 2007).

O licuri é um vegetal totalmente aproveitável, as folhas servem para produção de chapéus, sacolas, espanadores e vassouras; também pode ser retirada a cera para fabricação de papel carbono e graxa para sapatos, móveis e automóveis. O fruto pode ser consumido *in natura*, sendo utilizado como fonte de alimentação principalmente na pecuária, pois apresenta um alto valor nutricional. Da amêndoa é extraído o óleo, que é consumido e comercializado pela população local (LORENZI et al., 1996; DRUMOND, 2007; MELO et al. 2016; RODRIGUES, 2018).

Estudos realizados com o óleo de licuri mostraram características físico-químicas promissoras, os quais identificaram um alto teor de ácidos graxos saturados, tendo predominância do ácido láurico, mirístico e caprílico (YABUUCHI et al., 2006; IHA et al., 2014). Pesquisas realizadas com o óleo e os ácidos graxos isolados mostraram atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (NASCIMENTO, 2013), *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Yersinia enterocolitica* (SKŘIVANOVÁ et al., 2005), frente a *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus aureus* e *Candida albicans*

(BASTOS, 2017), além de atividade antioxidante (MIRANDA, 2011; BAUER et al., 2013), larvicidas e ovicidas em *Aedes aegypti* (SANTOS et al., 2017).

Apesar da literatura descrever a ação do óleo frente a alguns microrganismos patogênicos, ainda se sabe pouco em relação ao seu mecanismo de ação e potencial terapêutico. Na medicina popular era usado de forma empírica e passado para as gerações como tratamento para dores na coluna, inflamação ocular, feridas e micoses. Em vista da sua ampla utilização e pouca informação científica, torna-se importante o desenvolvimento de pesquisas para ampliar os conhecimentos do óleo fixo de licuri, visto que ele é utilizado pela população rotineiramente, seja na alimentação ou como recurso terapêutico (RUFINO et al., 2008; OLIVEIRA, 2013).

À vista disso, torna-se importante estudos que atrelem o conhecimento popular ao científico e descubram novas substâncias naturais com propriedades terapêuticas, possibilitando o crescimento da indústria farmacêutica (VILLAS BÔAS; GADELHA, 2007). Sabe-se que os pesquisadores da área de produtos naturais mostram-se cada vez mais interessados em ampliar os conhecimentos biológicos sobre plantas medicinais, principalmente no Brasil que há uma grande riqueza de recursos naturais, no entanto, a maior parte dessa riqueza biotecnológica ainda não é conhecida ou não são utilizadas (VIEIRA et al., 2010; SIMÕES et al., 2010).

Desta forma, levado que as substâncias naturais apresentam uma ampla diversidade molecular que precisa ser explorada, torna-se essencial estudos que analisem o potencial fitoquímico, toxicológicas e aspectos farmacológicos dessas substâncias, como o óleo de licuri, com o intuito de desenvolver possíveis terapias para a saúde do homem.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a toxicidade e genotóxicidade do óleo fixo de *Syagrus coronata* (Mart.) Becc e seus efeitos biológicos

1.1.2 Objetivos específicos

- Realizar a análise química do óleo fixo da *Syagrus coronata* (Mart.) Becc;
- Analisar a segurança do uso óleo fixo de licuri frente às linhagens celulares; saudáveis (HEK-293 e J774.A1) e também na linhagem tumoral primária(S-180);
- Avaliar a toxicidade aguda *in vivo*;
- Verificar a genotoxicidade e mutagenicidade *in vivo*;
- Avaliar a atividade antioxidante;
- Investigar a capacidade antigenotóxica e antimutagênica *in vivo*;
- Averiguar o potencial cicatrizante do óleo fixo do licuri em cavidade oral de ratos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A CAATINGA

A Caatinga ocorre exclusivamente no Brasil, ocupando cerca de 10% do território do país (844.453 Km²), abrangendo Piauí, Ceará, Maranhão, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Norte de Minas Gerais (figura 1) (IBGE, 2004). Apresenta um clima predominantemente seco, caracterizado por uma vegetação xerófila decorrente de longos períodos de seca e altas temperaturas (menos de 800mm de precipitação/ano) (FERNANDES; DE QUEIROZ, 2018).

Seu nome é de origem Tupi-Guarani e significa floresta branca, caracterizando bem os aspectos da vegetação na estação seca, quando as folhas caem (PRADO, 2003), por isso também é conhecida como -Mata branca, por apresentar-se sem folhas neste período. O clima é considerado semiárido devido às massas de ar secas e estáveis na região (LEAL; TABARELI; SILVA, 2005).

Figura 1 – Mapa indicando os biomas brasileiros, com realce ao domínio da caatinga.



Fonte: Acervo de mapas do Ministério do meio ambiente. Disponível em:

<<https://www.mma.gov.br/estruturas/203/arquivos/mapasbsicoscaatinga.pdf>>. Acesso em 15 de janeiro de 2020.

A região semiárida nordestina, devido ao clima de seca prolongada com altas temperaturas, apresenta uma vegetação principalmente de árvores baixas, troncos

tortuosos, arbustos ramificados, plantas sem folhagem e com aspecto seco (FERNANDES; DE QUEIROZ, 2018). No entanto, em períodos chuvosos verifica-se árvores e arbustos com floração, por isso de uma forma geral o bioma apresenta uma vegetação sazonal (TRENTIN et al., 2011; FERNANDES; DE QUEIROZ, 2018).

Apresenta uma ampla biodiversidade na fauna e flora, sendo considerada alvo frequente de estudos com plantas e animais vertebrados e invertebrados (LEAL, TABARELLI; SILVA, 2005). Segundo Giulietti et al. (2004) já foi identificada a existência de 510 gêneros e 5.344 espécies de plantas vasculares, dentre os quais 18 gêneros e 318 espécies são consideradas endêmicas, por isso ela é caracterizada como a região como uma das grandes áreas de maior biodiversidade no Brasil. Algumas das espécies vegetais mais comuns encontradas são: a umburana, aroeira, umbu, a baraúna (braúna), maniçoba, a macambira, o mandacaru, o xiquexique, Licuri, faceiro e juazeiro (DA SILVA TRENTIN et al., 2011).

Devido à grande biodiversidade na vegetação da caatinga, estas plantas são amplamente encontradas e utilizadas para o tratamento de diversas doenças pelas comunidades locais (GOMES et al., 2008), sendo considerada como um dos principais biomas fornecedores de recursos naturais para as populações rurais na região semiárida nordestina (DE FREITAS PESSOA et al., 2008). Compostos obtidos de plantas demonstraram propriedades medicinais como atividades anti-inflamatórias, antimicrobiana, cicatrizante e antioxidante (CHANDA; NAGANI, 2010), e estes compostos aparecem essencialmente em algumas famílias de plantas nativas desta região (ALMEIDA et al., 2005).

Vários estudos têm demonstrado a eficácia dos compostos naturais presentes nas plantas com um grande potencial terapêutico (ARCOVERDE, 2015). Sendo assim, mostra-se a importância de explorar, identificar e estudar na biodiversidade substâncias que possam oferecer subsídios para o desenvolvimento de novas drogas que auxiliem na prevenção e tratamento de doenças e agravos.

2.2 *Syagrus coronata* (LICURI)

O gênero *Syagrus*, composto por 36 espécies, é quase totalmente restrito à América do Sul, onde ocorrem 30 espécies. Seu nome é derivado do latim e traz como significado –um tipo de palmeira (LORENZI et al., 2004). Sua palmeira, denominada popularmente de Licuri, possui adaptações importantes para sobreviver

em regiões secas e áridas da caatinga, constituindo-se numa espécie de importante relevância ecológica, social e econômica (ROCHA, 2009).

Popularmente é conhecida por Licuri, Ouricuri, Auricuri, Nicuri, coqueiro cabeçudo, e se caracteriza por apresentar porte mediano, atingindo cerca de dez metros de altura e 25 cm de diâmetro à altura do peito. As folhas possuem coloração verde clara, atingem o comprimento de até três metros e se distribuem sempre em cinco fileiras arranjadas comumente numa sequência de espiral ao longo do estipe; além disso, são pinadas e as pinas se dispõem em vários planos (DRUMOND, 2007), das quais são produzidas e comercializadas as ceras advindas de suas folhagens (LORENZI, 2010). Seus frutos são produtos da inflorescência das angiospermas (figura 2) e há variação fenotípica na cor, tamanho e forma, apresentando, geralmente, três camadas: epiderme, mesocarpo e endocarpo (Figura 3) (LOPES, 2007).

Figura 2: Palmeira da espécie *Syagrus coronata*, pertencente à família Arecaceae



A: inflorescência do licuri. B: cacho de frutos do licuri. C: licurizeiro. Figura adaptada retirada da internet: <[https://www.semanticscholar.org/paper/Licuri-Syagrus-coronata-\(Mart.\)-Becc.-Drumond/fbb23b6b3bc1e9718d180b71d97850333f44750f](https://www.semanticscholar.org/paper/Licuri-Syagrus-coronata-(Mart.)-Becc.-Drumond/fbb23b6b3bc1e9718d180b71d97850333f44750f)> Acesso em 15 de jan. de 2020.

Syagrus coronata (Figura 2) foi primeiramente descrita por Martius em 1826, tendo como basinômio *Cocos coronata*. Posteriormente ela passou por algumas modificações na classificação, até que ano de 1916, Beccari fez nova combinação,

inserindo-a no gênero *Syagrus*, designando-a *Syagrus coronata* (Mart.) Becc., fazendo parte da família das *Arecaceae*. (DE MEDEIROS-COSTA, 1982). Com 115 gêneros e 1500 espécies, a subfamília *Arecoideae* é considerada a maior entre a família *Arecaceae* (CREPALDI et al., 2001).

Parte da família *Arecaceae* e da subfamília *Arecoideae*, a espécie *S. coronata* cresce, principalmente, em regiões semiáridas e, no Brasil, sua distribuição geográfica compreende parte dos estados de Minas Gerais, Bahia, Sergipe e Alagoas. A palmeira dá frutos ao longo do ano, porém em março, junho e julho são os meses de melhor produção (NOBLICK, 1986; CREPALDI et al., 2001; BELVISO et al., 2013). Do ponto de vista químico, segundo Nascimento (2013), as plantas dessa família são comumente não cianogênicas. Os alcaloides (ocasionalmente pirimidínicos) e proantocianidinas podem estar presentes nessas espécies.

O fruto (Figura 3) é constituído pela epiderme, superfície externa lisa com coloração variada, do amarelo-claro ao alaranjado, dependendo da maturação; o endocarpo: também chamado de casca, possui cor escura e consistência dura; o mesocarpo: uma polpa fibrosa, geralmente de cor castanha e tem aparência de —palhall; e o albúmen: conhecido como amêndoa, que é comestível e carnosa, apresenta 49% de óleo, 13% de carboidratos e 11% de proteína, além de magnésio, cálcio, ferro, zinco e cobre (CREPALDI et al., 2001; PEREIRA, 2006).

Figura 3 – Fruto do *Syagrus coronata* (licuri)



Coco do licuri (à esquerda); Corte esquemático do fruto para identificar sua constituição (à direita). Figura adaptada retirada da internet: <https://www.ativo.com/nutricao/oleo-saudavel-conhece-o-oleo-de-licuri/>. Acesso em 15 de jan. de 2020.

O fruto é muito consumido pelo gado, que retira a polpa e em seguida ruma a amêndoa, a qual é conhecida como licuri do gado. Esse tipo de fruto não é colhido diretamente da palmeira, mas sim encontrado no pasto após consumo dos ruminantes, desta forma acaba sendo um subproduto, que neste caso não há um controle de qualidade, uma vez que ele pode encontrar-se no pasto há dias, semanas ou meses (RODRIGUES, 2018).

O licurizeiro é uma palmeira que apresenta estratégias importantes de autodefesa para sobreviver no clima semiárido. Na superfície dos seus folíolos existe uma camada de cera que evita a perda de água, mas permite a entrada de raios solares para realização da fotossíntese. Além disso, ela mantém vivo os talos durante 3 a 4 anos após perder as folhas, e na base desses talos ela armazena nutrientes no período chuvoso para usar durante a seca. A água da chuva também é armazenada nas axilas das folhas. Desta forma, o licuri consegue sobreviver por longos períodos sem chuva (DRUMOND, 2007). Segundo Drumond (2007), a resistência apresentada pelo licuri, devido as estratégias de autodefesa, faz com que ela consiga sobreviver as secas, florescer e frutificar durante meses, por isso ela apresenta grande importância socioeconômica na caatinga.

2.2.1 Importância socioeconômica

De uma forma geral todas as partes do licurizeiro são aproveitadas pela população regional para diversos fins, pois, em cada parte do Licuri existem propriedades possíveis de serem transformadas em ingredientes comerciais com potencial de gerar renda. Em vista disso, essa palmeira é conhecida como a —árvore salvadora da vida, e apresenta grande importância socioeconômica nas áreas de ocorrência natural, especialmente naquelas situadas em regiões semiáridas (PEREIRA, 2006).

As folhas do Licuri são fontes de matéria-prima para produzir objetos utilitários e de artesanato, como vassouras, chapéus, cestas, esteiras e espanadores; também podem ser utilizadas na forragem para os animais, na cobertura de construções campestres, paredes e portas (figura 4). As folhas velhas são usadas para confecção de fochos para iluminação noturna ou utilizadas como fonte de energia em fornos domésticos (DRUMOND, 2007). Da folha ainda pode ser extraída a cera,

que é usada na fabricação de papel carbono, graxa para sapatos, móveis e pintura de automóveis (DOS SANTOS et al., 2006).

O fruto do licuri tem grande importância social e econômica para a região, uma vez que envolve a participação da comunidade na época de colheita e processamento de suas sementes. Existe contratação de mão de obra desde a coleta até a venda dos produtos que são comercializados a partir do fruto do licuri; também existem os produtores autônomos, que usam o licuri com fonte de renda familiar (PEREIRA, 2006; BELVISO; et al., 2013).

A determinação da composição nutricional indicou que o fruto é calórico, sendo importante para a subsistência do sertanejo na alimentação do gado, de aves e animais silvestres. Além disso, estudos mostraram a presença de carotenóides, que são compostos que apresentam atividade pró-vitamina A, por isso o consumo do fruto é importante em regiões pobres de países em desenvolvimento que possuem a hipovitaminose A endêmica (CREPALDI et al., 2001).

Análises do fruto também mostram um elevado teor de minerais, os quais podem ser utilizados na fabricação de subprodutos, como: farinha, compotas, sucos, licor, iogurtes, geleias, cervejas, cocadas, entre outros subprodutos (figura 4) (PEREIRA, 2006). Quando verde e aferventado, o fruto fornece amêndoas saborosas para fazer cuscuz, cocada, paçoca, barra de cereal, biscoitos e farinha (DRUMOND, 2007).

Figura 4: Produtos gerados a partir do *Syagrus coronata*



Fonte: Pereira (2006) e figura adaptada retirada da internet: <https://jornaldachapada.com.br/2015/12/03/produtos-derivados-do-licuri-sao-expostos-na-feira-de-agricultura-familiar/> <https://www.ativo.com/nutricao/oleo-saudavel-conhece-o-oleo-de-licuri/>. Acesso em 15 de jan. de 2020.

O óleo de Licuri, extraído da amêndoa pela própria comunidade regional, é muito usado na culinária para temperar saladas e outros alimentos. Devido ao grande valor nutricional do óleo, rico em ácidos graxos, ele se tornou um produto importante para estudos e aplicações na utilização como componentes de sabões, cosméticos, tintas e combustíveis (PINHO; OLIVEIRA; SILVA, 2009).

O apelo ambiental mundial tem gerado uma busca incessante por fontes alternativas de combustíveis de vegetais em substituição aos de origem fóssil. Várias fontes de biomassa são testadas e validadas quanto a sua aplicação na obtenção de biodiesel (como milho, mamona e girassol), no entanto a literatura apresenta o óleo de licuri com excelentes características para esse propósito (SANTOS; SANTOS, 2012). Por conta disso, o Licuri também vem despertando grande interesse por parte dos produtores rurais do sertão nordestino em manejar seus povoamentos naturais e até mesmo em estabelecer novos plantios para fins de produção de biodiesel (DRUMOND, 2007).

2.2.2 Óleo do *S. coronata* (Licuri)

O óleo de licuri é obtido com frequência a partir das amêndoas presente no fruto de maneira extrativista pelos moradores e cooperativas na região nordeste. Algumas indústrias fazem a extração do óleo, mas utilizam na produção de cosméticos e saponáceos, para o consumo alimentício e fitoterápico a extração é realizada principalmente pelas cooperativas de forma artesanal (DRUMOND, 2007)

A extração do óleo tem início com a torra das amêndoas, e posteriormente sua prensagem, a qual é constituída de pressão que pode ser realizada a frio ou através de temperatura elevadas (QUEIROGA et al., 2010). Essa extração mecânica pode ser realizada por prensagem contínua ou hidráulica, porém na prensa contínua o rendimento do óleo chega a 50%, obtendo-se um alto teor em óleo e mostrando viabilidade em se trabalhar a amêndoa do licurizeiro (OLIVEIRA, 2013; IHA et al., 2014).

As análises realizadas com o óleo de licuri extraído mostram que suas características físico-químicas encontram-se dentro das normas exigidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, para óleos brutos (Figura 5) (ZAMBIAZI et al., 2007; BELVISO et al., 2013; OLIVEIRA, 2013; IHA et al., 2014). Quanto a sua composição, o óleo apresenta 90% de ácidos graxos saturados, com predominância do ácido láurico, mirístico e caprílico (Figura 6) (IHA et al., 2014). Além dessas, ele

apresenta uma boa estabilidade térmica, fator considerado desejável para sua utilização na fritura (MIRANDA, 2011; BELVISO et al., 2013).

ÓLEO DE OURICURI	
Umidade (%)	0,357
Densidade (kg/m ³)	922
Índice de acidez (mg KOH/g óleo)	1,53
Viscosidade 40 °C (mm ² /s)	27,56
Resíduo de carbono (%) m/m	0,19
Entupimento a filtro frio (°C)	5
Rancimat (h)	30
Poder calorífico (J/g)	38600

Figura 5: Características físico-químicas do óleo extraído da amêndoa da palmeira *S. coronata*.

Fonte: Figura adaptada retirada de Oliveira, 2013.

Figura 6: Composição de ácidos graxos presentes no óleo extraído da amêndoa do *S. coronata*.

Ácido graxo	<i>Syagrus coronata</i>
C8:0 (caprílico)	13,0
C10:0 (cáprico)	8,0
C12:0 (láurico)	48,0
C14:0 (mirístico)	14,0
C16:0 (palmítico)	5,0
C18:0 (esteárico)	2,0
C18:1 (Oleico)	7,0
Cadeias saturadas (%)	90,0
Cadeias monoinsaturadas (%)	7,0
Cadeias poli-insaturadas (%)	3,0

Fonte: Figura adaptada retirada de Iha, 2014.

Estudos etnobotânicos apontaram o uso medicinal do Licuri no tratamento de inflamação ocular, micoses, cicatrização de feridas e dores na coluna vertebral (DE MEDEIROS COSTA; DA SILVA; ANDRADE, 2008). No entanto, apesar de sua utilização fitoterápica, é escasso no meio científico trabalhos que analisem o seu potencial biológico, apesar de ele apresentar uma composição e características físico-químicas que são promissoras para possíveis atividades biológicas.

Na literatura existem trabalhos que avaliaram o efeito do óleo, no entanto o objetivo é como fonte de nutrição animal, especialmente em ruminantes. Estes estudos mostraram que usar o óleo de Licuri como suplemento na nutrição animal gera aspectos positivos, como melhora na produção leite em cabras; além disso

existe a descrição do uso dele na fabricação de sabonetes, sendo o melhor óleo brasileiro para esse fim, além de fonte de óleo vegetal em dietas de homens (QUEIROGA et al., 2010).

Com o consumo diário pela população, o óleo de licuri deve despertar a curiosidade de cientistas, já que na crença popular ele possui atividades terapêuticas importantes para saúde humana e muitos desses dados ainda não foram pesquisados (BAUER et al., 2013). Os dados descritos na literatura apresentam capacidade antioxidante (MIRANDA, 2011; BAUER et al., 2013); atividade antimicrobiana (NASCIMENTO, 2013); (SKŘIVANOVÁ; MAROUNEK; DLOUHA; KAŇKA, 2005); larvicidas e ovicidas, bem como efeitos na oviposição de *Aedes aegypti* (SANTOS et al., 2017), além de atuar frente a bactérias promotoras de cáries e outras afecções orais (BASTO, 2017).

Diante do exposto, nota-se que o óleo de licuri apresenta características e composição promissoras para a saúde humana, no entanto, apesar da sua ampla utilização, seu potencial ainda é pouco explorado pelo meio científico. Torna-se assim essencial o desenvolvimento de pesquisas que avaliem o seu potencial fitoquímico, toxicológicas e aspectos farmacológicos, a fim de desenvolver possíveis terapias para a saúde do homem.

2.3 SEGURANÇA E POTENCIAL TERAPÊUTICO DAS PLANTAS MEDICINAIS

Segundo a Organização mundial de saúde (ORGANIZATION, 2002), as plantas medicinais são utilizadas pelo homem para fins alimentícios e terapêuticos. Esse uso medicinal é considerado como uma prática milenar, tendo seu conhecimento difundido intergeracionalmente através da tradição oral. Sua atuação terapêutica está intrinsecamente relacionada pela presença dos metabólitos, que são considerados como a principal fonte de produtos naturais farmacologicamente ativos das plantas (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

O uso de plantas medicinais faz parte da medicina popular constituindo um conjunto de saberes utilizado pelo homem, sendo considerado como um dos principais recursos terapêuticos para o tratamento e prevenção de diversas patologias (RANGEL; BRAGANÇA, 2009), sendo mais utilizados nos países em desenvolvimento. Sua eficácia no tratamento é, em parte, atribuída as observações advindas da população, que colaboram de maneira significativa para a divulgação das características terapêuticas dos vegetais, mas, apesar de possuírem efeitos

terapêuticos relatados na literatura, muitas vezes os constituintes químicos não são totalmente conhecidos (MACIEL et al., 2002).

Desta forma, a descoberta de um produto natural começa com o conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais, então são realizados estudos com o intuito de desenvolver novas substâncias a serem comercializadas e utilizadas para o tratamento de doenças. É a partir de estudos etnobotânicos que a comunidade científica pesquisa os potenciais biológicos e a segurança quanto aos possíveis efeitos tóxicos dessa planta medicinal para a saúde humana (ALMEIDA; ALVES; AMARAL, 2012).

A segurança de um fitoterápico é de extrema importância para a população, visto que o uso de plantas medicinais baseado no conhecimento popular, aliado a ideia de que um produto natural não causa reações adversas, fez com poucos fitoterápicos fossem avaliadas quanto a sua segurança. Por isso, hoje há uma crescente preocupação das autoridades regulatórias com a normatização de medicamentos fitoterápicos (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

A regulamentação das plantas medicinais e seus derivados é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que tem o papel de garantir a segurança do consumidor. Para isso, segue-se a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 48/2004, a qual determina a identificação botânica do vegetal, além de testes e resultados que mostrem a eficácia e segurança que validem as indicações terapêuticas. Para avaliação da segurança e eficácia terapêutica há uma lista de guias para realização de testes de toxicidade pré-clínica e uma de alterações, inclusões e cancelamento pós-registro fitoterápico (ANVISA, 2004; CARVALHO; BALBINO; MACIEL; PERFEITO, 2008). Dentre os testes recomendados, estão a toxicidade aguda, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade.

Testes que avaliem a toxicidade sistêmica aguda são importantes para analisar o potencial de letalidade ou toxicidade de uma substância, assim como é preconizado pela legislação brasileira. Além da letalidade esse teste pode investigar potencial tóxico em órgãos específicos, identificar a toxicocinética e a relação-dose resposta (PURCHASE et al., 1998; BLAAUBOER, 2003; PRIETO; BAIRD et al., 2006). Vários estudos na literatura utilizam esse modelo experimental para análise de produtos naturais (ANDRADE; DA SILVA; CARDOSO, 2014; DA SILVA MANZANO et al., 2016; FERRARI et al., 2019).

Em relação a citotoxicidade, essa avaliação é importante para analisar as atividades tóxicas das plantas frente a diferentes tipos celulares, com o intuito de observar os possíveis danos que podem afetar a célula. Dentre os danos, esse teste consegue contatar a presença de danos metabólicos ou alterações na permeabilidade de membrana, além de verificar a quantidade de células viáveis após exposição (COSTA; MENK, 2000). Algumas pesquisas mostram que esse ensaio é eficaz na identificação tóxica de substâncias naturais (PEREIRA et al., 2018; DA SILVA et al., 2019; HIGA et al., 2019; CARVALHO, 2020).

Dentre os métodos disponíveis para avaliação em Genética Toxicológica *in vivo*, o teste de micronúcleo e o ensaio cometa tem sido bastante empregado e aceito pelas agências reguladoras e comunidade científica (OBE et al., 2002; MATEUCA et al., 2006). Esses bioensaios conseguem detectar substâncias com potencial de causarem lesões no material genético, sendo então conhecidas como genotóxicas (COSTA; MENK, 2000). O ensaio cometa detecta danos mais sutis, os quais o sistema de reparo ainda atua; já o teste de micronúcleo detecta alterações genômicas já estabelecidas, as mutações. Trabalhos realizados em ratos observaram uma correlação entre a frequência dessas mutações e surgimento do câncer, por isso o teste de micronúcleo é considerado um teste pré-cancerígeno (AZEVEDO et al., 2003; REZENDE; PALHAES; CUNHA, 2006).

A partir da segurança estabelecida, as plantas medicinais podem ser utilizadas para fins terapêuticos. Diante da rica disponibilidade de recursos naturais, cresce o interesse em pesquisar os efeitos biológicos desses produtos naturais, tais como o potencial antimicrobiano, antimutagênico, anti-inflamatório, cicatrizante, antioxidante, dentre outros (NOGUEIRA; DUTRA; BOUZADA et al., 2011; CRUZ, 2019; FABRI; MARTINS; TOMINAGA; CASTOLDI; CAMARGO et al., 2019).

Desta forma, segundo Robbers et al. (1996), estudos com produtos naturais são importantes por três motivos: primeiro, a obtenção de fármacos extremamente importantes, os quais dificilmente seriam obtidos via síntese química; segundo, as fontes naturais produzem produtos fornecem compostos que podem ser mais eficazes e menos tóxicos; por fim, os produtos podem servir de protótipo para obtenção de fármacos com atividades terapêuticas semelhantes a dos compostos originais.

2.4 CICATRIZAÇÃO NA MUCOSA ORAL

A mucosa oral foi definida como uma pele modificada, contendo uma camada superficial de tecido epitelial e uma camada subjacente de tecido conjuntivo. Sendo estruturas mais delgadas e menos resistentes que a pele e conservadas úmidas por secreção de glândulas mucosas e serosas ou outras glândulas secretoras, possuindo funções de proteção mecânica (barreira de defesa frente a agentes agressores), sensorial, secreção, digestão e absorção transepitelial (KATCBURIAN, 2012).

O epitélio, em humanos, pode ser queratinizado ou não dependendo da região anatômica, porém no rato ele é todo queratinizado. A camada queratinizada confere proteção à mucosa bucal de agressões mecânicas durante o ato mastigatório (KUCHINSK, 2000). O tecido conjuntivo subjacente é denominado lâmina própria e confere sustentação e nutrição ao epitélio. Comumente a mucosa bucal é foco de injúrias mecânicas, físicas e químicas, havendo a formação de feridas (JUNQUEIRA, 2013).

Ferida é caracterizada pelo rompimento da integridade cutânea (CULLUM et al., 2016). Entendeu-se que é um evento adverso em que há a presença de uma lesão, que acontece a partir de uma interrupção da solução de continuidade da mucosa de tamanho e característica variável, bem como de etiologia diversas: traumática, por intenção, isquemia e mesmo por pressão (BRITO; DE VASCONCELOS GENEROSO; CORREIA, 2013).

O processo de cicatrização tecidual pós-lesão é muito complexo e envolve inúmeros efeitos biológicos, tais como alterações vasculares e celulares, proliferação epitelial, proliferação de fibroblastos, síntese e deposição de colágeno, produção de elastina e proteoglicanos, revascularização e contração de ferida (BUSNARDO; BIONDO-SIMÕES, 2010; BONAPARTE; OLIVEIRA, 2017).

Uma lesão na cavidade oral passa pelos mesmos estágios do processo de reparo que ocorrem, por exemplo, em pele, porém apresentam características que aceleram o processo, tais como: diminuição na resposta inflamatória, melhor controle da angiogênese e rápida reepitelização (CHEN et al., 2010; JOHNSON; FRANCIS; DIPIETRO, 2014).

O reparo tecidual pode ocorrer por primeira ou segunda intenção, com estágios inflamatórios, fibroblástico e remodelador. A fase inflamatória é traduzida pelo aumento na permeabilidade capilar e afluxo de células sanguíneas para a

região da ferida. Durante a segunda fase, os fibroblastos afluem para o local da ferida e são acompanhados por notável proliferação endotelial. A última fase, por sua vez, corresponde à migração epitelial (DE CARVALHO ABREU, 2011; BONAPARTE; OLIVEIRA, 2017).

Na mucosa bucal humana, após a primeira fase de o processo inflamatório, ocorre um desenvolvimento celular característico que é verificado após 3 a 4 dias. Na margem da ferida, há uma concentração de células de limpeza, sendo constituída em sua maior parte de macrófagos. Sob os fagócitos está uma camada de fibroblastos imaturos, flutuando em uma matriz não fibrilar gelatinosa. Entre os vasos sanguíneos estão situados fibroblastos maduros e novos colágenos fibrilares. Esse arranjo de células cria um ambiente que é favorável à angiogênese e deposição de colágeno, e tem sido denominado de módulo de cicatrização da ferida (HUPP; ELLIS; TUCKER, 2015).

De uma forma geral, sabe-se que macrófagos são recrutados por mecanismos quimiotáticos geralmente no final da fase inflamatória aguda, podendo exercer um relevante papel em virtude da sua capacidade de atuação na resposta imune e inflamatória, bem como apresentando um papel de destaque no reparo de tecidos por meio de fagocitose dos resíduos teciduais e células apoptóticas (SICA; MANTOVANI, 2012).

Mesmo sendo um componente da fase proliferativa, a epitelização tem início horas após a instalação da ferida, em que uma única camada celular epidérmica advinda dos bordos da ferida forma uma fina cobertura. Os queratinócitos localizados nos bordos da ferida são as principais células responsáveis pela epitelização da ferida. Para que haja uma adequada epitelização, é necessário que haja um ambiente úmido, nutrição vascular suficiente e um adequado controle bacteriano (MAEDA et al., 2013).

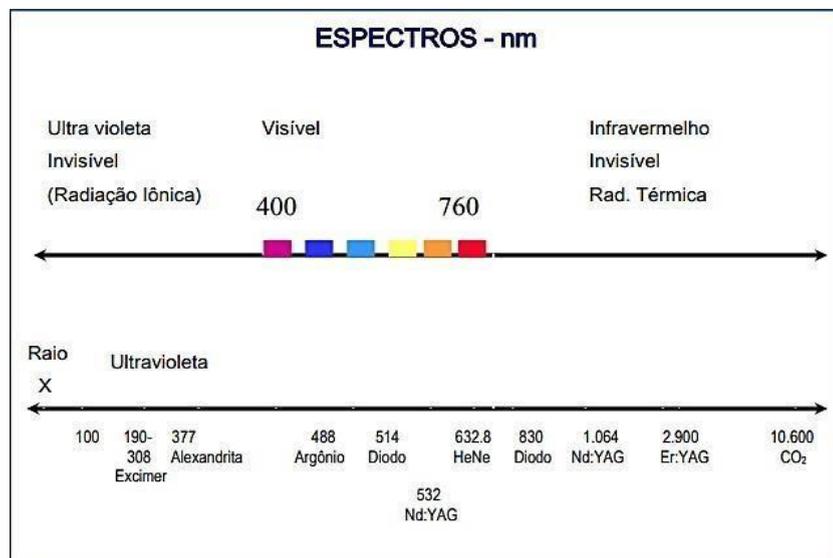
2.5 LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE (LTBI)

O termo laser é um acrônimo para amplificação da luz por uma emissão estimulada de irradiação (MOREIRA, 2011). Segundo Pinheiro (1998), os lasers podem ser classificados conforme sua potência e capacidade de interação com os tecidos, sendo divididos em lasers de alta intensidade (cirúrgicos) e lasers de baixa

intensidade (LBI) (não-cirúrgicos). Além disso, ainda podem ser classificados quanto a forma que emite a radiação, sendo contínuos, pulsáteis e ondas desencadeantes.

Os tipos de equipamentos de laser (alta e baixa intensidade) usados na área da saúde vão desde o comprimento de onda de 488 nm (laser de Argônio) até 10.600 nm (laser de CO₂), como ilustrado na figura 7 (GUTKNECHT; PAULA EDUARDO, 2004). Dentre os LBI mais utilizados na terapêutica, que opera nos espectros da radiação visíveis e invisíveis, se destaca os Hélio-Neônio (HeNe) e de Arsenato de Gálio-Alumínio (GaAIs), também chamado de diodo (BASFORD, 1995; PINHEIRO, 1998). A maioria dos estudos publicados se concentram no efeito dos GaAs e GaAIs, que é um semicondutor que libera energia na forma de fótons e emite um comprimento de onda fora do espectro de luz visível, sendo maior que 760nm, caracterizando uma luz infravermelha (BASFORD, 1995; PINHEIRO et al., 1998; MELO; MELO, 2001; SILVÉRIO-LOPES, 2013) (figura 7).

Figura 7: Comprimento de onda de lasers e seus espectros.



Fonte: Mello, 2006.

Segundo Mercer (1996), as principais características que a terapia a laser apresenta são três, sendo elas: a coerência, todas as ondas possuem o mesmo comprimento, apresentando assim uniformidade da luz; a monocromaticidade, em que a luz é composta por uma única cor, com qualidade de brilho e comprimento de onda específico; e a colimação, que faz com que todas as ondas sempre estejam paralelas entre si e não haja dispersão, sendo capaz de percorrer uma distância longa sem aumentar o diâmetro. (MAILLET, 1987; GENOVESE, 1992; PINHEIRO, et al., 1998; LOW; RED, 2001; BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003).

Diante das características apresentadas por uma laserterapia, cada propriedade, seja separada ou em conjunto, possibilita a aplicação de terapias específicas em diversos tipos celulares, fato que vem contribuindo com grandes resultados na área da saúde, trazendo benefícios importantes para a população (PÖNTINEN, 1992; SOUZA, 2016; LIMA, 2018; DOS SANTOS, 2019).

A resposta estimuladora do laser acontece por ele apresentar baixa densidade de energia e comprimento de onda capaz de penetrar tecidos e interagir com diversos tipos celulares. Segundo Karu (1989), a radiação com luz monocromática, nos espectros azul, vermelho e infravermelho (figura 6), pode aumentar os processos metabólicos celulares e ativar sua proliferação. Por isso, a LTBI tem sido associada a aumento na proliferação de fibroblastos e células epiteliais, além de estimular a atividade fagocitária, produção de colágeno e endorfinas. Assim, pode ser caracterizada como uma terapia que desempenha atividade analgésica, anti-inflamatória e que auxilia no processo de reparo tecidual (MESTER et al., 1971, MESTER et al., 1973, TAKEDA, 1988; BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003; BARROS, 2018; KERPPERS, 2019).

A partir dos excelentes resultados obtidos nas pesquisas, a LTBI começou a ser amplamente utilizada para diversos fins terapêuticos. A literatura apresenta pesquisas que demonstram efeitos proveitoso para saúde humana, como reduzir inflamação, edema e disfunções crônicas de articulações (BJORDAL et al. 2003, CHRISTIE et al. 2007; MEIRELES, 2010); na cicatrização de feridas (GIGO-BENATO et al. 2005, ANDRADE, 2014; SAY, 2019); e no tratamento de dor e distúrbios neurológicos (Chow et al. 2009; MATIAS, 2014; DA SILVA, 2015).

Vale salientar que o mecanismo de ação bioquímico da LTBI ainda não está bem estabelecido, mas estudos mostram efeitos nos níveis molecular, celular e tissular. Existem fortes evidências que essa terapia atua na mitocôndria levando ao aumento da produção de adenosina trifosfato (ATP), além de modulação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e indução de fatores de transcrição (KARU ET AL. 1999; CHEN ET AL. 2011). Desta forma, funções celulares são estimuladas, as quais auxiliam no processo de reparo tecidual, tais como: a ativação de linfócitos e mastócitos (CATÃO, 2004), incrementos da formação de colágeno e precursores (PÖNTINEN, 1992), o efeito modulador na síntese proteica, revascularização, proliferação e na diferenciação celular (ROCHKIND et al., 1989; BASFORD, 1995; PINHEIRO; GERBI, 2006).

Desta forma, pesquisas têm demonstrado eficácia no tratamento com o estímulo a laser para acelerar o reparo de diferentes tecidos (ANDRADE, 2014; CARVALHO, 2016; COSTARDI, 2017; SAY, 2019). No entanto, é importante levar em consideração que o comprimento de onda, a potência, o tipo de tecido e sua capacidade de absorção são fatores decisivos para que o laser auxilie no processo de reparo tecidual (MELLO; MELLO, 2001). Diante disso, a fim de padronizar a LTBI, diversos estudos são realizados para chegar um padrão nas medidas e forma terapêutica de aplicação (CATÃO, 2004; KARU et al. 1999; CHEN et al. 2011).

Artigo 1 – Avaliação da citotoxicidade, toxicidade oral aguda, genotoxicidade e mutagenicidade do óleo fixo da *Syagrus coronata* (Mart.)

Talita Giselly dos Santos Souza^{1,2}; Lucas Felipe de Melo Alcântara²; Marllyn Marques da Silva³; Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior²; Marcia Vanusada Silva¹; Cristiano Aparecido Chagas².

¹ Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil

² Laboratório de Biotecnologia e Fármacos, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil

³ Laboratório de Nanotecnologia, Biotecnologia e Cultura de células, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil

Autor para correspondência:

Cristiano Aparecido Chagas

Núcleo de Ciência Biológicas – CAV/UFPE

Rua Alto do Reservatório, s/n – CEP: 55608-680 - Bela Vista, Vitória de Santo Antão, PE – Brasil.

Fone/Fax: (00 55 81) 35233351

E-mail: chagas.cris@gmail.com

E-mail dos demais autores:

talitagiselly@hotmail.com

lalcantara102@gmail.com

marllynmsilva@yahoo.com.br

famanajas@yahoo.com.br

marciavanusa@yahoo.com.br

RESUMO

Syagrus coronata é uma palmeira nativa da caatinga popularmente conhecida como licuri. Da amêndoa é extraído o óleo, que é consumido pela população na alimentação ou para fins terapêuticos. Apesar de sua ampla utilização pela comunidade, a literatura apresenta poucos estudos em relação a segurança e as atividades biológicas do óleo. Diante disto, o presente trabalho objetivou analisar a toxicidade oral aguda, citotoxicidade e os efeitos genotóxico e mutagênico do óleo fixo do *S. coronata*. A análise química foi feita por CG acoplado com detector por ionização de chama (CG-FID). O teste de citotoxicidade foi realizado em três linhagens celulares, sendo elas HEK-293, J774.A1 e Sarcoma-180. A toxicidade oral foi analisada 14 dias após a administração de 2000mg/kg do óleo de licuri em dose única, via oral. A mesma dose foi utilizada para análise da genotoxicidade pelo ensaio cometa e teste de micronúcleo. Na análise química o óleo mostrou predominância de ácidos graxos saturados, sendo o ácido láurico o composto majoritário. Na atividade citotóxica o óleo não inibiu o crescimento das três linhagens analisadas. Nos testes *in vivo*, não se observou alterações significativas no comportamento e pesos dos animais. Os parâmetros bioquímicos mostraram diminuição da glicose, ácido úrico e proteínas totais, e a análise histomorfométrica mostrou alterações nas células endoteliais do fígado. No entanto, as alterações foram baixas e não qualificam uma hepatotoxicidade, além disso essas células possuem uma alta capacidade de recuperação. No ensaio de genotoxicidade, não foi evidenciado danos significativos no DNA, tanto no ensaio cometa quanto no teste de micronúcleo. Desta forma, em nossas condições experimentais, o óleo do licuri não foi tóxico nem causou danos ao DNA, sendo considerado seguro para consumo. Porém, mais estudos devem ser desenvolvidos para testar a segurança em diferentes doses e períodos de utilização, além de analisar os possíveis efeitos biológicos

Palavras – chave: Licuri; ensaio cometa; teste de micronúcleo; plantas medicinais; segurança toxicológica.

ABSTRACT

Syagrus coronata is a caatinga native palm popularly known as licuri. Oil is extracted from the almond, which is consumed by the population as food or for therapeutic purposes. Despite its wide use by the community, the literature presents few studies regarding the safety and biological activities. In view of this, the present study aimed to analyze acute oral toxicity, cytotoxicity and the genotoxic and mutagenic effects of the fixed oil of *S. coronata*. Chemical analysis was performed by CG coupled with a flame ionization detector (CG-FID). The cytotoxicity test was performed on three cell lines, HEK-293, J774.A1 and Sarcoma-180. Oral toxicity was analyzed 14 days after the administration of 2000mg / kg of licuri oil in a single dose, orally. The same dose was used for analysis of genotoxicity by the comet assay and micronucleus test. In the chemical analysis, the oil showed a predominance of saturated fatty acids, with lauric acid being the major compound. In cytotoxic activity, the oil did not inhibit the growth of the three strains analyzed. In *in vivo* tests, there were no significant changes in the animals' behavior and weights. Biochemical parameters showed a decrease in glucose, uric acid and total proteins, and histomorphometric analysis showed changes in liver endothelial cells. However, the changes were low and do not qualify a hepatotoxicity, in addition, these cells have a high recovery capacity. In the genotoxicity assay, no significant DNA damage was found, either in the comet assay or in the micronucleus test. Thus, in our experimental conditions, licuri oil was not toxic or caused damage to DNA, being considered safe for consumption. However, more studies should be developed to test safety at different doses and periods of use, in addition to analyzing the possible biological effects

Keywords: Licuri; comet assay; micronucleus teste; medicinal plants; toxicological safety.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais pelo homem acontece desde a antiguidade, principalmente como recurso terapêutico para o tratamento de diversas doenças (AZEVEDO; GOMES; STRINGHETA; GONTIJO et al., 2003; TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006). Sua utilização está vinculada fortemente ao fator cultural, sendo também parte de um saber utilizado e difundido ao longo de várias gerações (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006).

Dentre as espécies utilizadas para fins terapêuticos, destaca-se a *Syagrus coronata*, uma palmeira nativa do território brasileiro que apresenta adaptações importantes para sobreviver em regiões secas e áridas da caatinga (NOBLICK, 1986). Essa palmeira, popularmente conhecida como licuri, apresenta grande relevância ecológica, social e econômica na região semiárida, uma vez que praticamente todas as partes da planta são aproveitadas e utilizadas na produção de alimentos e utensílios (DRUMOND, 2007).

O óleo do licuri é extraído da amêndoa, processo que é realizado com frequência de maneira extrativista pelos moradores e cooperativas na região Nordeste do Brasil desde a época colonial (DRUMOND, 2007). Quando analisado quimicamente, identifica-se alto teor de ácidos graxos saturados de cadeia curta e média, sendo maior que os valores encontrados no óleo de coco e de palma (QUEIROGA, 2010). Sua constituição química proporciona uma excelente penetração cutânea, além de se mostrar como promissor no tratamento de doenças (BONDAR, 1942).

Estudos etnobotânicos pontam a utilização do óleo do licuri no tratamento de micoses, dores na coluna vertebral, inflamação ocular e reparo tecidual de feridas (RUFINO et al., 2008; OLIVEIRA, 2013), no entanto é escasso na literatura trabalhos que comprovem essas ações terapêuticas. Um estudo realizado por Bastos (2017) mostrou atividade do óleo fixo contra *Candida albicans*; o óleo essencial do *S. coronata* mostrou capacidade antioxidante (BAUER; DO AMARAL DAMÁSIO; VIANA DA SILVA; DE ANDRADE SANTANA et al., 2013; MIRANDA, 2011), potencial antimicrobiano (SKŘIVANOVÁ; MAROUNEK; DLOUHA; KAŇKA, 2005), além de larvicida e ovicida (SANTOS et al., 2017).

É importante destacar que o uso do óleo como fitoterápico acontece de forma empírica entre a população, e apesar de ser amplamente utilizado no Nordeste brasileiro, não foi encontrado estudos que analisassem a sua biossegurança

(BAUER et al., 2013; OLIVEIRA, 2013). Desta forma, torna-se necessário pesquisas que verifiquem a segurança quando ao consumo ou exposição ao óleo fixo de licuri, identificando suas manifestações tóxicas e genotóxicas, quando existentes, para não causar danos à saúde (MACIEL et. al.,2002).

Dentre os testes preconizado pela legislação brasileira para garantir segurança do uso de plantas medicinais, encontra-se o de toxicidade oral, que consegue identificar letalidade ou toxicidade em órgão específicos; o ensaio de citotoxicidade, o qual tem como objetivo analisar possíveis danos no metabolismo e permeabilidade na membrana plasmática, além da vitalidade celular frente a substância testada; e os bioensaios de genotoxicidade e mutagenicidade, que identificam danos no DNA (BLAAUBOER, 2003; PRIETO; BAIRD et al., 2006; PURCHASE et al., 1998; COSTA; MENK, 2000).

Desta forma, sabendo que o óleo de licuri é amplamente consumido pela população e a literatura não apresentar seus efeitos adversos, torna-se necessário conduzir estudos que avaliam a relação risco e benefício à saúde através de testes de toxicidade e genotoxicidade, a fim de avaliar o nível de segurança induzida pela espécie vegetal. À vista disso, esta investigação teve como objetivo avaliar a citotoxicidade, toxicidade oral aguda, genotoxicidade e atividade mutagênica *in vivo* do óleo fixo do *Syagrus coronata*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização lipídica de óleo de sementes do Syagrus coronata

O óleo do *S. coronata* foi comprado comercialmente através da Cooperativa de Produção da Região do Piemonte da Diamantina (COOPES), localizada no município de Capim Grosso, Bahia – Brasil (11° 22' 54" S 40° 0' 46" O) e armazenado de acordo com as recomendações do fabricante. Para confirmar que o óleo foi produzido a partir dos frutos do licuri, sementes foram coletadas para identificação e posteriormente depositadas no Herbário IPA do Instituto Agronômico de Pernambuco (código 55.147).

A identificação dos compostos presentes no óleo foi realizada por CG acoplado com detector por ionização de chama (CG-FID). Essa análise foi realizada usando um instrumento quadrupolo *Agilent Technology 7890 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA)* equipado com uma coluna capilar de sílica fundida não polar

DB-5 da *Agilent J&W DB-5* (filme de 30 m × 250 µm di; espessura: 0,25 µm) (*Agilent Technologies*, Palo Alto, CA, EUA). Para cada amostra, 1 mL foi injetado no modo dividido (100: 1) com a temperatura do injetor definida em 300 °C. A temperatura do forno de GC foi ajustada para 150 °C, mantida por 4 min, aumentada para 280 °C e mantida por 5 min. O hélio (He) foi usado como gás de arraste a um fluxo de 1 mL/min, mantido a uma pressão constante de 7,0 psi. As temperaturas de FID foi ajustada em 300 °C. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados por uma comparação de seus tempos de retenção com os padrões Nu Chek (*Elysian*, MN) e quantificados porcentagens da área total do pico, conforme registrado pelo CG-FID. As análises foram realizadas em triplicata.

Atividade citotóxica

Duas linhagens de células normais (células embrionárias renais HEK-293, macrófagos J774.A1) e uma linhagem tumoral maligna de sarcoma (células mesodérmica de camundongos S-180) foram usadas para o ensaio de citotoxicidade e foram cultivadas *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) suplementado com soro fetal bovino (10%) e penicilina-estreptomicina (1%) a 37 °C e 5% de CO₂. A forma ascítica da linhagem de células tumorais do Sarcoma 180 foi mantida na cavidade intraperitoneal de camundongos *Swiss (Mus musculus)*. Para avaliar a viabilidade celular, foi conduzido o método do MTT (3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyl tetrazolium bromide) e as células (10⁴ células/mL) incubadas em microplacas de 96 poços por 24 horas (Mosmann 1983). Para avaliar a citotoxicidade, células (10⁶ células/mL) foram incubadas por 24 ou 48 h em microplacas com óleo nas concentrações finais de 200, 100, 50, 25 e 12,25 µg/mL. Após o período de tratamento, foi adicionado 25 µL de solução de MTT (5 mg/mL), e as placas foram incubadas durante 3h. Após a incubação o sobrenadante foi removido e 100 µL de DMSO (Dimethylsulfoxide) foram adicionados. A absorbância foi medida em Leitor de Microplaca (Biotek Elx808) no comprimento de 630 nm. A citotoxicidade foi expressa em viabilidade celular: (A_{bs} da população celular tratada X 100 / A_{bs} da população celular não tratada).

Toxicidade Aguda in vivo

A toxicidade aguda foi realizada de acordo com o guia 423 da OECD (OCDE, 2008). Inicialmente os animais foram separados em dois grupos, um grupo exposto

que foi tratado com o óleo de licuri (2000mg/kg) e outro grupo tratado com água destilada, o controle negativo. Ambos compostos foram administrados por gavagem. Após a administração os animais foram observados nas primeiras duas horas afim de identificar possíveis alterações comportamentais e fisiológicas. Posteriormente foram observados a cada 24 horas durante 14 dias, onde foi realizada a pesagem dos animais e verificado o consumo de água e ração. No décimo quarto dia todos eles foram eutanasiados, feita a coleta do sangue periférico através dos vasos retroorbitais para análise bioquímica. No sangue foram observados o teor de triglicerídeos, albumina, proteínas totais, colesterol, glicose, alanina aminotransferase (ALT-PGP), aspartato transaminase (AST-TGO), ácido úrico e ureia. Foram coletados também, o rim, fígado e baço para pesagem e análise histomorfométrica.

Análise histomorfométrica

Após a eutanásia e coleta dos órgãos, fragmentos do rim, fígado e baço foram armazenados num período de 48 horas em formaldeído neutro tamponado a 10%, em seguida permaneceram no álcool a 80% por 24 horas. Os tecidos foram processados em histotécnico (Desidratados, diafanizados e impregnados em parafina), incluídos em blocos de parafina e cortados em micrótomo (Leica RM2245) na espessura de 4µm e sobrepostos em lâminas untadas com albumina. Por fim, os tecidos foram corados com hematoxilina e eosina e feitas 20 fotomicrografias de cada lamina utilizando uma câmera (Moticam 3000) acoplada ao microscópio óptico (Nikon E-200) e feita a histomorfometria dos tecidos através do *software ImageJ*, versão 1.8.0_112 (*Research Services Branch, US National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA*). No fígado foi analisada a densidade de hepatócitos, células de Kupffer e células endoteliais; no rim foi mensurada a área do glomérulo e do corpúsculo renal em µm²; no baço foi analisado a densidade de polpa branca, polpa vermelha e estroma.

Ensaio de genotoxicidade

Grupos experimentais e coleta de sangue

Foram utilizados 15 camundongos Swiss macho divididos igualmente em três grupos para administração dos tratamentos, sendo eles: Controle negativo (CN) -

água destilada; grupo exposto (OSC) a 2.000mg/kg do óleo de licuri; e o controle positivo (CP) - ciclofosfomadia (25mg/kg – sigma). A administração da ciclofosfamida foi realizada via intraperitoneal, e os demais grupos foram tratados por via oral através de gavagem. Após 48h, os animais foram anestesiados com quetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), por via intraperitoneal, o sangue periférico foi coletado por punção retro-orbital e utilizado para o teste de micronúcleo e ensaio cometa (COLLINS; OSCOZ; BRUNBORG; GAIVÃO *et al.*, 2008). Logo após a coleta de sangue, os animais foram eutanasiados de acordo com o Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE)

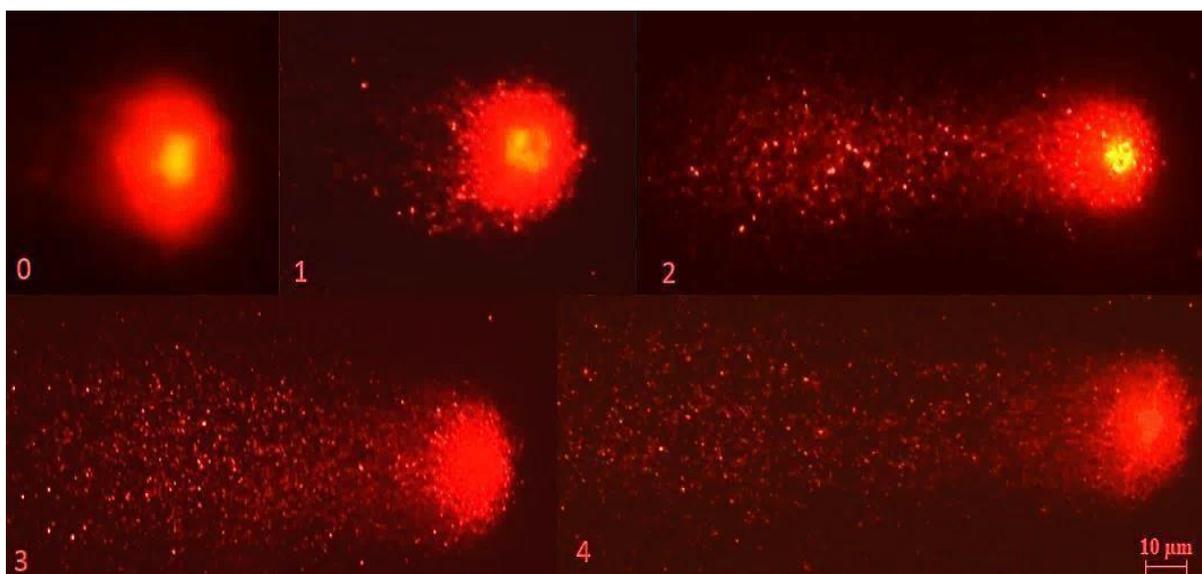
Ensaio cometa (EC)

Seguiu-se o protocolo descrito por UMBUNZEIRO e ROUBICEK (2006), com algumas alterações. Todo procedimento após coleta de sangue foi realizado sob luz vermelha, para evitar danos ao material genético. O sangue coletado por punção retro-orbital foi homogeneizado com agarose "*low melting point*" e depositado em lâminas previamente preparadas com agarose padrão 0,5% p/v em tampão PBS). Estas lâminas foram cobertas com lamínulas e levadas para o refrigerador (temperatura de 4^oC) por 10 minutos. Depois da refrigeração, as lamínulas foram retiradas e as lâminas foram depositadas em cubas com solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM TRIS, 1% Triton X-100, DMSO 10%, com pH 10). Após 48h, as lâminas foram submetidas à eletroforese em uma cuba contendo uma solução de tampão alcalina (1M NaOH e 200 mM EDTA, pH 13) por 20 minutos, com corrente de 300 mA e diferença de potencial de 38V. Em seguida, as lâminas passaram 15 minutos em um tampão de Neutralização (Tris-HCl 0,4 M, pH 7,5), fixadas utilizando etanol 100% e armazenadas no escuro à temperatura ambiente.

Para análise as lâminas foram coradas com 30 µl de brometo de etídio (0,0002%, p / v) e examinadas em microscópio de fluorescência (*Zeiss-Imager*, M2), utilizando o filtro Alexa Fluor 546. Foram analisados 100 nucleoides por animal, com observação da relação entre o comprimento da cauda e o tamanho da cabeça do cometa (COELHO; NETO; SOUZA; SILVA *et al.*, 2018; COLLINS; OSCOZ; BRUNBORG; GAIVÃO *et al.*, 2008; ROCHA; MOURA; SILVA; SOUZA *et al.*, 2019). Cada nucleoide analisado foi classificado em uma de cinco classes: 0 (sem dano); 1 (pouco dano aparente); 2 (dano médio); 3 (dano médio com cauda mais longa); e 4

(dano máximo). Os valores obtidos para cada indivíduo poderiam variar de 0 (totalmente intacta: 100 células x 0) a 400 (com dano máximo: 100 células x 4); este valor calculado é o índice de dano (ID) por animal. Outro parâmetro analisado foi a frequência de danos (FD), que foi calculada de acordo com a porcentagem de todos os nucleoides com algum dano (classe 1 até classe 4) em relação ao total de nucleoides contados (Figura 1) (COLLINS; OSCOZ; BRUNBORG; GAIVÃO *et al.*, 2008).

Figura 1 - Classificação visual dos danos no DNA dos nucleoides de acordo com a quantidade e tamanho de fragmentos no arrastro.

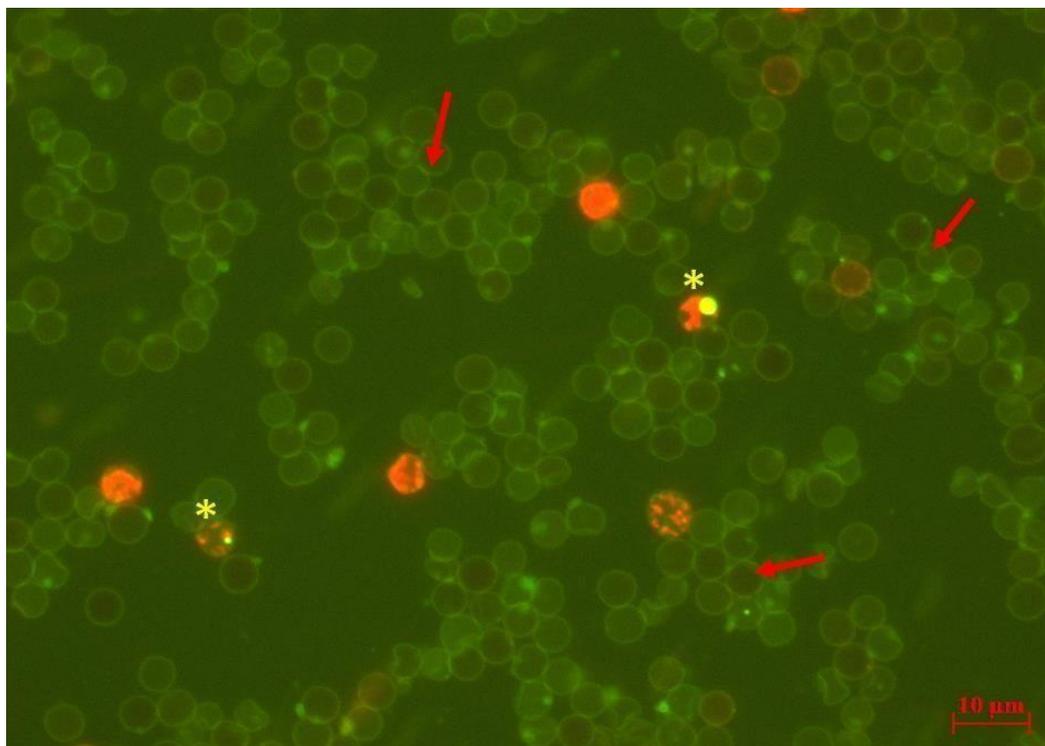


Dano 0 (sem dano); 1 (pouco dano aparente); 2 (dano médio); 3 (dano médio com cauda mais longa); e 4 (dano máximo). Fonte: autor, 2020.

Teste de Micronúcleo (TMN)

Foi realizada a técnica descrita por (HAYASHI; MACGREGOR; GATEHOUSE; BLAKEY *et al.*, 1994). Cinco microlitros do sangue coletado de cada animal foram depositados em lâmina previamente preparada com laranja de acridina (Biotium), posteriormente cobertas com uma lamínula para espalhar uniformemente o material biológico. Foram analisados 2000 eritrócitos policromáticos (PCE) por animal para quantificar a presença de PCE micronucleados (PCEMn) (Figura 2). A análise foi realizada em microscópio de fluorescência Zeiss-Imager M2, utilizando o filtro Alexa Fluor 488 (OECD, 2016).

Figura 2 – Eritrócitos normocromáticos (seta vermelha) e eritrócito policromático micronucleado (asterisco amarelo).



Fonte: autor, 2020.

Análises estatísticas

Os dados da citotoxicidade foram submetidos a o teste ANOVA com correção pelo Bonferroni. Os resultados do peso do animal, peso dos tecidos e análise bioquímica foram expressos como média \pm SD, $p < 0,05$, sendo utilizado o teste ANOVA-Tukey's para comparação entre os grupos testados.

A partir dos dados obtidos na histomorfometria, foi calculado média e desvio padrão para os tipos celulares analisados. Posteriormente realizou-se o teste de normalidade (programa Smirnov Kolmogorov), seguido do teste não paramétrico U de Mann-Whitney (SPSS 15.0 - Statistical Package for the Social Sciences), considerando $p < 0,05$.

Além disso, em todos os ensaios de MN, ID e FD, os grupos OSC e CP foram comparados de modo independente com o grupo CN pelo teste de Wilcoxon. O nível de significância estabelecido em todos os testes foi $p < 0,05$ e o *software R* foi usado para todas as análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Perfil de ácidos graxos de óleo de Syagrus coronata

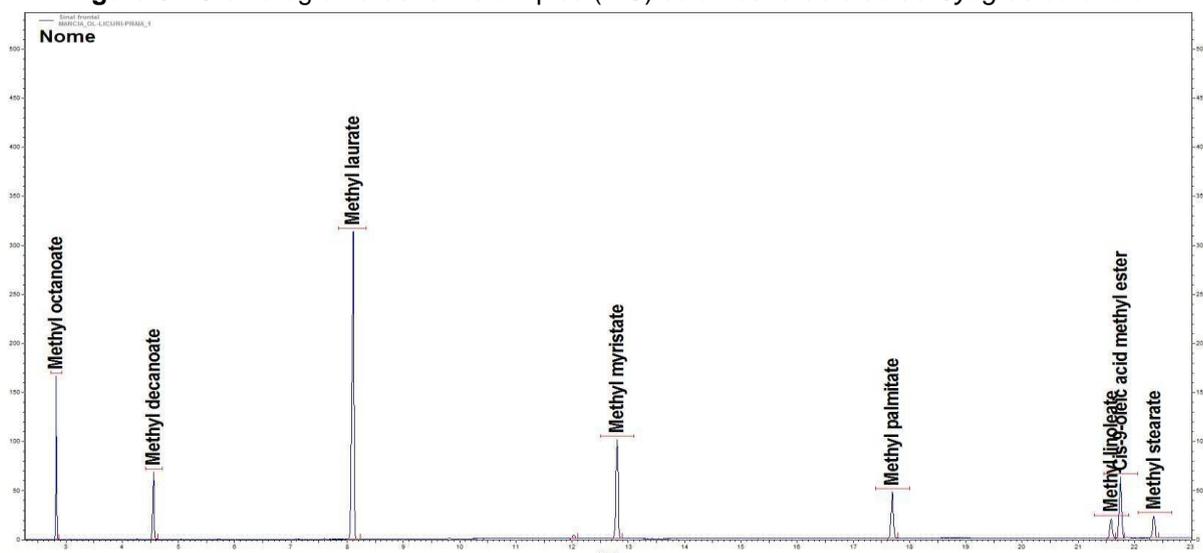
Análises detalhadas por CG-FID de amostras de óleo de *Syagrus coronata* estão representadas na tabela 1, na qual permitiu a identificação de um total, oito constituintes. Na figura 3 mostra um cromatograma de íon total típico (TIC) da amostra de óleo de *S. coronata*. Os componentes mais abundantes foram o ácido láurico ($43.64 \pm 0,62$), ácido mirístico ($14.32 \pm 0,22$), ácido oleico ($11.78 \pm 0,52$) e ácido octanóico ($10.05 \pm 0,11$). Estudos anteriores relataram que os óleos de *S. coronata* são dominados por ácidos carboxílicos livres, representando aproximadamente 80% da composição total, e o ácido octanóico foi relatado como o principal componente volátil do óleo de *S. coronata* (SANTOS; NASCIMENTO; SANTOS; MARRIEL et al., 2017). As diversas atividades biológicas atribuídas aos ácidos graxos saturados se deve em partes pelo comprimento da cadeia carbônica apresentando mais de 10 átomos de carbono (ESPINEL-INGROFF; FOTHERGILL; PETER; RINALDI et al., 2002). Para o ácido láurico, já foi descrito como majoritário no óleo de licuri, a literatura descreve atividades anti-inflamatórias e antimicrobiana (NAKATSUJI; KAO; FANG; ZOUBOULIS et al., 2009).

Tabela 1: Constituintes de óleo de sementes do *Syagrus coronata*.

Nº	Composto	Teor (em % do total de óleo)
1	Ácido octanóico (C8:0)	$10.05 \pm 0,11$
2	Ácido decanóico (C10:0)	$6.40 \pm 0,08$
3	Ácido láurico (C12:0)	$43.64 \pm 0,62$
4	Ácido mirístico (C14:0)	$14.32 \pm 0,22$
5	Ácido palmítico (C16:0)	$6.89 \pm 0,13$
6	Ácido esteárico (C18:0)	$3.83 \pm 0,03$
7	Ácido oleico (C18:1)	$11.78 \pm 0,52$
8	Ácido linoleico (C18:2)	$3.10 \pm 0,38$
Total		100

Resultados expressos em valores médios e desvio padrão das médias para 3 testes independentes. Os ácidos graxos foram identificados segundo padrão externo (FAME Supelco™ mix C4-C24, Bellefonte, PA, USA) e seu percentual (%) calculado conforme normalização das áreas dos picos.

Figura 3 - Cromatograma de íon total típico (TIC) da amostra de óleo de *Syagrus coronata*.



Avaliação citotóxica

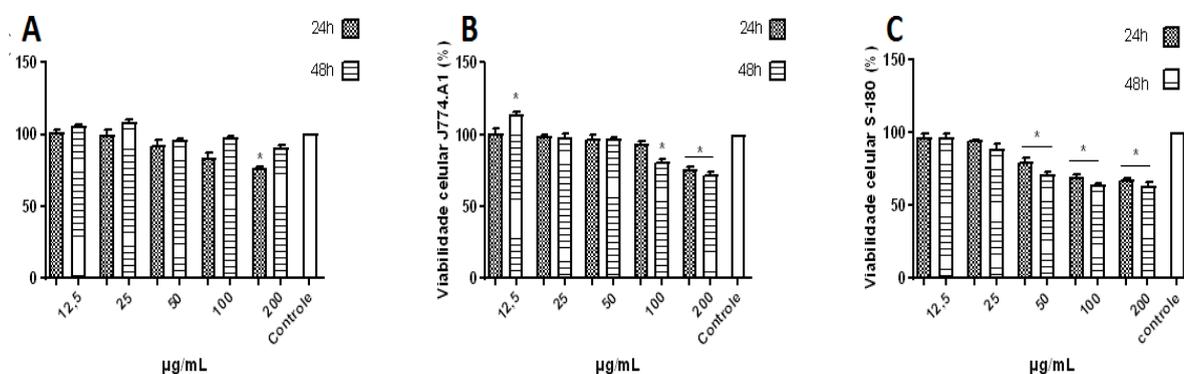
A avaliação da atividade citotóxica do óleo de sementes de *S. coronata* revelou que o óleo não inibia o crescimento das três linhagens celulares investigadas (Figura 4). Para isso foi comparada a expansão celular em 24 e 48 h. A viabilidade das células HEK-293 não apresentou diferença significativa quando incubadas por 48 h. Entretanto houve uma pequena redução ($p < 0.05$) no crescimento quando comparado com o controle, porém apresenta uma expansão celular de 24 para 48 h (Figura 4A).

Nas células J774-A1 não houve citotoxicidade quando tratadas com o óleo nas concentrações de 12,5, 25 e 50 $\mu\text{g/mL}$ em 24 e 48 h. Porém quando as células J774-A1 foram expostas as maiores concentrações (100 e 200 $\mu\text{g/mL}$), apresentaram viabilidade em 24 h de 93.28 ± 0.39 e 75.67 ± 0.72 , respectivamente, enquanto que quando incubadas por 48 h a viabilidade foi 80.98 ± 0.51 e 72.61 ± 44 para 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Figura 4B).

Na análise da linhagem tumoral primaria (S-180), o óleo não foi tóxico nas menores concentrações (12,5 e 25 $\mu\text{g/mL}$) em ambos os tempos avaliados. Entretanto houve uma diminuição na viabilidade celular em 24 e 48 h nas

concentrações de 50 µg/mL (80.17 ± 0.28 e 71.05 ± 0.17), 100 µg/mL (69.34 ± 0.47 e 63.98 ± 0.29) e 200 µg/mL (67.68 ± 0.42 e 63.60 ± 0.51), respectivamente (Figura 4C). Diferentemente de nossos resultados, é reportado atividade citotóxica do ácido láurico, composto majoritário do óleo, frente fibroblastos de camundongos L-929 (SOUZA; DA SILVA; CARVALHO; PACHECO et al., 2014).

Figura 4 - Percentual de viabilidade de células HEK-293, J774A.1 e S-180.



As células foram tratadas com diferentes concentrações óleo fixo de *S. coronata* por 24 e 48 horas. * $p < 0,05$ comparado com o controle de crescimento.

Toxicidade aguda in vivo

Após a administração do composto não houve alterações sensoriais e motoras visíveis, e nenhum dos animais vieram a óbito no decorrer dos 14 dias (Tabela 02). Também não foi observado diferença estatística significativa no consumo de ração e água, da massa corporal e nem dos órgãos (Tabela 3). Evidenciando que de acordo com a OECD (Guia 423), a DL_{50} do óleo essencial é superior a 200mg/kg.

Tabela 2: Avaliação sensorial, motora e comportamental no decorrer de 14 dias após a administração do óleo essencial.

Grupo	Piloereção	Locomoção e tônus muscular	Dispneia	Morte Natural	Eutanásia
CN	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	3
EP1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	3

As diferenças estatísticas foram analisadas pelo ANOVA-Tukey's. CN: controle negativo; EP1: exposto a 2000mg/kg do óleo da semente do *S. coronata*. Não houve diferenças estatísticas.

Tabela 3: Massa dos órgãos coletados no 14º dia após a administração oral da droga.

Grupos	Rim	Rim	Fígado	Baço	Coração	Pulmão	Pulmão
	Direito	Esquerdo	Média	Média	Média	direito	esquerdo
	Média	Média	(DP)	(DP)	(DP)	Média	Média
	(DP)	(DP)				(DP)	(DP)
CN	0.341	0.341	2.310	0.192	0.214	0.179	0.084
	(0.003)	(0.009)	(0.041)	(0.008)	(0.008)	(0.014)	(0.007)
EP1	0.366	0.343	2.381	0.200	0.200	0.171	0.065
	(0.032)	(0.012)	(0.115)	(0.011)	(0.008)	(0.015)	(0.006)

Resultado expressos com média e desvio padrão. As diferenças estatísticas foram analisadas pelo ANOVA-Tukey's. CN: controle negativo; EP1: exposto a 2000mg/kg do óleo da semente do *S. coronata*. Não houve diferenças estatísticas.

Análise bioquímica

Os parâmetros bioquímicos do sangue são utilizados para nortear o funcionamento metabólico do organismo sob efeito de alguma droga ou xenobiótico (PETTERINO; ARGENTINO-STORINO, 2006). As concentrações de ácido úrico, ureia e proteínas no sangue, podem representam o bom funcionamento renal. O ácido úrico sendo resultado do metabolismo das proteínas e é eliminado pela urina na forma de ureia (P'NG; AKOWUAH; CHIN, 2013). Como mostra na tabela 4, não houve alteração significativa na concentração de ureia, porém, houve redução da quantidade de ácido úrico, que pode ser justificado pela diminuição também evidenciada na quantidade de proteínas totais no plasma. O plasma por sua vez, tem como proteína mais abundante a albumina, e essa não apresentou diferença estatística quando comparado os grupos.

As substancias AST e ALT, produzidas pelo fígado, apresentam altas concentrações em casos de hepatotoxicidade (IMAFIDON; OKUNROBO, 2012), o que não aconteceu neste estudo. Em relação a glicose, o grupo EP1 apresentou uma média significativamente menor que o CN, mostrado uma diminuição. Vale salientar que a glicose é produto da glicogenólise que acontece nos hepatócitos, isso geralmente ocorre devido ao baixo índice ingestão de carboidratos, ou desequilíbrio no metabolismo dos hepatócitos (BRITANNICA, 2019), no entanto, ao longo do experimento os animais não apresentaram diferença no consumo de ração e água, nem alterações visíveis a nível tecidual, o que faz necessário outras análises para identificar a causa.

Tabela 4: Análise bioquímica do sangue.

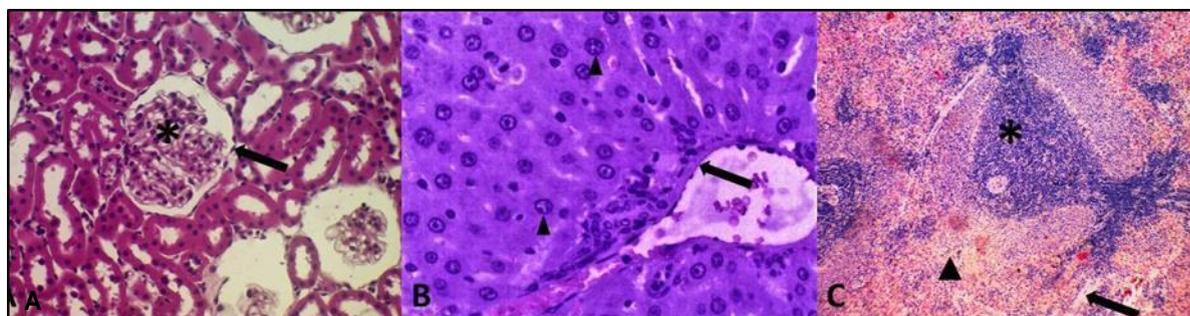
Parâmetros	CN	EP1
	Média ± DP	Média ± DP
Albumina (g/dL)	3,53 ± 0,05	2,26 ± 0,11
Triglicerídeos (mg/dL)	98,70 ± 12,33	167,93 ± 52,41
Proteínas totais (g/dL)	5,36 ± 0,15	4,50 ± 0,17*
Colesterol (g/dL)	108,89 ± 3,00	118,56 ± 24,04
Glicose (mg/dL)	271,80 ± 24,34	152,33 ± 54,66*
ALT - TGP (U/L)	59,87 ± 27,01	48,37 ± 38,65
AST - TGO (U/L)	149,01 ± 33,61	79,42 ± 28,60
Ácido úrico (mg/dL)	5,633 ± 0,40	3,70 ± 0,77*
Ureia (mg/dL)	39,36 ± 4,06	39,00 ± 11,32

Resultado expressos com média e desvio padrão. As diferenças estatísticas foram analisadas pelo ANOVA-Tukey's. CN: controle negativo; EP1: exposto a 2000mg/kg do óleo da semente do *S. coronata*. * Diferenças estatísticas com o CN.

Análise Histomorfométrica

Para análise histomorfométrica foram utilizados os principais órgãos metabolizadores de drogas: Rim, fígado e baço. No rim, foram medidos os corpúsculos renais e glomerúlos, que são estruturas responsáveis pela filtração do plasma sanguíneo, ajudando na homeostase do organismo; no fígado, foram contabilizados os hepatócitos, células de Kupffer, células binucleadas e células endoteliais, principalmente os hepatócitos são responsáveis por amenizar o grau de toxicidade de xenobióticos, tornando eles mais hidrofílicos, afim de facilitar sua excreção. As microestruturas analisadas no baço foram a polpa branca, vermelha e o estroma, que foram expressas em porcentagem (Figura 5). Esse órgão e suas estruturas colaboram com o sistema imune do organismo, fazendo com que haja o melhor funcionamento das respostas imunológicas (JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHAMSOHN, 2013).

Figura 5 - Análise histomorfométrica do rim, fígado e baço



A: Delimitação do corpúsculo renal (seta), glomerúlo (*). **B:** Endotélio (seta) e hepatócito (cabeça de seta). **C:** Polpa branca (*), Polpa vermelha (Cabeça de seta) e estroma (seta). 400x aumento. Barra de escala = 100 µm

As células endoteliais estão presentes no endotélio dos sinusóides, onde 80% do sangue que chegam por eles vem do intestino trazendo moléculas recém absorvidas. É através destas células que ocorrem as trocas de macromoléculas entre o sangue e os hepatócitos (SEIF, 2016), além disso elas estão relacionadas com respostas imunológicas e homeostase do órgão (ELVEVOLD; SMEDSRØD; MARTINEZ, 2008). No presente estudo foi observado uma diminuição na quantidade de células endoteliais do fígado (Tabela 5), no entanto, segundo Elvevold et. al., (2008), essas células apresentam grande potencial de regeneração, o que proporciona sua recuperação.

Tabela 5: Análise histomorfométrica do Rim, Fígado e Baço.

Órgãos	Necropsia	Estruturas analisadas	CN	EP1
Rim	Sem Alterações macroscópicas	Corpúsculo	3993,20 ± 50,77	3859,68 ± 1088,84
		Glomérulo	3200,55 ± 915,04	2966,68 ± 892,99
Fígado	Sem Alterações macroscópicas	Células de Kupffer	24,26 ± 5,91	26,01 ± 6,17
		Hepatócitos	31,81 ± 5,33	33,21 ± 6,15
		Binucleados	5,58 ± 3,36	6,28 ± 2,32
		Endoteliais	11,26 ± 3,25	7,20 ± 3,48*
Baço	Sem alterações macroscópicas	Polpa Branca	37,324 ± 13,864	33,107±13,847
		Polpa Vermelha	58,932 ± 13,899	62,646 ± 14,238
		Estroma	3,743 ± 1,589	4,245 ± 2,076

Os dados são expressos em média ± DP. As diferenças estatísticas foram determinadas pelo teste de U de Mann-Whitney, com $p < 0,05$. CN: Controle negativo; EP1: óleo fixo do licuri.

*Resultado estatisticamente significativo quando comparado com o grupo Controle Negativo.

Quanto aos demais órgãos analisados, o rim e baço, são considerados órgãos vitais importantes, o primeiro com função de homeostase do organismo, filtra o plasma sanguíneo e faz o equilíbrio de moléculas eletrolíticas; enquanto o baço é responsável pela modulação do sistema imunológico, ambos não apresentaram alteração morfológica. Desta forma, percebe-se que o óleo de licuri não apresentou efeitos danosos nestes tecidos.

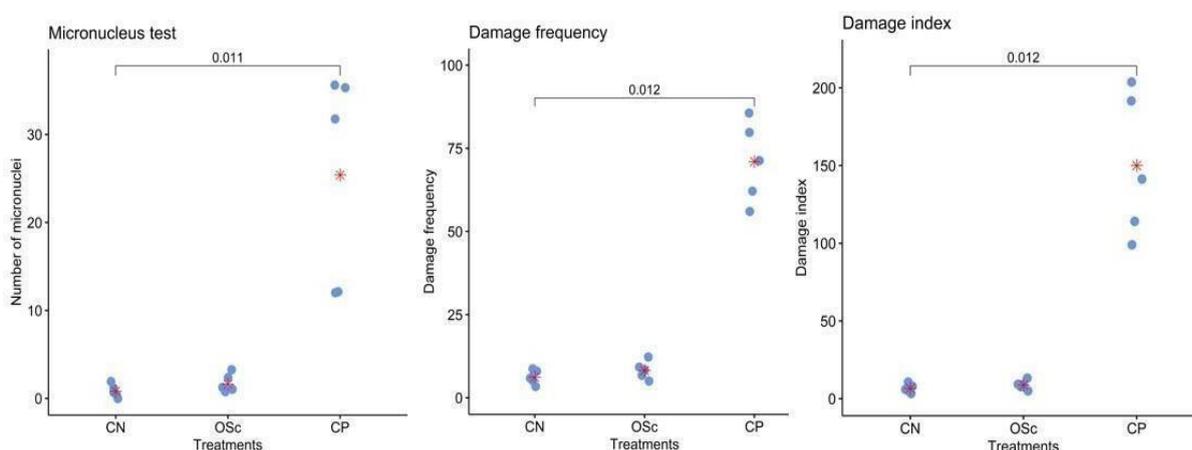
Ensaio de genotoxicidade in vivo

O EC e TMN são importantes biomarcadores utilizados para detectar danos no material genético causados por substâncias. Ambos os testes estão bem estabelecidos na literatura e muitos pesquisadores costumam relacionar os

resultados de um e de outro. O EC detecta danos mais sutis no DNA, os quais ainda podem ser reparados pelas células. Já o TMN identifica os danos que já foram estabelecidos, os quais o sistema de reparo não identificou (KIM; HYUN, 2006).

Os resultados obtidos nesta pesquisa mostraram que no EC não houve diferença significativa entre o grupo OSC e CN, nos dois parâmetros analisados (ID e FD%). Além disso, não foi observado aumento significativo na contagem de PCEMn entre estes grupos na análise do TMN. Já o CP foi significado quando comparado com o CN, tanto no EC quando no TMN, com $p < 0,05$ (Figura 6).

Figura 6: Resultados dos testes de micronúcleo e ensaio cometa *in vivo*.



CN: controle negativo (água destilada); CP: controle positivo (ciclofosfamida - 25mg/kg); OSC: Óleo de licuri (2000mg/kg). Cada ponto representa um animal (n=5 por grupo). Não há diferenças estatísticas entre o OSC e CN. Foi evidenciada diferença significativa entre CP e CN, $p < 0,05$.

Como o EC e TMN não identificaram danos significativos em nossas condições experimentais, pode-se dizer que o óleo de licuri não tem efeito genotóxico e mutagênico. Vale salientar que esses testes são considerados instrumentos fundamentais na genética toxicológica, tendo aplicabilidade em diversas áreas (KIRSCH-VOLDERS; ELHAJOUJI; CUNDARI; VAN HUMMELEN, 1997; TICE; AGURELL; ANDERSON; BURLINSON *et al.*, 2000). O EC e TMN tem sido aceito internacionalmente como um dos ensaios necessários para o registro de novos produtos químicos lançados no mercado, dentre eles os fitoterápicos. São testes considerados pré-requisito para regulamentação e liberação de qualquer substância de forma segura (ABDELMIGID, 2013; FAUST; KASSIE; KNASMÜLLER; BOEDECKER *et al.*, 2004; TICE; AGURELL; ANDERSON; BURLINSON *et al.*, 2000).

CONCLUSÃO

Na citotoxicidade os resultados mostraram que o óleo fixo do *S. coronata* não induziu toxicidade nas células analisadas (HEK-293, J774.A1 e S-180). A análise de genotoxicidade e matagenicidade também não evidenciou danos genéticos significativos nos grupos tratados com 2000mg/kg do óleo. No entanto, o teste de toxicidade aguda apresentou alterações nas células endoteliais do fígado, além de diminuição da glicose, ureia e proteínas totais, mas essas alterações não caracterizam um afeito danoso à saúde. Desta forma, os resultados obtidos neste estudo sugerem que o consumo ou exposição ao óleo fixo de licuri não causa efeitos adversos ao consumidor. Porém, ressalta-se a necessidade de novos estudos para comparar os resultados, testar outras doses, formas de tratamento e análises em outros tecidos e tipos celulares, com o intuito de assegurar o uso do óleo na saúde humana e animal.

REFERÊNCIAS

- ABDELMIGID, H. M. New trends in genotoxicity testing of herbal medicinal plants. *In: New insights into toxicity and drug testing: IntechOpen*, p. 89-120, 2013.
- AZEVEDO, L.; GOMES, J.; STRINGHETA, P.; GONTIJO, Á. M. *et al.* Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a protective agent against DNA damage in mice. **Food and Chemical Toxicology**, 41, n. 12, p. 1671-1676, 2003.
- BASTO, S. R. d. L. **Formulação de enxaguatório bucal contendo emulsões a base de óleo fixo de *Syagrus coronata* (licuri): caracterização, avaliação antimicrobiana, toxicidade e HET-CAM**. 2017. Dissertação de Mestrado em Ciências biológicas. Universidade Federal de Pernambuco, 2017.
- BAUER, L. C.; DO AMARAL DAMÁSIO, J. M.; VIANA DA SILVA, M.; DE ANDRADE SANTANA, D. *et al.* Chemical characterization of pressed and refined licuri (*Syagrus coronata*) oils. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 35, n. 4, 2013.
- BLAAUBOER, B. J. Biokinetic and toxicodynamic modelling and its role in toxicological research and risk assessment. **Alternatives to laboratory animals**, 31, n. 3, p. 277-281, 2003.
- BONDAR, G. Licurizeiro e suas potencialidades na economia brasileira. **Instituto Central de Fomento Econômico da Bahia**, v. 2, n. 18, p. 1-18, 1938.
- BRITANNICA, E. **Encyclopædia Britannica**, Inc., 23 Jan. 2019.
- COELHO, I. D. D. d. S.; NETO, C. J. C. L. N.; SOUZA, T. G. d. S. S.; SILVA, M. A. d. S. *et al.* Protective effect of exogenous melatonin in rats and their offspring on the genotoxic response induced by the chronic consumption of alcohol during pregnancy **Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.** , 18, p. 52-60, 2018.

COLLINS, A.; OSCOZ, A.; BRUNBORG, G.; GAIVÃO, I. *et al.* The Comet Assay: Topical Issues. **Mutagenesis**, 23, p. 143–151, 2008.

DA COSTA, R. M. A. ; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, São Paulo, n. 12, p. 24-26, 2000.

DRUMOND, M.A., 2007. Licuri *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. Embrapa Semiárido- Documentos(INFOTECA-E).

<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/152644/1/SDC199.pdf>>
Acessado em 20 de janeiro de 2020.

ELVEVOLD, K.; SMEDSRØD, B.; MARTINEZ, I. The liver sinusoidal endothelial cell: a cell type of controversial and confusing identity. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, 294, n. 2, p. G391-G400, 2008.

ESPINEL-INGROFF, A.; FOTHERGILL, A.; PETER, J.; RINALDI, M. *et al.* Testing conditions for determination of minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for *Aspergillus* spp.: NCCLS collaborative study. **Journal of clinical microbiology**, 40, n. 9, p. 3204- 3208, 2002.

FAUST, F.; KASSIE, F.; KNASMÜLLER, S.; BOEDECKER, R. H. *et al.* The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, 566, n. 3, p. 209-229, 2004.

HAYASHI, M.; MACGREGOR, J. T.; GATEHOUSE, D. G.; BLAKEY, D. H. *et al.* In vivo erythrocyte micronucleus assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 627, p. 10-30, 1994.

IMAFIDON, K.; OKUNROBO, L. Study on biochemical indices of liver function tests of albino rats supplemented with three sources of vegetable oils. **Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences**, 20, n. 2, p. 105-110, 2012.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. Histologia Básica. Texto e Atlas. 12ª edição. **Rio de Janeiro: Guanabara**, 2013.

KIM, I.-Y.; HYUN, C.-K. Comparative evaluation of the alkaline comet assay with the micronucleus test for genotoxicity monitoring using aquatic organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 64, n. 3, p. 288-297, 2006.

KIRSCH-VOLDERS, M.; ELHAJOUJI, A.; CUNDARI, E.; VAN HUMMELEN, P. The in vitro micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 392, n. 1-2, p. 19-30, 1997.

MACIEL, M. A. M., PINTO, A.C., VEIGA JUNIRO, V.F., GRYNBERG, N.F., ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.

MIRANDA, K. E. D. S. **Qualidade e atividade antioxidante de fruto e seu óleo de genótipos do licurizeiro (*Syagrus coronata*)**. 2011. 145 f. Tese (Doutorado em química e Bioquímica de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

NAKATSUJI, T.; KAO, M. C.; FANG, J.-Y.; ZOUBOULIS, C. C. *et al.* Antimicrobial property of lauric acid against *Propionibacterium acnes*: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. **Journal of investigative dermatology**, 129, n. 10, p. 2480-2488, 2009.

NOBLICK, L. Palmeiras das caatingas da Bahia e as potencialidades econômicas. **Simpósio sobre a Caatinga e sua Exploração Racional, Brasília, DF, EMBRAPA**, p. 99-115, 1986.

OCDE, O. Acute oral Toxicity: up and down procedure. **OECD. Guideline for the Testing of Chemicals**, 425, p. 1-2, 2008.

OECD. **Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test**. Paris: OECD Publishing, 2016. 9264264760.

OLIVEIRA, M. B. F. D. **Estudo integrado da espécie palmeira ouricuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari) para geração de energia**. 2013. 70f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2013.

P'NG, X. W.; AKOWUAH, G. A.; CHIN, J. H. Evaluation of the sub-acute oral toxic effect of methanol extract of *Clinacanthus nutans* leaves in rats. **Journal of Acute Disease**, 2, n. 1, p. 29-32, 2013.

PETTERINO, C.; ARGENTINO-STORINO, A. Clinical chemistry and haematology historical data in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. **Experimental and Toxicologic Pathology**, 57, n. 3, p. 213-219, 2006.

PRIETO, P.; BAIRD, A. W.; BLAAUBOER, B. J.; RIPOLL, J. V. C. *et al.* The assessment of repeated dose toxicity in vitro: a proposed approach: the report and recommendations of ECVAM workshop 56. **Alternatives to laboratory animals**, 34, n. 3, p. 315-341, 2006.

PURCHASE, I. F.; BOTHAM, P. A.; BRUNER, L. H.; FLINT, O. P. *et al.* Workshop overview: scientific and regulatory challenges for the reduction, refinement, and replacement of animals in toxicity testing. **Toxicological Sciences**, 43, n. 2, p. 86-101, 1998.

ROCHA, T. A.; MOURA, D. F. d.; SILVA, M. M. d.; SOUZA, T. G. d. S. *et al.* Evaluation of cytotoxic potential, oral toxicity, genotoxicity, and mutagenicity of organic extracts of *Pityrocarpa moniliformis*. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A** 82, p. 216-231, 2019.

QUEIROGA, R. D. C. R. D. E. *et al.* Produção e composição química do leite de cabras mestiças Moxotó sob suplementação com óleo de licuri ou de mamona. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p. 204-209, 2010.

RUFINO, M.U.D.L., COSTA, J.T.D.M., SILVA, V.A.D., ANDRADE, L.D.H.C. Conhecimento e uso do ouricuri (*Syagrus coronata*) e do babaçu (*Orbignya phalerata*) em Buíque, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 4, p. 1141-1149, 2008.

SANTOS, L. M. *et al.* Fatty acid-rich volatile oil from *Syagrus coronata* seeds has larvicidal and oviposition-deterrent activities against *Aedes aegypti*. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 100, n.4, p. 35-40, 2017.

SEIF, H. S. A. Physiological changes due to hepatotoxicity and the protective role of some medicinal plants. **Beni-suef University journal of basic and applied sciences**, v. 5, n. 2, p. 134-146, 2016.

SKŘIVANOVÁ, E.; MAROUNEK, M.; DLOUHA, G.; KAŇKA, J. Susceptibility of *Clostridium perfringens* to C2–C18 fatty acids. **Letters in applied microbiology**, 41, n. 1, p. 77-81, 2005.

SOUZA, J. L.; DA SILVA, A. F.; CARVALHO, P. H.; PACHECO, B. S. *et al.* Aliphatic fatty acids and esters: inhibition of growth and exoenzyme production of *Candida*, and their cytotoxicity in vitro: anti- *Candida* effect and cytotoxicity of fatty acids and esters. **Archives of oral biology**, 59, n. 9, p. 880- 886, 2014.

TICE, R. R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B. *et al.* Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and molecular mutagenesis**, 35, n. 3, p. 206-221, 2000.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. d. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapeuta. **Texto & Contexto-Enfermagem**, 15, n. 1, p. 115-121, 2006.

UMBUNZEIRO, G. A.; ROUBICEK, D. A. **Genotoxicidade ambiental. In Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. São Carlos: ed.P.A.ZagattoandE.Bertoletti, 2006.

Artigo 2 - Estudo do óleo fixo do *Syagrus coronata* Mar. (Licuri) isolado e associado à laserterapia de baixa intensidade para tratar feridas em mucosa oral de ratos

Talita Giselly dos Santos Souza^{1,2,3}; Luiza Gabrielly da Silva Menezes²; Pedro Thiago da Silva²; Geisiane Jovelina da Silva²; Anna Carolina Gouveia Silva³; Cristiano Aparecido Chagas⁴; Elizabeth Arruda Carneiro Ponzi³; Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior²; Marcia Vanusa da Silva¹.

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, departamento de bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, Brasil.

² Laboratório de tecnologia de bioativos, Centro Acadêmico de Vitória – CAV/ Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Vitória de Santo Antão, Brasil.

³ Departamento de Prótese e Cirurgia Bucomaxilofacial, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, Brasil.

⁴ Núcleo de Ciências Biológicas, Centro Acadêmico de Vitória – CAV/ Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Vitória de Santo Antão, Brasil.

Autor para correspondência:

Márcia Vanusa da Silva

Departamento de bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – CEP: 50670-901 - Cidade Universitária, Recife – PE.

E-mail: marciavanusa@yahoo.com.br

E-mail dos demais autores:

talitagiselly@hotmail.com

luiza.gabrielly.tudo@gmail.com

pedro_thiago94@hotmail.com

geysyane15@gmail.com

ninhs.gouveia@gmail.com

chagas.cris@gmail.com

bethcirurgia@yahoo.com.br

famanajas@yahoo.com.br

RESUMO

A *Syagrus coronata*, popularmente conhecida como Licuri, se destaca dentro da família Arecaceae, sendo uma das palmeiras mais importantes na região semiárida brasileira. Da amêndoa é extraído o óleo que apresenta relevância fitoterápica, no entanto são escassos na literatura trabalhos que analisem seus potenciais biológicos. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo analisar microscopicamente o potencial cicatrizante do óleo da *S. coronata* em lesão no ventre da língua de ratos *Wistar*, assim como os possíveis efeitos sinérgicos quando associado a laserterapia de baixa intensidade. Foram testados 63 ratos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus albinus*), obtidos da Universidade Federal Rural de Pernambuco, divididos em sete grupos, sendo um controle (OM -1000mg/kg de óleo mineral), dois expostos a concentrações distintas do óleo de Licuri (OL), OL 500mg/kg e OL1000mg/kg, obtido da prensa elétrica a frio; mais três grupos receberam os tratamentos anteriores associados a laserterapia, sendo eles: OM + laser, OL 500 + laser e OL 1000 + laser; e um grupo tratado apenas laser. A laserterapia iniciou imediatamente após a cirurgia, repetida depois a cada 48h do tempo experimental. Foi utilizado o laser GaAIs, com emissão contínua, comprimento de onda de 830nm e densidade de 3J/cm². Realizou-se uma incisão no ventre da língua dos ratos, com diâmetro de 8mm x 3mm x 1mm, padronizando-se o tamanho e forma, conduzidas em igual profundidade, até o alcance do plano muscular. Cada grupo foi subdividido em três tempos de tratamento (3, 5 e 7 dias) para análise. Após esse período, os animais foram eutanasiados com overdose de anestésico e foi coletada a língua para processamento histológico. Na avaliação histopatológica foram analisados os quesitos de infiltrado inflamatório, fibroplasia e fibras colágenas, sendo análises de alta relevância no processo de reparo tecidual. Os resultados evidenciaram que o uso do OL isolado reduziu significativamente a inflamação quando comparado com o CN. Quando associado à laserterapia, a densidade de células inflamatórias no dia 3^o e 5^o foram menores do que nos grupos tratados apenas com laserterapia e OL. Em relação aos fibroblastos, o OL aumentou a proliferação no 3^o e 5^o dia, havendo uma diminuição no dia 7. O contrário foi observado nos tratamentos com OL e laser, ao quais as médias foram menores nos primeiros dois tempos e maiores no 7^o dia. Quanto a densidade de fibras colágenas, os grupos tratados com OL tiveram resultados similares aos grupos que receberam OL e laser, ambos com mais quantidade de fibras colágenas do que o grupo controle. Concluiu-se que o OL tanto isolado quando associado a laserterapia possui um efeito anti-inflamatório, além de auxiliar na proliferação de fibroblastos e fibras colágenas, melhorando o processo cicatricial na mucosa bucal. No entanto, estudos futuros precisam ser realizados para esclarecer mais a ação deste produto durante o reparo tecidual em humanos.

Palavras Chaves: Anti-inflamatório; laser; cicatrização; plantas medicinais; caatinga.

ABSTRACT

Syagrus coronata, Popularly known as Licuri, stands out within the Arecaceae family, being one of the most important palm trees in the Brazilian semiarid region. Oil that has phytotherapeutic relevance is extracted from the almond, however there are few studies in the literature that analyze its biological potentials. In view of the above, the present study aimed to microscopically analyze the healing potential of *S. coronata* oil in a lesion in the belly of the tongue of Wistar rats, as well as the possible synergistic effects when associated with low intensity laser therapy. 63 Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*) were tested, obtained from the Federal Rural University of Pernambuco, divided into seven groups, one control (OM -1000mg / kg of mineral oil), two exposed to different concentrations of Licuri oil (OL), OL 500mg / kg and OL1000mg / kg, obtained from the cold electric press; three more groups received previous treatments associated with laser therapy, namely: OM + laser, OL 500 + laser and OL 1000 + laser; and a group treated only with laser. Laser therapy started immediately after surgery, repeated after every 48 hours of the experimental time. The GaAlAs laser was used, with continuous emission, 830nm wavelength and 3J / cm² density. An incision was made in the belly of the rats' tongue, with a diameter of 8mm x 3mm x 1mm, standardizing the size and shape, conducted in equal depth, until reaching the muscular plane. Each group was subdivided into three treatment times (3, 5 and 7 days) for analysis. After this period, the animals were euthanized with anesthetic overdose and the tongue was collected for histological processing. In the histopathological evaluation, the questions of inflammatory infiltrate, fibroplasia and collagen fibers were analyzed, being highly relevant analyzes in the tissue repair process. The results showed that the use of OL alone significantly reduced inflammation when compared to CN. When associated with laser therapy, the density of inflammatory cells on the 3rd and 5th days were lower than in the groups treated only with laser therapy and OL. In relation to fibroblasts, OL increased proliferation on the 3rd and 5th days, with a decrease on day 7. The opposite was observed in OL and laser treatments, where the averages were lower in the first two times and higher on the 7th day. As for the density of collagen fibers, the groups treated with OL had similar results to the groups that received OL and laser, both with more amount of collagen fibers than the control group. It was concluded that the OL, both isolated and associated with laser therapy, has an anti-inflammatory effect, in addition to helping the proliferation of fibroblasts and collagen fibers, improving the healing process in the oral mucosa. However, future studies need to be carried out to further clarify the action of this product during tissue repair in humans.

Key words: Anti-inflammatory; laser; healing; medicinal plants; caatinga.

INTRODUÇÃO

Um trauma físico, químico, mecânico ou desencadeado por uma afecção clínica pode causar feridas, que é designada como uma interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou em menor extensão. O reparo do tecido lesionado consiste na reconstrução do local, a fim de restaurar a sua integridade, o que nem sempre é possível devido às condições sistêmicas e locais do indivíduo, como idade, doenças associadas ou localização anatômica da ferida (MITCHELL et al., 2017; REGEZI; SCIUBBA; JORDAN, 2017).

O reparo tecidual, tanto em feridas bucais como de pele, compreende três fases, sendo elas: fase inflamatória, com remoção de células mortas, restos necróticos e microrganismos, preparando a ferida para a cicatrização; a fase fibroblástica, na qual ocorre uma substituição do tecido lesionado por tecido conjuntivo cicatricial; e a fase cicatricial ou de remodelamento, que modifica a cicatriz imatura gerada para uma madura, ajustando o tamanho da ferida e dando a forma final da lesão. Essas fases não são mutuamente excludentes, e sim sobrepostas no tempo, além disso o final de uma fase estimula o início da outra (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 2000; TONNESEN; FENG; CLARK, 2000; DE CARVALHO ABREU, 2011).

Apesar do processo de reparo tecidual natural do corpo responder as injúrias sofridas, sempre houve a preocupação de se tentar estimular uma neoformação de tecidos traumatizados morfológica e fisiologicamente semelhantes ao tecido perdido. Assim, alguns artifícios para favorecer o processo são utilizados, como os fitoterápicos e laser, a fim de garantir uma resposta mais eficiente e rápida na regeneração tecidual, proporcionando mais conforto ao paciente (CARNEIRO et al., 2010).

A laserterapia de baixa intensidade (LBI), realizada por um aparelho de alto custo, quando usada em tecidos moles tem apresentado redução da dor, efeito anti-inflamatório, além de acelerar o processo de proliferação celular (CARNEIRO et al., 2010). Durante a exposição ocorre a absorção de energia por moléculas fotorreceptoras, tais como a hemoglobina, oxi-hemoglobina, citocromo c oxidase e melanina, que sensibiliza uma cascata de eventos químicos dentro da célula e conduzem a biomodulação e bioestimulação de diferentes tipos celulares, que estão diretamente ligadas a regeneração de tecidos (JÚNIOR et al., 2009; HOURELD, 2014). Diante disso, a LBI na literatura se destaca no processo de reparação de

feridas, a qual mostra que essas respostas dependem da dose, comprimento de onda, tempo de exposição e condição local (CARNEIRO et al., 2010).

Em relação ao uso dos fitoterápicos, os produtos encontrados na natureza revelam uma ampla diversidade em termos de estrutura, propriedades físico-químicas e biológicas (WALL; WANI, 1996; MARTELLI, DE ANDRADE; DOS SANTOS, 2018). As plantas medicinais mostraram-se como excelentes fontes de busca de novas drogas com diversos efeitos benéficos para saúde humana, dentre eles a eficácia no reparo tecidual (DE GASPI et al., 2011; GRASSO; AOYAMA; FURLAN, 2017; MORESKI; BUENO; DE SOUZA LEITE-MELLO 2018).

Dentre as plantas medicinais, pode-se citar a *Syagrus coronata* (Arecoideae), popularmente conhecida como Licuri, sendo encontrada em quase toda a abrangência da região semiárida nordestina (DE FREITAS PESSOA, 2008; SOUZA; LORENZI, 2012). Da amêndoa é extraído o óleo de Licuri (OL), que apresenta cerca de 50% de rendimento quando se emprega a prensa hidráulica. Na sua constituição química, os níveis de ácidos graxos saturados são aproximadamente cinco vezes maiores que os ácidos graxos insaturados, predominando o ácido láurico (44%), que atua aumentando a imunidade e reduzindo inflamações em humanos, além de ácido mirístico (14%) e ácido oleico (12%) (BAUER et al., 2013; NASCIMENTO, 2013; OLIVEIRA, 2013).

Como tratamento terapêutico, o Licurizeiro é utilizado em micoses, dores na coluna vertebral, inflamação ocular e reparo tecidual de feridas (OLIVEIRA, 2013; RUFINO et al., 2008). Demonstra boa capacidade antioxidante (BAUER et al., 2013); potencial antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* (NASCIMENTO, 2013), *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Yersinia enterocolitica* (SKŘIVANOVÁ et al., 2005), podendo ser uma alternativa no tratamento de infecções causada por bactérias multirresistentes. Apesar de apresentar uma composição e características físico-químicas promissoras, seu uso na fitoterapia acontece de forma empírica, sendo escasso na literatura trabalhos que avaliem atividades biológicas, como anti-inflamatória e cicatrizante (BAUER et al., 2013; OLIVEIRA, 2013).

Diante do exposto, é importante estudar os efeitos terapêuticos do OL no combate ao processo inflamatório e no reparo tecidual sobre lesões ulceradas, além dos efeitos sinérgicos com outros artifícios, como a LBI, pois a literatura não apresenta resultados para tal atividade biológica. Dentro deste panorama, o objetivo deste trabalho foi analisar, através da histomorfometria, o efeito cicatrizante do óleo

da *S. coronata* em lesão no ventre da língua de ratos *Wistar*, assim como os possíveis efeitos sinérgicos quando associado a laserterapia de baixa intensidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do óleo vegetal

A Cooperativa de Produção da Região do Piemonte da Diamantina (COOPES), localizada no município de Capim Grosso, Bahia – BA (11° 22' 54" S 40° 0' 46" O), forneceu o óleo vegetal utilizado nos experimentos. Sementes de *S. coronata* foram utilizadas para a obtenção do óleo por extração mecânica realizada em prensa elétrica a frio (BAUER et al., 2013). Também foram coletadas sementes e trazidas para identificação, sendo depositadas no Herbário IPA do Instituto Agrônomo de Pernambuco (código 55.147).

Animais

Foram utilizados 63 ratos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus albinus*), machos, adultos jovens, de 2 a 3 meses de idade, pesando de 250 a 340 gramas, oriundos do Biotério da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os animais foram mantidos no biotério do Centro Acadêmico de Vitória-CAV/UFPE em um período de 10 dias antes do procedimento cirúrgico para adaptação ao novo ambiente. Durante todo protocolo experimental, os ratos ficaram em gaiolas de polipropileno de dimensões 414x344x168mm, receberam ração *ad libitum* e água, além de ficar sob controladas temperaturas ($22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e iluminação (ciclo 12 horas claro /12 horas escuro). Todos os procedimentos experimentais com os animais obedeceram às normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) (processo nº 0038/2018).

Grupos experimentais

Os animais foram divididos aleatoriamente em sete grupos contendo nove animais cada para receberem os tratamentos nas úlceras bucais, sendo eles: um grupo controle (**OM**), tratado com 1000mg/kg de óleo mineral; dois grupos tratados com diferentes concentrações do óleo da *S. coronata*, sendo um de 500mg/kg (**OL**

500) e o outro de 1000mg/kg (**OL 1000**); mais três grupos receberam os tratamentos anteriores associados à laserterapia, sendo eles: **OM + laser**, **OL 500 + laser** e **OL 1000 + laser**; o último grupo tratado (**laser**) só recebeu laserterapia. Cada grupo foi subdividido em três subgrupos, contendo 3 animais, para períodos de observação distintos de 3, 5 e 7 dias (AMORIM, 2006). O mesmo n de animais por grupo foi utilizado no trabalho Medrado (2008) e de Nascimento Júnior (2016) para avaliar o processo de cicatrização em língua de ratos.

O OM e o óleo fixo obtido da *S. coronata* (OL) foram aplicados logo após o procedimento cirúrgico e posteriormente aplicado diariamente de 12 em 12 horas até o momento da eutanásia, com auxílio de um conta-gotas (figura 1).

Laserterapia

O tratamento foi realizado com a utilização do laser de baixa intensidade de diodo infravermelho (TheraLase®, GaAlAs, λ 830nm, com potência máxima de 100mW, DMC Equipamentos, São Carlos, SP – Brasil).

A potência estabelecida foi de 40mW, comprimento de onda de λ 830nm, com emissão contínua. Estes animais foram irradiados em quatro pontos em torno da ferida (formando um losango), além de um ponto no centro. Cada ponto recebeu uma dose de 3J/cm², o sistema de entrega foi constituído por fibra óptica com $\varnothing = 0,06$ cm, e a dose total por sessão foi de 16J/cm². As doses utilizadas nesse estudo foram baseadas em estudos realizados anteriormente com doses próximas (GERBI, 2005).

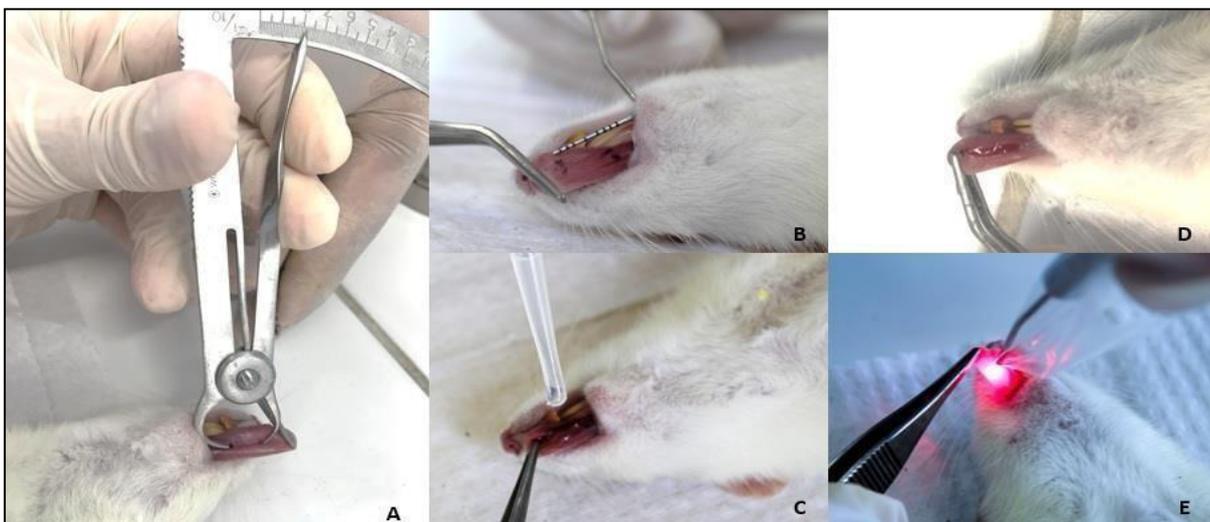
A primeira dose de radiação foi realizada logo após o término da confecção da ferida cirúrgica, em que o sistema de entrega da luz do aparelho de laser (a ponteira do aparelho) foi posicionado perpendicular e diretamente na lesão, passando pelos cinco pontos estabelecidos (figura 1). As sessões de radiação continuaram, a cada 48h, no período pós-operatório, durante 3, 5 e 7 dias, perfazendo um total de 2, 3 e 4 aplicações, conforme cada subgrupo.

Procedimento cirúrgico

Os ratos receberam Ketamina 50mg/kg (Dopalen® Ceva – Paulínia, Brasil) e Xilazina 10mg/kg (Xilazin® Syntec – Santana de Parnaíba, Brasil), na razão 2:1 por 100g de peso respectivamente, por via intraperitoneal. Posteriormente, a língua do

rato foi delicadamente tracionada para confeccionar a ferida. Com a área devidamente exposta, foi realizada a antissepsia com Gluconato de clorexidina 0,12%, sucedida da realização de uma incisão na região ventral da língua do animal (com diâmetro de 8mm x 3mm x 1mm padronizando-se o tamanho e forma, conduzidas em igual profundidade, até o alcance do plano muscular), com auxílio de pinça, bisturi *Bard Parker* montado com lâmina nº 15, uma sonda Willians milimetrada e um *crown* paquímetro (figura 1). Foi administrado na água dos animais acetaminofenol na dosagem de 1 mg/ml por 24 horas, para evitar dor no pós-operatório (DAMY et al., 2010).

Figura 1: Procedimento cirúrgico para confecção da ferida em ventre de língua de rato.



A: marcação de 8mm de comprimento; B: Medição sonda Willians milimetrada; C: Aplicação do óleo de licuri; D: aspecto clínico da ferida confeccionada; E: Aplicação da laserterapia. Fonte: autor, 2020.

Processamento, avaliação histológica e morfométrica

Na microscopia, o material foi fixado em solução de Formalina Neutra Tamponada (NBF) a 10% durante um período de 48hrs. Em seguida, foram levados ao processamento histológico e posteriormente foi realizada a técnica histológica padrão para coloração tissular em hematoxilina e eosina (HE) e *Picrosirius-red*, sendo possível assim a análise do tecido no microscópio de luz, sob foco fixo e clareza de campo.

As imagens obtidas das lâminas analisadas foram capturadas por meio de câmera digital acoplada ao microscópio óptico (Nikon E-100), fotografando-se toda a

extensão da lesão, com aumento final de 400X. O software *ImageJ versão 1.44* (Research Services Branch, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) foi utilizado para avaliar as fotomicrografias, em que houve a quantificação das células inflamatórias, fibroblastos (quantidade por área) e fibras colágenas (percentual por área) nos cortes histológicos.

Análise estatística

A partir dos dados obtidos, foram gerados as médias e o desvio padrão das células analisadas. Posteriormente, foi realizado o teste de normalidade (*programa Smirnov Kolmogorov*), seguido do teste U de Mann-Whitney (SPSS 15.0 - *Statistical Package for the Social Sciences*) para verificar as diferenças entre os grupos, considerando $p < 0,05$ para verificar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma lesão celular gera uma inflamação, que é um mecanismo de defesa importante para o reparo tecidual (LIMA et al., 2007; MITCHELL et al., 2017). Esse processo inicial geralmente provoca tumor, calor e rubor, que afetam as terminações nervosas e acabam provocando dor (LORD et al., 2014; MITCHELL et al., 2017). Para que essa resposta inflamatória não seja muito intensa e prolongada, causando danos ao tecido, existem os mediadores anti-inflamatórios que controlam o processo e amenizam a sintomatologia dolorosa. Além disso, algumas terapias alternativas podem ajudar reduzindo a resposta inflamatória, dando mais conforto aos pacientes (CARNEIRO et al., 2010; LORD et al., 2014; MITCHELL et al., 2017).

Como terapia alternativa, destaca-se o uso dos fitoterápicos, os quais se revelam como excelentes fontes de novas drogas com diversas aplicações terapêuticas, inclusive anti-inflamatória e cicatrizante (GRASSO; AOYAMA; FURLAN, 2017; HORÁCIO et al., 2017; MORESKI; BUENO; DE SOUZA LEITE-MELLO 2018; LEAL et al., 2019). Vale salientar que essa fonte alternativa de tratamento possui menor custo e maior diversidade molecular quando comparada aos medicamentos alopáticos (WALL; WANI, 1996; OLIVEIRA, 2017; MARTELLI; ANDRADE; DOS SANTOS et al., 2018)

Além dos fitoterápicos e medicamentos alopáticos, a literatura apresenta alternativas que podem auxiliar no processo de reparo tecidual. Nos últimos anos tem se intensificado pesquisas à base de plantas medicinais e de outros meios

que possam atuar de forma associada (sinergismo) com esses produtos, como o LBI (CATARINO et al., 2015). Desta forma, o conhecimento popular é atrelado aos estudos científicos assegurando o uso desses produtos e publicando novas formas de tratamento, inclusive na Odontologia (DE MELO ALELUIA et al., 2017).

Neste estudo, optou-se por analisar lesões em língua de ratos, uma vez que o processo de reparo tecidual em mucosa oral passa pelos mesmos processos da pele (TURABELIDZE et al., 2014). No entanto, estudos com esse modelo experimental relatam que o reparo tecidual em mucosa oral apresenta uma formação reduzida de cicatriz, reepitelização mais rápida e as fases da cicatrização são encurtadas (SZPADERSKA; ZUCKERMAN; DIPIETRO et al., 2003; SZPADERSKA et al., 2005; SCHEMENTI et al., 2008). Desta forma, diante do rápido restabelecimento da sua integridade após as lesões confeccionadas, o tempo de análise do reparo tecidual neste trabalho foi de sete dias.

Mediante este contexto, a presente pesquisa analisou o uso do OL isolado e associado à LBI frente a lesões na cavidade oral de ratos. No pós-operatório todos os animais mantiveram-se ativos, não houve registro de óbito ou perda de peso significativa. Durante as primeiras 24 horas houve diminuição no consumo de água e ração, piloereção durante aplicação dos tratamentos, características já observadas em outros trabalhos (NASCIMENTO JÚNIOR, 2016). Para amenizar esses efeitos, foi administrado acetaminofenol no bebedouro dos animais na dosagem de 1 mg/ml por 24 horas, preconizado no trabalho de Damy (2010) e Nascimento Júnior(2016).

Em relação ao processo de reparo tecidual em ventre de língua, observou-se uma diminuição significativa ($p < 0,005$) no infiltrado inflamatório quando comparadas as duas concentrações do OL isolado com o OM (controle), para o 3º e 5º dia (tabela 1: células inflamatórias). Resultado parecido também foi evidenciado nos estudos de Oliveira (2018), que relatou diminuição no processo inflamatório em úlceras gástricas tratadas com óleo fixo da *S. coronata* (OLIVEIRA, 2018). Tal potencial foi descrito em estudos com outros membros da família Arecaceae, como o babaçu (*Orbygnia barbosiana*) e o óleo de coco (*Cocos nucifera*) (AMORIM, 2006; CAMPOS MAZZO, 2014).

Nos três primeiros dias de reparo tecidual todos os grupos tratados apresentaram uma diminuição significativa quando comparados com os grupos controles (OM) (tabela 1: células inflamatórias) (figura 2). Resultados parecidos foram encontrados em outros estudos, os quais mostram que ambos o laser e extrato de plantas medicinais, seja isolados ou associados, podem apresentar efeito

importante na diminuição do processo inflamatório quando comparados com grupos controles (MEDRADO et al., 2008; TAMURA et al., 2009; CARVALHO, 2010; ASSINI; LANG, 2013; CATARINO et al., 2015).

Tabela 1: Densidade de células inflamatórias, de acordo com cada tratamento no tecido cicatricial coletado no pós-operatório de 3, 5 e 7 dias.

Tempo de tratamento	Tratamentos						
	OM 1000	OL 500	OL 1000	OM 1000 + Laser	Laser	OL 500 + Laser	OL 1000 + Laser
3 dias	238,19 (85,20)	80,35 ^a (23,48)	114,70 ^{a,b} (57,47)	63,16 ^{a,b,c} (24,26)	48,24 ^{a,b,c,d} (17,84)	70,05 ^{a,b,c,e} (30,71)	42,35 ^{a,b,c,d,f} (15,21)
5 dias	112,15 (52,23)	103,54 ^a (37,11)	78,69 ^{a,b} (30,28)	37,81 ^{a,b,c} (13,15)	48,20 ^{a,b,c,d} (15,47)	35,65 ^{a,b,c,e} (15,77)	57,79 ^{a,b,c,d,f} (43,83)
7 dias	54,04 (17,38)	74,32 ^a (22,86)	59,10 ^{a,b} (20,76)	53,65 ^{a,b,c} (33,35)	61,35 ^{a,b,c,d} (25,44)	75,15 ^{a,b,c,e} (34,36)	75,71 ^{a,b,c,d,f} (47,07)

Os valores representam as médias com os desvios-padrão entre parênteses. **OM 1000:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo mineral; **OL 500:** tratamento com 500 mg/kg de óleo Licuri; **OL 1000:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo Licuri; **OM 1000 + Laser:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo mineral combinado com laser; **Laser:** tratamento com laser apenas; **OL 500 + Laser:** tratamento com 500 mg/kg de óleo Licuri combinado com laser; **OL 1000 + Laser:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo Licuri combinado com laser; a: $p < 0,05$ comparado com **OM 1000**; b: $p < 0,05$ comparado com **OL 500**; c: $p < 0,05$ comparado com **OL 1000**; d: $p < 0,05$ comparado com **OM 1000 + Laser**; e: $p < 0,05$ comparado com **Laser**; f: $p < 0,05$ comparado com **OL 500 + Laser**.

Ao comparar os grupos tratados com OL isolado e associados a LBI, percebe-se que houve um efeito sinérgico, atuando significativamente na diminuição do infiltrado inflamatório nas primeiras 120hs (5 dias). A maior concentração do óleo associado ao laser (OL 1000 + laser) foi significativamente o grupo que apresentou melhor efeito anti-inflamatório quando comparado com os demais, inclusive com o laser, indicando uma resposta anti-inflamatória significativa nos três primeiros dias (figura 2 e 3) (tabela 1).

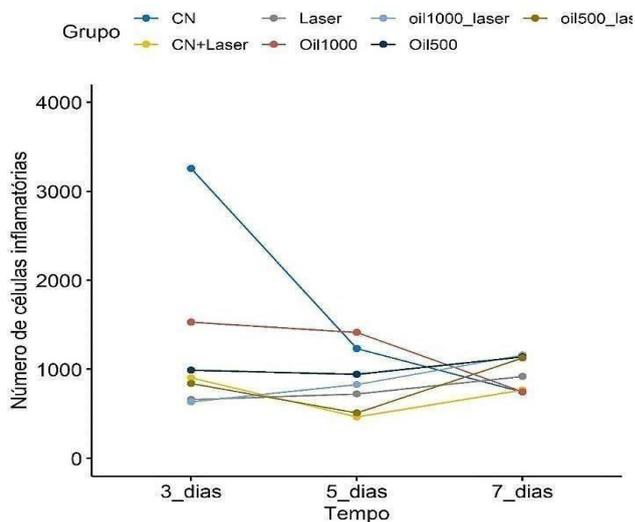
O declínio de células inflamatórias causado pela ação da laserterapia já é algo explicado na literatura, sendo essa uma excelente alternativa já estabelecida para tratar inflamações e lesões (PINHEIRO; DE ALMEIRA; SOARES, 2017). Já o uso do OL atuando na diminuição do processo inflamatório em cavidade oral, que ainda não foi relatado, pode ser explicado pela atividade antimicrobiana dos seus constituintes. Sabe-se que o OL apresenta 90% de ácidos graxos saturados em sua constituição (IHA et al., 2014), e alguns estudos mostram que os ácidos graxos saturados causam a inibição de uma ampla gama de microrganismos (SILVEIRA et al., 2005; NASCIMENTO, 2013; DE MELO ALELUIA et al., 2017). Inclusive, o óleo fixo da *S. coronata* apresentou resultados promissores frente a microrganismos causadores de cáries e outras afecções orais, como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*,

Lactobacillus acidophilus, *Streptococcus aureus* e *Candida albicans* (BASTO, 2017).

A literatura também apresenta atividade antibacteriana do ácido láurico, composto majoritário no óleo de licuri, frente a bactérias gram-negativas como *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Yersinia enterocolitica* (SKŘIVANOVÁ et al., 2005). Acredita-se que o efeito bactericida e bacteriostático dos ácidos graxos presentes no óleo essencial pode contribuir para a diminuição da inflamação. Esse controle é primordial, pois um processo inflamatório intenso pode inibir a proliferação de fibroblastos, que interfere na formação de matriz extracelular, diminui a quantidade de fibras colágenas, dificultando o processo de reparo tecidual (BATISTA et al., 2006).

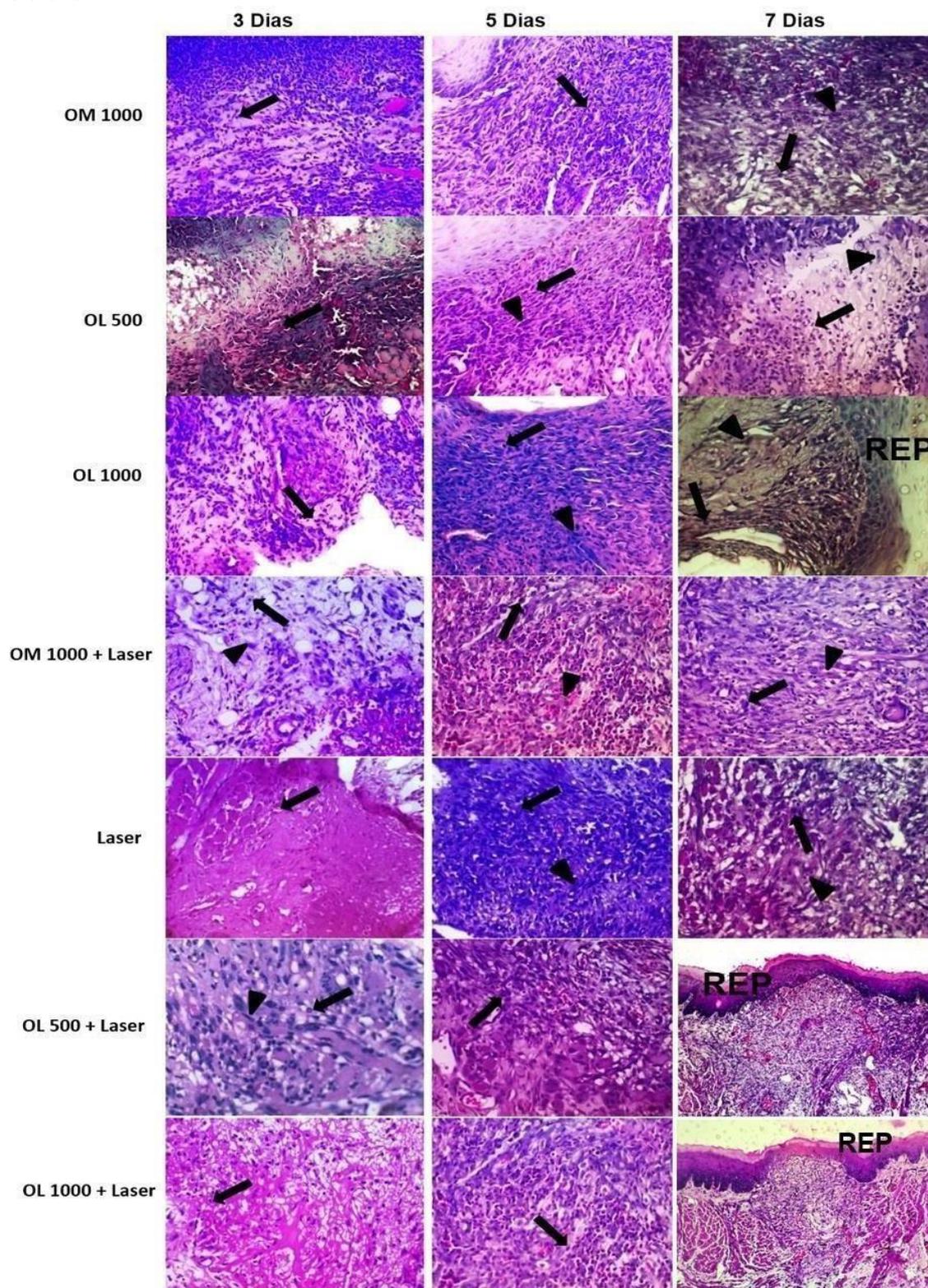
Neste estudo, o controle no processo inflamatório foi identificado em dois grupos experimentais. Segundo os períodos de observação, o grupo OM e OL 1000 exprimi níveis decrescentes de infiltrado inflamatório ao longo de todo o tratamento (figura 2). No entanto, chama atenção o fato de que nos animais submetidos à LBI isolada ou associada com OM ou OL, entre o 5º e 7º dia, apresentaram aumento na quantificação de células inflamatórias (figura 2).

Figura 2 - Densidade de células inflamatórias, de acordo com cada tratamento, no tecido cicatricial coletado no pós-operatório de 3, 5 e 7 dias.



CN: tratamento com 1000 mg/kg de óleo mineral; **Oil 500**: tratamento com 500 mg/kg de óleo Licuri; **Oil 1000**: tratamento com 1000 mg/kg de óleo Licuri; **CN + Laser**: tratamento com 1000 mg/kg de óleo mineral combinado com laser; **Laser**: tratamento com laser apenas; **Oil 500 + Laser**: tratamento com 500 mg/kg de óleo Licuri combinado com laser; **Oil 1000 + Laser**: tratamento com 1000 mg/kg de óleo Licuri combinado com laser. Fonte: autor, 2020.

Figura 3: Fotomicrografias dos grupos evidenciando o infiltrado inflamatório em 3, 5 e 7 dias pós-operatório.



As setas apresentam células inflamatórias, as cabeças de setas denotam fibroblastos. Nas imagens dos grupos: **OL 1000**, **OL 1000 + Laser** e **OL 500 + Laser** está evidenciando a área da ferida reepitelizada (**REP**). Aumento total das imagens 400x exceto as imagens referentes aos grupos **OL 500 + Laser** e **OL + Laser** onde aplicou-se um aumento de 100x. Fonte: autor, 2020.

Alguns estudos corroboram com os resultados encontrados nesta pesquisa em relação ao aumento de células inflamatórias nos grupos tratados com LBI. É possível que a exposição ao laser durante as primeiras semanas estimule uma resposta pró inflamatória, tendo ação sobre mediadores químicos, os quais recrutam e ativam mais linfócitos e plasmócitos. Esses achados vão de acordo com os resultados de alguns autores, que descrevem números mais elevados de linfócitos T e B em ratos tratados com LBI nas primeiras semanas de aplicação, no entanto os valores diminuem após vinte dias do tratamento (TAKEZAKI et al., 2006; ROCHA et al., 2007; STEFFANI, 2019).

A segunda fase da cicatrização é a de fibroplasia, que tem início aproximadamente 48 horas após a lesão, e é nessa fase que surgem os fibroblastos para reparação do tecido. O fibrinogênio do exsudato inflamatório transforma-se em fibrina, formando uma rede, onde os fibroblastos depositam-se e passam a multiplicar-se e a secretar os componentes proteicos do tecido cicatricial; também acontece intensa proliferação vascular, originando o tecido de granulação (SICA; MANTOVANI, 2012; MAEDA et al., 2013; HUPP; ELLIS; TUCKER, 2015; GRASSO; AOYAMA; FURLAN, 2017; HORÁCIO et al., 2017).

A densidade de fibroblastos tende a aumentar aproximadamente no 3º dia, com o intuito de reparar a ferida. Segundo Junqueira e Carneiro (2013), durante essa fase da cicatrização os fibroblastos se multiplicam e produzem o colágeno, assim essas células sintetizam matriz extracelular e mantém a integridade do tecido. A síntese de colágeno começa numa fase relativamente precoce, dentro de três a cinco dias, e prossegue por várias semanas, dependendo do tamanho da ferida (ANDRADE, 1992).

A análise intragrupo deste estudo não mostrou diferença significativa na proliferação de fibroblastos quando comparado o OM e os grupos tratados apenas com o OL no 3º e 5º dia. Quanto aos tempos analisados para esses três grupos, houve um aumento na densidade de fibroblastos no 5º dia, seguido de uma diminuição no 7º dia, mantendo então suas médias equivalentes, sem apresentar diferenças significativas (tabela 2: fibroblastos). Todavia, nota-se que a diminuição de fibroblastos entre o quinto e sétimo dia não interferiu na quantidade de fibras colágenas produzidas nos tratamentos OM, OL 500 e OL 1000 (tabela 2: fibroblastos e tabela 3: fibras colágenas).

Yasukawa et al. (2007) e Silva e Penna (2012) também analisaram a densidade de fibroblastos durante a cicatrização de ratos tratados com fitoterápico, e seus resultados corroboram nossos achados, em que no sétimo dia de tratamento houve uma menor proliferação de fibroblastos, sendo classificado pelos autores como ausente ou discreta. Discordando desses resultados, a literatura apresenta uma ampla variedade de trabalhos em que o tratamento de ratos com fitoterápicos induz a uma maior proliferação de fibroblastos durante todo o processo de reparo tecidual (BARROS et al., 2016; MORESKI; BUENO; DE SOUZA LEITE-MELLO, 2018; KERPPERS et al., 2019).

Tabela 2: Densidade de fibroblastos, de acordo com cada tratamento, no tecido cicatricial coletado no pós-operatório de 3, 5 e 7 dias.

Tempo de tratamento	Grupos experimentais						
	OM 1000	OL 500	OL 1000	OM 1000 + Laser	Laser	OL 500 + Laser	OL 1000 + Laser
3 dias	361,34	151,86 ^a	336,95 ^b	154,02 ^{a,c}	135,97 ^{a,c,d}	142,05 ^{a,c}	149,08 ^{a,c,e}
	(131,31)	(119,58)	(75,99)	(32,93)	(31,70)	(37,37)	(32,9)
5 dias	374,15	388,43	373,30	138,29 ^{a,b,c}	212,53 ^{a,b,c,d}	181,00 ^{a,b,c,d}	211,86 ^{a,b,c,d}
	(148,59)	(148,49)	(73,46)	(41,56)	(52,28)	^e (52,03)	(69,37)
7 dias	148,42	104,76	142,47	188,69 ^{a,b,c}	219,26 ^{a,b,c,d}	211,20 ^{a,b,c,d}	208,82 ^{a,b,c}
	(116,28)	(26,82)	(81,83)	(55,55)	(61,43)	(55,30)	(63,19)

Os valores representam as médias com os desvios-padrão entre parênteses. **OM 1000:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo mineral; **OL 500:** tratamento com 500 mg/kg de óleo Licuri; **OL 1000:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo Licuri; **OM 1000 + Laser:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo mineral combinado com laser; **Laser:** tratamento com laser apenas; **OL 500 + Laser:** tratamento com 500 mg/kg de óleo Licuri combinado com laser; **OL 1000 + Laser:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo Licuri combinado com laser; a: $p < 0,05$ comparado com **OM 1000**; b: $p < 0,05$ comparado com **OL 500**; c: $p < 0,05$ comparado com **OL 1000**; d: $p < 0,05$ comparado com **OM 1000 + Laser**; e: $p < 0,05$ comparado com **Laser**.

A análise histomorfométrica deste estudo também mostrou que, quando comparado OL 500 e OL 1000 com OL 500 + laser e OL 1000 + laser, nos períodos de três e cinco dias, as concentrações do OL isolado apresentaram melhor ação na proliferação de fibroblastos que os grupos associados com laser. Porém, no sétimo dia, os grupos tratados com laser apresentaram maior quantidade de fibroblastos do que os outros tratamentos (tabela 2: fibroblastos). Assim, percebe-se que a LBI a cada 48 horas interferiu na densidade de fibroblastos em longo prazo.

Os autores consideram que a influência da LBI em prazos mais longos (mais sessões) atua incrementando na atividade de enzima mitocondrial e na síntese de

ATP, que estimula proliferação de fibroblastos, e, conseqüentemente, a síntese de colágeno (BEDNARSKA et al., 1998). Alguns trabalhos descreveram resultados similares a este, os quais evidenciaram maior proliferação de fibroblastos após aplicações de laserterapia, além de aumento na atividade mitótica, síntese de colágeno e neovascularização dos tecidos lesados, tanto após laserterapia isolada ou associada com óleos e extratos de plantas (BYRNES et al., 2004; JÚNIOR et al., 2009; GONCALVES et al., 2010; CATARINO et al., 2015; NASCIMENTO et al., 2015).

Em relação a quantificação e fibras colágenas, ao analisar as médias do 5º e 7º dia de tratamento, evidencia-se um aumento em todos os grupos. Ao comparar apenas as concentrações do OL isolado com o OM, a deposição colagênica foi significativamente maior nos grupos tratados com OL, principalmente no dia sete. De uma forma geral, não houve alterações importantes quando comparadas as médias entre os grupos de OL 500 e OL 1000 com os respectivos tratamentos associados ao laser. No sétimo dia, a maior média na quantificação de fibras colágenas foi do grupo tratado apenas com laser, seguido do OL 1000 (figura 4).

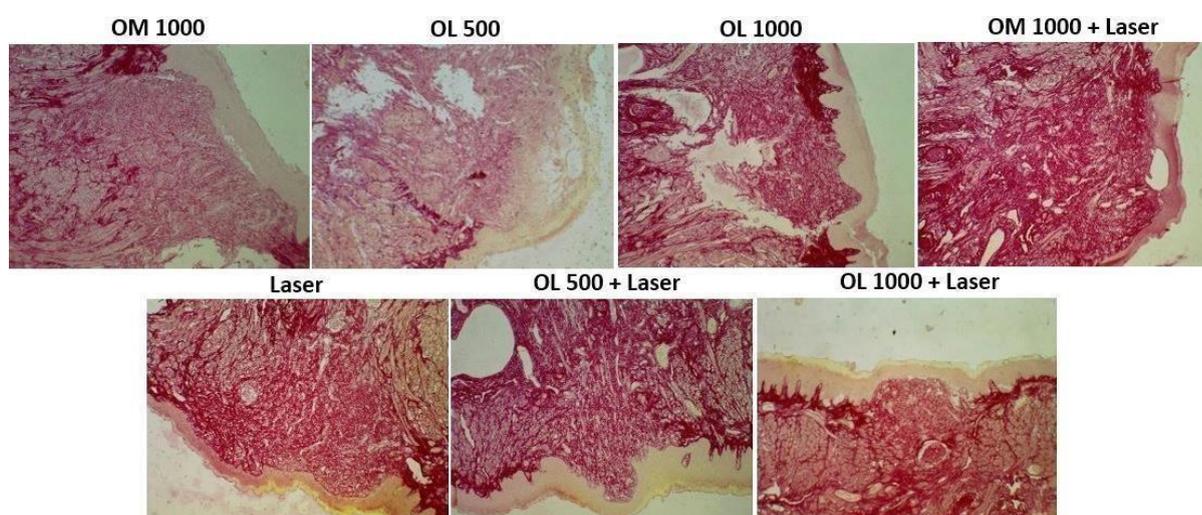
Tabela 3: Densidade de fibras colágenas, de acordo com cada tratamento, no tecido cicatricial coletado no pós-operatório de 3, 5 e 7 dias.

Tempo de tratamento	Tratamentos						
	OM 1000	OL 500	OL 1000	OM 1000 + Laser	Laser	OL 500 + Laser	OL 1000 + Laser
3 dias	14,71 (7,74)	31,52 ^a (13,03)	32,73 ^a (6,83)	40,90 ^{a,b,c} (9,21)	44,69 ^{a,b,c} (8,81)	35,83 ^{a,e} (14,5)	19,04 ^{a,b,c,d,e,f} (4,63)
5 dias	27,20 (11,21)	33,83 ^a (7,85)	28,70 (13,11)	37,79 ^{a,b} (4,67) ^c	28,02 ^{b,d} (7,49)	32,82 ^{a,d,e} (9,22)	31,21 ^{d,e} (8,22)
7 dias	35,13 (8,46)	39,66 ^a (8,87)	46,70 ^{a,b} (9,81)	39,48 ^c (9,72)	51,90 ^{a,b,c,d} (7,94)	43,74 ^{a,b,d,e} (6,87)	42,59 ^{a,c,e} (10,28)

Os valores representam as médias com os desvios-padrão entre parênteses. **OM 1000:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo mineral; **OL 500:** tratamento com 500 mg/kg de óleo Licuri; **OL 1000:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo Licuri; **OM 1000 + Laser:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo mineral combinado com laser; **Laser:** tratamento com laser apenas; **OL 500 + Laser:** tratamento com 500 mg/kg de óleo Licuri combinado com laser; **OL 1000 + Laser:** tratamento com 1000 mg/kg de óleo Licuri combinado com laser; a: p < 0,05 comparado com **OM 1000**; b: p < 0,05 comparado com **OL 500**; c: p < 0,05 comparado com **OL 1000**; d: p < 0,05 comparado com **OM 1000 + Laser**; e: p < 0,05 comparado com **Laser**; f: p < 0,05 comparado com **OL 500 + Laser**.

Já era esperado que o laser isolado apresentasse resultados significativos no quantitativo celular para o reparo tecidual, estudos sugerem que a LBI facilita a síntese de colágeno, aumenta a motilidade dos queratinócitos, liberando fatores de crescimento além de transformar os fibroblastos em miofibroblastos (HAAS et al., 1990; YU, 1994; EZZATI; BAYAT; KHOSHVAGHTI, 2010). Vale ressaltar que a LBI é considerada uma excelente terapia no tratamento de feridas, já sendo amplamente utilizada na prática clínica, no entanto, diversos estudos são realizados a fim de estabelecer os padrões de intensidade, tempo de exposição, voltagem, já que as mudanças desses fatores alteram a resposta de cicatrização (CARVALHO, 2010; GONCALVES et al., 2010; MOREIRA; CAMPMANY, 2015; PINHEIRO; DE ALMEIRA; SOARES, 2017; DOS SANTOS et al., 2019).

Figura 4 - As fotomicrografias apresentam a diferença na densidade de fibras colágenas entre os 7 grupos estudados no 7º dia pós-operatório.



A coloração utilizada foi *Picrosirius Red*. As fotos foram obtidas no aumento de 100X. **CN**: tratamento com 1000 mg/kg de óleo mineral; **Oil 500**: tratamento com 500 mg/kg de óleo Licuri; **Oil 1000**: tratamento com 1000 mg/kg de óleo Licuri; **CN + Laser**: tratamento com 1000 mg/kg de óleo mineral combinado com laser; **Laser**: tratamento com laser apenas; **Oil 500 + Laser**: tratamento com 500 mg/kg de óleo Licuri combinado com laser; **Oil 1000 + Laser**: tratamento com 1000 mg/kg de óleo Licuri combinado com laser. Fonte: autor, 2020.

Os resultados obtidos neste estudo também mostram que a quantificação de fibras colágenas nos grupos tratados com OL 1000, e as duas concentrações do óleo associadas ao laser (OL 500 + laser e OL 1000 + laser) apresentaram médias próximas ao grupo laser (tabela 3), evidenciando que esses grupos apresentaram-se como bons tratamentos no reparo tecidual de feridas na mucosa oral.

Em vista disso, os resultados apresentados neste estudo sugerem que a aplicação do OL isolado ou associado com a LBI apresenta resultados favoráveis para o processo de cicatrização, uma vez que diminuiu infiltrado inflamatório, aumenta a densidade fibroblástica e produção de fibras colágenas. Vale ressaltar que o óleo de licuri em sua maior concentração quando comprado com o laser isolado e associado mostrou resultados promissores, podendo ser considerada uma alternativa eficaz no tratamento de feridas e de menor custo para a população.

Desse modo, faz-se necessário à realização de mais estudos que desenvolvam melhores práticas e investiguem parâmetros diferentes, como potência, densidade e comprimento de onda do laser, assim como a forma de aplicação do óleo, a frequência e tempo de uso, para que se tenha um tratamento adequado na cicatrização de feridas. Dentro desta perspectiva, o presente trabalho deve servir como o primeiro de uma série de estudos que se propõem a avaliar o efeito da aplicação do óleo da amêndoa do licuri isolado ou associado à laserterapia de baixa intensidade sobre reparo tecidual de feridas em mucosa oral. Além de abrir caminhos para novas pesquisas que busquem resultados benéficos no processo de cicatrização, tragam novas propostas terapêuticas seguras, não invasivas, além de menor custo e conforto para o paciente.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, E. M., Jorge Eduardo; Coelho, Júlio César U.; Campos, Antonio Carlos L.; Stahlke Jr, Henrique Jorge; Timi, Jorge Rufino Ribas; Rocha, Luiz Carlos de Almeida; Moreira, Ana Tereza Ramos; Rispoli, Daniel Zeni; Ferreira, Lydía Masako. Efeito do uso tópico do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (Babaçu) na cicatrização de feridas cutâneas - estudo controlado em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, suplemento 2, 21, p. 67-75, 2006.
- ANDRADE, Z. Tecido conjuntivo, reparo, regeneração e cicatrização. *In*: MONTENEGRO, M. R.; FRANCO, M. **Patologia processos gerais**, ed. 4, p. 135-151, 1992.
- ASSINI, F. L. F., E.J.; LANG, K.L. Efeitos farmacológicos do extrato aquoso de *Solidago chilensis* Meyen em camundongos. **Rev. Bras. Pl. Med**, n. 1, 15, p. p.130-134, 2013.
- BARROS, E. M. L.; SANTOS, D. K. B.; COELHO, N. P. M. F.; REIS, M. R. *et al.* Efeitos da *Passiflora edulis* S. no processo de cicatrização em queimaduras induzidas em camundongos. **ConScientiae Saúde**, 15, n. 1, p. 122-128, 2016.
- BASTO, S. R. d. L. **Formulação de enxaguatório bucal contendo emulsões a base de óleo fixo de *Syagrus coronata* (licuri): caracterização, avaliação antimicrobiana, toxicidade e HET-CAM**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.
- BATISTA, C. P.; TORRES, O. J. M.; MATIAS, J. E. F.; MOREIRA, A. T. R. *et al.* Efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização do estômago em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Acta Cir Bras**, 21, n. Suppl 3, p. 26-32, 2006.
- BAUER, L. C.; DO AMARAL DAMÁSIO, J. M.; DA SILVA, M. V.; DE ANDRADE SANTANA, D. *et al.* Chemical characterization of pressed and refined licuri (*Syagrus coronata*) oils. **Acta Scientiarum. Technology**, 35, n. 4, p. 771-776, 2013.

- BEDNARSKA, K.; RÓZGA, B.; KOŁODZIEJCZYK, K.; SZOSLAND, D. *et al.* Effect of low-power red light laser irradiation on the viability of human skin fibroblast. **Radiation and environmental biophysics**, 37, n. 3, p. 215-217, 1998.
- BYRNES, K. R.; BARNA, L.; CHENAULT, V. M.; WAYNANT, R. W. *et al.* Photobiomodulation improves cutaneous wound healing in an animal model of type II diabetes. **Photomedicine and Laser Therapy**, 22, n. 4, p. 281-290, 2004.
- CAMPOS MAZZO, H. F., Oliveira Cícero; Laís Ferreira lins, Jackellyne; Barnabé Escodro, Pierre; De Oliveira Bernardo, Juliana. . Uso tópico de óleo de côco na reparo tecidual de feridas de equinos. **Ciência veterinária nos trópicos**, n. 3, 17, p. 137, 2014.
- CARNEIRO, M. I. d. S.; RIBAS FILHO, J. M.; MALAFAIA, O.; RIBAS, C. A. P. M. *et al.* Estudo comparativo do uso de extrato de *Pfaffia glomerata* e do laser de baixa potência (Hélio-Neônio) na cicatrização de feridas em ratos. **Arq Bras Cir Dig**, 23, n. 3, p. 163-167, 2010.
- CARVALHO, P. d. T. C. S., landara Schettert; Reis, Filipe Abdalla; Perreira, Daniel Martins; Aydos, Ricardo Dutra. Influence of ingaalp laser (660nm) on the healing of skin wounds in diabetic rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, n. 1, 25, 2010.
- CATARINO, H. R. C.; DE GODOY, N. P.; SCHARLACK, N. K.; NEVES, L. M. G. *et al.* InGaP 670-nm laser therapy combined with a hydroalcoholic extract of *Solidago chilensis* Meyen in burn injuries. **Lasers in medical science**, 30, n. 3, p. 1069-1079, 2015.
- COTRAN, R.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. Intestinos Delgado e Grosso. **Patologia estrutural e funcional**. 6th ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 732-753, 2000.
- DAMY, S. B.; CAMARGO, R. S.; CHAMMAS, R.; FIGUEIREDO, L. F. P. d. Aspectos fundamentais da experimentação animal-aplicações em cirurgia experimental. **Rev Assoc Med Bras**, 56, n. 1, p. 103-111, 2010.
- DE CARVALHO ABREU, J. A.; SOUSA, A. d. L.; FÔNSECA ALVES, C. L. G.; NUNES, J. T. Análise histológica da cicatrização de feridas cutâneas experimentais sob ação do laser de baixa potência. **Scientia Medica**, 21, n. 3, 2011.
- DE FREITAS PESSOA, M.; DE MOURA GUERRA, A. M. N.; MARACAJÁ, P. B.; DE LIRA, J. F. B. *et al.* Estudo da cobertura vegetal em ambientes da caatinga com diferentes formas de manejo no assentamento Moacir Lucena, Apodi-RN. **Revista Caatinga**, 21, n. 3, p. 40-48, 2008.
- DE GASPI, F. O. d. G.; FOGLIO, M. A.; DE CARVALHO, J. E.; SANTOS, G. M. T. *et al.* Effects of the topical application of hydroalcoholic leaf extract of *Oncidium flexuosum* Sims.(Orchidaceae) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2011, 2011.
- DE MELO ALELUIA, C.; DE CÁSSIA PROCÓPIO, V.; OLIVEIRA, M. T. G.; FURTADO, P. G. S. *et al.* Fitoterápicos na Odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, 27, n. 2, p. 126-134, 2017.
- DOS SANTOS, T. K. G. L.; DE CARVALHO ALCOFORADO, L. G.; DE SOUSA LEITÃO, A.; VANDERLEI, A. C. d. Q. V. *et al.* Uso da laserterapia de baixa potência no tratamento de lesões orais. **Revista Campo do Saber**, 4, n. 5, 2019.
- EZZATI, A.; BAYAT, M.; KHOSHVAGHTI, A. Low-level laser therapy with a pulsed infrared laser accelerates second-degree burn healing in rat: a clinical and microbiologic study. **Photomedicine and laser surgery**, 28, n. 5, p. 603-611, 2010.
- GERBI, M. E. M. P., Antonio Luiz Barbosa; Marzola, Clovis; Júnior, Francisco De Assis Limeira ; Ramalho, Luciana Maria Pedreira; Ponzi, Elizabeth Arruda Carneiro; Soares, André Oliveira; Carvalho, Lívia Cristina Bandeira; Lima, Helena Vieira; Gonçalves, Thais Oliveira. Assessment of Bone Repair Associated with the Use of Organic Bovine Bone and Membrane Irradiated at 830 nm. **Fotomedicina e cirurgia a laser**, 23, p. 382-388, 2005.

- GONCALVES, R. V.; NOVAES, R. D.; MATTA, S. L.; BENEVIDES, G. P. *et al.* Comparative study of the effects of gallium-aluminum-arsenide laser photobiomodulation and healing oil on skin wounds in wistar rats: a histomorphometric study. **Photomedicine and Laser Surgery**, 28, n. 5, p. 597-602, 2010.
- GRASSO, E. d. C.; AOYAMA, E. M.; FURLAN, M. R. AÇÃO ANTIINFLAMATÓRIA DE Curcuma longa L.(ZINGIBERACEAE). **Ver Eletr Thesis**, 28, p. 122-123, 2017.
- HAAS, A. F.; ISSEROFF, R. R.; WHEELAND, R. G.; ROOD, P. A. *et al.* Low-energy helium-neon laser irradiation increases the motility of cultured human keratinocytes. **Journal of investigative dermatology**, 94, n. 6, p. 822-826, 1990.
- HORÁCIO, B. O.; GERON, V. L.; GOMES, M.; FÁVERO, M. T. *et al.* AÇÃO ANTIINFLAMATÓRIA DO ÓLEO DE COPAÍBA: POSSÍVEL CONTRIBUIÇÃO NO TRATAMENTO DA SÍNDROME METABÓLICA. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, 8, p. 144-160, 2017.
- HOURELD, N. N. Shedding light on a new treatment for diabetic wound healing: a review on phototherapy. **The Scientific World Journal**, 2014, 2014.
- HUPP, J.; ELLIS, E.; TUCKER, M. R. **Cirurgia oral e maxilofacial contemporânea**. Elsevier Brasil, 2015. 8535281029.
- IHA, O. K.; ALVES, F. C.; SUAREZ, P. A.; DE OLIVEIRA, M. B. *et al.* Physicochemical properties of Syagrus coronata and Acrocomia aculeata oils for biofuel production. **Industrial Crops and Products**, 62, p. 318-322, 2014.
- JÚNIOR, A. M. R.; VIEIRA, B. J.; DE ANDRADE, L. C. F.; AARESTRUP, F. M. Low-level laser therapy increases transforming growth factor- β 2 expression and induces apoptosis of epithelial cells during the tissue repair process. **Photomedicine and laser surgery**, 27, n. 2, p. 303-307, 2009.
- JUNQUEIRA, L. C. C.J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- KERPPERS, I. I.; KERPPERS, F. K.; DOS SANTOS, K. M. M. G.; CORDEIRO, M. E. R. *et al.* Efeito do extrato aquoso de Cordyline Dracaenóides Kunth na cicatrização de lesões cutâneas. **Medicina (Ribeirão Preto)**, 52, n. 4, p. 267-275, 2019.
- LEAL, J. B.; DA SILVA, M. M.; COSTA, J. M.; DE ALBUQUERQUE, L. C. d. S. *et al.* ETNOBOTÂNICA DE PLANTAS MEDICINAIS COM POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO UTILIZADAS PELOS MORADORES DE DUAS COMUNIDADES NO MUNICÍPIO DE ABAETETUBA, PARÁ. **Biodiversidade**, 18, n. 3, 2019.
- LIMA, R. R.; COSTA, A. M. R.; SOUZA, R. D. d.; GOMES-LEAL, W. Inflamação em doenças neurodegenerativas. **Revista Paraense de Medicina**, 21, n. 2, p. 29-34, 2007.
- LORD, J. M.; MIDWINTER, M. J.; CHEN, Y.-F.; BELLI, A. *et al.* The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment. **The Lancet**, 384, n. 9952, p. 1455-1465, 2014.
- MAEDA, T.; MASAKI, C.; KANAO, M.; KONDO, Y. *et al.* Low-intensity pulsed ultrasound enhances palatal mucosa wound healing in rats. **Journal of prosthodontic research**, 57, n. 2, p. 93-98, 2013.
- MARTELLI, A.; DE ANDRADE, T. A. M.; DOS SANTOS, G. M. T. Perspectivas na utilização de fitoterápicos na cicatrização tecidual: revisão sistemática. **ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION**, 7, n. 8, 2018.
- MEDRADO, A. P.; SOARES, A. P.; SANTOS, E. T.; REIS, S. R. A. *et al.* Influence of laser photobiomodulation upon connective tissue remodeling during wound healing. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 92, n. 3, p. 144-152, 2008.
- MITCHELL, R. N.; KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. *et al.* **Robbins & Cotran fundamentos de patologia**. 9 ed. ed. Rio de Janeiro : Elsevier Brasil, 2017. 8535286519.
- MOREIRA, D. O. L.; CAMPMANY, W. Cura e reparo induzida por laserterapia: revisão bibliográfica. **Universidade são Francisco**, 2015.

MORESKI, D. B.; BUENO, F. G.; DE SOUZA LEITE-MELLO, E. V. Ação cicatrizante de plantas medicinais: um estudo de revisão. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, 22, n. 1, 2018.

NASCIMENTO JÚNIOR, B. J. S., A.M.T.; SOUZA, A.T.; SANTOS, E.O.; XAVIER, M.R.; MENDES, R.L.; AMORIM, E.L.C. Estudo da ação da romã (*Punica granatum* L.) na cicatrização de úlceras induzidas por queimadura em dorso de língua de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*). **Rev. Bras. Pl. Med**, 18, p. 423-432, 2016.

NASCIMENTO, R. S. d. **Ácidos graxos e óleo essencial de sementes de *Syagrus coronata* (Mart.) Becc.(Arecaceae): composição química e atividade anti-*Staphylococcus aureus***. 2013. -, Universidade Federal de Pernambuco.

NASCIMENTO, W. M.; MAIA FILHO, A. L. M.; DA COSTA, C. L. S.; MARTINS, M. *et al.* Estudo da resistência cicatricial cutânea de ratos tratados com óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*). **ConScientiae Saúde**, 14, n. 3, p. 449-455, 2015.

OLIVEIRA, Ana Caroline Fraga. **Evidências científicas da implantação da política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos na atenção primária à saúde nos últimos 10 anos: uma revisão sistemática**. 2017. TCC (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Sergipe, Lagarto, 2017.

OLIVEIRA, B. S. **Atividade gastroprotetora do óleo das amêndoas de *Syagrus coronata* (Mart.) Becc.** 2018. Dissertação de Mestrado em Ciências farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

OLIVEIRA, Maria Beatriz Farias de. **Estudo integrado da espécie palmeira ouricuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari) para geração de energia**. 2013. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2013.

PINHEIRO, A. L. B.; DE ALMEIDA, P. F.; SOARES, L. G. P. Princípios fundamentais dos lasers e suas aplicações. *In: Biologia aplicada à Agro&industria*, 2017. p. p. 815 -894.

REGEZI, J.; SCIUBBA, J.; JORDAN, R. C. **Patologia oral: correlações clinicopatológicas**. 7 ed ed. Elsevier Brasil, 2017. 853528883X.

ROCHA, L. L. V.; PINTO, M. V. d. M.; MARIA, J.; VIEIRA, A. J. D. *et al.* Efeito da laserterapia sobre o modelo experimental de inflamação granulomatosa. **Fisioterapia Brasil**, 8, p. 335-341, 2007.

RUFINO, M. U. d. L.; COSTA, J. T. d. M.; SILVA, V. A. d.; ANDRADE, L. d. H. C. Knowledge and use of ouricuri (*Syagrus coronata*) and babaçu (*Orbignya phalerata*) in Buíque, Pernambuco State, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, 22, n. 4, p. 1141-1149, 2008.

SCHREMENTI, M. E.; FERREIRA, A. M.; ZENDER, C.; DIPIETRO, L. A. Site-specific production of TGF- β in oral mucosal and cutaneous wounds. **Wound Repair and Regeneration**, 16, n. 1, p. 80-86, 2008.

SICA, A.; MANTOVANI, A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. **The Journal of clinical investigation**, 122, n. 3, p. 787-795, 2012.

SILVA, T. F. d.; PENNA, A. L. B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, p. 530-539, 2012.

SILVEIRA, C.; PESSANHA, C.; LOURENÇO, M.; NEVES JÚNIOR, I. *et al.* Antimicrobial activity of *Syagrus oleracea* and *Mauritia vinifera* fruits. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 15, n. 2, p. 143-148, 2005.

SKŘIVANOVÁ, E.; MAROUNEK, M.; DLOUHA, G.; KAŇKA, J. Susceptibility of *Clostridium perfringens* to C2–C18 fatty acids. **Letters in applied microbiology**, 41, n. 1, p. 77-81, 2005.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 2012.

- STEFFANI, J. A. Influência da laserterapia no processo cicatricial de queimaduras do terceiro grau. **Fisioterapia Brasil**, 4, n. 5, p. 335-340, 2019.
- SZPADERSKA, A.; WALSH, C.; STEINBERG, M.; DIPIETRO, L. Distinct patterns of angiogenesis in oral and skin wounds. **Journal of dental research**, 84, n. 4, p. 309-314, 2005.
- SZPADERSKA, A.; ZUCKERMAN, J.; DIPIETRO, L. Differential injury responses in oral mucosal and cutaneous wounds. **Journal of dental research**, 82, n. 8, p. 621-626, 2003.
- TAKEZAKI, S.-i.; OMI, T.; SATO, S.; KAWANA, S. Light-emitting diode phototherapy at 630±3 nm increases local levels of skin-homing T-cells in human subjects. **Journal of Nippon Medical School**, 73, n. 2, p. 75-81, 2006.
- TAMURA, E. K.; JIMENEZ, R. S.; WAISMAM, K.; GOBBO-NETO, L. *et al.* Inhibitory effects of *Solidago chilensis* Meyen hydroalcoholic extract on acute inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, 122, n. 3, p. 478-485, 2009.
- TONNESEN, M. G.; FENG, X.; CLARK, R. A., 2000, **Angiogenesis in wound healing**. Elsevier. 40-46.
- TURABELIDZE, A.; GUO, S.; CHUNG, A. Y.; CHEN, L. *et al.* Intrinsic differences between oral and skin keratinocytes. **PLoS One**, 9, n. 9, p. e101480, 2014.
- WALL, M. E.; WANI, M. C. Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. **Journal of ethnopharmacology**, 51, n. 1-3, p. 239-254, 1996.
- YASUKAWA, A.; HRUI, H.; KOYAMA, Y.; NAGAI, M. *et al.* The effect of low reactive-level laser therapy (LLLT) with helium-neon laser on operative wound healing in a rat model. **Journal of Veterinary Medical Science**, 69, n. 8, p. 799-806, 2007.
- YU, W. The effects of photo-irradiation on the secretion of TGF- α , PDGF and bFGF from fibroblasts in vitro. **Lasers Surg Med (Suppl)**, 6, p. 8, 1994.

Artigo 3 - Efeito antígenotóxico e antimutagênico *in vivo* do óleo fixo da *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. contra danos induzidos pela ciclofosfamida

Talita Giselly dos Santos Souza^{1,3}; Meykson Alexandre da Silva^{2,3}; George Souza Feitoza¹; Marcia Vanusa da Silva¹; Cristiano Aparecido Chagas³.

¹ Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil

² Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s / n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Pernambuco, Brasil

³ Laboratório de Biotecnologia e Fármacos, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil

Autor para correspondência:

Cristiano Aparecido Chagas

Núcleo de Ciência Biológicas – CAV/UFPE

Rua Alto do Reservatório, s/n – CEP: 55608-680 - Bela Vista, Vitória de Santo Antão, PE – Brasil.

Fone/Fax: (00 55 81) 35233351

E-mail: chagas.cris@gmail.com

E-mail dos demais autores:

talitagiselly@hotmail.com

alexandre-ameixas2013@outlook.com

marciavanusa@yahoo.com.br

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo determinar o possível efeito antioxidante, antimutagênico e antígenotóxico do óleo fixo da *Syagrus coronata* (OSc) frente a danos causados pela ciclofosfamida em camundongos *Swiss*. Os métodos de DPPH e ATT foram usados para avaliar a atividade antioxidante. Na análise antimutagênica, utilizaram-se 30 animais, os quais foram divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=5). Em três grupos foi aplicado o protocolo de tratamento simultâneo, em que foi administrada dose única do OSc e logo após os animais receberam ciclofosfamida por via intraperitoneal, sendo os grupos: Controle Negativo (CN)- 0,1 mL de água destilada para cada 10g p.c; controle positivo - Ciclofosfamida 100mg/kg (C); e tratado - 2000mg/kg do óleo de licuri + Ciclofosfamida 100mg/kg (C + OSc). Mais três grupos receberam os mesmos tratamentos citados, porém utilizando o protocolo de pré-tratamento, em que o OSc foi administrado uma vez ao dia, sempre no mesmo horário, durante sete dias consecutivos, e no oitavo dia receberam ciclofosfamida. Os grupos receberam os tratamentos com água e óleo por via oral. Após 48h de aplicação da ciclofosfamida, os animais foram eutanasiados e foram coletados sangue, rim, fígado e encéfalo para realização do ensaio cometa e teste de micronúcleo. Em ambos os experimentos, os resultados do teste do micronúcleo e do ensaio cometa foram analisados estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis e teste T par-a-par com correção de Bonferroni. Os resultados mostraram que o OSc possui baixa atividade antioxidante pelo método de DPPH e ATT. Em relação à atividade antimutagênica, o OSc apresentou uma redução de mutação genética expressiva, sendo considerada excelente no pré-tratamento e moderada no simultâneo. Quanto à análise antígenotóxica, no pré-tratamento o OSc promoveu quimioproteção em todos os tecidos analisados; no entanto, no tratamento simultâneo a diminuição de dano genético só foi significativa em sangue e fígado. Desta forma, apesar de não ter atividade antioxidante, o OSc outros mecanismos de ação devem explicar a capacidade antígenotóxica frente a danos genéticos causados pela ciclofosfamida. No entanto, mais estudos devem ser realizados a fim de elucidar o mecanismo de quimioproteção do OSc e seus possíveis efeitos terapêuticos.

Palavras-chave: Licuri; ensaio cometa; teste de micronúcleo; antioxidante.

ABSTRACT

The present study aimed to determine the possible antioxidant, antimutagenic and antigenotoxic effect of *Syagrus coronata* (OSc) fixed oil against damage caused by cyclophosphamide in Swiss mice. DPPH and ATT methods were used to assess antioxidant activity. In the antimutagenic analysis, 30 animals were used, which were randomly divided into 6 groups (n = 5). The simultaneous treatment protocol was applied in three groups, in which a single dose of OSc was administered and immediately after the animals received cyclophosphamide intraperitoneally, with the following groups: Negative Control (CN) - 0.1 mL of distilled water for each 10g *Praça*; positive control - Cyclophosphamide 100mg / kg (C); and treated - 2000mg / kg of licuri oil + Cyclophosphamide 100mg / kg (C + OSc). Three more groups received the same treatments mentioned, but using the pre-treatment protocol, in which the OSc was administered once a day, always at the same time, for seven consecutive days, and on the eighth day they received cyclophosphamide. The groups received treatments with water and oil orally. After 48 hours of application of cyclophosphamide, the animals were euthanized and blood, kidney, liver and brain were collected to perform the comet assay and micronucleus test. In both experiments, the results of the micronucleus test and the comet assay were statistically analyzed using the Kruskal-Wallis test and the T-pair test with Bonferroni correction. The results showed that OSc has low antioxidant activity using the DPPH and ATT method. Regarding antimutagenic activity, the OSc showed a significant reduction in genetic mutation, being considered excellent in the pretreatment and moderate in the simultaneous. As for the antigenotoxic analysis, in the pre-treatment the OSc promoted chemoprotection in all analyzed tissues; however, in the simultaneous treatment the decrease in genetic damage was only significant in blood and liver. Thus, despite having no antioxidant activity, OSc other mechanisms of action should explain the antigenotoxic capacity in the face of genetic damage caused by cyclophosphamide. However, further studies should be carried out in order to elucidate the chemoprotection mechanism of OSc and its possible therapeutic effects.

Keywords: Licuri; comet assay; micronucleus test; antioxidant.

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde, mais de 90% da população dos países desenvolvidos e em desenvolvimento, fazem uso das medicinas alternativas tradicionais; dentre elas, destaca-se o uso de plantas medicinais como uma das mais importantes (Organization, 2002; Sezik et al., 2001). As plantas estão relacionadas à diferentes efeitos biológicos devido a sua capacidade de produzir inúmeros e distintos componentes químicos e biológicos, especialmente componentes do metabolismo primário (Pascoal et al., 2014). Estas substâncias são utilizadas na prevenção e tratamento de doenças, tais como inflamação, câncer, doenças degenerativas, doenças cardíacas, entre outras (Khalaj et al., 2013).

Uma das plantas que se destacam no meio medicinal alternativo é a espécie *Syagrus coronata* comumente chamada de licuri, um tipo de palmeira nativa do território brasileiro e pertencente à família Arecaceae, encontradas abundantemente em regiões secas e áridas da Caatinga (Noblick, 1986). Esta espécie vegetal se representa por sua importância econômica e cultural, pois é responsável pela geração de renda para a população, tanto no seu uso como fonte de alimento, quanto no artesanato, indústria de cosméticos e construção civil (Carvalho et al., 2005; Drumond, 2007).

A amêndoa do licuri é amplamente utilizada como fonte de alimento e extração de óleo para usos culinários; também são muito utilizadas pelas indústrias na produção de margarinas e laticínios, bem como cremes e emulsões nas indústrias de cosméticos (Drumond, 2007; Graziola et al., 2002). Como uso terapêutico, que é amplamente difundido culturalmente entre as gerações, ele é utilizado pelos povos no tratamento de micoses, dores vertebrais, inflamações e cicatrização de feridas (Oliveira, 2013; Rufino et al., 2008).

O OSc possui estabilidade térmica e apresenta um alto rendimento de extração em prensa hidráulica, cerca de 50%. Além disso, os estudos mostram predominância de ácidos graxos saturados em sua constituição química, sendo o ácido láurico o composto majoritário, seguido do mirístico e caprílico. Através dos estudos presentes na literatura, pode-se dizer que este OSc apresenta uma composição e características físico-químicas que são promissoras para possíveis atividades biológicas (Iha et al., 2014; Nascimento, 2013; Oliveira, 2013; Skřivanová et al., 2005).

Dentre as atividades biológicas que um fitoterápico pode apresentar, destaca-se a antioxidante e antimutagênica. Na atividade antioxidante uma substância consegue capturar os radicais livres que são produzidos na célula, vale salientar que a formação de radicais livres está associada ao desenvolvimento de cânceres e outras doenças. À vista disso, um fitoterápico com atividade antioxidante pode agir como antimutagênico e antígenotóxico, sendo capazes de reduzir danos causado no material genético (GONTIJO et al., 2014).

Uma substância antimutagênica apresenta a capacidade de prevenir ou reduzir as mutações genéticas, seja ela induzida ou espontânea, diminuindo a possibilidade do desenvolvimento de cânceres. Os agentes mutagênicos e cancerígenos estão presentes em nosso dia a dia, e a busca por compostos que possam eliminar ou neutralizar estes agentes tornou-se muito importante na comunidade científica, visto os altos índices de cânceres e outras doenças causadas por danos no DNA que estão afetando consideravelmente a população (Gontijo et al., 2014; Hong et al., 2011; Khader et al., 2010; Neri et al., 2006).

Em vista da necessidade de ampliação do conhecimento que envolve o uso de plantas medicinais e seus efeitos na saúde humana, além da busca por novos compostos, moléculas ou substâncias que atuem na manutenção dos efeitos danosos ao DNA, propomos avaliar o potencial antioxidante, antimutagênico e antígenotóxico do óleo extraído das sementes da *Syagrys coronata* em camundongos *Swiss*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do óleo vegetal

O óleo fixo utilizado nesta pesquisa foi obtido a partir da coleta de Sementes da *S. coronata* e a extração mecânica realizada em prensa elétrica a frio pela Cooperativa de Produção da Região do Piemonte da Diamantina (COOPES) (Bauer et al., 2013), localizada no município de Capim Grosso, Bahia – Brasil (11° 22' 54" S 40° 0' 46" O). Durante a coleta também foram recolhidas sementes do *S. coronata*, que foram levadas para identificação e depositadas no Herbário IPA do Instituto Agrônomo de Pernambuco (código 55.147).

Atividade antioxidante

Captura do radical DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil)

A atividade antioxidante in vitro foi realizada pelo método de eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•), um método descrito na literatura como fácil, preciso, rápido, simples e econômico (OLIVEIRA, 2015). A atividade sequestradora dos radicais livres foi medida via doação de hidrogênio usando o radical estável DPPH. A porcentagem de inibição (I%) foi calculado usando a seguinte equação: $I\% = [(Abs0 - Abs1) / Abs0] \times 100$, onde Abs0 é a absorbância do controle e Abs1 é a absorbância na presença do composto óleo (BLOIS, 1958).

A capacidade antioxidante total (CAT)

A capacidade antioxidante total das amostras foi avaliada pelo método de Aguilar Urbano et al. (2013). Para isso, 100 µL do OSc foram adicionados a 1ml de solução de fosfomolibdenio; a mistura foi aquecida a 95 °C por 90 minutos. Após, as amostras foram esfriadas até temperatura ambiente a ± 25 °C e uma alíquota de 200 µL de cada amostra foi colocada em microplacas, em triplicata, para a leitura da absorbância, feita em espectrofotômetro a 695 nm. A CAT foi expressa em porcentagem de atividade antioxidante, calculada pela equação: $AAT (\%) = [(Ab amostra - Ab branco) / (Ab AA - Ab branco)] \times 100$, onde AA é absorbância do ácido ascórbico.

Ensaio antimutagênico e antigenotóxico

Animais

Foram utilizados 30 camundongos machos (Swiss albino), com aproximadamente oito semanas de idade, pesando em torno de 40g. Durante o experimento, os animais foram acomodados em caixas de polipropileno, mantidos em uma sala com temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $50 \pm 5\%$, com ciclo de 12 horas luz/escuro. Além disso, receberam água potável e ração ad libitum. Todos os procedimentos experimentais com animais realizados nesta pesquisa obedeceram às normas solicitadas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do

Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) (processo nº 0038/2018).

Grupos experimentais

A avaliação antigenotóxica do OSc contra o dano causado pela ciclofosfamida foi realizada seguindo os protocolos de tratamento simultâneo e pré-tratamento, realizados e propostos por estudos anteriores (de Melo et al., 2018; Dos Santos et al., 2018; Krishna and Hayashi, 2000; Ribeiro, 2003).

No tratamento simultâneo uma dose de OSc foi administrada por gavagem; logo após os animais receberam ciclofosfamida por via intraperitoneal. No protocolo do pré-tratamento, os animais foram tratados com OSc, via gavagem, uma vez ao dia, sempre no mesmo horário, durante sete dias consecutivos, e no oitavo dia receberam ciclofosfamida. Passadas 48 horas após aplicação da ciclofosfamida em ambos os protocolos, os camundongos foram eutanasiados para coleta dos tecidos (rim, fígado, encéfalo e sangue).

Em ambos os protocolos havia um grupo controle negativo (CN), que recebeu, por gavagem, água destilada, além de um grupo controle positivo (C), que recebeu apenas ciclofosfamida por via intraperitoneal.

Neste estudo utilizou-se 30 camundongos, os quais foram divididos aleatoriamente em seis grupos de cinco animais para receber seus respectivos tratamentos:

Tratamento simultâneo

Grupo 1 – Controle negativo (CN): 0,1 mL de água destilada para cada 10 g p.c.

Grupo 2 – Controle positivo: Ciclofosfamida 100 mg/kg.

Grupo 3 —2000 mg/kg do óleo de licuri + 100 mg/kg de Ciclofosfamida.

Pré-tratamento

Grupo 4 – Controle negativo (CN): 0,1 mL de água destilada para cada 10g p.c.

Grupo 5 – Controle positivo: Ciclofosfamida 100mg/kg.

Grupo 6 - -2000 mg/kg do óleo de licuri + Ciclofosfamida 100 mg/kg.

Coleta de material biológico

Após 48 horas do final do tratamento, os camundongos foram anestesiados com quetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), por via intraperitoneal. Foi coletado 1mL de sangue periférico de cada animal por punção retro-orbital para o ensaio cometa e teste de micronúcleo. Logo depois, os animais sofreram eutanásia com deslocamento cervical e fragmentos ($\leq 0,25 \text{ cm}^3$) do fígado, cérebro e rim foram coletados e imersos em um tampão de suspensão celular frio (0,2 M NaH_2PO_4 , 0,2 M Na_2HPO_4 , DMSO 10%, 100 mM EDTA, 180 M $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$). Com auxílio de uma tesoura de ácido inoxidável, os fragmentos foram triturados até atingir aproximadamente 1mm, além disso o tecido foi suavemente agitado para facilitar a saída do fluxo sanguíneo dos vasos dos órgãos para a solução. Posteriormente, o tampão foi trocado por um novo e continuou o processo de trituração do tecido até que o novo tampão deixasse o aspecto de translúcido para turvo, indicando que as células foram separadas. Cerca de 1ml da suspensão celular foi coletada, colocada em microtubos que foram mantidos na geladeira até o momento do preparo das lâminas para o ensaio cometa (Coelho et al., 2018).

Ensaio Cometa

Seguiu-se o protocolo descrito por Tice et al. (2000) com algumas alterações. Neste teste todo o procedimento após coleta do material deve ser realizado em uma sala sob luz vermelha, pois a presença de luz branca causa dano no DNA. Inicialmente 15 μL do material coletado (sangue ou suspensão celular) foi homogeneizado com 100 μL de agarose de baixo ponto de fusão e depositados em uma lâmina previamente preparada com uma cobertura de agarose padrão. Essas lâminas foram cobertas por lamínula e levadas para refrigeração (10 minutos em temperatura de 4°C). Posteriormente as lamínulas foram retiradas e as lâminas depositadas em cubas com solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM TRIS, 1% Triton X-100, DMSO 10%, com pH 10) por 48 horas. Decorrido o tempo, as lâminas foram imersas em um tampão alcalino (1 M NaOH e 200 mM sal dissódico EDTA, pH 13) e submetidas à eletroforese (20 minutos, $\pm 300 \text{ mA}$, 37V). Após a eletroforese, as lâminas foram neutralizadas durante 15 minutos em tampão (Tris-HCl 0,4 M, pH 7,5), e fixadas em álcool absoluto por 5 minutos.

As lâminas foram coradas com 30 μl de brometo de etídio (0,0002%, p / v) e analisadas em microscópio de fluorescência (*Zeiss-Imager*, M2), utilizando o filtro

Alexa Fluor 546. Foram analisados 100 nucleoides por animal, fazendo uma relação entre o comprimento da cauda e o tamanho da cabeça do cometa (Coelho et al., 2018; Collins et al., 2008; Rocha et al., 2019). Cada célula analisada foi classificada de acordo com o dano, podendo ser 0 (sem dano); 1 (pouco dano aparente); 2 (dano médio); 3 (dano médio com cauda mais longa); e 4 (dano máximo). Desta forma, calculou-se o índice de dano (ID) por animal da seguinte forma:

$$\text{ID total} = 0 (\text{n}^\circ \text{ de cometas classe } 0) + 1 (\text{n}^\circ \text{ classe } 1) + 2 (\text{n}^\circ \text{ classe } 2) + 3 (\text{n}^\circ \text{ classe } 3) + 4 (\text{n}^\circ \text{ classe } 4)$$

Outro parâmetro analisado foi a frequência de danos (FD%), que foi calculada de acordo com a porcentagem de todos os nucleoides com algum dano (classe 1 até classe 4) em relação ao total de nucleoides contados, que vai da classe 0 a classe 4 (nº total) (Collins, 2008). Seguindo a fórmula:

$$\text{FD} = \frac{[(\text{n}^\circ \text{ total} - \text{n}^\circ \text{ classe } 0) \cdot 100]}{\text{n}^\circ \text{ total}}$$

Teste do Micronúcleo

As lâminas foram previamente preparadas para receber o material biológico. Inicialmente elas foram lavadas em água destilada e detergente neutro, banhadas em álcool 70%, e depositadas em estufa a 80°C. Quando aquecidas, cada lâmina recebeu 10 µL de laranja de acridina (1 mg/mL) que foram uniformemente espalhados pela lâmina. Posteriormente foram depositados cinco microlitros do sangue coletado, cobrindo-se com uma lamínula (Hayashi et al., 1994).

A citotoxicidade foi analisada com a contagem de 100 eritrócitos, avaliando a proporção de eritrócitos policromáticos (PCE) em relação ao total de eritrócitos, seguindo a fórmula: $\text{PCE} / (\text{PCE} + \text{NCE})$, em que NCE significa eritrócitos normocromáticos. Posteriormente foram analisados 2000 PCE por animal para se quantificar a presença de PCEs micronucleados (PCEMn). Toda a análise foi realizada em microscópio de fluorescência Zeiss-Imager M2, com objetiva de 40X, utilizando o filtro Alexa Fluor 488.

Análise Estatística

Tanto para o teste do micronúcleo quanto para o ensaio cometa (ID e FD) o teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para verificar se havia diferença entre os grupos. Quando o resultado desse teste foi significativo ($p < 0.05$), os grupos foram comparados par-a-par pelo teste T com correção de Bonferroni.

Também neste teste, as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0.05$. O software R (Team, 2014) foi utilizado para todas as análises e preparação dos gráficos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da atividade antioxidante do óleo

As análises relacionadas à atividade antioxidante do OSc mostraram haver pouca capacidade antioxidante nos dois métodos utilizados. A maior concentração do óleo apresentou apenas 10% de sequestro do radical pelo método de DPPH, valores baixos também foram evidenciados pelo método de ATT, como visto na tabela 1. Outro estudo com licuri, realizado por Bauer et al., (2013), reportou valores altos de porcentagem de inibição do íon DPPH; entretanto, o método de extração do OSc foi diferente do presente estudo.

Tabela 1: Atividade antioxidante (%) em diferentes concentrações do óleo fixo da *S. coronata* obtiva pelo método de DPPH e ATT.

OSc ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH (RS %)	ATT (RS %)
1000	10,17 \pm 2,93	0,9 \pm 0,10
500	11,18 \pm 0,66	0,8 \pm 0,05
250	10,33 \pm 5,08	0,6 \pm 0,09
125	9,34 \pm 0,15	0,3 \pm 0,07
62,5	9,54 \pm 1,51	0,2 \pm 0,04
31,25	7,42 \pm 1,12	0,0 \pm 0,00

OSc: Óleo fixo da *Syagrus coronata*. ATT: atividade antioxidante total; DPPH: Porcentagem de sequestro de radicais. Os resultados são expressos como média \pm DP (n = 3).

Atividades antigenotóxica e antimutagênica

A iniciação da carcinogênese está envolvida com a exposição a um agente químico, físico ou biológico que cause mutações nas células (de Souza Destro, 2019; de Souza and Rocha, 2018; Prado, 2014). Sabe-se que essas alterações provocadas no DNA podem ser reparadas pelo próprio organismo, porém há a possibilidade também de prevenir ou tratar esses danos com a utilização de agentes com propriedades antimutagênicas, que podem ser encontrados naturalmente na dieta ou de forma sintética (Santos Filho et al., 2011). Neste panorama, torna-se importante o uso de recursos ou técnicas que encontre estratégias de identificar ou prevenir mutações genéticas, com o intuito de controlar ou reduzir as chances do

desenvolvimento de câncer (Aydemir et al., 2005). Para isso, alguns testes são realizados no campo investigativo a fim de encontrar agentes antimutagênicos, dos quais plantas medicinais vêm se apresentando como excelentes fontes na prevenção de danos ao DNA (Alves et al., 2014; Dos Santos et al., 2018; Mariani et al., 2013; Tolentino et al., 2015).

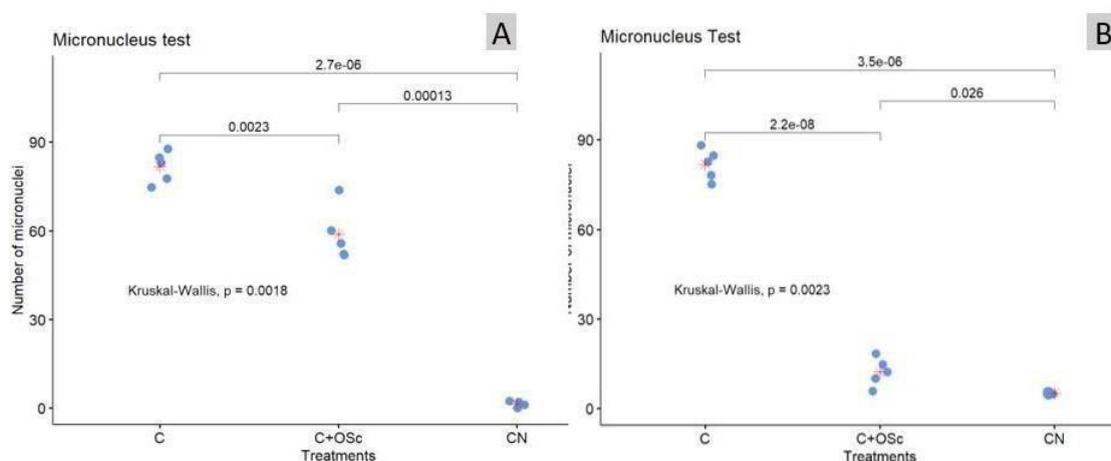
Nesta perspectiva, o presente estudo utilizou o ensaio cometa e teste de micronúcleo como ferramenta para avaliar o potencial antimutagênico e antigenotóxico do OSc através de dois protocolos. Sabe-se que uma substância pode ser considerada antimutagênica quando ela é capaz de reduzir a frequência ou a taxa de mutações, sejam elas espontâneas ou induzidas, além de prevenir que elas aconteçam (Alves et al., 2014; Dos Santos et al., 2018; Mariani et al., 2013; Oliveira et al., 2009).

A substância indutora de danos genéticos utilizada nesse estudo foi a ciclofosfamida ($C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$), que é um agente alquilante de ação indireta, pertencente ao grupo das mostardas nitrogenadas. Essa substância química é metabolizada no fígado e seus metabólitos são capazes de fazer alquilação no DNA, resultando em quebra cromossomal (mutação) ou morte celular (Almeida et al., 2005; Murata et al., 2004).

Como esperado, os grupos tratados com a ciclofosfamida neste estudo apresentaram maior frequência de PCEMn e um alto índice de dano genético, corroborando os achados na literatura (figura 1, 2 e 3) (Alves et al., 2014; de Almeida et al., 2005; Dos Santos et al., 2018; Mariani et al., 2013). No entanto, os resultados desta pesquisa mostraram que o OSc pode ser considerado um agente antimutagênico frente a danos genéticos causados pela ciclofosfamida, visto que ele diminuiu significativamente o número de PCEMn quando comparado o OSc + C com o C, em ambos os protocolos utilizados ($p < 0,05$) (figura 1).

Em relação à antigenotoxicidade, houve redução significativa de dano genético em todos os grupos tratados com o óleo de licuri quando comparados com o grupo C no pré-tratamento, indicando que existiu proteção nas células do rim, fígado, sangue e encéfalo. A redução do índice de dano foi tão expressiva que não houve diferença estatística entre o grupo tratado com o OSc e o CN, ou seja, os danos genéticos verificados diminuiram aos níveis de CN, tanto pelo ID quanto pelo FD (figura 2).

Figura 1 – Análise antimutagênica em sangue periférico de camundongos *Swiss* tratados



A: tratamento simultâneo com 1 dose do OSc. B: Pré-tratamento durante 7 dias via oral com o OSc. CN: controle negativo (água destilada); C: Controle positivo com ciclofosfamida 100mg/kg; C + OSc: Ciclofosfamida (100mg/kg) + Tratado com OSc (2000mg/kg). As estrelas representam as médias de cada grupo. Os valores sobre as barras representam os valores de p na comparação par-a-par pelo teste T com correção de Bonferroni.

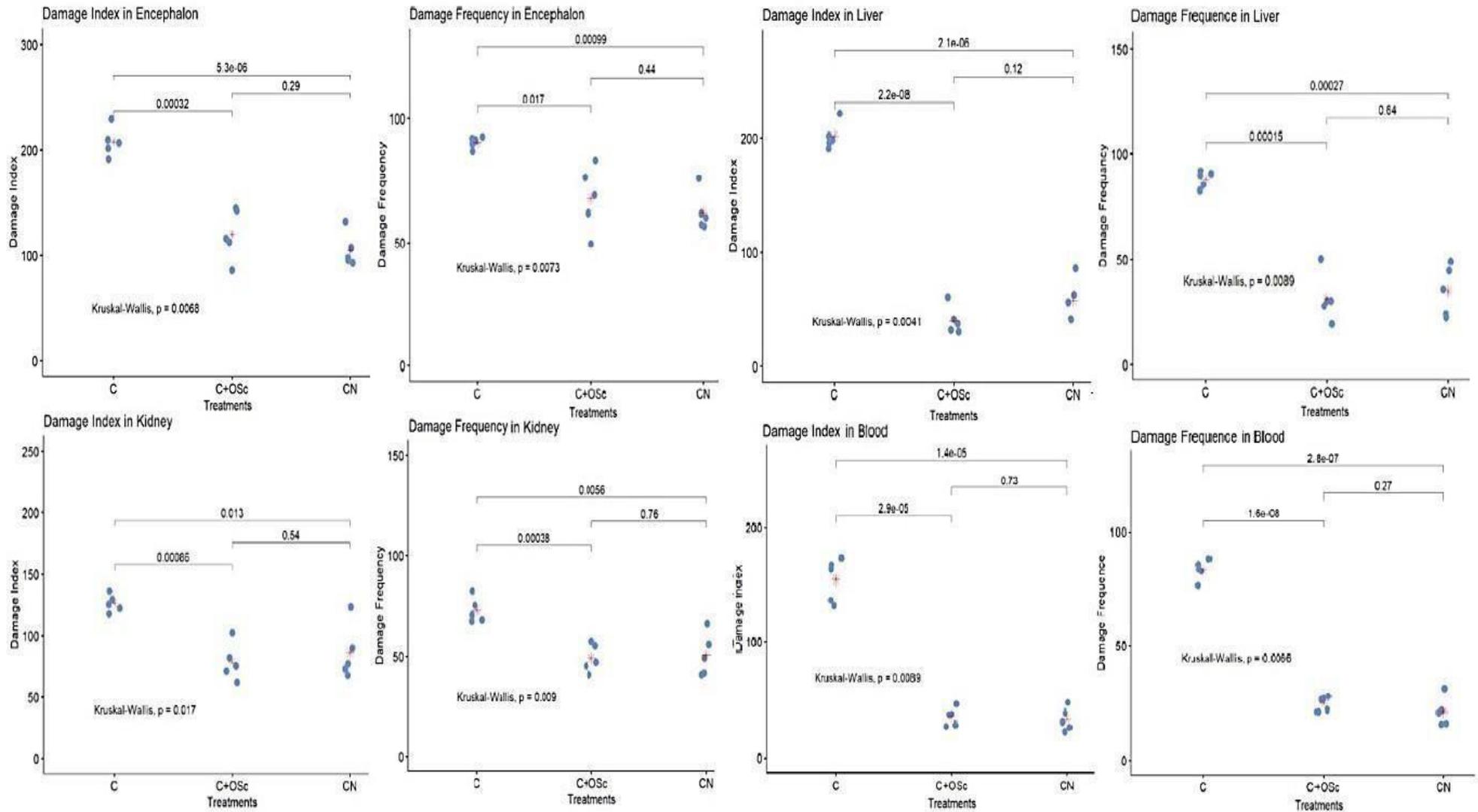
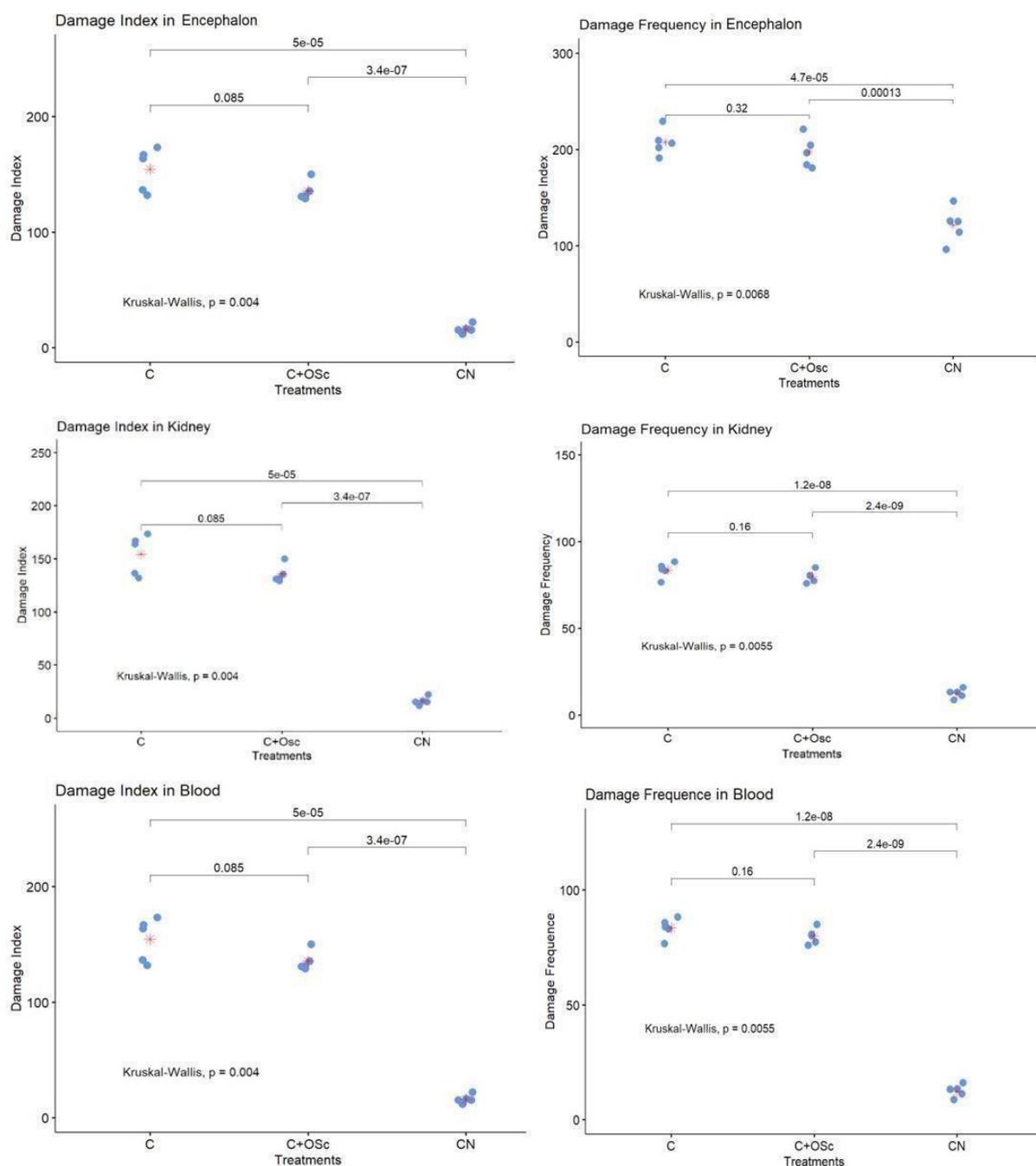


Figura 2 - Avaliação do índice de dano, pelo ensaio cometa, no rim, sangue, encéfalo e fígado de camundongos Swiss tratados com 2000mg/kg do óleo fixo de lícuri frente a danos causados pela ciclofosfamida (tratamento simultâneo). CN: controle negativo; C: Controle positivo com ciclofosfamida 100mg/kg; C + OSc: Ciclofosfamida (100mg/kg) + Tratado com óleo de licuri (2000mg/kg). As estrelas representam as médias de cada grupo. Os valores sobre as barras representam os valores de p na comparação par-a-par pelo teste T com correção de Bonferroni.

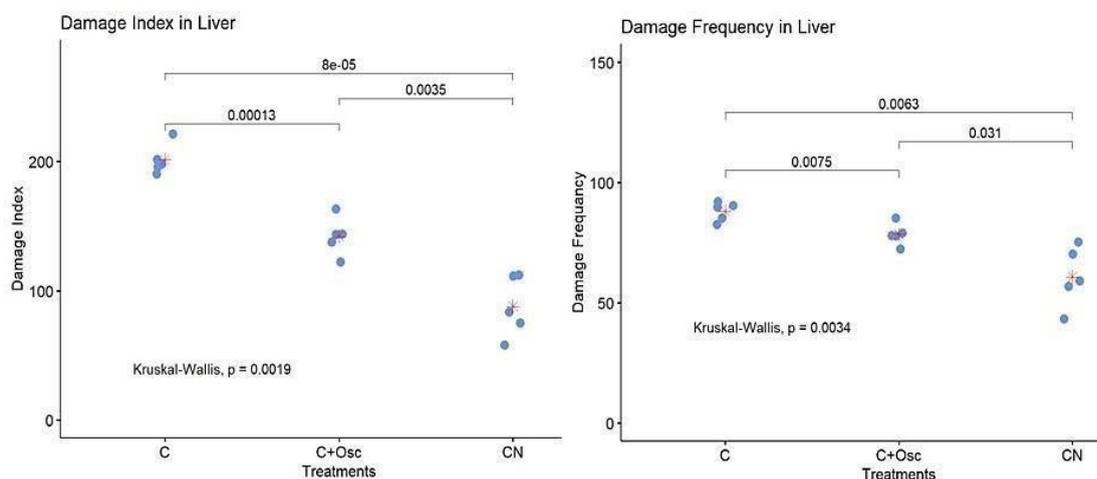
Quanto ao tratamento simultâneo, ao analisarmos encéfalo, rim e sangue, não houve diferença significativa entre tratamentos C+Osc e C ($p < 0,05$) (figura 3). No entanto, a administração simultânea de uma dose oral, por gavagem, do óleo fixo de licuri se mostrou eficiente para diminuir o dano genético causado no fígado, nos dois parâmetros analisados (ID e FD) (figura 4).

Figura 3 - Avaliação da resposta antígenotóxica do encéfalo, rim e sangue de camundongos Swiss tratados com 2000mg/kg do óleo fixo de licuri frente a danos causados pela ciclofosfamida (tratamento simultâneo).



CN: controle negativo; C: Controle positivo com ciclofosfamida 100mg/kg; C + Osc: Ciclofosfamida (100mg/kg) + Tratado com óleo de licuri (2000mg/kg). As estrelas representam as médias de cada grupo. Os valores sobre as barras representam os valores de p na comparação par-a-par pelo teste T com correção de Bonferroni.

Figura 4 - Avaliação da resposta antigenotóxica do fígado de camundongos *Swiss* tratados com 2000mg/kg do óleo fixo de lícuri frente a danos causados pela ciclofosfamida (tratamento simultâneo).



CN: controle negativo; C: Controle positivo com ciclofosfamida 100mg/kg; C + OSc: Ciclofosfamida (100mg/kg) + Tratado com óleo de licuri (2000mg/kg). As estrelas representam as médias de cada grupo. Os valores sobre as barras representam os valores de p na comparação par-a-par pelo teste T com correção de Bonferroni.

Analisando os resultados obtidos e os protocolos utilizados, contata-se que o OSc apresentou maior efeito protetor quando administrado por um maior período, tendo em vista que a diminuição do dano foi mais eficaz nos grupos tratados por 7 dias, tanto no ensaio antimutagênico quanto no antigenotóxico. Os resultados de Dos Santos et al. (2018) corroboram com os nossos achados, visto que ele identificou efeito antimutagênico melhor do extrato da *Coriandrum sativu* utilizando o protocolo de pré-tratamento, com redução de aproximadamente 55% de danos genéticos

A menor eficácia no tratamento simultâneo, segundo Kim and Lee (2002), pode ser explicada pelo fato de que aproximadamente 64% de substâncias químicas administradas oralmente, como por gavagem, são perdidas por ações gastrointestinais, por exemplo uma absorção incompleta do composto ou os efeitos de primeira passagem intestinal e hepático. Esses fatores podem diminuir significativamente a biodisponibilidade da droga, diminuindo sua eficácia terapêutica, principalmente quando administrada em dose única (Yun et al., 2012).

Em relação ao efeito quimioprotetor evidenciado nesse estudo, uma possível explicação é a provável interação entre o OSc com a ciclofosfamida, impedindo que os metabólitos genotóxicos causem danos no DNA das células. De uma forma geral um antimutagênico pode ser classificado como desmutagênico e bio-antimutagênico. Os desmutagênicos agem inativando os mutagênicos por interação química ou

enzimática, antes que ele ataque o DNA. Já os Bio-antimutagênicos agem após o dano acontecer no material genético, pois eles atuam no processo de reparo e replicação do DNA danificado, diminuindo assim a frequência das mutações geradas pelo agente mutagênico (Ferguson, 1994).

Dentro dessa classificação, os principais mecanismos pelos quais uma substância antimutagênica pode agir são por inativação química ou enzimática, eliminação de radicais livres (efeito antioxidante), impedir a ativação metabólica do mutagênico ou se ligar a ele fazendo a sua eliminação (De Flora, 1998). Nas nossas condições experimentais o OSc não apresentou atividade antioxidante satisfatória, então provavelmente outro mecanismo de ação deve ser levado em conta, podendo ser um desses citados anteriormente ou algum ainda não descrito. Também não foram encontrados estudos que explicassem o efeito antimutagênico de outros óleos fixos ou descrevessem a interação dos constituintes químicos encontrados no OSc com a ciclofosfamida.

É importante analisar o efeito quimioprotetor em diferentes tipos celulares, pois mutagênicos não estão envolvidos apenas com efeitos carcinogênicos, eles também podem atuar como iniciadores de vários distúrbios, hepáticos, neurodegenerativos, renais, cardiovascular, dentre outros. Assim, descrever novas substâncias antimutagênicas naturais e elucidar seus mecanismos de ação, serve não só para amenizar os efeitos dos mutagênicos no DNA especificamente, mas também na patogênese de algumas doenças (De Flora et al., 1996; ib Bhattacharya, 2011).

CONCLUSÃO

Nas nossas condições experimentais o OSc não apresentou atividade antioxidante satisfatória, mas se mostrou um potente agente antimutagênico e antigenotóxico contra danos causados pela ciclofosfamida, principalmente quando ingerido por períodos maiores de tempo.

Apesar dos resultados apresentados nesta pesquisa, é importante a realização de novos estudos que elucidem o exato mecanismo de interação farmacológica do OSc e a ciclofosfamida. Além disso, ação quimioprotetora dos compostos presentes no OSc podem apresentar uma variedade de atividades terapêuticas comerciais contra câncer que precisam ser estudadas.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR URBANO, M.; PINEDA PRIEGO, M.; PRIETO, P. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E1. **Analytical Biochemistry**, 269 (2), p. 337-341, 2013.
- ALMEIDA, V. L. D.; LEITÃO, A.; REINA, L. D. C. B.; MONTANARI, C. A. *et al.* Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química nova**, 28, n. 1, p. 118-129, 2005.
- ALVES, A. B. C. R.; DOS SANTOS, R. S.; DE SANTANA CALIL, S.; NIERO, R. *et al.* Genotoxic assessment of *Rubus imperialis* (Rosaceae) extract in vivo and its potential chemoprevention against cyclophosphamide-induced DNA damage. **Journal of Ethnopharmacology**, 153, n. 3, p. 694-700, 2014.
- AYDEMIR, N.; ÇELIKLER, S.; BILALOĞLU, R. In vitro genotoxic effects of the anticancer drug gemcitabine in human lymphocytes. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 582, n. 1-2, p. 35-41, 2005.
- BAUER, L. C.; DO AMARAL DAMÁSIO, J. M.; DA SILVA, M. V.; DE ANDRADE SANTANA, D. *et al.* Chemical characterization of pressed and refined licuri (*Syagrus coronata*) oils. **Acta Scientiarum. Technology**, 35, n. 4, p. 771-776, 2013.
- BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, 181, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.
- CARVALHO, N.; PELACANI, C.; RODRIGUES, M. D. S.; CREPALDI, I. Uso de substâncias reguladoras e não-específicas na germinação de sementes de licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc.). **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, 5, n. 1, p. 28-32, 2005.
- COELHO, I. D. D. S.; NETO, C. J. C. L. N.; SOUZA, T. G. D. S. S.; SILVA, M. A. D. S. *et al.* Protective effect of exogenous melatonin in rats and their offspring on the genotoxic response induced by the chronic consumption of alcohol during pregnancy. **Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.**, 18, p. 52-60, 2018.
- COLLINS, A.; OSCOZ, A.; BRUNBORG, G.; GAIVÃO, I. *et al.* The Comet Assay: Topical Issues. **Mutagenesis**, 23, p. 143-151, 2008.
- DE ALMEIDA, J. X.; DE MELO, F. P.; DE MELO, A. J. M.; DA SILVA, J. C. *et al.* Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* Mill) através do teste de micronúcleos em medula óssea de ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar) in vivo. **Revista de biologia e Ciências da Terra**, 5, n. 2, p. 0, 2005.

DE FLORA, S. Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, 402, n. 1-2, p. 151-158, 1998.

DE FLORA, S.; IZZOTTI, A.; RANDEPATH, K.; RANDEPATH, E. *et al.* DNA adducts and chronic degenerative diseases. Pathogenetic relevance and implications in preventive medicine. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, 366, n. 3, p. 197-238, 1996.

DE MELO, A.; PEREIRA, A. C.; DA ROSA, L. G.; ANHESINI, N. Estudo da atividade antimutagênica do extrato de *Agaricus blazei murill*. **RETEC-Revista de Tecnologias**, 11, n. 2, 2018.

DE SOUZA DESTRO, L. R. Mutação nos genes brca 1 e 2 e os riscos para câncer de mama. **Cadernos da Medicina-UNIFESO**, 2, n. 2, 2019.

DE SOUZA, S. R.; ROCHA, A. M. Oncogênes: genes mutantes e o papel que desempenham no surgimento do câncer. **Psicologia e Saúde em debate**, 4, n. Suppl1, p. 86-86, 2018.

DOS SANTOS, P. C.; DUTRA, J. C. V.; DELARMEILINA, J. M.; TOSE, L. V. *et al.* *Coriandrum sativum* grown under organic or chemical fertilizer effectively prevents DNA damage: Preliminary phytochemical screening, flavonoid content, ESI (-) FT-ICR MS, in vitro antioxidant and in vivo (mice bone marrow) antimutagenic activity against cyclophosphamide. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 8, n. 6, p. 292, 2018.

DRUMOND, M. A. Licuri *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. **Embrapa Semiárido-Documentos (INFOTECA-E)**, 2007. Acessado em 20 de janeiro de 2020.

FERGUSON, L. R. Antimutagens as cancer chemopreventive agents in the diet. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, 307, n. 1, p. 395-410, 1994.

GONTIJO, D.; FIETTO, L.; LEITE, J. Avaliação fitoquímica e atividade antioxidan e, antimutagênica e toxicológica do extrato aquoso das folhas de *Ocimum gratissimum* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 16, n. 4, p. 874-880, 2014.

GRAZIOLA, F.; SOLIS, V.; CURI, R. Estrutura química e classificação dos ácidos graxos. In: **CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, CK; PROCOPIO, J. Entendendo a gordura: ácidos graxos**. 1ed. São Paulo: Manole, 2002.

Hayashi, M., MacGregor, J.T., Gatehouse, D.G., Blakey, D.H., Dertinger, S.D., Abramsson-Zetterberg, L., Krishna, G., Morita, T., Russo, A., Asano, N., Suzuki, H., Ohyama, W., Gibson, D. In vivo erythrocyte micronucleus assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 627, p. 10-30, 1994.

HONG, C.-E.; CHO, M.-C.; JANG, H.-A.; LYU, S.-Y. Mutagenicity and anti-mutagenicity of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus*. **The Journal of toxicological sciences**, 36, n. 5, p. 661- 668, 2011.

IB BHATTACHARYA, S. Natural antimutagens: a review. **Research Journal of Medicinal Plant**, 5, n. 2, p. 116-126, 2011.

IHA, O. K.; ALVES, F. C.; SUAREZ, P. A.; DE OLIVEIRA, M. B. *et al.* Physicochemical properties of *Syagrus coronata* and *Acrocomia aculeata* oils for biofuel production. **Industrial Crops and Products**, 62, p. 318-322, 2014.

KHADER, M.; BRESGEN, N.; ECKL, P. Antimutagenic effects of ethanolic extracts from selected Palestinian medicinal plants. **Journal of ethnopharmacology**, 127, n. 2, p. 319-324, 2010.

Khalaj, L., Chavoshi Nejad, S., Mohammadi, M., Sarraf Zadeh, S., Hossein Pour, M., Ashabi, G., Khodaghali, F., Ahmadiani, A. Assessing competence of broccoli consumption on inflammatory and antioxidant pathways in restraint-induced models: Estimation in rat hippocampus and prefrontal cortex. **BioMed research international**, 2013, p. 1-13, 2013.

KIM, S. H.; LEE, M. G. Pharmacokinetics of ipriflavone, an isoflavone derivative, after intravenous and oral administration to rats: hepatic and intestinal first-pass effects. **Life sciences**, 70, n. 11, p. 1299- 1315, 2002.

KRISHNA, G.; HAYASHI, M. In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, 455, n. 1-2, p. 155-166, 2000.

LIRA, W. d. M.; DOS SANTOS, F. V.; SANNOMIYA, M.; RODRIGUES, C. M. *et al.* Modulatory effect of *Byrsonima basiloba* extracts on the mutagenicity of certain direct and indirect-acting mutagens in *Salmonella typhimurium* assays. **Journal of medicinal food**, 11, n. 1, p. 111-119, 2008.

MARIANI, P. M.; FREITAS, P. D. R.; KALIL, I. C.; BRASIL, G. A. *et al.* Efectos quimiopreventivos y antimutagénicos in vivo del extracto hidroetanólico de frutos de *Carica papaya* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, 18, n. 3, p. 381-390, 2013.

MURATA, M.; SUZUKI, T.; MIDORIKAWA, K.; OIKAWA, S. *et al.* Oxidative DNA damage induced by a hydroperoxide derivative of cyclophosphamide. **Free Radical Biology and Medicine**, 37, n. 6, p. 793- 802, 2004.

NASCIMENTO, R. S. D. **Ácidos graxos e óleo essencial de sementes de *Syagrus coronata* (Mart.) Becc.(Arecaceae): composição química e atividade anti-*Staphylococcus aureus***. 2013. 79f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, 2013.

NEGI, P.; JAYAPRAKASHA, G.; JENA, B. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. **Food chemistry**, 80, n. 3, p. 393-397, 2003.

NERI, M.; UGOLINI, D.; BONASSI, S.; FUCIC, A. *et al.* M. 619 Ceppi, V. Bocchini, DF Merlo,

Children's exposure to environmental pollutants 620 and biomarkers of genetic damage. II. Results of a comprehensive literature 621 search and meta-analysis. **Mutat. Res**, 612, p. 14-39, 2006.

NOBLICK, L. Palmeiras das caatingas da Bahia e as potencialidades econômicas. **Simpósio sobre a Caatinga e sua Exploração Racional, Brasília, DF, EMBRAPA**, p. 99-115, 1986.

OLIVEIRA, G. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Rev. bras. plantas med**, p. 36-44, 2015.

OLIVEIRA, M. B. F. Estudo integrado da espécie palmeira ouricuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari) para geração de energia. 2013. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2013.

OLIVEIRA, R. J.; BAISE, É.; DE OLIVEIRA MAURO, M.; PESARINI, J. R. *et al.* Evaluation of chemopreventive activity of glutamine by the comet and the micronucleus assay in mice's peripheral blood. **Environmental toxicology and pharmacology**, 28, n. 1, p. 120-124, 2009.

ORGANIZATION, W. H. **Traditional medicine: growing needs and potential**. Geneva: World Health Organization. 2002.

PASCOAL, A. C. R. F.; EHRENFRIED, C. A.; LOPEZ, B. G.-C.; DE ARAUJO, T. M. *et al.*

Antiproliferative activity and induction of apoptosis in PC-3 cells by the chalcone cardamonin from *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) in a bioactivity-guided study. **Molecules**, 19, n. 2, p. 1843- 1855, 2014.

PRADO, B. B. F. d. Influência dos hábitos de vida no desenvolvimento do câncer. **Ciência e Cultura**, 66, n. 1, p. 21-24, 2014.

RIBEIRO, L. Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores in vivo. **Mutagenese Ambiental. ULBRA, Canoas**, p. 173-178, 2003.

ROCHA, T. A.; MOURA, D. F. d.; SILVA, M. M. d.; SOUZA, T. G. d. S. *et al.* Evaluation of cytotoxic potential, oral toxicity, genotoxicity, and mutagenicity of organic extracts of *Pityrocarpa moniliformis*. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A** 82, p. 216-231, 2019.

RUFINO, M. U. d. L.; COSTA, J. T. d. M.; SILVA, V. A. d.; ANDRADE, L. d. H. C. Conhecimento e uso do ouricuri (*Syagrus coronata*) e do babaçu (*Orbignya phalerata*) em Buíque, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 22, n. 4, p. 1141-1149, 2008.

SANTOS FILHO, P. R. d.; FERREIRA, L. A.; GOUVÊA, C.; PAIVA, M. Protective action against chemical-induced genotoxicity and free radical scavenging activities of *Stryphnodendron adstringens* ("barbatimão") leaf extracts. **Revista brasileira de Farmacognosia**, 21, n. 6, p. 1000-1005, 2011.

SENEVIRATNE, K. N.; HAPUARACHCHI, C. D.; EKANAYAKE, S. Comparison of the phenolic- dependent antioxidant properties of coconut oil extracted under cold and hot conditions. **Food Chemistry**, 114, n. 4, p. 1444-1449, 2009.

SEZIK, E.; YEŞİLADA, E.; HONDA, G.; TAKAISHI, Y. *et al.* Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in central Anatolia. **Journal of ethnopharmacology**, 75, n. 2-3, p. 95-115, 2001.

SKŘIVANOVÁ, E.; MAROUNEK, M.; DLOUHA, G.; KAŇKA, J. Susceptibility of *Clostridium perfringens* to C2–C18 fatty acids. **Letters in applied microbiology**, 41, n. 1, p. 77-81, 2005.

Team, R.C., 2014. R: a language and environment for statistical computing. Version 3.1. 2 [computer program]. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C., Sasaki, Y. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and molecular mutagenesis**, 35, n. 3, p. 206-221, 2000

TOLENTINO, F.; DE ARAÚJO, P. A.; DE SOUZA MARQUES, E.; PETREANU, M. *et al.* In vivo evaluation of the genetic toxicity of *Rubus niveus* Thunb.(Rosaceae) extract and initial screening of its potential chemoprevention against doxorubicin-induced DNA damage. **Journal of ethnopharmacology**, 164, p. 89-95, 2015.

YUN, C.; DING, L.; LENG, Y.; ZHU, H. *et al.* Determination of ipriflavone in human plasma by LC-MS and its application in a pharmacokinetic study. **Biomedical Chromatography**, 26, n. 1, p. 123-128, 2012.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, concluímos que:

- Óleo fixo do licuri apresenta predominância de ácidos graxos saturados em sua composição química, sendo o ácido láurico o composto majoritário;
- O consumo de 2000mg/kg do óleo não produz toxicidade aguda, além de alterações bioquímicas danosas à saúde. No entanto, células endoteliais do fígado apresentaram maior sensibilidade ao óleo nesta concentração, sendo evidenciado dano na análise microscópica;
- Os ensaios de genotóxicidade e mutagenicidade não identificaram danos significativos no DNA;
- O óleo também não apresenta toxicidade em células humanas normais (J774.A1 e HEK – 293), além disso não atuou significativamente em linhagem tumoral primária (S-180);
- A utilização do óleo fixo de licuri é considerada segura já que não apresentou danos toxicológicos à saúde;
- O óleo apresentou desempenho baixo na análise antioxidante pelo método de DPPH e CAT.
- Através dos estudos realizados nesta pesquisa, é possível concluir que o óleo fixo apresenta efeito antimutagênico e antigenotóxico frente a células renais, hepáticas, nervosas e sanguíneas, apresentando uma função quimioprotetora.
- O óleo isolado possui efeito anti-inflamatório e se mostrou eficaz no processo de reparo tecidual ao estimular proliferação de fibroblastos e fibras colágenas. Apresenta-se como uma excelente alternativa de terapia por apresentar baixo custo, biocompatibilidade, não causar efeitos tóxicos à saúde, além de auxiliar no processo de reparo tecidual e melhorar recuperação pós-cirúrgica.

- A aplicação da laserterapia associada ao óleo fixo de licuri induz ao aumento da proliferação de fibroblastos e fibras colágenas, sendo uma alternativa terapêutica válida para auxiliar no processo de reparo tecidual, promovendo melhor qualidade de vida aos pacientes que necessitam desses tratamentos.
- Há necessidade de estudos complementares para confirmação da eficácia e segurança do uso clínico do óleo fixo do *S. coronata*.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C. F. C. B. E.; SILVA, T. C. L.; AMORIM, E. L. C.; MAIA, M. B. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the Caatinga (Northeast Brazil). **Journal of Arid Environments**. 2005; 62:127–142.
- ALMEIDA, F. M. d.; ALVES, M. T. S. S. d.; AMARAL, F. M. M. d. Uso de plantas com finalidade medicinal por pessoas vivendo com HIV/AIDS em terapia antirretroviral. **Saúde e Sociedade**, 21, n. 2, p. 424-434, 2012.
- ANDRADE, F. S. S. D.; CLARK, R. M. O.; FERREIRA, M. L. Efeitos da laserterapia de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 41, n. 2, p. 129-133, 2014.
- ANDRADE, V. M.; DA SILVA, R. O.; CARDOSO, J. C. Avaliação da Toxicidade Aguda e Subaguda do Extrato Hidroalcolólico da Própolis Vermelha. **Semana de Pesquisa da Universidade Tiradentes-SEMPESq**, n. 16, 2014.
- ANVISA. *Resolução de Diretoria Colegiada – RDC no. 88 de 16 de março de 2004. Lista de referências bibliográficas para avaliação de segurança e eficácia de fitoterápicos*. Brasília: ANVISA, 2004
- ARCOVERDE, J. H. V. **Avaliação da atividade biológica de extratos orgânicos e caracterização parcial de uma lectina de *Manilkara rufula***. 2015.158f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- AZEVEDO, L.; GOMES, J.; STRINGHETA, P.; GONTIJO, Á. M. *et al.* Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a protective agent against DNA damage in mice. **Food and Chemical Toxicology**, 41, n. 12, p. 1671-1676, 2003.
- BARROS, E. M. L.; SANTOS, D. K. B.; COELHO, N. P. M. F.; REIS, M. R. *et al.* Efeitos da *Passiflora edulis* S. no processo de cicatrização em queimaduras induzidas em camundongos. **ConScientiae Saúde**, 15, n. 1, p. 122-128, 2016.
- BASFORD, J. R. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v. 16, n. 4, p. 331-342, 1995.
- BASTO, S. R. d. L. **Formulação de enxaguatório bucal contendo emulsões a base de óleo fixo de *Syagrus coronata* (licuri): caracterização, avaliação antimicrobiana, toxicidade e HET-CAM**. 2017. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- BAUER, L. C.; DO AMARAL DAMÁSIO, J. M.; DA SILVA, M. V.; DE ANDRADE SANTANA, D. *et al.* Chemical characterization of pressed and refined licuri (*Syagrus coronata*) oils. **Acta Scientiarum. Technology**, 35, n. 4, p. 771-776, 2013.

- BELVISO, S.; GHIRARDELLO, D.; GIORDANO, M.; RIBEIRO, G. S. *et al.* Phenolic composition, antioxidant capacity and volatile compounds of licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari) fruits as affected by the traditional roasting process. **Food research international**, 51, n. 1, p. 39-45, 2013.
- BJORDAL, J.M.; COUPPÉ, C.; CHOW, R.T.; TUNÉR, J. LJUNGGREN, E.A. A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders. **Aust J Physiother**, v. 49, n. 2, p. 107-16, 2003.
- BLAAUBOER, B. J. Biokinetic and toxicodynamic modelling and its role in toxicological research and risk assessment. **Alternatives to laboratory animals**, 31, n. 3, p. 277-281, 2003.
- BONAPARTE, Marcela Silva, OLIVEIRA, Sebastião Costa de. Efeito do laser na cicatrização de feridas. 2017. 17 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Fisioterapia) - Curso de Fisioterapia, Centro Universitário CESMAC, Maceió, 2018.
- BRITO, P. A.; DE VASCONCELOS GENEROSO, S.; CORREIA, M. I. T. D. Prevalence of pressure ulcers in hospitals in Brazil and association with nutritional status—a multicenter, cross-sectional study. **Nutrition**, 29, n. 4, p. 646-649, 2013.
- BRUGNERA JUNIOR, A. SANTOS, A. E. C.; BOLOGNA, E. D.; LADALARDO, T. C. C. **Atlas de laserterapia aplicada à clínica odontológica**. São Paulo: Santos, 2003.
- BUSNARDO, V. L.; BIONDO-SIMÕES, M. L. Os efeitos do laser hélio-neônio de baixa intensidade na cicatrização de lesões cutâneas induzidas em ratos. **Revista brasileira de fisioterapia**, 14, n. 1, 2010.
- CARVALHO, A. C.; BALBINO, E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18, n. 2, p. 314-319, 2008.
- CARVALHO, A. F. M. D.; FEITOSA, M. C. P.; COELHO, N. P. M. D. F.; REBÊLO, V. C. N.; CASTRO, J. G. D.; SOUSA, P. R. G. D.; ARISAWA, E. A. L. S. Terapia a laser de baixa intensidade e *Calendula officinalis* no reparo de úlcera em pé diabético. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 50, n. 4, p. 628-634, 2016.
- CARVALHO, F. M. D. A. D. **Caracterização e avaliação do efeito citotóxico de extratos resinosos de própolis vermelha obtidos por líquidos pressurizados**. 2020. 61f. Dissertação (mestrado em Saúde e Ambiente) - Universidade Tiradentes, Aracajú, 2020.
- CATÃO, M. H. C. V. Os benefícios do laser de baixa intensidade na clínica odontológica na estomatologia. **Rev Bras Patol Oral**, v. 3, p. 214 – 2018, 2004.
- CHANDA, S. V.; NAGANI, K. V. Antioxidant Capacity of Manilkarazapota L. Leaves Extracts Evaluated by Four in vitro Methods. **Nature and Science**. Res. 2010; 8: 260-266.
- CHEN, A.C.; ARANY, P.R.; HUANG, Y.Y.; TOMKINSON, E.M.; SHARMA, S.K.; KHARKWAL, G.B.; SALEEM, T.; MOONEY, D.; YULL, F.E.; BLACKWELL, T.S.; HAMBLIN, M.R. Low-level laser therapy activates NF-κB via generation of reactive oxygen species in mouse embryonic fibroblasts. **PLoS On**, v. 6, n. 7, 2011.
- CHEN, L.; ARBIEVA, Z. H.; GUO, S.; MARUCHA, P. T. *et al.* Positional differences in the wound transcriptome of skin and oral mucosa. **BMC Genomics**, 11, p. 471, Aug 12 2010.
- CHOW, R.T.; JOHNSON, M.I.; LOPES-MARTINS, R.A.; BJORDAL, J.M. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. **Lancet**, V. 374, N. 9705, P. 1897-908, 2009.
- CHRISTIE, A.; JAMTVEDT, G.; DAHM, K.T.; MOE, R.H.; HAAVARDSHOLM, E.A.; HAGEN, K.B.; Effectiveness of nonpharmacological and nonsurgical interventions for patients with rheumatoid arthritis: an overview of systematic reviews. **Phys Ther**, v. 87, n. 12, p. 1697-715, 2007.

COSTA, R. M. A. D.; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biociência e Desenvolvimento**, n. 12, p. 24-26, 2000.

COSTARDI, C. H. Z.; TAMACHIRO, C.; JÚNIOR, I. E.; GOMES, A. C. Efeito do laser de baixa intensidade (670nm) após contusão muscular em ratos. **Fisioterapia em Movimento**, v. 21, n. 2, 2017.

CREPALDI, I. C.; ALMEIDA-MURADIAN, L. D.; RIOS, M. D. G.; PENTEADO, M. V. C. *et al.* Composição nutricional do fruto de licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari). **Revista Brasileira de Botânica**, 24, n. 2, p. 155-159, 2001.

CRUZ, J. V. C. **Potencial efeito anti-inflamatório e cicatrizante do extrato aquoso das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill em modelos *in vivo***. 2019. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

CULLUM, N.; BUCKLEY, H. L.; DUMVILLE, J.; HALL, J. *et al.* Wounds Research for Patient Benefit: a 5 year programme of research. **Health Technology Assessment**, p. 1-334, 2016.

DA SILVA, R. C. D.; Pires, F. M.; FILHO, G. A. F.; ARANTES, A. P. F.; DIAS, R.; CABRAL, R. M. C. Influência da laserterapia na dor e qualidade de vida em mulheres com fibromialgia. **Revista Univap**, v. 20, n. 36, p. 5-16, 2015.

DA SILVA TRENTIN, D.; GIORDANI, R. B.; ZIMMER, K. R.; DA SILVA, A. G. *et al.* Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, 137, n. 1, p. 327-335, 2011.

DA SILVA, A. F.; SALGUEIRO, A. C. F.; COSTA, M. T.; DA ROSA, H. S. *et al.* AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DA CASCA DO IPÊ-AMARELO. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, 10, n. 2, 2019.

DA SILVA MANZANO, P.; DE OLIVEIRA, C. V.; SELHORST, A. M.; BESERRA, S. *et al.* Toxicidade aguda e avaliação anatomopatológica em camundongos tratados com extrato da *Qualea grandiflora* Mart. **ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION**, 5, n. 1, 2016.

DE CARVALHO ABREU, J. A.; SOUSA, A. d. L.; FONSECA ALVES, C. L. G.; NUNES, J. T. Análise histológica da cicatrização de feridas cutâneas experimentais sob ação do laser de baixa potência. **Scientia Medica**, 21, n. 3, 2011.

DE FREITAS PESSOA, M. *et al.* Estudo da cobertura vegetal em ambientes da caatinga com diferentes formas de manejo no assentamento moacir lucena, apodi - RN. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 3, p.40-48, 2008.

DE LA, K. T. d. S.; MENEGHETTI, S.; DE LA SALLES, W. F.; MENEGHETTI, M. *et al.* Characterization of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. oil and properties of methyl esters for use as biodiesel. **Industrial crops and products**, 32, n. 3, p. 518-521, 2010.

DE MEDEIROS-COSTA, J. T. **As palmeiras (palmae) nativas em Pernambuco, Brasil**. UFRPE, 1982.

DE MEDEIROS COSTA, J. T.; DA SILVA, V. A.; ANDRADE, L. d. H. C. Conhecimento e uso do ouricuri (*Syagrus coronata*) e do babaçu (*Orbignya phalerata*) em Buíque, PE, Brasil Knowledge and use of ouricuri (*Syagrus coronata*) and babaçu (*Orbignya phalerata*) in Buíque, Pernambuco State, Brazil. **Acta Botânica Brasílica**, 22, n. 4, p. 1141-1149, 2008.

DOS SANTOS, T. K. G. L.; DE CARVALHO ALCOFORADO, L. G.; DE SOUSA LEITÃO, A.; VANDERLEI, A. C. D. Q. V.; CARVALHO, A. K. F. A.; VIEIRA, A. P. D. S. B. Uso da laserterapia de baixa potência no tratamento de lesões orais. **Revista Campo do Saber**, v. 4, n. 5, 2019.

DOS SANTOS, D. T.; SARROUH, B. F.; DOS SANTOS, J. C.; PÉREZ, V. H. *et al.* Potencialidades e aplicações da fermentação semi-sólida em biotecnologia. **Janus**, 3, n. 4, 2006.

DRUMOND, M. A. Licuri *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. **Embrapa Semiárido-Documentos (INFOTECA-E)**, 2007.

FABRI, R.; NOGUEIRA, M.; DUTRA, L.; BOUZADA, M. *et al.* Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 13, n. 2, p. 183-189, 2011.

FERNANDES, M. F.; DE QUEIROZ, L. P. *Vegetação e flora da Caatinga. Ciência e Cultura*. v.70, n. 4, p. 51-56, 2018.

FERRARI, A. L. S.; COSTA, K. A.; FERREIRA, V.; BULIAM, A. L. *et al.* PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E CITOTOXICIDADE AGUDA DAS FLORES DE *Carnegiea gigantea* (ENGELM) BRITTON & ROSE. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, 6, n. 1, 2019.

FRASSON, A. P.; DOS SANTOS, O.; DUARTE, M.; DA SILVA TRENTIN, D. *et al.* First report of anti-*Trichomonas vaginalis* activity of the medicinal plant *Polygala decumbens* from the Brazilian semi-arid region, Caatinga. **Parasitology research**, 110, n. 6, p. 2581-2587, 2012.

GENOVESE, W. J. *Laser na Odontologia*. São Paulo: Pancast, 1992, 61p.

GIGO-BENATO, D.; GEUNA, S.; ROCHKIND, S. Phototherapy for enhancing peripheral nerve repair: a review of the literature. **Muscle Nerve**, v. 31, n. 6, p. 694-701, 2005.

GIULIETTI, A. M.; BOCAGE NETA, A. L.; CASTRO, A. A. J. F.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; VIRGÍNIO, J. F.; HARLEY, R. M. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Recife, 2004. p. 48-78.

GOMES, E. C. S.; BARBOSA, J.; VILAR, F. C. R.; PEREZ, J. O.; RAMALHO, R. C. Plantas da caatinga de uso terapêutico: levantamento etnobotânico. In: **Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**, 2. Anais. João Pessoa, CEFET-PB, 1 CD ROM, 2007.

GUTKNECHT, N.; PAULA EDUARDO, C. *A odontologia e o laser: atuação na especialidade odontológica*. São Paulo: Quintessence Editora Ltda, 2004. 320p.

HIGA, K. C.; JORJÃO, A. L.; OLIVEIRA, F. E.; DE OLIVEIRA, J. R. *et al.* Citotoxicidade dos extratos glicólicos de *Cynara scolymus* (ALCACHOFRA), *Myracrodruon urundeuva* (AROEIRA-DO-SERTÃO) e *Camellia sinensis* (CHÁ VERDE). **Revista Univap**, 25, n. 48, p. 77-91, 2019.

HUPP, J.; ELLIS, E.; TUCKER, M. R. **Cirurgia oral e maxilofacial contemporânea**. Elsevier Brasil, 2015. 8535281029.

IHA, O. K.; ALVES, F. C.; SUAREZ, P. A.; DE OLIVEIRA, M. B. *et al.* Physicochemical properties of *Syagrus coronata* and *Acrocomia aculeata* oils for biofuel production. **Industrial Crops and Products**, 62, p. 318-322, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: <<https://brasilensintese.ibge.gov.br/territorio.html>>. Acesso em: 15 de jan. de 2020.

JOHNSON, A.; FRANCIS, M.; DIPIETRO, L. A. Differential Apoptosis in Mucosal and Dermal Wound Healing. **Adv Wound Care (New Rochelle)**, 3, n. 12, p. 751-761, Dec 1 2014.

JUNQUEIRA, L. C. C., José. *Histologia Básica*. KOOGAN, G. Rio de Janeiro: 353 - 366 p. 2013.

KARU, T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. **J Photochem Photobiol B**, V. 49, N.1, P. 1-17, 1999.

KARU, T. **The science of low-power laser therapy**. Amsterdam: Ed. Gordon and Brech Science Publishers, 1998. 299 p.

KATCBURIAN, E. **Histologia e embriologia oral: texto, atlas, correlações clínicas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2012.

KERPPERS, I. I.; KERPPERS, F. K.; DOS SANTOS, K. M. M. G.; CORDEIRO, M. E. R. Efeito do extrato aquoso de *Cordyline Dracaenóides* Kunth na cicatrização de lesões cutâneas. **Medicina (Ribeirão Preto)**, 52, n. 4, p. 267-275, 2019.

KUCHINSK, F. B. **Glossário de histologia dental e periodontal**. São Paulo: ND 2000.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; DA SILVA, J. M. C. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Recife: Editora Universitária UFPE, 2003.

LIMA, N. E. P. DE MOURA GOMES, G.; FEITOSA, A. D. N. A.; BEZERRA, A. L. D.; DE SOUSA, M. N. A. Laserterapia de baixa intensidade no tratamento de feridas e a atuação da enfermagem. **Revista de Enfermagem da UFPI**, v. 7, n. 1, p. 50-56, 2018.

LOPES, V. S. **Morfologia e fenologia reprodutiva do ariri (*Syagrus vagan* (Bondar) Hawkes) – Arecaceae – numa área de caatinga do município de Senhor Bonfim – BA**, Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, 2007.

LORENZI, H.; NOBLICK, L.; KAHN, F.; FERREIRA, E. Flora brasileira Lorenzi: Arecaceae (palmeiras). **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**. Nova Odessa, 2010. 368p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. D.; COSTA, J. D. M.; CERQUEIRA, L. d. *et al.* Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas. Instituto Plantarum de Estudos Da Florida. Nova Odessa. ed.1a. p. 415, 2004.

LORENZI, H.; SOUZA, H. D.; MEDEIROS-COSTA, J. D.; CERQUEIRA, L. D. *et al.* Palmeiras no Brasil: exóticas e nativas. **Nova Odessa: Plantarum**, p. 156, 1996.

LOW, J.; REED, A. **Eletroterapia explicada princípios e pratica**. São Paulo: Manole, 2001. p.389-409.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F.; GRYNBERG, N. F. *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAEDA, T.; MASAKI, C.; KANAO, M.; KONDO, Y. *et al.* Low-intensity pulsed ultrasound enhances palatal mucosa wound healing in rats. **J Prosthodont Res**, 57, n. 2, p. 93-98, Apr 2013.
MAILLET, H. **Princípios e técnicas de aplicação**. São Paulo: Manole. 1987. p.45-52.

MARTINS, B.; TOMINAGA, W.; CASTOLDI, L.; CAMARGO, E.. Avaliação da atividade antimutagênica e citotóxica da *Morinda citrifolia* Linn.(Noni). **Scientific Electronic Archives**, 12, n. 1, p. 142 – 129, 2019.

MATEUCA, R.; LOMBAERT, N.; AKA, P.; DECORDER, I. *et al.* Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. **Biochimie**, 88, n. 11, p. 1515-1531, 2006.

MATIAS, A. G. C.; ROCHA, A. B.; SANTOS, A. S.; FONSECA, M. A. Modulação da dor em portadores de disfunções temporomandibular pela ação do laser AsGaAl. **Revista InterScientia**, v. 2, n. 2, p. 25-37, 2014.

MEIRELES, G. C. S.; SANTOS, A. M. Mecanismos de ação da laserterapia sobre componentes do processo inflamatório. **Ciência & Desenvolvimento-Revista Eletrônica da FAINOR**, v. 3, n. 1, 2010.

MELLO, E. D. A. **Análise histológica comparativa do reparo ósseo em osteotomias realizadas por laser de Er: Yag e broca cirúrgica, submetidas à laserterapia de baixa potência**. 2006. 114f. Tese (Doutorado em odontologia) – Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

MELLO, J.B.; MELLO, G.P.S. Tipos de lasers e indicações. In: MELLO, J.B.; MELLO, G.P.S. **Laser em Odontologia**. 1ª ed. São Paulo: Ed. Santos; 2001. p. 41-51.

MELO, F.; ABREU, R.; NETO, M.; MENDES, D. Inclusão do bagaço de licuri na alimentação de codornas de corte na fase inicial e de crescimento. **Archivos de zootecnia**, 65, n. 252, p. 513-518, 2016.

MERCER, C. Lasers in dentistry: a review. Part 1. **Dental update**, v. 23, n. 2, p. 74-80, 1996.

MESTER, E. et al. **Effect of laser rays on wound healing**. The American Journal of Surgery, v.122, p.532-535, 1971.

MESTER, E. et al. **Stimulation of wound healing by means of laser rays**. Acta Chirurgica Academiae Scientiarum Hungaricae, v.14, n.4, p.347-356, 1973.

MIRANDA, K. E. d. S. **Qualidade e atividade antioxidante de fruto e seu óleo de genótipos do licurizeiro (*Syagrus coronata*)**. 2011. 145f. Tese (Doutorado em Química e Bioquímica de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

MOREIRA, F. F.; OLIVEIRA, E. L. P.; BARBOSA, F. S.; SILVA, J. G. Laserterapia de baixa intensidade na expressão de colágeno após lesão muscular cirúrgica, fisioterapia e pesquisa. São Paulo – SP, v. 18, n. 1, p. 37- 42, 2011.

NASCIMENTO, R. S. D. **Ácidos graxos e óleo essencial de sementes de *Syagrus coronata* (Mart.) Becc.(Arecaceae): composição química e atividade anti-*Staphylococcus aureus***. 2013. 79f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2013.

NOBLICK, L. Palmeiras das caatingas da Bahia e as potencialidades econômicas. **Simpósio sobre a Caatinga e sua Exploração Racional, Brasília, DF, EMBRAPA**, p. 99-115, 1986.

OBE, G.; PFEIFFER, P.; SAVAGE, J.; JOHANNES, C. *et al.* Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, 504, n. 1, p. 17-36, 2002.

OLIVEIRA, M. B. F. D. **Estudo integrado da espécie palmeira ouricuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari) para geração de energia**. 2013. 68f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas.

ORGANIZATION, W. H. **Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005**. Ginebra: Organizaci n Mundial de la Salud. 2002.

PEREIRA, R.; DE MATOS NETO, F. Â.; DE AGUIAR, F. L. L.; DE SOUZA, E. B. *et al.* ATIVIDADE ANTIFÚNGICA, SINERGISMO E CITOTOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DE *Myroxylon peruiferum* Lf. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, 16, n. 1, 2018.

PEREIRA, Rosilã Jacques. Licuri. Brasília: **Ministério da Educação**, Nov. 2006. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/setec/arquivos/pdf/cartilha_licuri.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2020.

PINHEIRO, A. L. B. Bases físicas dos lasers. In: BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO A. L. B. **Lasers na Odontologia Moderna**. São Paulo: Pancast; 1998.

PINHEIRO, A. L. B.; GERBI, M. E. Photoengineering of bone repair processes. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 21, n. 2, p.169-178, 2006.

PINHO, R. S.; OLIVEIRA, A. F.; SILVA, S. I. Potential oilseed crops from the semiarid region of northeastern Brazil. **Bioresour Technol**, 100, n. 23, p. 6114-6117, Dec 2009.

PÖNTINEN, P. J. **Low level laser therapy as a medical treatment modality**. Tampere: Art Urpo, 1992.

PRIETO, P.; BAIRD, A. W.; BLAAUBOER, B. J.; RIPOLL, J. V. C. *et al.* The assessment of repeated dose toxicity in vitro: a proposed approach: the report and recommendations of ECVAM workshop 56. **Alternatives to laboratory animals**, 34, n. 3, p. 315-341, 2006.

PURCHASE, I. F.; BOTHAM, P. A.; BRUNER, L. H.; FLINT, O. P. *et al.* Workshop overview: scientific and regulatory challenges for the reduction, refinement, and replacement of animals in toxicity testing. **Toxicological Sciences**, 43, n. 2, p. 86-101, 1998.

RANGEL, M.; BRAGANÇA, F. Representações de gestantes sobre o uso de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 11, n. 1, p. 100-109, 2009.

REZENDE, O.; PALHAES, L.; CUNHA, L. **Intoxicações por plantas tóxicas notificadas no CIT-Centro de Informação Toxicológica de Goiás no período de 2001 a 2005**. Monografia de Especialização-Universidade Federal de Goiás], Goiania, GO, 2006.

ROBBERS, James E.; SPEEDIE, Marilyn K.; TYLER, Varro E. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. Williams & Wilkins, 1996.

ROCHA, K. d. Biologia reprodutiva da palmeira licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc.)(Arecaceae) na ecorregião do raso da Catarina, Bahia. **Kilma Manso Raimundo da Rocha.–2009**, 98, 2009.

ROCHKIND, S. *et al.* Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. **Lasers in Surgery and Medicine**, n.9, p.174-182, 1989.

RODRIGUES, L. K. O. **Síntese de caracterização de nanolubrificante de Licuri de gado**. 2018. 105f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

RUFINO, M. U. d. L.; COSTA, J. T. d. M.; SILVA, V. A. d.; ANDRADE, L. d. H. C. Conhecimento e uso do ouricuri (*Syagrus coronata*) e do babaçu (*Orbignya phalerata*) em Buíque, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 22, n. 4, p. 1141-1149, 2008.

SANTOS, H.; SANTOS, V. d. J. **Estudo etnobotânico do licuri *Syagrus coronata* (Martius) Beccari em Senhor do Bonfim**. 2012. 119 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimento) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Bahia, 2012.

SANTOS, L. M.; NASCIMENTO, J. S.; SANTOS, M. A.; MARRIEL, N. B. *et al.* Fatty acid-rich volatile oil from *Syagrus coronata* seeds has larvicidal and oviposition-deterrent activities against *Aedes aegypti*. **Physiological and molecular plant pathology**, 100, p. 35-40, 2017.

SAY, KARINA GRAMANI. O tratamento fisioterapêutico de úlceras cutâneas venosas crônicas através da laserterapia com dois comprimentos de onda. **Fisioterapia Brasil**, v. 4, n. 1, p. 40-49, 2019.

SICA, A.; MANTOVANI, A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. **The Journal of clinical investigation**, 122, n. 3, p. 787-795, 2012.

SILVÉRIO-LOPES, SANDRA. Analgesia por acupuntura. *In*: SILVA, R. W. T. **Laserterapia**. Curitiba: Institute Brasileiro de Therapias e Ensimo, 2013. Cap 6, p. 81-92.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Da Universidade Federal de Santa Catarina, 2010, 1102 p.

SKŘIVANOVÁ, E.; MAROUNEK, M.; DLOUHA, G.; KAŇKA, J. Susceptibility of *Clostridium perfringens* to C2–C18 fatty acids. **Letters in applied microbiology**, 41, n. 1, p. 77-81, 2005.

SOUZA, M. V.; SILVA, M. O. Laserterapia em afecções locomotoras: revisão sistemática de estudos experimentais. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 22, n. 1, p. 76-82, 2016.

SOUZA, V.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, 2008.

TABARELLI, M.; VICENTE, A. Conhecimento sobre plantas lenhosas da Caatinga: lacunas geográficas e ecológicas. **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**, 2004, p. 101-111, 2004.

TAKEDA, Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction: experimental study in rats. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.17, n.6, p.388-391, 1988.

TASSARA, H. Frutas no Brasil. **São Paulo: Empresa das Artes**, p. 10-12, 1996.

TUROLLA, M. S. d. R.; NASCIMENTO, E. d. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42, n. 2, p. 289-306, 2006.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. d. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VIEIRA, P. M.; PAULA, J. R.; CHEN-CHEN, L. Solanum paniculatum L. Leaf and fruits extracts: assessment of modulation of cytotoxicity and genotoxicity by micronucleus test in mice. **Journal of Medicinal Food**, v.13, n. 6, p. 1-7, 2010.

VILLAS BÔAS, G. K.; GADELHA, C. A. G. Oportunidades na indústria de medicamentos e a lógica do desenvolvimento local baseado nos biomas brasileiros: bases para a discussão de uma política nacional. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 6, p.1463- 1471, 2007.

YABUUCHI, Y.; MATSUSHITA, Y.; OTSUKA, H.; FUKAMACHI, K. *et al.* Effects of supplemental lauric acid-rich oils in high-grain diet on in vitro rumen fermentation. **Animal Science Journal**, 77, n. 3, p. 300-307, 2006.

ANEXOS - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, 520
 50670-410 / Recife - PE - Brasil
 Fones: 2126 8842
 ceua@ufpe.br

Recife, 20 de julho de 2018

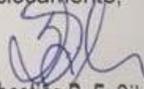
Ofício nº 70/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
 Para: **Prof.ª Marcia Vanusa da Silva**
 Centro de Biociências
 Departamento de Bioquímica
 Universidade Federal de Pernambuco
 Processo nº **0038/2018**

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação toxicológica, genotoxicidade e atividade biológicas do ácido Dodecanóico, Octanóico e o extrato de semente da Syagrus coronata Mar. (Licuri)**". Registrada com o nº **0038/2018** sob a responsabilidade de **Prof.ª Marcia Vanusa da Silva** 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	Setembro de 2018 a dezembro de 2019
Espécie/linhagem/raça	Rattus norvegicus albinus, Camundongos Swiss albinus (Mus musculus)
Nº de animais	Rattus norvegicus albinus (63) Camundongos (45) total de animais = 108
Peso/Idade	Rattus norvegicus albinus (3 meses/ 200-300g) e Camundongos (8 semanas/ 30-45g)
Sexo	Machos
Origem	Ratos-Bioterio do Departamento de Nutrição. Camundongos- Bioterio do Laboratorio de Imunopatologia Keiso Asami- Lika – UFPE.

Atenciosamente,


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

