



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
PROGRAMA DE DOUTORADO EM BIOTECNOLOGIA
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA (RENORBIO)

SILVANIA TAVARES PAZ

**USO DE RESINAS NATURAIS DE PLANTAS DO NORDESTE BRASILEIRO NA
TÉCNICA HISTOLÓGICA DE ROTINA COMO ALTERNATIVAS DE MEIOS DE
MONTAGEM ECONOMICAMENTE VIÁVEIS E AMBIENTALMENTE SAUDÁVEIS**

Recife - PE

2022

SILVANIA TAVARES PAZ

**USO DE RESINAS NATURAIS DE PLANTAS DO NORDESTE BRASILEIRO NA
TÉCNICA HISTOLÓGICA DE ROTINA COMO ALTERNATIVAS DE MEIOS DE
MONTAGEM ECONOMICAMENTE VIÁVEIS E AMBIENTALMENTE SAUDÁVEIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia em Recursos Naturais

Orientadora: Prof.^a Dra. Teresinha Gonçalves da Silva
Coorientadora: Prof.^a Dra. Paloma Lys de Medeiros

Recife - PE

2022

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Paz, Sylvania Tavares.

Uso de resinas naturais de plantas do nordeste brasileiro na técnica histológica de rotina como alternativas de meios de montagem economicamente viáveis e ambientalmente saudáveis. / Sylvania Tavares Paz. – 2022.

100 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Teresinha Gonçalves da Silva.

Coorientadora: Paloma Lys de Medeiros.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Histotecnologia. 2. Meios de montagem atóxicos. 3. Prospecção de resinas naturais. 4. Plantas do nordeste brasileiro. I. Silva, Teresinha Gonçalves da. (orient.). II. Medeiros, Paloma Lys. (coorient.). III. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-010

SILVANIA TAVARES PAZ

**USO DE RESINAS NATURAIS DE PLANTAS DO NORDESTE BRASILEIRO NA
TÉCNICA HISTOLÓGICA DE ROTINA COMO ALTERNATIVAS DE MEIOS DE
MONTAGEM ECONOMICAMENTE VIÁVEIS E AMBIENTALMENTE SAUDÁVEIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia em Recursos Naturais

Aprovada em: 20/12/2022.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a Dra. Mariana Brayner Cavalcanti Freire Bezerra
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Cláudio Gabriel Rodrigues
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a Dra. Ivone Antônia de Souza
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a Dra. Jaciana dos Santos Aguiar
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a Dra. Paloma Lys de Medeiros
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho à Deus, à minha família e a Paloma Lys de Medeiros que caminharam comigo nesta incrível jornada e que, pacientemente, me apoiaram e encorajaram em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, força, coragem em todo tempo para superar as dificuldades, me dá sabedoria e conhecimento. Por colocar pessoas maravilhosas em minha vida, para que contribuíssem com este trabalho. Tudo é Dele, por Ele e para Ele. A ti sou grata meu Pai, meu Rei, e Deus Todo poderoso! Todo louvor, honra e glória a Ti!

Aos meus pais (*in memoriam*) que lutaram para que eu chegasse aonde hoje estou, por todo amor, cuidado, carinho, dedicação e palavras de incentivo, amo vocês. Às minhas irmãs Maria das Graças Paz Machado e Maria do Socorro Paz, em especial sou grata pelo amor, carinho e palavras de ânimo, de força e esperança, que jamais esquecerei.

Às minhas filhas e neta, Emanuela Paz, Joana Rafaela Paz e Letícia Gabriela Rosas, que estiveram ao meu lado para me ajudar em todos os momentos. Obrigada por serem anjos na minha vida, pois vocês são companheiras de todos os dias. Mas também tem a filha do coração Rafaelly Alves da Silva, que está sempre presente como amiga dedicada.

À minha orientadora Prof^a. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva, por toda orientação, carinho e apoio durante toda a jornada do doutorado. Muito obrigada!

À minha coorientadora Prof^a. Dra. Paloma Lys de Medeiros, que desde o mestrado tem sido atenciosa, calma e generosa, me apoiou, me ensinou, me guiou em todo o trabalho com muita sabedoria, e me deu todas as coordenadas que foram essenciais neste trabalho, sendo uma ótima coorientadora, como uma mãe. Muito obrigada!

Aos meus amigos de trabalho Francisco Paes de Andrade e Romildo Luciano da Silva, e aos amigos da vida acadêmica Maria de Fátima Rodrigues, José Wellinton da Silva, Jucielma Silva de Lima, Nabuêr Francieli da Silva e Bruno Veras, pela amizade, dedicação e ajuda nos experimentos e trabalhos desenvolvidos nas disciplinas da pós-graduação, sempre presentes no meu dia a dia, colaborando, me dando forças para seguir em frente. Sou grata por tudo, amo vocês!

Ao Coordenador do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Renorbio Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes pelo grande incentivo e contínuo apoio.

Por fim e não menos importante agradeço aos avaliadores que fazem parte da minha banca, contribuindo para o avanço das pesquisas com novas tecnologias.

A todos, que direta ou indiretamente estiveram ao meu lado torcendo ou participando para que esse sonho se tornasse realidade.

Muito Obrigada!

"A vitória é desejo de muitos, mas troféu para poucos, pois muitos se entregam ao cansaço, outros desistem pelo caminho, mas somente os que tem fé continuam, não por serem mais fortes, mas por terem um Deus forte ao seu favor".

Autor desconhecido.

RESUMO

O meio de montagem constitui uma interface que é adicionado entre a lâmina e a lamínula, na finalização de preparações histológicas, para proteger fisicamente o tecido analisado. Existem vários tipos de meios de montagem disponíveis no mercado e a maioria desses possuem solventes em sua composição, principalmente o xileno que é muito tóxico, além de agentes antifúngicos que podem interferir na visualização dos tecidos histológicos devido à sensibilidade de algumas colorações. Neste trabalho objetivou-se utilizar exsudatos naturais de plantas do Nordeste brasileiro, obtidos das espécies *Anacardium occidentale* L. (cajueiro), *Mangifera indica* L. (mangueira) e *Artocarpus heterophyllus* Lam. (jaqueira), como alternativas de meios de montagem na técnica histológica. A goma bruta de cajueiro passou por trituração, dissolução em água, lavagens e precipitação em etanol até a obtenção de um polímero. Látex da jaqueira e da mangueira foram coletados diretamente em um recipiente de vidro contendo álcool à 100 %, após foram peneirados e secos até a obtenção de uma massa viscosa, que foi pesada e misturada com óleo mineral (10 g: 1 mL). A massa resultante foi macerada, acondicionada em estufa a 60°C e depois de resfriada foi obtido um líquido viscoso e translúcido. O índice de refração de cada meio de montagem foi determinado por refratometria. As medidas de viscosidade dos meios obtidos foram realizadas através de viscosímetro digital. Preparações histológicas com diferentes amostras foram finalizadas com os meios de montagem naturais. Foram utilizados cortes histológicos de órgãos de ratos Wistar (coração, aorta, traqueia, língua, intestino delgado, fígado, baço, rim e pele), de embriões de ave (*Gallus gallus domesticus*), amostras de tecidos humanos (necrópsia de cérebro, estômago e intestino) e material vegetal (folhas e pedúnculos de cajueiro, jaqueira e mangueira). As preparações permanentes das diferentes amostras utilizadas apresentaram qualidade satisfatória com relação a nitidez, integridade das colorações e conservação das estruturas, aspectos indispensáveis às análises morfológicas. Algumas preparações foram também acompanhadas por um período de três ano de observação e mantiveram-se sem alterações atendendo o requisito de durabilidade. Os meios de montagem naturais foram considerados apropriados para a finalização das preparações histológicas, sendo sugeridos como alternativas aos meios comerciais relativamente tóxicos e amplamente utilizados.

Palavras-chaves: Histotecnologia; Meios de montagem atóxicos; Prospecção de resinas naturais; Plantas do Nordeste brasileiro.

ABSTRACT

The mounting medium constitutes an interface that is added between the slide and the coverslip, at the end of histological preparations, to physically protect the analyzed tissue. There are several types of mounting media available on the market and most of these have solvents in their composition, especially xylene, which is very toxic, in addition to antifungal agents that can interfere with the visualization of histological tissues due to the sensitivity of some stains. The objective of this work was to use natural exudates from plants from the Brazilian Northeast, obtained from the species *Anacardium occidentale* L. (cashew tree), *Mangifera indica* L. (hose tree) and *Artocarpus heterophyllus* Lam. (jackfruit), as alternative mounting media in the histological technique. The raw cashew tree gum was crushed, dissolved in water, washed, and precipitated in ethanol until a polymer was obtained. Jackfruit and mango latex were collected directly in a glass container containing 100% alcohol, after which they were sieved and dried until obtaining a viscous mass, which was weighed and mixed with mineral oil (10 g: 1 mL). The resulting mass was macerated, placed in an oven at 60°C and after cooling, a viscous and translucent liquid was obtained. The refractive index of each mounting medium was determined by refractometry. The viscosity measurements of the media obtained were performed using a digital viscometer. Histological preparations with different samples were finished with natural mounting media. Histological sections of Wistar rat organs (heart, aorta, trachea, tongue, small intestine, liver, spleen, kidney, and skin), bird embryos (*Gallus gallus domesticus*), human tissue samples (brain necropsy, stomach, and intestine) and plant material (leaves and peduncles of cashew, jackfruit and mango trees). The permanent preparations of the different samples used showed satisfactory quality in terms of sharpness, color integrity and structure conservation, essential aspects for morphological analyses. Some preparations were also accompanied by a three-year observation period and remained unchanged, meeting the durability requirement. Natural mounting media were considered appropriate for the completion of histological preparations, being suggested as alternatives to the relatively toxic and widely used commercial media.

Keywords: Histotechnology; Non-toxic mounting media; Prospecting for natural resins; Plants from the Brazilian Northeast.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Págs
Figura 1 - Processamento manual das amostras histológicas.....	22
Figura 2 - Estrutura química dos principais constituintes do xilol.....	27
Figura 3 - Espécie <i>Anacardium occidentale</i> L	32
Figura 4 - Espécie <i>Mangifera indica</i> L.....	35
Figura 5 - Espécie <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.....	37
Figura 6 - Etapas do processamento da goma resinosa de cajueiro para obtenção de meio de montagem.....	41
Figura 7 - Etapas do processamento do látex da jaqueira para obtenção do meio de montagem.....	42
Figura 8 - Etapas do processamento do látex da mangueira para obtenção do meio de montagem.....	43
Figura 9 - Fotos do procedimento para determinação do IR em refratômetro Abbes.....	44
Figura 10 - Preparações histológicas montadas com meio natural e sistema de captura de imagem.....	46
Figura 11 - Etapas do processamento para obtenção de embriões de <i>Gallus gallus</i>	47
Figura 12 - Apresentação de folhas e pedúnculos de cajueiro, jaqueira e mangueira para confecção de preparações vegetais.....	48
Figura 13 - Preparações de órgãos (testículo, epidídimo, colo de útero, coração e rim), montadas com Entellan® e meios de montagem naturais obtidos do processamento do látex da mangueira (MLG) e da jaqueira (MLJ), e do processamento da goma resinosa de cajueiro (MGRC).....	66
Figura 14 - Preparações de órgãos (osso, pavilhão auricular, língua, fígado e intestino), montadas com Entellan® e os meios de montagem naturais obtidos do processamento do látex da mangueira (MLG) e da jaqueira (MLJ), e do processamento da goma resinosa de cajueiro (MGRC).....	67

Figura 15 -	Preparações com embriões de <i>Gallus gallus domesticus</i> montadas com meios obtidos da goma resinosa do cajueiro e do látex da mangueira e da jaqueira.....	69
Figura 16 -	Fotomicrografias de necropsias humanas de cérebro, estômago e intestino processadas com o óleo mineral e finalizadas meios de montagem naturais de cajueiro, jaqueira e mangueira.....	70
Figura 17 -	Fotomicrografias da montagem total de folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L. (cajueiro), <i>Mangifera indica</i> L. (mangueira), <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam. (jaqueira) e de pedúnculos das mesmas espécies processados até corte e coloração.....	72
Figura 18 -	Processamento de tecidos histológicos.....	78

LISTA DE TABELAS

	Págs
Tabela 1 - Índice de refração dos meios de montagem naturais	63
Tabela 2 - Análise de viscosidade rotacional dos meios obtidos do látex de <i>A. heterophyllus</i> Lam. e da <i>Mangifera indica</i> L. com óleo mineral.....	64
Tabela 3 - Critérios de avaliação dos meios de montagem com relação à uniformidade da coloração e presença de artefatos de preparações histológicas finalizadas com Entellan® e meios naturais obtidos da goma resinosa de cajueiro e do látex da jaqueira e da mangueira.....	68
Tabela 4 - Conservação a longo prazo de preparações permanentes montadas com meios naturais obtidos do processamento da goma resinosa de cajueiro e do látex da jaqueira e da mangueira.....	74

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ACGIH	<i>American Conference of Governmental Hygienist</i>
AE	Extrato aquoso
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CB	Centro de Biociências
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CCM	Centro de Ciências Médicas
CETENE	Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste
CETESB	Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CICADS	<i>Concise International Chemical Assessment</i>
CNS	Comissão Nacional de Saúde
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
DHE	Departamento de Histologia e Embriologia/UFPE
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
FISPQ	Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos
H&E	Hematoxilina e Eosina
IR	Índice de refração
LBM-CT	Laboratório de Biofísica das Membranas e Células-Tronco
LCT-DHE	Laboratório de Cultura de Tecidos – DHE/UFPE
LE-DHE	Laboratório de Embriotoxicidade – DHE/UFPE
LEAL	Laboratório de Experimentação em Análise de Alimentos
MGRC	Meio de montagem obtido da goma resinosa do cajueiro
MLJ	Meio de montagem obtido do látex de jaqueira
MLG	Meio de montagem obtido do látex de mangueira
NBR	Norma Brasileira
NCBI	<i>National Institute of Health Guid for Care and Use of Laboratory Animals</i>
OM	Óleo mineral
OSHA	<i>Occupational Safety and Health Administration</i>

PPGST	Programa de Pós-graduação em saúde translacional
SNC	Sistema Nervoso Central
TFE	Extrato trifluoroetanol

SUMÁRIO

	<i>Págs</i>
1 INTRODUÇÃO	18
1.1 OBJETIVOS.....	20
1.1.1 Objetivo Geral.....	20
1.1.2 Objetivos Específicos.....	20
2 REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1 TÉCNICA HISTOLÓGICA: CONCEITO, HISTÓRICO E ETAPAS.....	21
2.2 MEIOS DE MONTAGEM DE PREPARAÇÕES HISTOLÓGICAS.....	22
2.2.1 Meios de montagem aquosos.....	24
2.2.2 Meios de montagem resinosos naturais.....	24
2.2.3 Meios de montagem resinosos semissintéticos e sintéticos.....	25
2.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE O XILENO NA TÉCNICA HISTOLÓGICA.....	26
2.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS SUBSTITUTOS BIOSSEGUROS PARA O XILENO.....	28
2.5 UTILIZAÇÃO DE EXSUDATOS NATURAIS DE PLANTAS DO NORDESTE COMO MEIOS DE MONTAGEM DE PREPARAÇÕES HISTOLÓGICAS.....	30
2.5.1 Cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	31
2.5.2 Mangueira (<i>Mangifera indica</i> L.).....	33
2.5.3 Jaqueira (<i>Artocarpus heterophyllus</i> , Lam.).....	36
3 MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL DE ESTUDO.....	40
3.2 LOCAIS DE STUDO.....	40
3.3 PROCESSAMENTO DE EXSUDATOS NATURAIS (GOMA RESINOSA E LÁTEX) PARA OBTENÇÃO DOS MEIOS DE MONTAGEM.....	41
3.3.1 Processamento da goma resinosa do cajueiro.....	41
3.3.2 Processamento do látex da Jaqueira.....	42
3.3.3 Processamento do látex da Mangueira.....	43
3.4 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE REFRAÇÃO (IR) DOS EXSUDATOS NATURAIS.....	44
3.5 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE DOS EXSUDATOS NATURAIS.....	45

3.6 ASPECTOS ÉTICOS.....	45
3.7 COLETA E PROCESSAMENTO DE TECIDOS ANIMAIS, HUMANOS E VEGETAIS.....	45
3.7.1 Tecidos de ratos Wistar.....	45
3.7.2 Modelos com embriões de ave.....	47
3.7.3 Amostras de tecidos humanos.....	48
3.7.4 Amostras de tecidos vegetais.....	48
3.8 AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE E DURABILIDADE DAS PREPARAÇÕES PERMANENTES APÓS MONTAGEM COM MEIOS NATURAIS.....	49
3.9 MÉTODO DE ANÁLISE.....	49
3.10 GERAÇÃO DE PATENTE.....	49
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4.1 ARTIGO 1.....	50
4.2 MEIOS DE MONTAGENS OBTIDOS A PARTIR DO PROCESSAMENTO DO LÁTEX COLETADOS DA JAQUEIRA E DA MANGUEIRA.....	63
4.3 DETERMINAÇÃO DO IR DO LÁTEX COLETADO DA JAQUEIRA E DA MANGUEIRA.....	63
4.4 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE ROTACIONAL DINÂMICA.....	64
4.5 AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DE PREPARAÇÕES HISTOLÓGICAS MONTADAS COM ENTELLAN® E COM OS MEIOS NATURAIS.....	65
4.5.1 Preparações histológicas com tecidos de ratos Wistar.....	65
4.5.2 Preparações embriológicas com <i>Gallus gallus domesticus</i>.....	69
4.5.3 Preparações histológicas com amostras humanas.....	69
4.5.4 Preparações histológicas com amostras vegetais.....	71
4.6 INTEGRIDADE E DURABILIDADE DAS PREPARAÇÕES PERMANENTES APÓS MONTAGEM E QUANDO ESTOCADAS AO LONGO DO TEMPO.....	73
4.7 DEPÓSITO DE PATENTE.....	75
5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	79
REFERÊNCIAS.....	80
ANEXOS.....	94

ANEXO A – REGISTRO DE DEPÓSITO DE EXEMPLAR DE <i>ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS</i> LAM. NO HERBÁRIO UFP GERALDO MARIZ DO CENTRO DE BIOCÊNCIAS DA UFPE (Nº: 7.700).....	94
ANEXO B – REGISTRO DE DEPÓSITO DE EXEMPLAR DE <i>MANGIFERA INDICA</i> L. NO HERBÁRIO UFP GERALDO MARIZ DO CENTRO DE BIOCÊNCIAS DA UFPE (Nº: 22616).....	95
ANEXO C – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE: OFÍCIO N.º 110/16.....	96
ANEXO D – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE: OFÍCIO N.º 40/22.....	97
ANEXO E – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE: OFÍCIO n.º 37/18.....	98
ANEXO F – DECLARAÇÃO DE LIBERAÇÃO DE ACESSO E COLETA DE MATERIAL DA BLOCOTECA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE TRANSLACIONAL – CM/UFPE.....	99
ANEXO G – CARTA DE ACEITE DE MANUSCRITO PARA PUBLICAÇÃO (2022).....	100

1 INTRODUÇÃO

O processamento de amostras de tecido realizado em laboratório de técnicas histológicas ocorre por meio de três etapas (pré-fixação, fixação e pós-fixação) que possibilitam a confecção de preparações histológicas permanentes a serem analisadas com auxílio de microscópio óptico (MICHALANY, 1998; BANCROFT & GAMBLE, 2002; PAZ, 2017). Durante a pré-fixação, substâncias fixadoras são utilizadas para preservar e conservar os tecidos, evitando danos especialmente por enzimas proteolíticas; durante a fixação propriamente dita, preconiza-se a retirada de água dos tecidos através da desidratação com álcoois, para que se possa realizar os procedimentos de diafanização e parafinização, até o emblocamento das amostras e realização dos cortes histológicos; na sequência do processamento, a pós-fixação consiste na realização da coloração e montagem dos tecidos (humano, animal ou vegetal) sob uma lamínula com a interposição de uma cola natural ou comercial, solúvel em água, álcool ou outros solventes (PAZ, 2017).

A montagem tem como finalidade principal proteger fisicamente as amostras de tecido, mantendo a lamínula aderida ao tecido e à lâmina de vidro através de um filme transparente e durável que possibilita a visualização das imagens (MICHALANY, 1998). Os meios de montagens são classificados em duas categorias, resinosos naturais ou sintéticos (hidrofóbicos) e aquosos (hidrofilicos); considerando-se que os aquosos, compostos miscíveis em água como glicerina, gelatina e xarope de levulose, podem ser utilizados em cortes por congelação e nos exames imediatos de peças cirúrgicas que não necessitam de conservação (MICHALANY, 1998; BANCROFT & GAMBLE, 2002). Montagens com meios resinosos não miscíveis em água são procedidas na técnica histológica para os cortes em parafina, principalmente devido a refringência e duração permanente das preparações; compreendem, portanto, as resinas vegetais naturais como bálsamo do Canadá, bálsamo de Fenol e goma de Damar (MICHALANY, 1998; BANCROFT & GAMBLE, 2002; TOLOSA et al., 2003).

Os meios de montagem sintéticos (artificiais) como Permont[®], Entellan[®] e Euparal[®] são substâncias dissolvidas em xileno, benzeno e tolueno (MICHALANY, 1998). Esses meios são conhecidos por apresentarem solventes tóxicos em suas formulações que podem ser inalados durante o processamento histológico e na etapa da finalização das preparações histológicas, sendo capazes de causar danos

irreversíveis a órgãos do sistema nervoso central, entre outros como fígado, rim, pulmão e pele (KUM et al., 2007; SANDIKCI et al., 2009).

Devido à grande toxicidade inerente ao ambiente no qual o histotecnologista está exposto diariamente, modificações metodológicas vêm sendo realizadas para excluir o xilol da rotina laboratorial (FALKEHOLM et al., 2001; BUESA, 2007; COSTA et al., 2007; BUESA & PERSKOV, 2009; CASTRO et al., 2010; CHEN et al. 2010; BLEUEL et al., 2012; FUENTE et al., 2012; KUNHUA et al., 2012; ANKLE et al., 2015; EPA, 2016). Neste sentido, o processamento de amostras histológicas foi inovado com a utilização de um produto atóxico, o óleo mineral, que contribuiu não só para a redução do tempo das etapas de diafanização e de desparafinização, mas também gerou benefícios como baixo custo, fácil exequibilidade e biossegurança (PAZ, 2017).

Na busca por aprimorar a finalização do processamento histológico atóxico, a montagem de preparações permanentes com colas naturais, obtidas de exsudatos de plantas do Nordeste brasileiro, foram cogitadas como possíveis substitutos aos meios comerciais usualmente utilizados (PAZ et al. 2022).

Neste contexto, as colas naturais têm despontado como alternativas promissoras às colas sintéticas, principalmente por preservarem o ambiente e a saúde do trabalhador (RAMAMOORTHY et al., 2016); podendo também impactar na economia, uma vez que nosso país tem altos custos com a importação da goma arábica (MIRHOSSEINI & AMID, 2012). O interesse por essas colas tem sido crescente no mundo inteiro, repercutindo beneficemente nos setores farmacêutico, da agroindústria, biorremediação e de cosméticos, considerados consumidores em potencial de produtos naturais (Enríquez, 2001).

O Nordeste brasileiro apresenta uma grande diversidade de plantas nativas e exóticas bem adaptadas às suas condições edafoclimáticas e os exsudatos naturais de espécimes como *Anacardium occidentale* L. (cajuero), *Mangifera indica* L. (mangueira) e *Artocarpus heterophyllus* Lam. (jaqueira), devido aos aspectos físicos da goma resinosa (pegajosa, parecido como cola) ou do látex (fluido viscoso, pegajoso ou não), podem constituir alternativas viáveis aos meios de montagem convencionais. Neste intuito, o principal objetivo da presente pesquisa foi utilizar exsudatos naturais do cajueiro, da mangueira e da jaqueira, como novas alternativas de meios de montagem na finalização de preparações histológicas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

- Utilizar exsudatos naturais de plantas do Nordeste brasileiro na técnica histológica de rotina como alternativas de meios de montagem.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Coletar exsudatos na forma *in natura* de *Anacardium occidentale* L., *Mangifera indica* L. e *Artocarpus heterophyllus*, Lam.
- Processar os exsudatos coletados (goma resinosa e látex) para a obtenção dos meios de montagem naturais.
- Determinar os índices de refração (IR) dos meios de montagem naturais.
- Determinar a viscosidade dos meios de montagem naturais.
- Substituir o meio de montagem comercial usualmente utilizado na finalização das preparações histológicas por meios naturais obtidos neste estudo.
- Avaliar microscopicamente as preparações permanentes de tecidos (humanos, animais e vegetais) montadas com os meios naturais, segundo diferentes critérios como qualidade geral das preparações (clareza, uniformidade da coloração, nitidez, adequação da coloração nuclear e citoplasmática, presença ou não de artefatos), integridade das estruturas e adequação para avaliação histológica.
- Avaliar a integridade e durabilidade das preparações permanentes após montagem e quando estocadas ao longo do tempo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 TÉCNICA HISTOLÓGICA: CONCEITO, HISTÓRICO E ETAPAS

A técnica histológica caracterizou-se como sendo um conjunto de procedimentos técnicos repassado ao longo dos anos entre diversos profissionais das ciências naturais como botânicos, zoologistas, anatomistas e histologistas (BANCROFT & GAMBLE, 2002). No princípio da história da microscopia, para a descrição dos tecidos básicos foi necessário estabelecer a técnica histológica como um procedimento prático relacionado a avaliação histológica (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2017). O médico alemão e antropologista, Rudolf Virchow, considerado “Pai da Patologia”, buscou explicar os mecanismos envolvidos no surgimento das doenças e utilizou pela primeira vez o termo “análise histopatológica”, envolvendo os procedimentos realizados em laboratórios de histologia e anatomia patológica, para sedimentar as bases da Patologia Celular (MOLINARO et al., 2010, JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2017).

Os preparados histológicos são obtidos a partir de amostras de tecidos retiradas de um organismo (vivo ou morto) para a realização do exame microscópico e dependem de procedimentos como coleta do material, fixação, desidratação, clarificação, inclusão, microtomia (corte), coloração e montagem (MOLINARO et al., 2010).

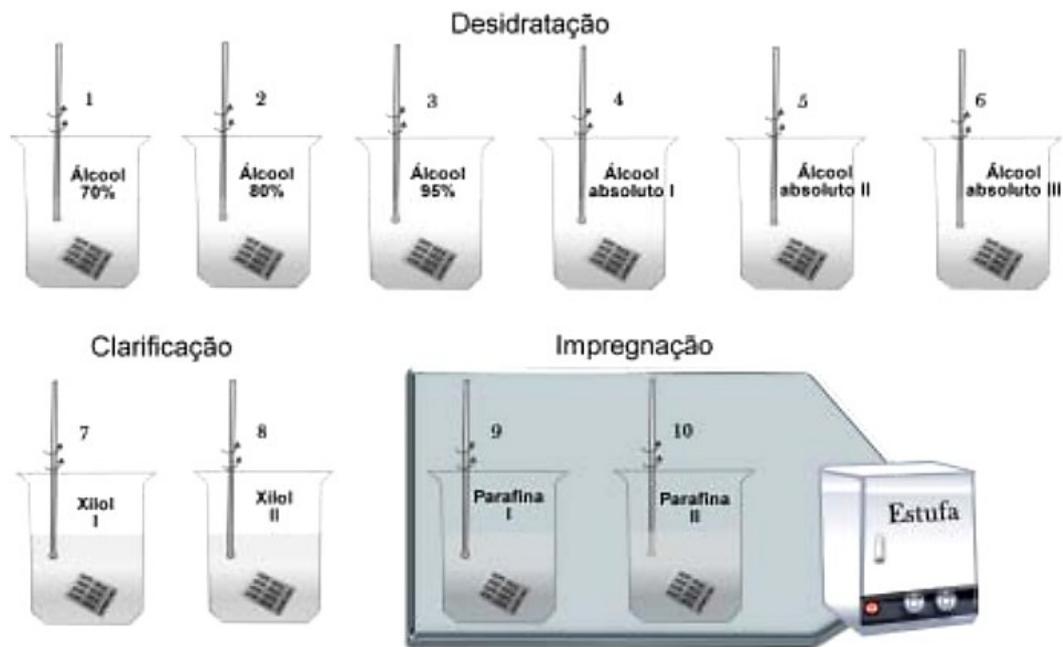
A coleta de amostras pode ser realizada por meio de biópsias ou durante uma cirurgia, ou mesmo *post mortem*, através de procedimentos de necropsias em animais ou humanos e após serem avaliadas por um patologista, um laudo específico é fornecido com relação aos aspectos macroscópicos da peça anatômica (tamanho, cor e aparência do material observado); logo em seguida as amostras são fragmentadas, mantendo-se espessuras de 3 a 5 mm, sendo imediatamente mergulhadas em fixador específico (MOLINARO et al., 2010).

Preservar e conservar as amostras constituem etapas fundamentais para o início da técnica histológica e que visam interromper o metabolismo celular, ao estabilizarem estruturas e componentes bioquímicos intra e extracelulares, possibilitando a penetração de outras substâncias subsequentes à fixação (CAPUTO et al, 2010).

O processamento histológico inicia-se com a fixação do material por meio da retirada de água dos tecidos, o que caracteriza a desidratação e em seguida são

procedidas a diafanização ou clarificação e a impregnação (Figura 1); após essas etapas, novos procedimentos são realizados como inclusão, emblocamento, corte, coloração e montagem (CAPUTO et al, 2010).

Figura 1 – Processamento manual de amostras histológicas.



Nota: O processamento manual de amostras contém as principais etapas: desidratação com álcoois em gradações crescentes (70, 80, 95 e 100% I, II e III), clarificação (xilol I e II) e impregnação por parafina (I e II). **Fonte:** Caputo et al. (2010).

2.2 MEIOS DE MONTAGEM DE PREPARAÇÕES HISTOLÓGICAS

Os meios de montagem são soluções onde as amostras encontram-se embutidas, geralmente sob um fino vidro de cobertura, a lamínula (BROWN, 1997). Esse meio pode ser líquido, goma ou resinoso, solúvel em água, álcool ou outros solventes e deve ser selado a partir da atmosfera externa de forma mecânica pelo técnico que o manipula (DIONI, 2002). A finalidade principal do meio de montagem é proteger fisicamente a amostra ou espécime, e ao conter esse material, torna-se possível o deslizamento da lamínula, obtendo como produto um filme transparente e durável, necessário para a visualização das imagens e interpretação das mesmas (RENSHAW, 2007).

A escolha de um meio de montagem adequado é relevante para finalização da preparação histológica, considerando-se a conservação a longo prazo; visto que

meios de montagem não adequados podem causar deslocamento da lamínula sobre a lâmina, bem como dificultar a observação do corte tornando-o opaco, e por produzir descoloramento das preparações logo em seguida a sua aquisição (BANCROFT & GAMBLE, 2002).

Para evitar danos que possam ser produzidos por meios de montagem faz-se necessário a análise de várias propriedades: (1) o índice de refração (IR) deve estar o mais próximo possível ao do vidro (1,530); (2) deve ser incolor e transparente; (3) não deve causar mancha difusa ou desaparecer; (4) deve estar seco para conferir uma consistência antiaderente e endurecer de forma relativamente rápida; (5) não deve retrair para trás da borda da lamínula; (6) deve ser capaz de permear completamente e preencher os interstícios dos tecidos; (7) não deve ter efeito adverso para os componentes do tecido; (8) deve ser resistente à contaminação (particularmente crescimento de microrganismos); (9) deve proteger a secção histológica ou a preparação citológica contra danos físicos e atividade química (oxidação e alterações no pH); (10) deve ser completamente miscível com desidratante ou agente de limpeza; (11) deve ser fixado sem cristalizar, rachar ou encolher (ou deformar o material que está sendo montado) e não reagir, lixiviar ou induzir o desbotamento (manchas) nas colorações e nos produtos de reação (incluindo aqueles de procedimentos histoquímicos, de hibridização e imunohistoquímicos); (12) finalmente, uma vez definido, o composto deve permanecer estável (em termos das características listadas acima) (CULLING et al., 1985; ONO et al., 2001; BANCROFT & GAMBLE, 2002; RENSHAW, 2007).

A visualização da imagem ao microscópio óptico se torna possível quando a luz ao passar pela preparação histológica sofre uma pequena refração, a qual é medida através do índice de refração, que é a razão entre a velocidade da luz no vácuo e a velocidade da luz no ar (RENSHAW, 2007). O IR considerado ideal para os meios de montagem deve ser mais próximo possível do tecido fixado (aproximadamente 1,530). O meio de montagem com um IR próximo ao tecido fixado, o torna transparente, com visibilidade apenas dos elementos teciduais corados; por outro lado, um meio de montagem com um IR muito distante de 1,530 fornecerá pouca clareza e contraste (DIASPRO; FEDERIC & ROBELLO, 2002).

2.2.1 Meios de montagem aquosos

Os meios de montagem aquosos (hidrofílicos e não adesivos) são, em geral, usados em algumas preparações histoquímicas ou quando os corantes não podem sofrer desidratação (solúveis em álcool ou em hidrocarbonetos aromáticos); esses meios, também são capazes de prevenir a deslocação metacromática do tecido e como parte desta classificação estão a goma-arábica, a gelatina e a glicerina (TOLOSA et al., 2003).

As soluções aquosas de gelatina ou goma-arábica possuem baixo IR entre 1,410 e 1,420, respectivamente, sendo pouco usadas porque produzem rachaduras ao secar; já a glicerina por ser mais plástica e possuir IR de aproximadamente 1,456 tem sido muito requerida na montagem de cortes por congelação para se estudar os lipídeos (ADENIYI et al., 2019).

2.2.2 Meios de montagem resinosos naturais

Os meios de montagem resinosos (hidrofóbicos, adesivos, orgânicos e não aquosos) podem ser naturais, semissintéticos e sintéticos, geralmente são dissolvidas em benzeno, tolueno ou xileno e utilizados na montagem de preparações permanentes coradas com Hematoxilina-Eosina (H&E), obtidas a partir do processamento histológico de rotina (PALMA, 1978; MICHALANY, 1998). Entre os meios resinosos naturais mais usados se destacam os seguintes: bálsamo do Canadá, goma de Damar, óleo de cedro, colofônia ou resina de terebentina (RAVIKUMAR et al., 2014).

O bálsamo do Canadá foi a primeira resina utilizada como meio de montagem, sendo extraída da *Abies balsamea* (L.) Mill (Pinaceae), possui IR de 1,160 e quando dissolvido em xilol numa concentração de 60% apresenta IR de 1,530 (próximo ao IR do vidro); na presença desse meio os corantes ácidos e a hematoxilina são bem conservados, não acontecendo o mesmo com alguns corantes básicos como anilina e azul da Prússia, além do mais com o tempo a resina se torna amarelada e os corantes de uma forma geral tendem a descorar (RAVIKUMAR et al., 2014).

A goma de Damar, retirada de árvores do gênero *Shorea* (família Dipterocarpaceae), tem origem na Índia e Filipinas; sendo composta por ésteres ácidos não saturados, possui IR de 1,517 e quando dissolvida em xilol na concentração de 60% apresenta índice de 1,558 (TOLOSA et al., 2003). Essa resina

pode substituir o bálsamo do Canadá com algumas vantagens tais como aparência mais clara, secagem mais rápida, não descora os corantes, nem forma halo amarelo na margem da lâmina (SAIFY & TIWARI, 2020).

O óleo de cedro e a colofônia são resinas retiradas do cedro e de *Abetos* ou *Pinus*, respectivamente. A resina do óleo de cedro possui um IR de 1,515 e conserva bem preparações coradas com ácido ósmico, podendo ser usada também como óleo de imersão; com relação à resina da colofônia, tem sido muito usada na conservação de preparações coradas pelo método Wright (TOLOSA et al., 2003).

2.2.3 Meios de montagem resinosos semissintéticos e sintéticos

As resinas semissintéticas (Euparal[®] e a Diafane[®]) são referidas associadas a vários produtos químicos. Euparal[®] consiste em nove parte de goma de Sandaraca dissolvida em uma mistura de eucaliptol e paraldeído ou dioxan, com cânfora e salicilato de fenil (salol), possui IR de 1,477 quando líquida e de 1,535 quando sólida; essa resina provoca descoramento dos corantes hematoxilina e azul da Prússia, todavia os básicos são bem conservados (TOLOSA et al., 2003).

Diafane[®] é uma resina de goma de Juniper ou óleo de Cade, retirada da espécie *Juniperus oxucedrus* (Pineaceae), dissolvida e combinada com vários produtos sintéticos e naturais do fenol; possui IR de 1,548, entretanto clareia o azul da Prússia e a fucsina de van Giemsa, mas mantém a conservação de corantes básicos derivados da anilina (TOLOSA et al., 2003).

As resinas sintéticas são geralmente neutras e apresentam variações quanto ao tempo de secagem, viscosidade, tendência a formação de bolhas e índice de refração. Essas resinas conservam bem as anilinas básicas; as não saturadas tendem a clarear o azul da Prússia, enquanto as saturadas conservam a referida coloração; entre essas destacam-se o poliestireno (Permout[®]), polímero de terpeno, acetato de polivinil, silicone e o Entellan[®] (TOLOSA et al., 2003).

O poliestireno é uma resina com alta viscosidade, de secagem rápida, com propriedade de conservar corantes básicos, contudo produz bolhas; já o polímero de terpeno ou resina Permout[®], possui IR de 1,514 (forma líquida, dissolvido em xilol) e na forma sólida IR de 1,538, conserva bem a hematoxilina e anilina, mas descora o azul da Prússia (TOLOSA et al., 2003; SAIFY & TIWARI, 2020).

O acetato de polivinil contém em sua composição duas resinas que têm compatibilidade com gordura e outros corantes; conservando colorações como o Sudan e vermelho *Orange*, possui IR de 1,437 e vantagens de ser usado em temperatura ambiente e de não forma bolhas ao secar (TOLOSA et al., 2003).

O silicone, tem sido muito utilizado como meio de montagem e são polímeros de ligação silicone-oxigênio, diferente de outras resinas com ligações carbono-carbono; consiste em um líquido inerte, incolor e não higroscópico, apresenta IR de 1,375 (forma líquida) e na forma sólida de 1,556 (TOLOSA et al., 2003).

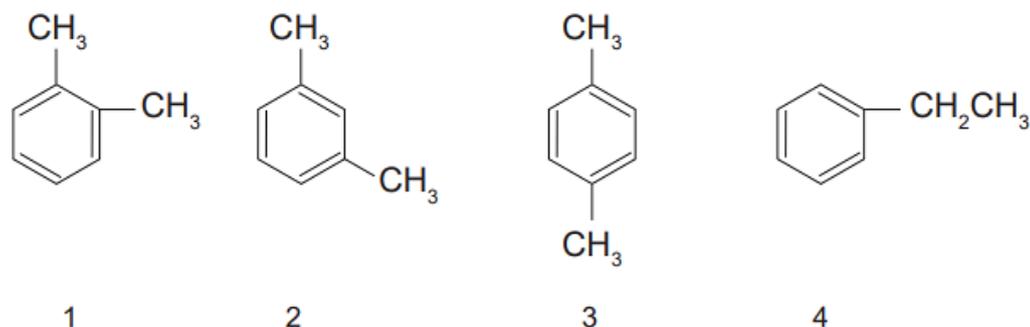
O Entellan[®] é um meio de montagem à base de xilol que contém metacrilato de metila em vez de poliestireno, tem sido recomendado como selante, pois endurece rapidamente (20 minutos); além disso, foi relatado que esse meio se comporta melhor como selante para montagens à base de glicerol (SAIFY & TIWARI, 2020).

2.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE O XILENO NA TÉCNICA HISTOLÓGICA

Na etapa de finalização das preparações histológicas, no geral são utilizadas resinas sintéticas devido às suas características de secagem, transparência e preservação do material a longo prazo; e as mais comercializadas são Euparal[®], Entellan[®] e Permout[®] (KRAUS & ARDUIN, 1997), que possuem em suas composições o denominado de 1,2 dimetilbenzeno, dimetiltolueno ou, como é mais conhecido, o xilol ou xileno (MERCK, 1996; GARDNER, 1996).

O xileno é um líquido incolor, muito volátil, insolúvel em água e miscível em etanol, éter e outros solventes orgânicos; sendo reconhecível por apresentar odor característico, além de ser nocivo e inflamável, e sua solução comercial resulta de uma mistura de três isômeros de xilol, etilbenzeno e outros hidrocarbonetos aromáticos, nas seguintes proporções: *orto*-xileno (23%), *meta*-xileno (46%), *para*-xileno (21%), etilbenzeno (0,9%) e outros hidrocarbonetos aromáticos (9%) (Figura 2) (MERCK, 1996; JACOBSON & McLEAN, 2003; EPA, 2016).

Figura 2 – Estrutura química dos principais constituintes do xilol.



1 – orto-xileno; 2 – meta-xileno; 3 – para-xileno; 4 – etilbenzeno

Fonte: Merck, 1996.

A Resolução n°. 358, de 29 de abril de 2005, do Conselho de Meio Ambiente (CONAMA), classifica o xileno no grupo B, enquadrado como substância química que pode apresentar riscos à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade (BRASIL, 2005).

O uso frequente de xileno em laboratórios de ensino e pesquisa, bem como para análises clínicas e patológicas pode causar agravos à saúde dos trabalhadores que se expõem a esse solvente (BUESA, 2007). O estudo de Kandyala e colaboradores (2010) demonstra, numa visão geral, todos os agravos para a saúde dos expostos ao xileno e as medidas preventivas necessárias.

A toxicidade do xileno pode provocar uma série de reações no organismo humano como dores de cabeça, perda de memória, perda auditiva, leucopenia, trombocitopenia, anemia, cianose, irritação ocular, dermatite, infertilidade, além de alterações neurofisiológicas como ansiedade, fadiga, tremores e vertigem (JACOBSON & McLEAN, 2003; COSTA et al., 2007; KERETETSE *et al.*, 2008; CASTRO et al., 2010). Outros efeitos tóxicos foram relatados como lesões cardíacas e renais, infecções secundárias, e alterações musculares causada pelo esgotamento de ATP mitocondrial nas células afetadas (COSTA et al., 2007; BUESA & PESHKOV, 2009).

Logo, faz-se necessário o monitoramento toxicológico dos profissionais expostos, através da detecção do ácido metil-hipúrico, um metabólito do xileno excretado na urina, que constitui o indicador proposto pela Legislação Brasileira

incluso na Norma Regulamentadora (nº. 15), para a monitorização biológica desse agente químico (BRASIL, 2006).

Além da exposição ocupacional ao xileno, a contaminação também pode ocorrer devido ao vazamento de tanques de armazenamento subterrâneo contendo produtos de petróleo no solo e o agente químico também pode vazar para lençóis de água superficiais ou subterrâneas, permanecendo por meses ou mais tempo até se decompor (KANDYALA; RAGHAVENDRA; RAJASEKHARAN, 2010). Os resíduos de xileno que são lançados no meio ambiente não são degradados e seus vapores podem causar explosões nas instalações de esgotos, existindo, portanto, um limite de tolerância ao xileno estipulado de 76 ppm ou 340 mg/m³ (CETESB, 1992).

O xileno foi considerado nos Estados Unidos pela OSHA (*Occupational Safety and Health Administration*) e a ACGIH (*American Conference of Governmental Hygienist*) como produto perigoso, tendo sido estipulado um limite de exposição de 100 ppm. Verificou-se, ainda, que a contaminação do solo e de mananciais de água por esse produto poderia permanecer por meses, contudo, devido a sua fácil evaporação, ao entrar em contato com a luz, o xileno se degrada em outros químicos menos perigosos (ANKLE et al., 2015).

2.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS SUBSTITUTOS BIOSSEGUROS PARA O XILENO

Devido aos diversos efeitos tóxicos do xileno que podem comprometer a saúde dos técnicos de laboratório de histopatologia, durante o processamento de material e na etapa da finalização das preparações histológicas, muitos estudos têm sido realizados na busca de alternativas para a substituição desse solvente (PAZ, 2017).

Alguns substitutos como reagentes de limoneno, hidrocarbonetos alifáticos e reações de óleos minerais têm sido utilizados no processamento de tecidos como agente de limpeza (NEGI et al., 2013). Entretanto, esses substitutos se mostraram menos efetivos em algumas etapas do processamento histológico, sendo em determinadas situações alternativas mais dispendiosas que o xileno (SERMADI et al., 2014).

Kunhua e colaboradores (2012) descreveram um possível substituto para o xileno, não tóxico, gerado de uma mistura com óleo branco nº. 2 (86%) e *n*-heptano (14%), com elevado ponto de ebulição (188 °C), ponto de inflamação (144 °C),

volatilidade diminuída e sem cheiro; tendo-se sugerido com base nessas características que a mistura poderia substituir o xileno sem comprometer o diagnóstico.

No estudo de Swuamy e colaboradores (2015), foi possível observar que a utilização de óleos naturais (de cenoura, pinho, óleo de rosa e azeite de oliva) como alternativa “bio-amigável”, se mostraram eficientes como agentes clareadores em procedimentos histopatológicos; além de, promoverem menos retrações dos tecidos e qualidade das colorações.

Alwahaibi e colaborades (2018) propuseram como alternativa ao xileno, o uso do UltraClear™, um produto à base de isoparafina incolor e inodoro, contendo hidrocarbonetos (C11-12) e que são derivados do fracionamento e craqueamento de petróleo bruto; embora considerado menos tóxico e menos inflamável, o custo foi duas vezes maior em comparação com o xileno, tendo sido apenas testado como agente de clareamento e não durante a desparafinização e coloração.

Em 2019, Chandraker e colaboradores compararam a eficácia do óleo de coco em substituição ao xileno, apenas na etapa de clareamento das amostras histopatológicas e não observaram diferenças nas colorações e visualização das imagens.

Saravanakumar e colaboradores (2020) compararam o óleo de coco e o óleo de amendoim como prováveis substitutos do xileno e ao avaliarem os critérios da arquitetura celular e qualidade das colorações, não constataram diferenças significativas.

Rahmawati e colaboradores (2020) realizaram um estudo com o objetivo de explorar a potência do óleo vegetal de cozinha (palma, milho ou de coco) como agente clareador no processamento histológico e constataram que os óleos utilizados se apresentaram com propriedades parecidas as do xileno; sendo considerados bons substitutos, não apenas por manterem a arquitetura das células e qualidade das colorações, mas também por serem mais econômicos, não tóxicos e terem odores agradáveis.

Aswani e colaboradores (2020) descreveram o uso de água de limão diluída e do vinagre natural, como substitutos alternativos do xileno, por serem econômicos, facilmente disponíveis, não tóxicos e não inflamáveis; além do que, avaliaram o tempo de processamento das amostras e a qualidade das preparações, tendo-se constatado

que a utilização desses agentes de desparafinização ecológicos foram mais eficientes que o xileno no procedimento de coloração.

Tsamiya e colaboradores (2021) testaram óleos de cravo, de amendoim e de oliva no processo de diafanização dos tecidos de ratos Wistar (fígado, rim e coração) em temperatura ambiente e perceberam que entre os três diferentes óleos utilizados, o óleo de amendoim foi a melhor alternativa para substituir o xileno, devido a qualidade da arquitetura dos tecidos e qualidade da coloração.

Em um estudo recente, Abreu e colaboradores (2022) utilizaram óleo de coco puro ou combinado com xileno e mencionaram que o procedimento, apesar da pouca translucidez, não divergiu daquele realizado apenas com o xileno. Esses pesquisadores referiram que os óleos vegetais podem ser usados na rotina histológica em substituição ao xileno na etapa de diafanização e o óleo de coco foi sugerido como um substituto promissor, sendo uma alternativa segura, de baixo custo, que não comprometeu a morfologia dos tecidos e não interferiu nas diferentes colorações utilizadas.

2.5 UTILIZAÇÃO DE EXSUDATOS NATURAIS DE PLANTAS DO NORDESTE COMO MEIOS DE MONTAGEM DE PREPARAÇÕES HISTOLÓGICAS

No contexto atual, as colas naturais despontam como promissoras alternativas às colas sintéticas (derivadas do petróleo), uma vez que apresentam vantagens em termos ambientais e com relação à saúde (RAMAMOORTHY et al., 2016). O interesse crescente por colas naturais como possíveis substitutos de resinas fenólicas tem motivado muitos pesquisadores e, de acordo com Enríquez (2001), alguns setores como farmacêutico, agroindústria, de biorremediação e cosméticos constituem potenciais mercados consumidores de produtos naturais.

O Brasil, em especial a região Nordeste, apresenta uma grande diversidade de fruteiras nativas e exóticas adaptadas às condições climáticas, com destaque socioeconômico, tanto para os mercados interno e externo de comercialização de frutas *in natura* como para industrialização. Pressupondo-se que muitas dessas árvores produzem exsudação, as resinas naturais de plantas do Nordeste brasileiro como cajueiros, mangueiras e jaqueiras, poderão representar alternativas de meios de montagem economicamente viáveis na rotina de laboratórios de histotécnica, uma

vez que o país ainda tem altos custos com a importação de colas sintéticas e até mesmo da goma arábica (MIRHOSSEINI & AMID, 2012).

Essas resinas naturais de fruteiras do Nordeste brasileiro poderão constituir mais uma fonte de lucro para o produtor, seja durante as épocas de colheitas ou como uma alternativa para o aproveitamento de plantas improdutivas ou mesmo daquelas em fase de declínio e senescência (SANTOS-SEREJO et al., 2009).

2.5.1 Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)

O cajueiro é uma planta rústica, originária do Brasil e típica de regiões de clima tropical, que pertence à família Anacardiaceae, sendo especialmente encontrada nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, tem se destacado por sua grande importância econômica ao gerar emprego, renda e impostos, em decorrência dos produtos industrializados oriundos do seu fruto e pseudofruto, principalmente para os Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (AGUIAR et al., 2000; MAIA et al., 2000; ASSUNÇÃO & MERCADANTE, 2000; MAIA et al., 2001; MOURA, 2001; VALEXPOR, 2003; SANCHO et al., 2007; CUNHA E SILVA et al., 2013).

O cajueiro é uma árvore perene de tamanho pequeno, com muitas ramificações e possui uma copa baixa e espalhada de 6 a 12 metros; cresce a uma altura de 2 a 15 metros, apresenta uma casca marrom ou cinza, lisa a áspera com fissuras longitudinais e um sistema radicular profundo (LIM, 2012). O cajueiro apresenta folhas simples e alternadas, flores com 5 sépalas estreitamente ovadas e corola cilíndrica de 5 pétalas, com estames longos; além disso, possui o fruto (castanha) que é um aquênio reniforme (noz), com cerca de 3 cm de comprimento e 2,5 cm de largura, e preso à extremidade distal de um receptáculo alargado encontra-se o hipocarpo (pseudofruto) chamado caju, que é brilhante, alaranjado, vermelho ou amarelado de 10 a 20 cm de comprimento, e de 4 a 8 cm de largura (Figura 3) (LIM, 2012).

O caju e a castanha são muito utilizados na culinária nordestina, tanto *in natura* quanto na composição de outros produtos alimentícios e, também, apresentam potenciais propriedades medicinais no tratamento infecções e determinadas inflamações relacionadas ao trato gastrointestinal (NOVAES, 2021).

Figura 3 – Espécie *Anacardium occidentale* L.



A) Exsudato liberado por ação mecânica ou lesões na casca do caule, **B)** Pseudofruto (caju) amarelado, **C)** Pseudofruto (caju) alaranjado.
Fonte: Lim (2012).

Na medicina tradicional, os extratos de diferentes partes do cajueiro têm sido aplicados no tratamento de inúmeras doenças tais como distúrbios gastrointestinais (GIRON *et al.*, 1991; COE & ANDERSON, 1996; AGRA; FRANÇA; BARBOSA-FILHO, 2007), asma (GIRON *et al.*, 1991; MAZZETTO & LOMONACO, 2009), doenças de pele (COE & ANDERSON, 1996; MAZZETTO & LOMONACO, 2009) e febre (PATRO & BEHERA, 1979; SUDARSHAN; TRUST; RAO, 1985). Além do que, tem-se referido o uso da casca do caule e as folhas em preparações tópicas ou decocções para diversas condições inflamatórias como artrite (IWU, 1993; OLIVER-BEVER, 1986) e no tratamento da dor (COE & ANDERSON, 1996; MAZZETTO & LOMONACO, 2009).

A goma do cajueiro é um exsudato produzido e armazenado naturalmente em células epiteliais da casca da planta, sendo liberada em resposta a ações mecânicas ou a lesões e ataques de patógenos como forma de proteção (MIRANDA, 2009). A síntese da goma resinosa ocorre em todos os órgãos da planta, podendo apresentarem-se com composição e aparência variadas em função de controle genético e sob influência das condições ambientais (AZEEZ, 2005).

A goma de caju é um polissacarídeo complexo de alta massa molecular, por hidrólise produz galactose e ácido galacturônico, possuindo em sua composição 61% de galactose, 14% de arabinose, 7% de ramnose, 8% de glicose, 5% de ácido glucurínico e 2% de outros resíduos de açúcar (ANDERSON *et al.*, 1974). A análise elementar revelou teor de água de 7,4%, proteína total em torno de 0,5%, lipídios totais (0,06%), fibras (0,95%) e cinzas (0,95%), o carboidrato total foi de 98% e a hidrólise da goma de caju produziu L-arabinose, L-ramnose, D-galactose e ácido glucurônico (GLICKSMAN & SAND, 1973).

A goma resinosa de cajueiro apresenta propriedades semelhantes à goma arábica, podendo ser utilizada como substituto da goma arábica na indústria farmacêutica como aglutinante para cápsulas e comprimidos e na indústria alimentícia como estabilizante de sucos e como aditivo na fabricação de gomas de mascar devido ao seu poder espessante; também se tem referido seu uso como agente gelificante em alimentos enlatados e na composição de geleias, assim como incluídas na elaboração de vinhos de caju. Além disso, a goma tem aplicação como cola líquida na indústria de papel, para encadernação de livros e como adesivos para envelopes, etiquetas, selos e cartazes (AZEEZ, 2005).

Estudos pré-clínicos avaliaram as propriedades etnofarmacológicas da goma de cajueiro e constataram ação antibacteriana (TORQUATO *et al.*, 2004; CAMPOS *et al.*, 2012), antitumoral (FLORÊNCIO *et al.*, 2007, MOTHE *et al.*, 2008), antidiarreica (ARAÚJO *et al.*, 2015) e hipoglicemiante (OJEWOLE, 2003). Em um estudo *in vitro*, a atividade de macrófagos peritoneais de camundongos foi atribuída à presença de polissacarídeos no exsudato de goma de cajueiro (YAMASSAKI *et al.*, 2015).

Da Silva e colaboradores (2017) demonstraram que os efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios do extrato da goma de cajueiro foram ocasionados por mecanismo de ação dependente da redução dos níveis de prostaglandinas E₂ em diferentes modelos experimentais e justificaram seu uso na medicina tradicional para o tratamento de condições dolorosas e inflamatórias, devido a atividade dos ácidos anacárdicos evidenciados na caracterização química do exsudato.

2.5.2 Mangueira (*Mangifera indica* L)

As mangueiras, fazem parte da família Anacardiaceae e são geralmente encontradas em regiões de climas tropicais e subtropicais, sendo cultivadas

principalmente na Ásia, África, América do Sul e Central (MWAURAH et al., 2020; MIRZA et al., 2021).

A mangueira é uma árvore perene de grande porte que cresce até 45 m, em forma de cúpula com folhagem tipicamente densa e pesada ramificada de um tronco robusto (Figura 4A) (SHAH; JAMIRUDDIN; ACHARYA, 2010). As folhas em geral são simples e possuem arranjo alternado, o fruto é do tipo drupa e quando amadurece pende da árvore em longos caules; a fruta não madura apresenta cor verde (Figura 4 B) e a fruta madura esboça uma coloração variada de amarelo (Figura 4 C) até laranja ou avermelhada (DERESE, 2017).

A manga contém em sua constituição elementos como sódio, potássio, fósforo, magnésio e cálcio, principais constituintes minerais e outros microelementos como cobre, zinco e selênio (KITTIPOOM & SUTASINEE, 2013; TSIKA et al., 2017). A fruta apresenta baixo teor proteico, entretanto, contém a maior parte dos aminoácidos considerados essenciais, como leucina, valina, isoleucina, lisina, treonina, fenilalanina, tirosina e metionina (ABDALLA et al., 2007).

A produção de manga no mundo tem sido considerada de larga escala em 100 países e 65 destes, produzem toneladas da fruta por ano; logo, o estudo de Mwaurah e colaboradores (2020) revelou a existência uma grande quantidade residual dessa fruta, gerada a partir das indústrias de processamento, refletindo-se numa taxa considerável de perda desses recursos naturais que poderiam ser reaproveitados. A mangicultura no Semiárido do Brasil tem permitido o escalonamento de colheitas tanto na entressafra quanto em períodos específicos do ano, favorecendo aos produtores e empresas o acesso a diferentes mercados em épocas oportunas de comercialização (MWAURAH et al., 2020; MIRZA et al., 2021).

Figura 4 – Espécie *Mangifera indica* L.

A) Árvore de *Mangifera indica* L., **B)** Fruto de *Mangifera indica* L. verde, **C)** Fruto de *Mangifera indica* L. maduro (laranja).

Fonte: <https://nossacasa.net/nossosriachos/agroecologia/mangueira/> e [https://en.wikipedia.org/wiki/Mangifera_indica#/media/File:Mangoes_\(Mangifera_indica\)_from_India.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Mangifera_indica#/media/File:Mangoes_(Mangifera_indica)_from_India.jpg). Acessado em 09/07/2022.

A manga possui propriedades farmacológicas imunoestimulantes, antivirais, antimicrobianas, anti-inflamatórias, analgésicas, antioxidantes, citotóxicas, antimutagênicas, antiadipogênicas, antidiarreicas, hipolipidêmicas, hipoglicemiantes e antineoplásica (SÁNCHEZ et al., 2000; GARRIDO et al., 2001; MAKARE; BODHANKAR; RANGARI, 2001; SELLÉS et al., 2002; SAIRAM et al., 2003; BELTRÁN et al., 2004; OJEWOLE, 2005; PARDO-ANDREU et al., 2008; GARRIDO-SUÁREZ, 2010; MORFFI et al., 2012; RAJAN; THIRUNALASUNDARI; JEEVA, 2012; TAING et al., 2012).

A manga madura possui canais de látex que ocorrem tanto no exocarpo quanto na região externa do mesocarpo, esses canais (ductos) formam uma rede por todo o fruto, incluindo sua base (JOEL, 1980). Os ductos frutíferos e os ductos do pedúnculo estão localizados na zona de transição e de abscisão na região superior do pedúnculo (JOEL, 1981).

A maturidade dos frutos provoca uma diminuição no volume do látex (HOLMES *et al.*, 1999). As chuvas ou regas intensas aumentam rapidamente os volumes de látex (HOLMES *et al.*, 1999). Além disso, à medida que os frutos amadurecem, o teor de proteínas e carboidratos no látex da manga apresenta-se reduzido (SABY *et al.*, 2003).

O látex da manga, quando drenado da fruta e deixado em repouso, separa-se em uma fase superior não aquosa (oleosa) que contém principalmente monoterpenos e uma fase inferior aquosa, que em contraste, contém proteínas e carboidratos (SABY *et al.*, 2003). As proteínas da fase aquosa são principalmente enzimas tais como polifenol oxidase, peroxidase, protease, lipoxigenase, amilase e poligalacturonase; assim como os carboidratos são polissacarídeos não amiláceos de alto peso molecular (SABY *et al.*, 1999; SABY *et al.*, 2003).

Em sua fase não aquosa, o látex da manga contém substâncias antimicrobianas (SABY *et al.*, 2003; NEGI *et al.*, 2002; HASSAN *et al.*, 2007), e resorcinóis antifúngicos (HASSAN *et al.*, 2007). Já na fase aquosa, a presença da enzima quitinase, desempenha papel defensivo contra patógenos pós-colheita e, também, observou-se que a fixação de látex em frutas reduziu o desenvolvimento de doenças pós-colheita (KARUNANAYAKE *et al.*, 2015). Além disso, há relato que o látex de manga apresenta ação redutora no ataque de insetos (JOEL, 1980).

Karunanayake (2019) realizou uma investigação sobre a composição, propriedades antifúngicas e distribuição dos canais de látex da manga e demonstrou que a fase aquosa do látex de manga continha quantidades moderadas de carboidratos e açúcares redutores (dissacarídeos), estando os resorcinóis presentes principalmente na fase não aquosa. Além disso, os diâmetros dos canais de látex foram maiores em uma seção transversal na zona de abscisão e abaixo da zona de abscisão do pedicelo do fruto próximo ao fruto quando comparado as regiões mais distantes do fruto (KARUNANAYAKE, 2019).

2.5.3 Jaqueira (*Artocarpus heterophyllus*, Lam)

A jaqueira é uma planta exótica que pertence à família Moraceae, subfamília Moroideae, gênero *Artocarpus* e espécie *Artocarpus heterophyllus* Lam (Figura 5) (HAQ, 2006; OLIVEIRA, 2009; CARVALHO, 2010). Ela é nativa entre os Gates Ocidentais da Índia e comum na Ásia, África e algumas regiões da América do Sul,

sendo bem adaptada ao ambiente de transição entre a Mata Atlântica e o Semiárido nordestino (HAQ, 2006; CARVALHO, 2010). Essa planta é considerada laticífera e quando cortada exsuda uma resina medicinal de propriedades cicatrizantes (HAQ, 2006; OLIVEIRA, 2009; CARVALHO, 2010; RANASINGHE; MADUWANTHI; MARAPANA, 2019).

Figura 5 – Espécie *Artocarpus heterophyllus* Lam.



A) Árvore de *Artocarpus heterophyllus* Lam, **B)** Frutos imaturos (jaca), **C)** Látex do fruto (seta laranja).

Fontes: Elevitch & Manner (2006) e Bhadra e colaboradores (2019).

A jaqueira possui um dos maiores frutos de árvore que pode pesar até 55 kg, com 90 cm de comprimento e 50 cm de diâmetro, quando madura essa planta pode produzir de 100 a 200 frutos por ano (LOVE & PAULL, 2011). Várias partes da árvore, como sementes, látex, raízes, fruto, folhas e cascas da jaqueira apresentam características anticarcinogênicas, antimicrobianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, cicatrizantes e efeitos hipoglicêmicos, sendo amplamente utilizadas na medicina tradicional; além do que, a jaca, apresenta em sua polpa e sementes diversos nutrientes, como carboidratos, proteínas, vitaminas, minerais e fitoquímicos (SAHA et al., 2022). A partir da fruta, é possível desenvolver diversos produtos alimentícios, como geleias, marmeladas, sorvetes, entre outros (RANASINGHE; MADUWANTHI; MARAPANA, 2019; SAHA et al., 2022).

A jaca possui propriedades antioxidantes e é uma rica fonte de fenólicos e flavonoides (JAGTAP et al, 2010; SOONG & BARLOW, 2004). Sua polpa tem abundante quantidade de vitaminas, minerais, ácidos graxos, carboidratos, proteínas, aminoácidos e polifenóis, considerados fontes de nutrientes importantes (ZHANG et al, 2004; SWAMI et al, 2012; SHAFI et al 2017; ZHANG et al, 2017). O extrato da casca da jaca contém compostos bioativos tais como: fenólicos, flavonoides (prenilflavonoides, ácidos hidroxicinâmicos e glicosídeos) (SAHA et al, 2015).

As folhas de *Artocarpus heterophyllus* possuem abundantes substâncias tais como ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenóides, terpenóides (SAHA et al., 2015) e são usadas para tratamento de anemia, asma, dermatite e diarreia (VAZQUEZ-GONZALEZ et al., 2020). A madeira e a casca dessa planta são fontes de flavonoides prenilados, esteroides, estilbenoides e triterpenoides (BHAD et al, 2021).

As partes da árvore da jaqueira contém látex branco pegajoso que se caracteriza por ser uma emulsão aquosa encontrados nos vacúolos das células secretoras (laticíferos), contendo lipídios, borrachas, açúcares, proteínas e enzimas (MEKKRIENGKRAI et al., 2004; FONSECA et al., 2010;). Esse látex possui uma alta quantidade de resina e suas propriedades químicas são semelhantes à goma (NEPACINA et al., 2020). Além disso, o látex também é rico em metabólitos secundários tais como flavonoides, taninos, alcaloides, entre outros minerais (SUNDARRAJAN & POTTAIL, 2021).

Bhadra e colaboradores (2019) analisaram o látex de *Artocarpus heterophyllus* como substituto da borracha natural e encontraram alguns constituintes químicos similares, tais como 1,4-cis-poliisopreno e 1,4-trans-poliisopreno, entre outros detectados. Esse estudo mostrou que o látex da jaca pode ser usado como resina natural de baixo peso molecular, especialmente para melhorar a dispersão do *Black Carbon* (BC) no composto de borracha e para melhorar a derrapagem úmida para pneus, bem como pode ser usado para qualquer produto elastomérico, incluindo, mangueiras, correias transportadoras, para-choques de docas, tapetes, bolsas de água quente, entre outros vulcanizáveis similares (BHADRA et al., 2019).

Um estudo revelou que o extrato aquoso (AE) e o extrato trifluoroetanol (TFE) do látex de jaca possuem atividades bioativas como antioxidante e antibacteriana, sendo a atividade antioxidante do AE maior do que a do TFE; e a atividade antibacteriana do

TFE foi demonstrada contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus* sp. (SAMROT & SEAN, 2022).

O látex obtido de jaqueiras tem sido utilizado em consertos de rachaduras de potes de barro e de louças (PRAKASH et al., 2009). A decoção das folhas e do látex foram eficazes na prevenção de micoses, tratamento da asma e cicatrização de rachaduras nos pés (GUPTA & TANDON, 2004). O látex também tem sido usado em casos de faringite, distúrbios oftálmicos como disopia e como agente antibacteriano (SATO et al., 1996). Acredita-se que a mistura do látex com vinagre promova a cura de abscessos, inchaços glandulares e picadas de cobra (BALIGA et al., 2011).

A fração protease e a artocarpaína-H extraídos do látex do caule da jaqueira revelaram efeito anti-inflamatório em animais experimentais, reduzindo o peso de granulomas e inibindo o edema de pata induzido por carragenina em ratos, sendo esses efeitos dependentes da concentração utilizada (CHANDA et al., 2009).

A atividade antimicrobiana da protease do látex da jaqueira foi avaliada e se observou uma inibição no crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e de *Candida albicans*, com concentração inibitória mínima de 2,2 mg/mL e concentração microbicida mínima de 8,8 mg/mL (SIRITAPETAWEET et al., 2012).

As propriedades físicas do látex da jaqueira e de outros quatro tipos do mesmo gênero foram avaliados quanto a morfologia de superfície, não sendo detectada uma forma específica; todavia, caracterizaram-se pela flexibilidade e viscoelasticidade (NEPACINA et al., 2020). O baixo valor do ângulo de contato das amostras foi devido aos teores da fonte de origem do látex e entre todas as espécies de *Artocarpus* avaliadas nesse estudo, a que apresentou maior valor percentual de alongamento pertencia ao *Artocarpus heterophyllus* (NEPACINA, 2020).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL DE ESTUDO

Material secretório na forma *in natura* de árvores frutíferas (cajeeiro, mangueira e jaqueira) foi coletado a partir da exsudação espontânea da resina obtida através de incisões nos troncos de cajueiros; assim como da exsudação leitosa (látex), obtida através da secção dos pedúnculos de frutas da jaqueira e da mangueira.

A goma bruta do cajueiro foi coletada entre agosto de 2018 a janeiro de 2019 (três coletas, no intervalo de três meses) e foi cedida, pelo Sr. Edil França, da Fazenda Grande, Buíque, Pernambuco, Brasil, 270, Km-32. Buíque, situa-se a 846 metros de altitude e tem as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 8° 36' 51" Sul, Longitude: 37° 9' 39" Oeste.

O látex da jaqueira foi coletado entre outubro de 2018 e dezembro de 2019, procedente dos *Campus* da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Cidade Universitária e da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), região de Dois Irmãos, Recife/PE; com exemplar anteriormente depositado no Herbário UFP Geraldo Mariz do Centro de Biociências da UFPE (n°. 7.700), identificado pela pesquisadora Rita Pereira (ANEXO A).

A coleta de látex da mangueira ocorreu no período de outubro a dezembro de 2019, sendo a espécie procedente do *Campus* da UFPE próximo ao Centro de Ciências Biológicas; tendo um exemplar anteriormente depositado no Herbário UFP Geraldo Mariz do Centro de Biociências da UFPE (n°. 22.616), identificado pela pesquisadora Maria Graciete Silva (ANEXO B).

3.2 LOCAIS DE ESTUDO

O estudo foi realizado no Laboratório de Histotecnologia do Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional do Centro de Ciências Médicas (CCM/UFPE). Procedimento com embriões foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos (LCT-DHE) do Departamento de Histologia e Embriologia (CB/UFPE) e o processamento da goma resinosa de cajueiro foi feito no Laboratório de Biofísica das Membranas (LBM) do Departamento de Biofísica e Radiobiologia (CB/UFPE). Colaborações foram firmadas com outros laboratórios de outros Departamentos (Nutrição e Bioquímica - CB/UFPE) e com o Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE).

3.3. PROCESSAMENTO DE EXUDATOS NATURAIS (GOMA RESINOSA E LÁTEX) PARA OBTENÇÃO DOS MEIOS DE MONTAGEM

3.3.1 Processamento da goma resinosa do cajueiro

Amostras de goma *in natura* foram submetidas a processo de purificação, de acordo com método adaptado de Rinaudo e Milas (RODRIGUES; DE PAULA; COSTA, 1993; LOPES et al., 1994; SILVA, 2013). A goma bruta de cajueiro foi triturada em moinho de facas (IKA mini G A-10) e o pó resultante foi dissolvido em água destilada autoclavada obtendo-se uma solução a 4% (m/v) em temperatura ambiente, com pH ajustado para 7,5 com adição de NaOH (0,5 M). A solução passou por filtragens em lã de vidro e filtração a vácuo com funil de vidro sinterizado até ficar transparente. Após, o polímero do cajueiro foi precipitado pela adição de etanol anidro por 24 horas. A solução foi novamente submetida à filtração a vácuo e colocada em capela de exaustão com temperatura controlada para secagem parcial (Figura 6).

Figura 6 – Etapas do processamento da goma resinosa de cajueiro para obtenção de meio de montagem utilizado na finalização de preparações histológicas.



Fonte: Paz (2022)

3.3.2 Processamento do látex da jaqueira

Frutos de jaqueira da variedade “dura” foram utilizados para a coleta do látex. O látex foi obtido da região do pedúnculo a 5 cm de distância da fruta e deixado para escorrer por 24 horas dentro de um recipiente de vidro com álcool 100 %. Após, o látex foi repassado para outro recipiente com álcool 100%, onde ficou por 30 minutos. Utilizou-se apenas a massa viscosa, que foi seca em papel de filtro e pesada (10 g), sendo macerada num cadinho com 1 mL de óleo mineral. A solução obtida foi aquecida a 60°C em estufa (Fenam), posteriormente foi resfriada em temperatura ambiente e acondicionada em tubo Falcon (50 mL) para ser centrifugada (5 rpm) por 10 minutos, até a obtenção de um líquido viscoso e transparente, que foi mantido em recipiente de vidro âmbar a temperatura ambiente (Figura 7).

Figura 7 - Etapas do processamento do látex da jaqueira para obtenção do meio de montagem.

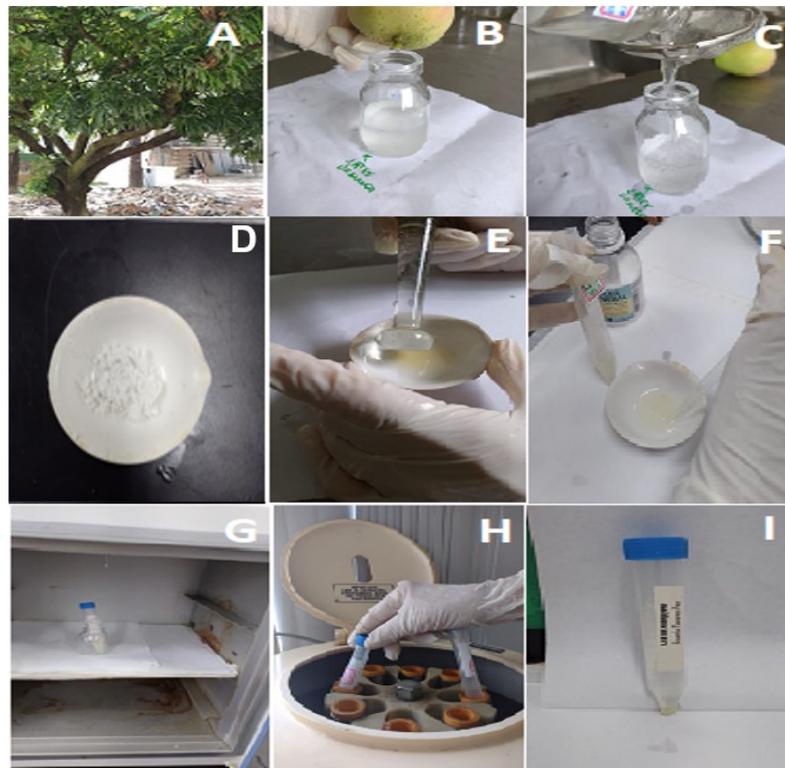


A) Árvore da espécie *Artocarpus heterophyllus* Lam, **B)** Extração do látex a partir do pedúnculo do fruto, **C)** Obtenção da massa viscosa e **D)** Pesagem da massa, **E)** Maceração da massa com óleo mineral, **F)** Obtenção de líquido viscoso, **G)** Aquecimento do líquido viscoso em estufa, **H)** Centrifugação do líquido viscoso, **I)** Líquido viscoso filtrado. **Fonte:** Paz (2022).

3.3.3 Processamento do látex da mangueira

O exsudato de frutos da mangueira cultivar espada também foi obtido a partir da secção do pedúnculo da fruta, cerca de 5 cm de distância. O látex da mangueira (líquido branco viscoso) escorreu instantaneamente do pedúnculo da fruta imatura, assim que foi destacada do caule, sendo diretamente armazenado em tubos de ensaio e o processamento seguiu de acordo com o protocolo estabelecido para a extração do látex da jaqueira (Figura 8).

Figura 8 – Etapas do processamento do látex da mangueira para obtenção do meio de montagem.



A) Árvore da espécie *Mangifera indica* L., **B)** Extração do látex a partir do pedúnculo do fruto, **C)** Precipitação em álcool, **D)** Obtenção de massa viscosa para pesagem, **E)** Maceração com óleo mineral, **F)** Obtenção de líquido viscoso, **G)** Aquecimento do líquido viscoso na estufa, **H)** Centrifugação do líquido viscoso, **I)** Líquido viscoso filtrado. **Fonte:** Paz (2022).

3.4 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE REFRAÇÃO (IR) DOS EXSUDATOS NATURAIS

O IR dos exsudatos processados foi determinado pelo técnico Sebastião Camilo de Melo Filho, no Laboratório de Experimentação em Análise de Alimentos (LEAL) do Departamento de Nutrição - CCS/UFPE (Figura 9).

Figura 9 – Fotos do procedimento para determinação do IR em refratômetro Abbes.



A e B) Calibração com IR conhecido, **C)** Detecção numérica do IR. **Fonte:** Paz (2022)

Determinou-se o índice de refração dos meios de montagem de acordo com metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). As leituras foram realizadas em refratômetro Abbes (marca Analytik Jena), sendo o mesmo inicialmente ajustado com água destilada a um índice de refração conhecido (1,333). As amostras foram filtradas e a leitura foi realizada com a adição de duas gotas de cada amostra no prisma do aparelho. No decorrer de cada leitura o aparelho foi limpo com auxílio de álcool e algodão. As leituras foram realizadas a temperatura de 30 °C e os valores das mesmas foram corrigidos para uma temperatura padrão de 40 °C, de acordo com a equação:

$$R = R' + K (T' - T)$$

R = Leitura a temperatura padrão

R' = Leitura a temperatura ambiente

T = Temperatura padrão (40 °C)

T' = Temperatura ambiente na qual a leitura R' foi realizada (°C)

K = 0,0003650 para gorduras e 0,0003885 para óleos

3.5 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE DOS EXSUDATOS NATURAIS

A medida da viscosidade com a variação da temperatura foi realizada por meio de viscosímetro digital MVD-20 (Marte Científica, Brasil) em temperatura controlada (25°C), com a colaboração de pesquisadores do Laboratório de Enzimologia do Departamento de Bioquímica - CB/UFPE, de acordo com a metodologia de Becker e colaboradores (2001). A quantidade de amostra foi de aproximadamente 3 g para cada análise com umidade corrigida para 14% e foi acrescida água destilada até completar 28 g. A variação de temperatura iniciou em 25°C com aumento gradual até 95°C, permaneceu constante por 3 minutos e foi resfriada gradualmente até 25°C.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

No presente projeto, foram utilizados órgãos de ratos *Wistar* e embriões de ave, aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFPE (ANEXOS C, D e E).

Blocos com amostras de diferentes tecidos de humanos (cérebro, meninges e intestino) foram obtidos da Blocoteca da Pós-graduação em Saúde Translacional (PPGST) do Centro de Ciências Médicas da UFPE, com a autorização do Prof. Dr. Mário Ribeiro de Melo Júnior, Coordenador do PPGST, em 31 de abril de 2021 (ANEXO F).

3.7 COLETA E PROCESSAMENTO DE TECIDOS ANIMAIS, HUMANOS E VEGETAIS

3.7.1 Tecidos de ratos *Wistar*

Inicialmente, foram utilizados ratos albinos adultos, machos e fêmeas (com peso de aproximadamente 250 g), da linhagem *Wistar* (número total = 06 animais, 03 machos e 03 fêmeas), procedentes do Biotério de Criação José Paulino Ventura Ramos do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, onde o manejo e cuidado dos mesmos foram de acordo com as normas internacionais estabelecidas pelo *National Institute of Health Guid for Care and Use of Laboratory Animals* (NCBI), as quais foram adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biociências da

UFPE (Processo n°. 0041/2016) com vigência até 20/10/2018. Posteriormente, mais 04 animais com peso em torno de 270 g, da mesma linhagem Wistar (02 machos e 02 fêmeas) e procedentes do referido Biotério foram utilizados para obtenção dos órgãos a partir de 31/05/2022, com vigência até 31/12/2022. Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50 mg/Kg) associada ao cloridrato de xilazina (5 mg/Kg), via intraperitoneal. Após constatação de arreflexia profunda, os animais foram submetidos à laparotomia mediana para retirada de órgãos (colo de útero, coração, epidídimo, fígado, intestino, língua, osso, pavilhão auricular, rim, testículo). Os órgãos foram colocados em recipientes de vidro contendo fixador (formol tamponado a 10%) e permaneceram imersos por 24 horas. Após, os diferentes órgãos foram processados no Laboratório de Histotecnologia do Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional – CM/UFPE, conforme metodologia proposta por Paz (2017) e foram realizadas as montagens das preparações permanentes com o uso de cola comercial (Entellan®) e com as colas naturais obtidas com o processamento da goma resinosa do cajueiro e do látex da mangueira e da jaqueira. Fotomicrografias foram realizadas com o auxílio de microscópio DM500 e câmera ICC50 W acoplada (ambos da marca Leica®) (Figura 10).

Figura 10 – Preparações histológicas montadas com meio natural e sistema de captura de imagem.

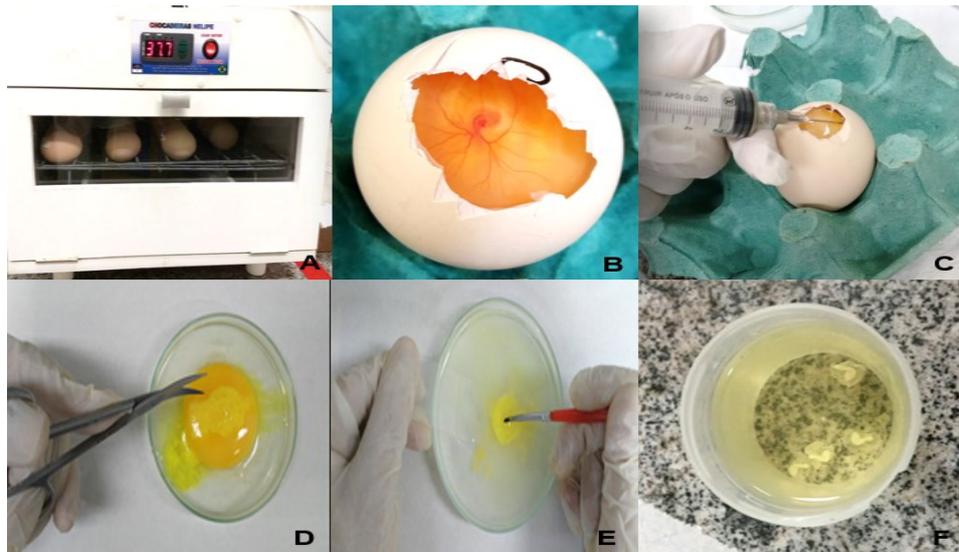


A) Fotos de preparações histológicas montadas com meio natural processado a partir da goma resinosa de cajueiro. **B)** Visualização do sistema de captura de imagens (microscópio DM500 com câmera acoplada ICC50 W, Leica). **Fonte:** Paz (2022)

3.7.2 Modelos com embriões de ave

Neste trabalho foram utilizados embriões de *Gallus gallus domesticus*, com 48 horas de desenvolvimento, com características morfológicas referentes ao estágio 12 (HAMBURGER; HAMILTON, 1951). Os ovos foram doados pela Diretoria da G-3 Agroavícola LTDA (Fazenda Santa Teresinha, município de Pombos/PE) e os experimentos realizados no Laboratório de Embriotoxicidade do Departamento de Histologia e Embriologia (LE-DHE). Os embriões foram fixados em *Bouin* e submetidos à montagem total com a utilização dos meios de montagem naturais obtidos. A análise das preparações permanentes foi realizada com o auxílio de microscópio MOTIC (BA200), numa magnitude 100×. As fotomicrografias dos embriões foram registradas e armazenadas com a utilização do software Motic Image Plus 2,0 ML (Figura 11).

Figura 11 – Etapas do processamento para obtenção de embriões de *Gallus gallus*.



A) Foto da incubadora automática (NELIPE) com ovos a 37,7°C, **B)** Foto de embrião de *Gallus gallus* no interior do ovo, **C)** Retirada de albúmen, **D)** Disco embrionário exposto, **E)** Uso do fixador *Bouin* para facilitar o corte das membranas e **F)** Embriões fixados para a realização da montagem das preparações embriológicas. **Fonte:** Fotos do acervo do Laboratório de Embriotoxicidade do Departamento de Histologia e Embriologia – CB/UFPE

3.7.3 Amostras de tecidos humanos

Blocos de amostras de diferentes tecidos humanos (necrópsias de cérebro, meninges e intestino) foram obtidos da Blocoteca da Pós-graduação em Saúde Translacional (PPGST) - CCM/UFPE. Cortes com 5 μ m de espessura foram realizados com auxílio de micrótomo (Leica), para obtenção das secções transversais dos referidos tecidos. Posteriormente, os cortes foram estirados em banho Maria numa temperatura de 40°C e capturados com lâminas de vidro, posicionadas de forma diagonal (45°) com a superfície da água. A etapa de coloração procedeu-se de acordo com metodologia estabelecida por Paz (2017) e as preparações foram montadas com os meios de montagem natural propostos neste trabalho.

3.7.4 Amostras de tecidos vegetais

Folhas e pedúnculos de cajueiro, jaqueira e mangueira foram utilizados para a confecção de preparações permanentes (Figura 12). As folhas foram montadas diretamente sobre lâminas de vidro e finalizadas com meios de montagem naturais de sua espécie de origem e os pedúnculos (ou talos) foram processados até as etapas de corte, coloração e montagem também com colas naturais de sua espécie de origem.

Figura 12 – Apresentação de folhas e pedúnculos de cajueiro, jaqueira e mangueira para confecção de preparações vegetais



A) Foto de folhas e pedúnculos de sustentação dos pseudofrutos de cajueiro, **B)** Foto de folhas e pedúnculos de frutos da jaqueira, **C)** Foto de folhas e pedúnculos de frutos da mangueira cultivar espada. **Fonte:** Paz (2022).

3.8 AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE E DURABILIDADE DAS PREPARAÇÕES PERMANENTES APÓS MONTAGEM COM MEIOS NATURAIS

Um conjunto de preparações permanentes foi acompanhado no período de 2018 a 2022, quanto a integridade e durabilidade das amostras montadas com os meios naturais obtidos do processamento da goma resinosa de cajueiro e do látex da jaqueira e da mangueira. As amostras (vegetais, tecidos, embriões e tumores) foram analisadas com relação ao estado de conservação preconizado no nosso protocolo de observação e foram configuradas como adequada (meio transparente em função do índice de refração), moderada (deslizamento da lamínula, formação de bolhas) ou comprometida (meio opaco, desbotamentos, manchas ou presença de fungos).

3.9 MÉTODO DE ANÁLISE

As preparações processadas segundo metodologia de Paz (2017) e finalizadas com os meios de montagem naturais obtidos cajueiro, jaqueira e mangueira foram analisadas por três observadores (professores ou pesquisadores) da área de estudo, sem o conhecimento prévio do tipo de cola utilizada (comercial ou natural). Cada observador avaliou os seguintes critérios: clareza e uniformidade da coloração, nitidez, adequação da coloração nuclear e citoplasmática, presença de artefatos, integridade das estruturas e adequação para avaliação histológica. A análise estatística dos resultados gerados a partir dos questionários foi realizada com a aplicação do teste Kappa de concordância (LANDIS; KOCH, 1977).

3.10 GERAÇÃO DE PATENTE

A presente pesquisa está associada um pedido de Patente em andamento. Os detalhes desse processo deverão ser resguardados em função da tramitação junto ao setor de patente da UFPE e os examinadores deverão assinar os termos de Compromisso de Sigilo e Confidencialidade sobre as informações técnicas e quaisquer outras atividades que sejam diretas ou indiretas, oriundas da referida Qualificação de Doutorado, como uma das exigências para serem anexados ao processo em andamento.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ARTIGO 1

Título do artigo: Goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) utilizada como alternativa de meio de montagem de preparações histológicas

Título do periódico: Research, Society and Development

Autores: Silvania Tavares Paz, Emanuela Paz Rosas, Thiago Barbosa Cahú, Claudio Gabriel Rodrigues, Teresinha Gonçalves da Silva, Paloma Lys de Medeiros

Fator de impacto: 1.78 (2020-21)

Mês/Ano da publicação: 09/2022

Qualis unificado da CAPES: A3

Carta de aceite: recebida em 20/09/2022

Goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) utilizada como alternativa de meio de montagem em preparações histológicas

Cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) used as an alternative mounting medium in histological preparations

Goma de cajú (*Anacardium occidentale* L.) utilizada como medio de montaje alternativo en preparaciones histológicas

Recebido: 02/09/2022 | Revisado: 19/09/2022 | Aceitado: 20/09/2022 | Publicado: 27/09/2022

Silvania Tavares Paz

ORCID: <https://orcid.gov/0000-0003-1027-7022>
RENORBIO, Brasil
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: silvania_rosas@yahoo.com.br

Emanuela Paz Rosas

ORCID: <https://orcid.gov/0000-0001-9895-5654>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: manu_pathy@hotmail.com

Thiago Barbosa Cahú

ORCID: <https://orcid.gov/0000-0002-7853-0613>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: thiagocahu@yahoo.com.br

Claudio Gabriel Rodrigues

ORCID: <https://orcid.gov/0000-0001-9015-5644>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: claudio.rodrigues@ufpe.br

Teresinha Gonçalves da Silva

ORCID: <https://orcid.gov/0000-0002-5971-0029>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: teresinha.goncalves@ufpe.br

Paloma Lys de Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9517-1416>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: paloma.medeiros@ufpe.br

Resumo

Neste trabalho, objetivou-se utilizar exsudato resinoso de uma planta típica do Nordeste brasileiro, a goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) como alternativa de meio de montagem na técnica histológica, economicamente viável e ambientalmente saudável. A goma do cajueiro foi processada de acordo com o método adaptado de Rinaudo e Milas. A leitura do índice de refração e a medida de viscosidade foram realizadas em refratômetro Abbes e viscosímetro digital MVD-20, respectivamente. De acordo com a liberação do comitê de uso de animais da Universidade Federal de Pernambuco, diferentes órgãos de ratos Wistar foram processados histologicamente e as preparações permanentes foram montadas com a goma resinosa de cajueiro (MGRC). O índice de refração do MGRC foi 1,343 e a viscosidade do meio sem óleo mineral foi $1143,7 \pm 267,4$ mPas.s e com o óleo mineral foi $939,9 \pm 103,7$ mPas.s. As preparações montadas com MGRC independentemente do tipo de coloração utilizada, apresentaram-se com imagens nítidas e morfologia das estruturas conservadas. O MGRC revelou-se de forma satisfatória como alternativa aos meios de montagem comerciais, sendo economicamente viável e gerando benefícios como biossegurança pessoal por ser atóxico, além de não prejudicar o meio ambiente.

Palavras-chave: Histotecnologia; Meios de montagem; Goma de cajueiro; Planta do Nordeste brasileiro.

Abstract

In this work, the objective was to use the resinous exudate of a typical plant of the Brazilian Northeast, the cashew tree gum (*Anacardium occidentale* L.) as an alternative mounting medium in the histological technique, economically viable and environmentally healthy. Cashew gum was processed according to the adapted method from Rinaudo and Milas. The refractive index reading, and the viscosity measurement were performed using an Abbes refractometer and an MVD-20 digital viscometer, respectively. According to the authorization of the Animal Use Committee of the Federal University of Pernambuco, different organs of Wistar rats were histologically processed and the permanent

preparations were mounted with cashew resin gum (MGRC). The refractive index of the MGRC was 1.343 and the viscosity of the medium without mineral oil was 1143.7 ± 267.4 mPas.s and with the mineral oil it was 939.9 ± 103.7 mPas.s. The preparations mounted with MGRC, regardless of the type of stain used, presented with clear images and morphology of the structures conserved. The MGRC proved to be a satisfactory alternative to commercial assembly means, being economically viable and generating benefits such as personal biosecurity as it is non-toxic, in addition to not harming the environment.

Keywords: Histotechnology; Mounting means; Cashew gum; Plant from the Brazilian Northeast.

Resumen

En este trabajo, el objetivo fue utilizar el exudado resinoso de una planta típica del Nordeste brasileño, la goma de anacardo (*Anacardium occidentale* L.) como medio de montaje alternativo en la técnica histológica, económicamente viable y ambientalmente saludable. La goma de anacardo se procesó según el método adaptado de Rinaudo y Milas. La lectura del índice de refracción y la medición de la viscosidad se realizaron utilizando un refractómetro Abbes y un viscosímetro digital MVD-20, respectivamente. De acuerdo con la autorización del Comité de Uso Animal de la Universidad Federal de Pernambuco, se procesaron histológicamente diferentes órganos de ratas Wistar y las preparaciones permanentes se montaron con goma de resina de marañón (MGRC). El índice de refracción del MGRC fue de 1,343 y la viscosidad del medio sin aceite mineral fue de $1143,7 \pm 267,4$ mPas.sy con aceite mineral fue de $939,9 \pm 103,7$ mPas.s. Las preparaciones montadas con MGRC, independientemente del tipo de tinción utilizada, presentaron imágenes nítidas y morfología de las estructuras conservadas. El MGRC demostró ser una alternativa satisfactoria a los medios comerciales de montaje, siendo económicamente viable y generando beneficios como la bioseguridad personal al no ser tóxico, además de no dañar el medio ambiente.

Palabras clave: Histotecnología; Medios de montaje; Goma de anacardo; Planta del Nordeste brasileño.

1. Introdução

O meio de montagem constitui uma interface que é adicionado entre a lâmina e a lamínula, na finalização de preparações histológicas, com o objetivo principal de proteger fisicamente a amostra ou espécime (Ravikumar et al., 2014). A consistência do meio de montagem possibilita o deslizamento da lamínula, obtendo-se um filme transparente e durável, necessário para a visualização de imagens a partir da microscopia óptica (Renshaw, 2007).

A interposição de um meio de montagem na confecção da preparação histológica é de fundamental importância para sua conservação e tempo de durabilidade; uma vez que, meios inadequados podem deslocar a lamínula expondo os cortes de tecido ao ar, resultando em opacificação e descoloramento dos preparados histológicos logo em seguida a realização do procedimento de montagem (Andrade et al., 2013).

Algumas propriedades são fundamentais e recomendadas para a utilização de um meio de montagem, tais como: (1) o índice de refração deve estar o mais próximo possível ao do vidro (1,53); (2) deve ser incolor e transparente; (3) não deve causar mancha difusa ou desaparecer; (4) deve estar seco para conferir consistência antiaderente e endurecer de forma relativamente rápida; (5) não deve retrair abaixo da lamínula; (6) deve permear completamente e preencher os interstícios dos tecidos; (7) não deve ter efeito adverso para os componentes do tecido; (8) deve ser resistente à contaminação (crescimento de microrganismos); (9) deve proteger a secção histológica ou a preparação citológica contra danos físicos e atividade química (oxidação e alterações no pH); (10) deve ser completamente miscível com desidratante ou agente de limpeza; (11) deve fixar sem cristalizar, rachar ou encolher (ou deformar o material que está sendo montado) e não reagir, lixiviar ou induzir o desbotamento (manchas) nas colorações e nos produtos de reação (incluindo aqueles de procedimentos histoquímicos, de hibridização e imuno-histoquímicos); e finalmente, (12) uma vez definido, o composto deve permanecer estável em função das características anteriormente mencionadas (Culling et al., 1985; Michalany, 1988; Ono et al., 2001; Bancroft; Gamble, 2002; Renshaw, 2007; Ravikumar et al., 2014).

No contexto atual as colas naturais despontam como uma promissora alternativa às colas sintéticas (derivadas do petróleo); uma vez que, apresentam vantagens em termos ambientais e com relação à saúde (Ramamoorth et al., 2016). O interesse por colas naturais tem crescido no mundo inteiro como possíveis substitutos de resinas fenólicas, e setores como

farmacêutico, agroindústria, biorremediação e cosméticos foram considerados como os principais mercados consumidores de produtos naturais (Enríquez, 2001).

A região Nordeste do Brasil tem uma vasta diversidade de fruteiras nativas e exóticas adaptadas às suas condições edafoclimáticas, representando um grande potencial socioeconômico, para mercados interno e externo, seja de comercialização de frutas *in natura*, como para industrialização (Aguiar et al., 2000; Assunção; Mercadante, 2000). O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), uma planta rústica, típica de clima tropical, encontrada nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, tem-se destacado com relevância econômica ao gerar emprego, renda e impostos, devido aos produtos industrializados oriundos do fruto e pseudofruto, principalmente para os Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (Aguiar et al., 2000; Maia et al., 2000; Assunção et al., 2000; Maia et al., 2001; Moura et al., 2001; Valexport, 2003; Sancho et al., 2007; Cunha e Silva et al., 2013; Catarino et al., 2015; MDCl, 2019).

A goma resinosa produzida pelo cajueiro localiza-se nos seus ductos resinosos do córtex e lenho, havendo também exsudação na casca e caule da árvore (Araujo et al., 2018). O exsudato secretado pelo cajueiro ocorre devido ao seu metabolismo normal (proteção a dessecação e contra infecções) e a situações de estresse ambiental, sendo a resina produzida por células epiteliais em resposta a ataques de patógenos ou a estímulos mecânicos por meio de talhos realizados na casca da árvore ou através da inoculação de substâncias química (Kumar et al., 2012; Ribeiro et al., 2016).

A utilização da goma do cajueiro se justifica, por apresentar características de um biopolímero de baixo custo, sendo atóxica e biodegradável (Dias et al., 2016). As propriedades da goma de caju são semelhantes à goma arábica e pode ser usada como substituto de cola líquida para papel (Azeez, 2005), na indústria cosmética e farmacêutica como aglutinante para cápsulas e comprimidos (Carneiro-da-Cunha et al., 2009) e na indústria alimentícia como estabilizante de sucos e como aditivo na fabricação de gomas de mascar devido ao seu poder espessante (Cordeiro et al., 2017). Com isso, objetivou-se utilizar a goma resinosa do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) como uma alternativa de meio de montagem economicamente viável na rotina de laboratórios de histotécnica, uma vez que o país ainda tem altos custos com a importação da goma arábica (Santos-Serejo et al., 2009; Mirhosseini; Amid, 2012; Licá et al., 2018; Ferreira et al., 2022).

2. Metodologia

Obtenção do material de estudo

A goma bruta do cajueiro foi coletada entre agosto de 2018 a janeiro de 2019 (três coletas, no intervalo de três meses) e foi cedida pelo Sr. Edil França, da Fazenda Grande, Buíque, Pernambuco, Brasil, 270, Km-32. Buíque, situa-se a 846 metros de altitude e tem as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 8° 36' 51" Sul, Longitude: 37° 9' 39" Oeste.

Processamento da goma de cajueiro para obtenção do meio de montagem

Amostras de goma *in natura* foram submetidas a processo de purificação, de acordo com método adaptado de Rinaudo e Milas (1994) (Rodrigues et al, 1993; Lopes et al., 1994; Silva, 2013). Inicialmente, a goma de cajueiro bruta foi triturada em moinho de facas (IKA mini G A-10) e o pó resultante da moagem foi colocado num Becker, para dissolução em água destilada autoclavada obtendo-se uma solução de 4% (m/v) a temperatura ambiente e o pH foi ajustado para 7,5 com adição de NaOH (0,5 M). A solução passou por filtragens em lâ de vidro e funil de vidro sinterizado até se tornar transparente. Após essa etapa, o polímero do cajueiro foi precipitado pela adição de etanol anidro por 24h. Em seguida, a solução foi novamente submetida à filtração a vácuo com funil de vidro sinterizado e colocada em capela de exaustão de gases com temperatura controlada para secagem parcial (Figura 1).

Figura 1: Etapas do processamento da goma resinosa de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) para obtenção de meio de montagem utilizado na confecção de preparações histológicas.



Fonte: Autores (2022).

Determinação do índice de refração do meio de montagem obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro (MGRC)

O índice de refração (IR) foi determinado pelo Técnico Sebastião Camilo de Melo Filho, no Laboratório de Experimentação em Análise de Alimentos (LEAL) do Departamento de Nutrição - CCS/UFPE. Determinou-se o índice de refração do meio de montagem obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro acrescido de duas gotas de óleo mineral. As leituras foram realizadas em refratômetro Abbes (marca Analytik Jena), sendo o mesmo inicialmente ajustado com água destilada a um índice de refração conhecido (1,333). As amostras foram filtradas e a leitura foi realizada colocando-se duas gotas de cada amostra no prisma do aparelho. No decorrer de cada leitura o aparelho foi limpo com auxílio de álcool e algodão. As leituras foram realizadas a temperatura de 30 °C e os valores das mesmas foram corrigidos para uma temperatura padrão de 40 °C, de acordo com a fórmula:

$$R = R' + K (T' - T)$$

R = leitura a temperatura padrão

R' = leitura a temperatura ambiente

T = temperatura padrão (40 °C)

T' = temperatura ambiente na qual a leitura R' foi realizada (°C)

K = 0,0003650 para gorduras e 0,0003885 para óleos

Determinação da viscosidade do MGRC

A medida da viscosidade com a variação da temperatura, foi realizada através de viscosímetro digital MVD-20 (Marte Científica, Brasil) em temperatura ambiente de (25°C), em colaboração com pesquisadores do Laboratório de Enzimologia do departamento de Bioquímica – CB/UFPE, de acordo com a metodologia de Becker et al. (2001). A quantidade de amostra foi de aproximadamente 3 g para cada análise com umidade corrigida para 14% e foi acrescida água destilada até completar 28 g. A variação de temperatura iniciou em 25°C com aumento gradual até 95 °C, permaneceu constante por 3 minutos e foi resfriada gradualmente até 25°C.

Animais utilizados no estudo

Ratos adultos (04 machos e 04 fêmeas), pesando aproximadamente 270 gramas, albinos da linhagem Wistar, procedentes do Biotério de Criação José Paulino Ventura Ramos do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da UFPE foram utilizados e cuidados de acordo com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guid for Care and Use of Laboratory Animals, sendo adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biociências da UFPE. Os animais foram anestesiados com Cloridrato de Cetamina (50 mg/Kg) associado ao Cloridrato de Xilazina (5 mg/Kg), via intraperitoneal. Após constatação de arreflexia profunda, os animais foram submetidos à laparotomia mediana para retirada de determinados órgãos. Este estudo foi aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco (n°. do registro: 108/2021).

Processamento histológico e finalização com o MGRC

Os órgãos (testículo, epidídimo, colo de útero, coração, rim, fígado, pavilhão auricular e osso) foram colocados em fixador por 24 horas (formol tamponado a 10%) e processados segundo metodologia de Paz (2017), no Laboratório de Histotecnologia do Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional do Centro de Ciências Médicas da UFPE - Recife/PE, Brasil. As montagens das preparações permanentes foram realizadas com o uso de cola comercial e com o meio de montagem obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro (Figura 2). Fotomicrografias foram obtidas com o auxílio de microscópio DM500 com câmera acoplada ICC50 W (ambos da marca Leica®).

Figura 2: Preparações histológicas montadas com meio da goma resinosa de cajueiro (MGRC).



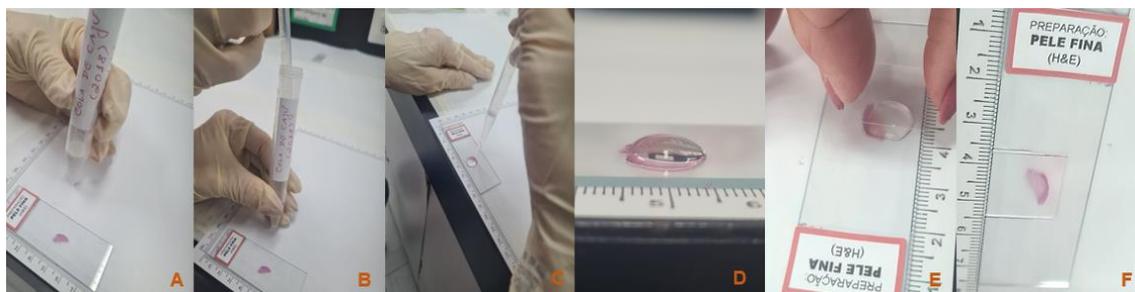
Fonte: Autores (2022).

3. Resultados e Discussão

Montagem de preparação histológica com o MGRC

O meio polimérico extraído da goma resinosa de cajueiro (MGRC) foi utilizado, pela primeira vez neste trabalho, na montagem de preparações histológicas processadas de acordo com o método de Paz (2017). O processamento da goma resinosa de cajueiro foi considerado de fácil reprodutibilidade, sendo de baixo custo e não produziu resíduos. O MGRC apresentou-se translúcido e foi depositado na forma de gotícula sobre os cortes de tecido animal, sendo cobertos por lamínulas que se mantiveram firmemente aderidas devido ao rápido endurecimento do meio utilizado (Figura 3).

Figura 3: Procedimento de montagem de preparação histológica com meio polimérico extraído da goma resinosa de cajueiro (MGRC)



Fonte: Autores (2022).

Gomas polissacarídicas têm se destacado em função de suas diversas aplicabilidades como agentes ligantes e de suspensão, materiais formadores de filme, inibidores de cristalização, agentes espessantes dentre muitas outras e essas aplicações estão relacionadas não somente às suas propriedades reológicas, mas também com referência a disponibilidade e custo, promovendo a geração de produtos potenciais para diferentes indústrias como química, alimentícia e de medicamentos (Licá et al., 2018).

Este polissacarídeo possui algumas características de interesse para uso biotecnológico, especialmente por não apresentar toxicidade e ser hidrofílico, biocompatível e biodegradável, revelando propriedades semelhantes à goma arábica em relação ao peso molecular, teor de ácido urônico e mesmo tipo de unidades monossacarídicas (Paula et al., 2011). Logo, o desenvolvimento de novos bioprodutos a base de polissacarídeos do cajueiro pode ser uma alternativa para agregar valor à cajucultura, visto ser um produto à base de matéria prima regional com baixo custo-benefício (Silva et al., 2013).

No contexto atual, os meios de montagem sintéticos (artificiais), ainda fazem parte da rotina dos Laboratórios de Histotécnica, como Permont[®], Entellan[®] e Eurapal[®] que são substâncias dissolvidas em xileno, benzeno e tolueno (Michalany, 1998). A toxicidade desses meios se deve principalmente a volatilização dos solventes, podendo ser inalados durante a obtenção das preparações histológicas e capazes de causar danos irreversíveis à saúde do histotecnologista devido a exposição contínua (Kum et al., 2007; Sandikci et al., 2009). Logo, o interesse pela utilização de colas naturais tem crescido no mundo inteiro como possíveis substitutos de resinas sintéticas (Enríquez, 2001).

Determinação do índice de refração do MGRC

O índice de refração (IR) do meio de montagem obtido a partir da goma resinosa de cajueiro (MGRC) foi de 1,343 e apesar de não ser similar ao do Entellan[®] (1,490-1,500), não interferiu na resolução das imagens com o microscópio utilizado. A forma de processamento dos tecidos, com uso de xileno na técnica histológica de rotina e principalmente sem o uso desse solvente (Paz, 2017), influenciou na qualidade da finalização das preparações obtidas. Foi também determinado o IR da água obtendo-se o valor de 1,333 e do óleo mineral de 1,460 (Tabela 1).

Tabela 1: Análise de índice de refração das amostras avaliadas no estudo: água, óleo e meio de goma resinosa de cajueiro (MGRC).

AMOSTRAS	ÍNDICE DE REFRAÇÃO
Água	1,333
Óleo mineral	1,460
MGRC	1,343

Fonte: Autores (2022).

Numa concepção geral, qualquer tampão aquoso pode servir como meio de montagem. Todavia, o índice de refração (IR) da água (1,333) difere significativamente da lâmina de vidro e lamínula (1,510), líquidos de imersão em óleo (1,510) e da própria secção de tecido (1,380-1,460) (Ravikumar et al., 2014). Logo, a utilização de água como meio de montagem pode resultar em incompatibilidade dos IRs, ocasionando o alargamento do ponto focal ou aberração esférica, o que pode causar degradação da resolução e modificar o brilho da amostra (Renshaw, 2007). É por isso que combinar o RI do seu meio de montagem com o RI dos componentes de vidro e líquido de imersão (quando usado) otimizará a clareza, a resolução e o brilho das imagens (Diaspro et al., 2002; Renshaw, 2007).

Muitos meios de montagem à base de água usam glicerol como o principal componente, devido ao IR do glicerol (1,470) ser próximo o suficiente do vidro para permitir imagens de alta qualidade, enquanto o filme final seco de um meio de montagem à base de solvente geralmente terá um IR de 1,450 a 1,490, que possibilita imagens de alta qualidade (Ravikumar et al., 2014).

Determinação da viscosidade rotacional dinâmica

As medidas de viscosidade aparente foram realizadas com registro de dados comuns de temperatura (°C), rotação (90 rpm) e dados variáveis de torque (%) utilizando *spindle* de aço inox (n°. 4). A viscosidade (mPas) das soluções obtidas a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro com e sem óleo mineral foram determinadas utilizando o viscosímetro digital (Marte, MVD-20) em temperatura ambiente de 25°C. Os resultados da viscosidade foram expressos em mPas.s e os valores obtidos e dados de torque foram descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Análise de viscosidade rotacional das amostras de biopolímero de cajueiro, n= 3 para cada amostra, a 25 °C e 90 rpm. Os dados apresentados na forma dos valores (mínimo e máximo) e média ± desvio padrão.

AMOSTRAS	TORQUE (%)		VISCOSIDADE (mPas.s)		
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Média ± DP
Meio obtido da resina de <i>A. occidentale</i> L. sem óleo mineral	13,0	23,0	923,0	1.588,0	1.143,7 ± 267,4
Meio obtido da resina de <i>A. occidentale</i> L. com óleo mineral	12,7	15,0	821,6	1.015,2	939,9 ± 103,7

Fonte: Autores (2022).

A goma de caju com óleo mineral apresentou baixa viscosidade, comparável em muitos aspectos à goma arábica (Maciel et al., 2007). O meio de montagem obtido da resina de cajueiro apresentou viscosidade máxima de aproximadamente 1.015,2 (com óleo mineral) e 1,588 (sem óleo mineral). Alguns estudos referem viscosidades absolutas de soluções de 1% dessas gomas de 1,0 mPa.s (goma de caju) e de 1,8 mPa.s (goma arábica) (Paula; Rodrigues, 1995).

Valores de tensão mais altos relatados para emulsões de goma arábica (GA) reforçam a consistência desta goma em relação às emulsões de goma de cajueiro (GC). GA é um emulsificante amplamente utilizado devido à sua alta solubilidade em água, baixa viscosidade aparente mesmo em altas concentrações, com capacidade de criar uma forte película protetora na interface óleo-água (Jafari et al, 2008). A GC, também tem sido alvo em potencial para a indústria alimentícia, pois possui boas propriedades emulsificantes e menor viscosidade aparente que o GA nas mesmas concentrações.

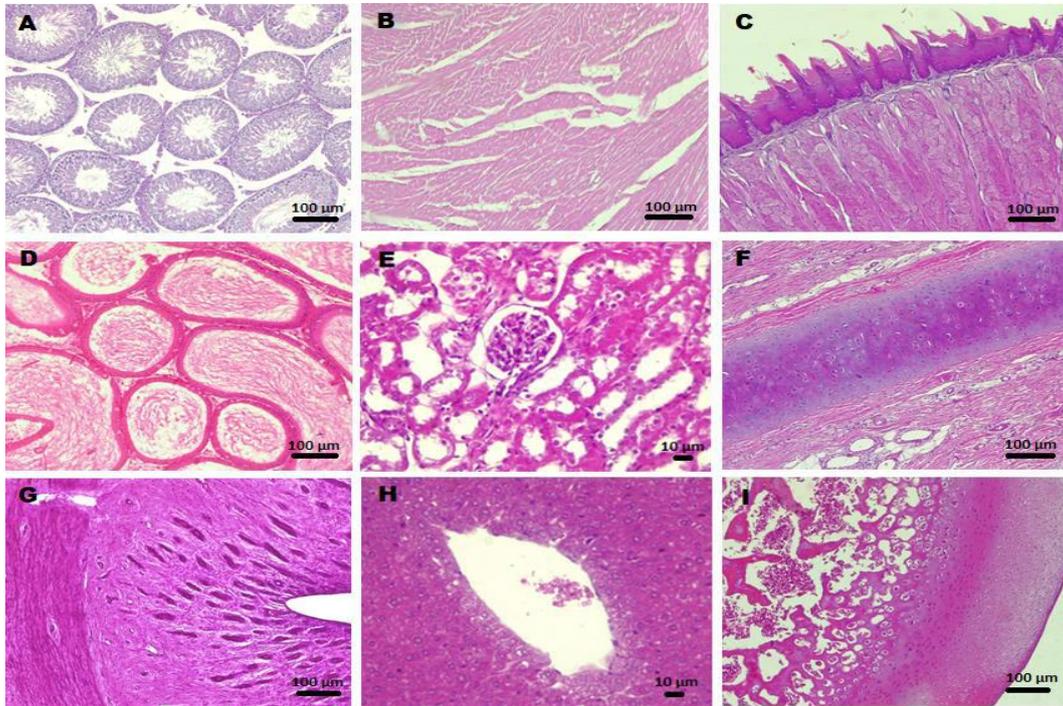
Um fluido viscoso é espesso e pegajoso, como cola, resiste a tentativas de o fazer fluir (Villetti, 2010). A viscosidade é a quantidade de resistência ao fluxo e configura-se numa medida de esforço que se têm ao tentar dividir o fluido, ultrapassar a fricção entre camadas e moléculas (Villetti, 2010; Zortéa et al., 2011).

Avaliação morfológicas de preparações histológicas montadas com meio obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro e com meio comercial

Cortes histológicos de diferentes órgãos (testículo, epidídimo, colo de útero, coração, rim, fígado, pavilhão auricular e osso) foram avaliados quanto ao procedimento de montagem, tendo-se utilizado meio comercial (Entellan[®]) e meio obtido a partir da goma resinosa de cajueiro (MGRC). As preparações montadas com MGRC (Figura 4) apresentaram-se com imagens nítidas e morfologia das estruturas conservadas, no mesmo padrão daquelas processadas e montadas com o meio comercial (Figura 5).

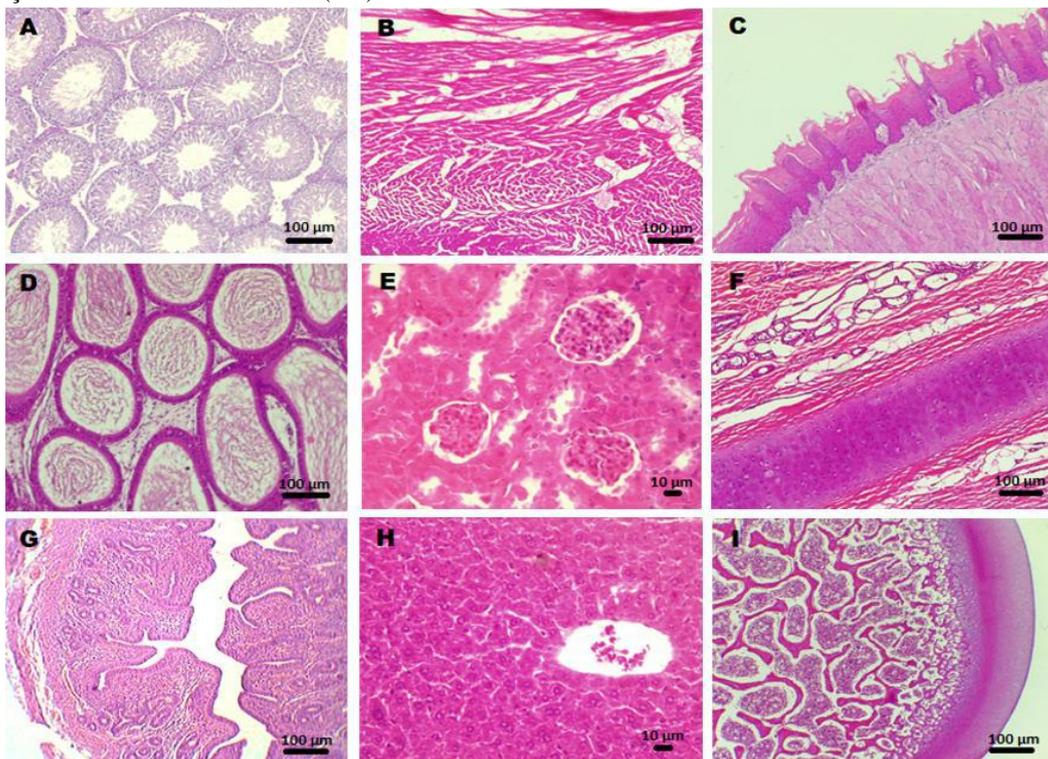
Aparentemente, foi percebido uma melhor qualidade de imagens das preparações histológicas montadas com o MGRC em comparação àquelas montadas com Entellan[®] e isto se refletiu particularmente, em função do processamento do material; uma vez que, as preparações montadas com MGRC (“cola natural”) foram obtidas a partir de um método inovador sem uso de xilol (Paz, 2017).

Figura 4: Preparações histológicas montadas com meio obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro (MGRC). Cortes histológicos de diferentes órgãos de ratos Wistar: A) testículo, B) coração, C) língua, D) epidídimo, E) rim, F) pavilhão auricular, G) colo de útero, H) Fígado e I) osso. Escala de barra = 100 µm (testículo, coração, língua, epidídimo, pavilhão auricular, colo de útero e osso) e 10 µm (rim e fígado). Coloração: Hematoxilina & Eosina (HE).



Fonte: Autores (2022).

Figura 5: Preparações histológicas montadas com meio comercial (Entellan®). Cortes histológicos de diferentes órgãos de ratos Wistar: A) testículo, B) coração, C) língua, D) epidídimo, E) rim, F) pavilhão auricular, G) colo de útero, H) Fígado e I) osso. Escala de barra = 100 µm (testículo, coração, língua, epidídimo, pavilhão auricular, colo de útero e osso) e 10 µm (rim e fígado). Coloração: Hematoxilina & Eosina (HE).



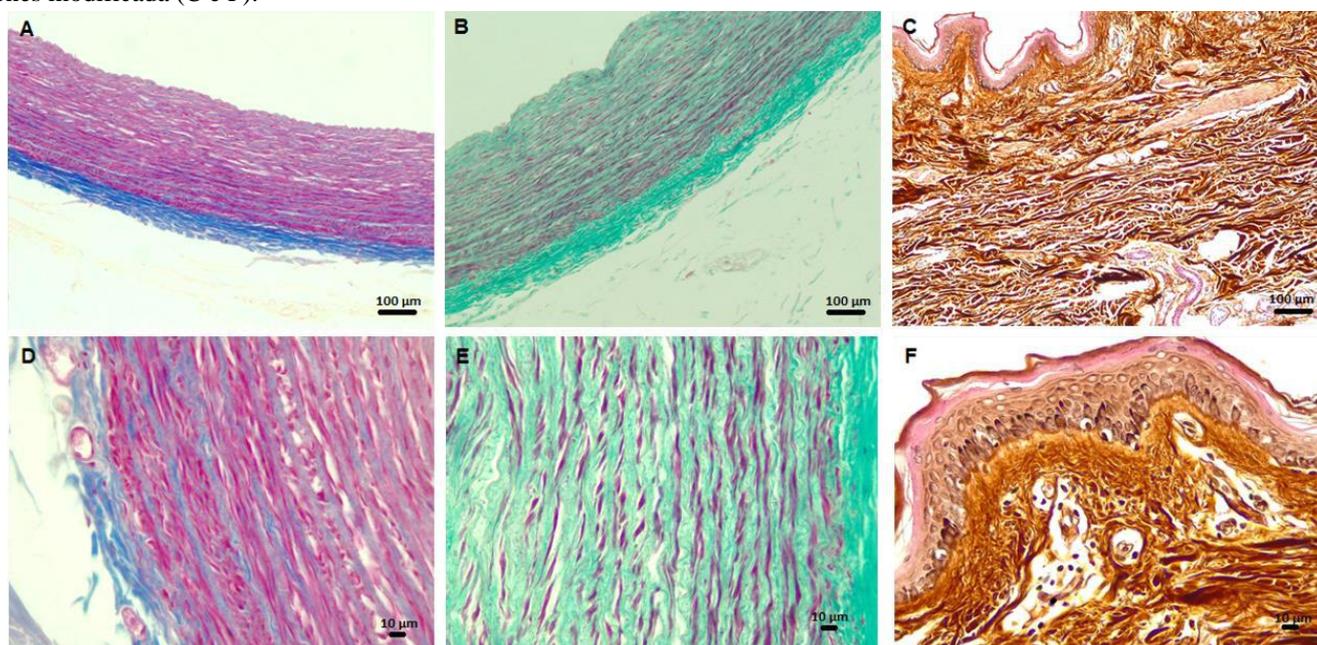
Fonte: Autores (2022).

As preparações histológicas montadas com MGRC têm apresentado considerável durabilidade desde o período em que foram confeccionadas coincidindo com a coleta de material (2018 a 2019), mantendo-se até o momento com nitidez e colorações conservadas. Graças à viscosidade mais elevada do MGRC com óleo mineral ($939,9 \pm 103,7$ mPa.s) comparada a do Entellan® (250 - 600 mPa.s, a 20°C, dados do fabricante), as lamínulas se tornaram fixas rapidamente (de 10 a 15 minutos de secagem) em temperatura ambiente, garantindo desta forma a higidez das preparações obtidas ao longo do tempo.

Embora as resinas sintéticas ainda sejam utilizadas como Eurapal®, Entellan® e Permout® (Kraus; Arduin, 1997), estas possuem em sua composição o denominado de 1,2 dimetil-benzeno, metil tolueno ou xilol, como é mais conhecido, especialmente por sua toxicidade. No contexto atual, as colas naturais têm despontado como uma promissora alternativa às colas sintéticas (derivadas do petróleo) por apresentarem vantagens em termos ambientais e com relação à saúde do histotecnologista (Ramamoorth et al., 2016).

Preparações histológicas com colorações especiais (tricrômico de Masson, tricrômico de Gomori e impregnação argêntica), também, foram avaliadas quanto a montagem utilizando-se o MGRC (Figura 6) e mais uma vez, os resultados foram satisfatórios, especialmente em função da nitidez, integridade da coloração e conservação das estruturas, aspectos necessários ao estudo morfológico; devendo-se ter em consideração que a neutralidade de um meio é bastante relevante quando se usa corantes básicos de anilina ou metacromáticos (Michalany, 1988; Bancroft; Gamble, 2002).

Figura 6: Preparações histológicas montadas com meio obtido a partir do processamento da goma resinosa de cajueiro (MGRC). Cortes histológicos de diferentes órgãos de ratos Wistar: aorta (A, B, D e E) e pele (C e F). Escala de barra = 100 µm (A, B e C) e 10 µm (D, E e F). Colorações especiais: tricrômico de Masson (A e D), tricrômico de Gomori (B e E) e prata de Jones modificada (C e F).



Fonte: Autores (2022).

4. Conclusão

O meio polimérico extraído da goma resinosa de cajueiro (MGRC) utilizado, pela primeira vez, na montagem de preparações histológicas, revelou-se de forma satisfatória como uma alternativa aos meios de montagem comerciais, proporcionando nítida visualização das estruturas dos diferentes órgãos avaliados independente das colorações usadas, sendo economicamente viável e gerando benefícios como biossegurança pessoal por ser atóxico, além de não prejudicar o meio ambiente.

Agradecimentos

Os autores agradecem em especial ao Técnico Especializado, Sebastião Camilo de Melo Filho, pelo auxílio na determinação dos índices de refração realizado no Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Assim como, aos Coordenadores da Pós-graduação em Saúde Translacional do Centro de Ciências Médicas da UFPE, pela disponibilização do Laboratório de Histotécnica e do Programa de Doutorado em Biotecnologia - Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), representado em Recife/Pernambuco - Brasil, pelo Coordenador Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes do Departamento de Antibióticos do Centro de Biociências da UFPE, por todo incentivo e apoio na realização deste estudo.

Referências

- Aguiar, M. J. N., Sousa Neto, N. C., Braga, C. C., Brito, J. I. B., Silva, E. D. V., Silva, F. B. R., Burgos, N., Varejão-Silva, M. A., & Costa, C. A. R. (2000). Zoneamento pedoclimático para a cultura do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) no Nordeste do Brasil e Norte de Minas Gerais. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical/Recife: Embrapa-CNPS-ERP-NE.
- Araújo, S., Sousa, I. J. O., Gonçalves, R. L. G., França, A. R. S., Negreiros, O. S., Brito, A. K. S., Oliveira, A. P., & Lima, E. B. S. (2018). Aplicações farmacológicas e tecnológicas da goma do cajueiro (*Anacardium Occidentale* L.) - um produto obtido da flora brasileira. *Geintec*, 8(1), 4292-4305.
- Assunção, R. B., & Mercadante, A. Z. (2000). Caju *in natura* (*Anacardium occidentale* L.) - carotenóides e vitamina C. In: XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2000, Fortaleza, Ceará. Resumos Fortaleza: SBCTA, 2(5), 101.
- Azeez, O. S. (2005). Decolourization of Gum Arabic Using Activated Charcoal. *Leonardo Journal of Sciences*, 4(7), 23-32.
- Bancroft, J. D., & Gamble, M (2002). Theory and Practice of Histological Techniques. 5a. edition. *Churchill Livingstone Publication*, 63-108.
- Becker, A., Hill, S. E., & Mitchell, J. R. (2001). Milling - A further parameter affecting the Rapid Visco Analyser (RVA) Profile. *Cereal Chemistry*, 78(2), 166-172.
- Carneiro-da-Cunha, M. G., Cerqueira, M. A., Souza, B. W. S., & Souza, M. P. (2009). Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Journal of Food Engineering*, 95, 379-385.
- Catarino, L., Yusufu, M., & Yusufu, S. R. (2015). Cashew cultivation in Guinea-Bissau – risks and challenges of the success of a cash crop. *Scientia Agricola*, 72 (5), 459-457.
- Cordeiro, M. S. F., Da Silva, C. M. B., Vieira, A. C. Q. D. M., Nadvorny, D., De Sá, L. L. F., De Souza, F. R. L., & Ribeiro, A. J (2017). Biopolymers and pilocarpine interaction study for use in drug delivery systems (DDS). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 127(2), 1777-1785.
- Culling, C. F., Allison, R. T., & Barr, W. T. (1985). Staining procedure. *Handbook of Cellular Pathology Techniques*. 4th ed. Saint Louis, Missouri, U.S.A.: Butterworth-Heinemann, 146-151.
- Cunha e Silva, M. C., Silva, R. A. O., Marques, L. G. A., Freitas, R. M., Santos, M. S. F, Silva Filho, E. C., & Santos, M. R. M. C. (2013). Aplicação da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) em nanotecnologia. *Anais SIMTEC*, 1(1), 567-580.
- Dias, S. F, Nogueira, S. S, de França Dourado, F., Guimarães, M. A, de Oliveira Pitombeira, N. A, Gobbo, G. G, Primo, F. L, de Paula, R. C, Feitosa, J. P, Tedesco, A. C, Nunes, L. C, Leite, J. R & da Silva, D. A (2016). Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. *Carbohydrate Polymers*, 143:254-261.
- Diaspro, A, Federic, I. F., & Robello, M (2002). Influence of refractive-index mismatch in high-resolution three-dimensional confocal microscopy. *Applied Optics*, v. 41(4), 685-690.
- Enríquez, G. V. (2001). A trajetória de tecnologia dos produtos naturais biotecnológicos derivados na Amazônia. Belém: 2001. 168 ISBN 85-88307-01-3.
- Ferreira, D, Vale, J, Curado, M, Polónia, A & Eloy, C (2022). The impact of different coverslipping methods in the quality of the whole slide images used for diagnosis in pathology, *Journal of Pathology Informatics*, 13, 100098.
- Jafari, S. M, Assadpoor, E, He, Y & B (2008) Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology*, 26(7), 816-835.
- Kraus, J. E., & Arduin, M (1997). Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: EDUR, 198 p.
- Kum, C, Kiral, F, Sekkin, S, Seyrek, K & Boyacioglu, M (2007). Effects of xylene and formaldehyde inhalations on oxidative stress in adult and developing rats livers. *Experimental animals*, 56(1), 35-42.
- Kumar, A, Moon, A, Shruthi, R, Ahmed, A & Shivakumar, H. G (2012). Cashew gum a versatile hydrophilic polymer, a Review. *Current Drug Therapy*, 7(1), 2-12.
- Licá, I. C. L., dos Santos Soares, A. M., de Mesquita, L. S. S., & Malik, S. (2018). Biological properties and pharmacological potential of plant exudates. *Food Research International*, 105, 1039-1053.

- Maciel, J. S., Kosaka, P. M., Silva, DA, Paula, R. C. M., Feitosa, J. P. A., & Petri, D. F. S. (2007). Formation of Cashew Gum Thin Films onto Silicon Wafers or Amino-Terminated Surfaces and the Immobilization of Concanavalin A on Them. *Carbohydrate Polymers*, 69(3), 522-529.
- Maia, J. G. S., Andrade, E. H. A., & Zoghbi, M. G. B. (2000). Volatile constituents of the leaves, fruits and flowers of cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Journal of food composition and analysis*, 13, 227-232.
- Maia, G. A., Monteiro, J. C. S., & Guimarães, A. C. L. (2001). Estudo da estabilidade físico-química e química do suco de caju com alto teor de polpa. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 21 (1), 43-46.
- MDCI - Ministério da Economia, Indústria, Comércio Exterior e Serviços. [Base de dados - Internet]. Estatísticas de Comércio Exterior: Séries Históricas. 2019. <http://www.mdic.gov.br/index.php/comercio-exterior/estatisticas-de-comercio-exterior/series-historicas>.
- Michalany, J (1988). Operações fundamentais da técnica histológica. In: Técnica Histológica em Anatomia Patológica. São Paulo: Editora Michalany LTDA, cap. II, p. 24-31.
- Mirhosseini, H., & Amid, B. T (2012). Influence of chemical extraction conditions on the physicochemical and functional properties of polysaccharide gum from durian (*Durio zibethinus*) seed. *Molecules*, 17, 6465-6480.
- Moura, C. F. H., Alves, R. E., Innecco, R., & et al (2001). Physical characteristics of cashew apples for fresh fruit market. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23 (3), 537-540.
- Ono, M, Murakami, T, Kudo, A, Isshiki, M, Sawada, H & Segawa, A (2001). Quantitative Comparison of Anti-Fading Mounting Media for Confocal Laser Scanning Microscopy. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 49 (3), 305-312.
- Paula, RCM. & Rodrigues, JF (1995). Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Carbohydrate polymers*, 26, 177-181.
- Paula, H. C, Sombra, F. M, de Freitas C. R., Abreu, F. O, de Paula, R. C (2011). Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with Lippia sidoides essential oil. *Materials Science and Engineering C*, 31 (2), p. 173-178.
- Paz, S. T. (2017). Metodologia inovadora sem uso do xilol para a técnica histológica de rotina. 2017, 68 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Patologia) - Programa de Pós-Graduação em Patologia, do Departamento de Patologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.
- Ramamoorth, A, Ravi, S, Jeddy, N, Thagavelu, R & Janardhanan, S (2016). Natural alternatives for chemicals used in histopathology Lab-A Literature Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(11), EE01-EE04.
- Ravikumar, S, Surekha, R & Thavarajah, R (2014). Mounting media: An overview. *Journal Dr. NTR University of Health sciences*, 3(5), 1-8.
- Renshaw, S (2007). Immunochemical staining techniques. *Immunocytochemistry: methods Express. Bloxham: Scion Publishers*, 46-95.
- Ribeiro, A. J, de Souza, F. R. L., Bezerra, J. M. N. A., Oliveira, C., Nadvorny, D., de La Roca Soares, M. F., Nunes, L. C. C., Silva-Filho, E. C., Veiga, F & Soares Sobrinho, J. L (2016). Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivatives. *Carbohydr Polym*, 20,147: 188-200.
- Lopes, L, Milas, M & Rinaudo, M. (1994). Influence of the method of purification on some solution properties of welan gum. *Int J Biol Macromol.*, 16(5): 253-258.
- Rodrigues, J. F., De Paula, R. C. M & Costa, S. M. O (1993). Métodos de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, São Carlos, ano III, 1, 31- 36.
- Sancho, S. O, Maia, G. A, Figueiredo, R. W, Rodrigues, S., & De Sousa, P. H. M. (2007). Alterações químicas e físico-químicas no processamento de suco de caju (*Anacardium occidentale* L.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(4), 878-882.
- Sandikci, M, Seyrek, K, Aksit, H & Kose, H (2009). Inhalation of formaldehyde and xylene induces apoptotic cell death in the lung tissue. *Toxicological and Industrial Health*, 25(7), 455-61.
- Santos-Serejo, J. Á., & et al (2009). *FruticulturaTropical -Espécies Nativas e Exóticas*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 509 p.
- Silva, R. A. O., Marques, L. G. A., de Freitas, R. M., dos Santos, M. S. F., Silva Filho, E. A., do Ó Pessoa, C., & Santos, M. R. M. C. (2013). Prospecção tecnológica: aplicação da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) em nanotecnologia. *Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias*, 3(4), 55-69.
- Valexport (2003). Associação dos produtores e exportadores de hortifrutigranjeiros do Vale do São Francisco. Petrolina, PE, 16.
- Villetti, M. A. (2010). Determinação do Coeficiente de viscosidade pelo Viscosímetro de Oswald. Documento eletrônico disponível em <<http://w3.ufsm.br/juca/viscosidade.pdf>>.
- Zortéa, M. E. B., Demiate, I. M., Praxedes, M. A., & Wosiacki, G (2011). Avaliação da viscosidade aparente de pastas de amidos nos viscosímetros Brookfield RVDV-II+ PRO e rápido visco-analisador RVA-4. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 5(1).

4.2 MEIOS DE MONTAGENS OBTIDOS A PARTIR DO PROCESSAMENTO DO LÁTEX COLETADOS DA JAQUEIRA E DA MANGUEIRA

Os meios processados a partir do látex coletado do pedúnculo dos frutos da jaqueira e mangueira foram obtidos por meio de fácil manejo, de forma reprodutível, sendo de baixo custo e sem produção de resíduos. Nossos resultados corroboram com alguns estudos que sugerem ser o látex de alguns *Artocarpus* ssp semelhante por suas características físicas à adesivos de polímeros (NEPACINA et al., 2020). Recente estudo tem relacionado a obtenção de novos hidrocolóides de todas as partes da manga (*Mangifera indica* L.) visando-se o máximo de aproveitamento industrial (MARSIGLIA-FUENTES; QUINTANA; ZAPATEIRO, 2022).

4.3 DETERMINAÇÃO DO IR DO LÁTEX COLETADO DA JAQUEIRA E DA MANGUEIRA

Foram obtidos diferentes índices de refração (IRs) dos meios de montagem obtidos do processamento do látex de árvores frutíferas como mangueira e jaqueira (Tabela 1).

Tabela 1 - Índice de refração dos meios de montagem naturais

AMOSTRAS DE MEIOS DE MONTAGENS	ÍNDICE DE REFRAÇÃO
Água	1,333
Óleo mineral	1,460
Meio obtido do látex de mangueira + óleo	1,466
Meio obtido do látex de jaqueira + óleo	1,474

Os IRs dos meios de montagem obtidos a partir do processamento do látex da mangueira e da jaqueira, com óleo mineral foram satisfatórios (1,466 e 1,474, respectivamente) quando comparado aos demais índices determinados (água, e óleo mineral, isolados); estando esses resultados de acordo com o que é referido na literatura, visto que um índice de refração considerado ideal para os meios de montagem deve ser o mais próximo possível do tecido fixado, ou seja, de aproximadamente 1,530 (DIASPRO; FEDERIC & ROBELLO, 2002; RENSHAW et al., 2007).

4.4 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE ROTACIONAL DINÂMICA

As medidas de viscosidade aparente foram realizadas com registro de dados comuns de temperatura (°C), rotação (90 rpm) e dados variáveis de torque (%) utilizando *spindle* de aço inox (n°. 4). As viscosidades das soluções obtidas a partir do processamento do látex com óleo de *Artocarpus heterophyllus* L. e de *Mangifera indica* L. foram determinadas em mPas.s e os dados de torque foram descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Análise de viscosidade rotacional dos meios obtidos do látex de *A. heterophyllus* Lam. e da *Mangifera indica* L. com óleo mineral.

MEIOS	TORQUE (%)		VISCOSIDADE (mPas.s)		
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Média ± DP
Solução obtida do látex de <i>A. heterophyllus</i> L. com óleo mineral	26,5	30,6	1.738,8	2.035,1	1.887,0 ± 209,5
Solução obtida do látex de <i>M. indica</i> L. com óleo mineral	51,6	62,7	31,0	37,6	33,42 ± 27,0

n= 3 para cada amostra, a 25°C e 90 rpm. Os dados obtidos foram descritos em valores (mínimo e máximo) de viscosidade (mPas.s) e média mais desvio padrão (DP).

A viscosidade do látex com óleo de *Artocarpus heterophyllus* Lam foi quantitativamente maior (1.887,0 ± 209,5 mPas.s) quando comparada a viscosidade da resina de *Anacardium occidentale* L. com óleo mineral (939,9 ± 103,7 mPas.s) e a viscosidade do meio obtido do látex de *Mangifera indica* L. com óleo mineral (33,42 ± 27,0 mPas.s), essa última considerada muito baixa desde o início de sua aferição.

Um fluido viscoso tende a ser espesso e pegajoso, como cola e resiste a tentativas de o fazer fluir (VILLETTI, 2010). A viscosidade é, portanto, a quantidade de resistência ao fluxo e configura-se numa medida de esforço que se têm ao tentar dividir o fluido, ultrapassar a fricção entre camadas e moléculas (VILLETTI, 2010; ZORTÉA et al., 2011).

A viscosidade de um meio de montagem reflete a qualidade de uma colagem; sendo assim, o procedimento de finalização das preparações histológicas depende fundamentalmente da interposição de um meio eficiente entre a lamínula e a lâmina capaz de promover resistência e adesividade imediata (PAZ, 2017).

4.5 AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DE PREPARAÇÕES HISTOLÓGICAS MONTADAS COM ENTELLAN® E COM OS MEIOS NATURAIS

4.5.1 Preparações histológicas com tecidos de ratos Wistar

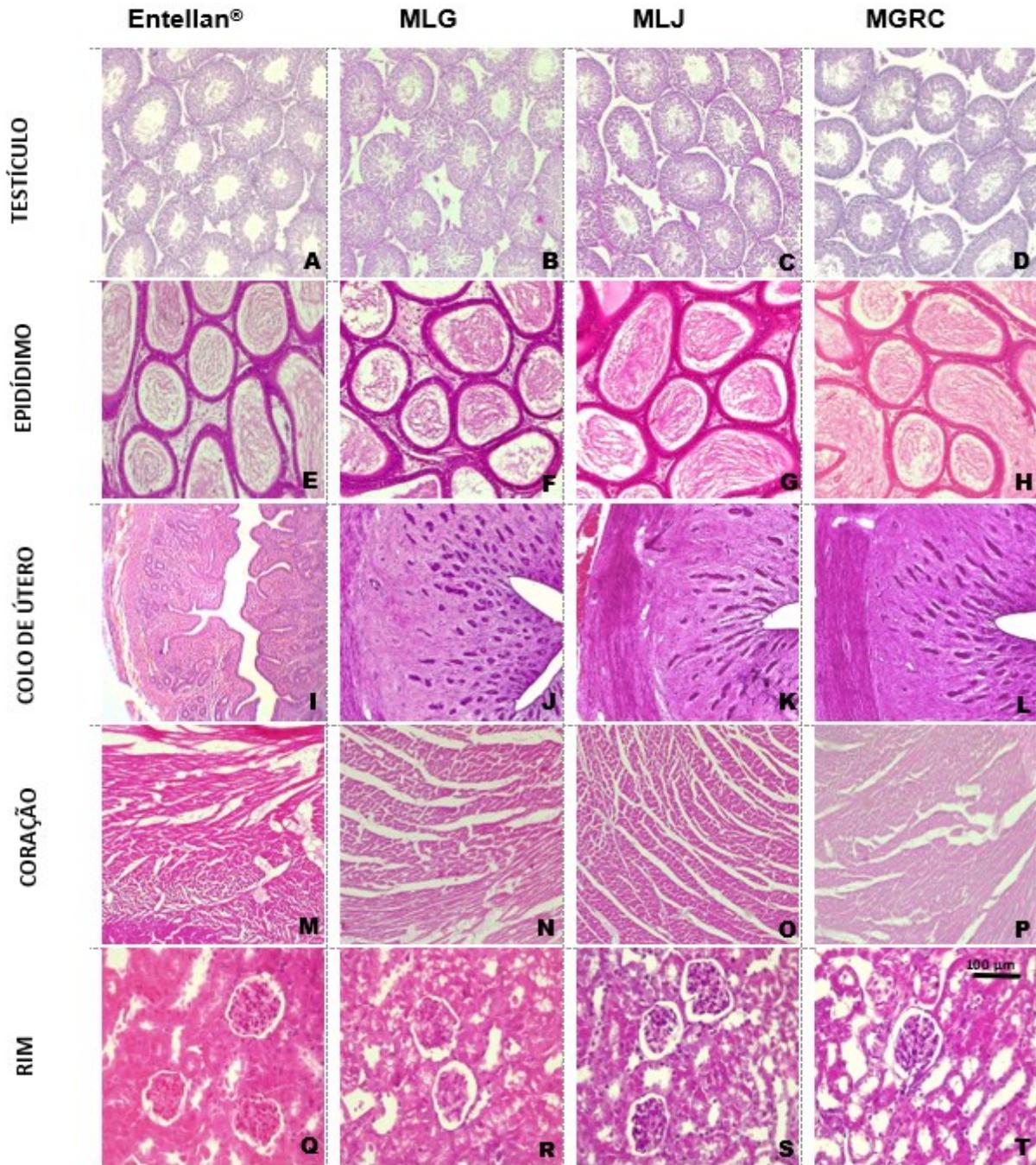
No estudo em questão, órgãos de ratos Wistar (testículo, epidídimo, colo de útero, coração, rim, osso, pavilhão auricular, língua, fígado e intestino) foram processados segundo a metodologia de Paz (2017), com o uso de óleo mineral em substituição ao xileno.

As preparações histológicas dos diferentes órgãos avaliados foram finalizadas com o meio comercial (Entellan®) e com meios de montagem natural obtidos após processamento dos exsudatos naturais (goma resinosa de cajueiro e látex da jaqueira e da mangueira) misturados com óleo mineral (Figuras 13 e 14, respectivamente).

A avaliação morfológica dos órgãos utilizados com relação ao uso de óleo mineral em substituição ao xilol apresentou-se de acordo com as expectativas do estudo de Rai e colaboradores (2016) que realizaram uma revisão sobre possíveis substitutos biosseguros para o xileno, enfatizando-se a toxicidade desse solvente, no sentido de minimizar a sua utilização nos Laboratórios de Histotecnologia, sem comprometer a qualidade das colorações e, portanto, garantindo a qualidade diagnóstica.

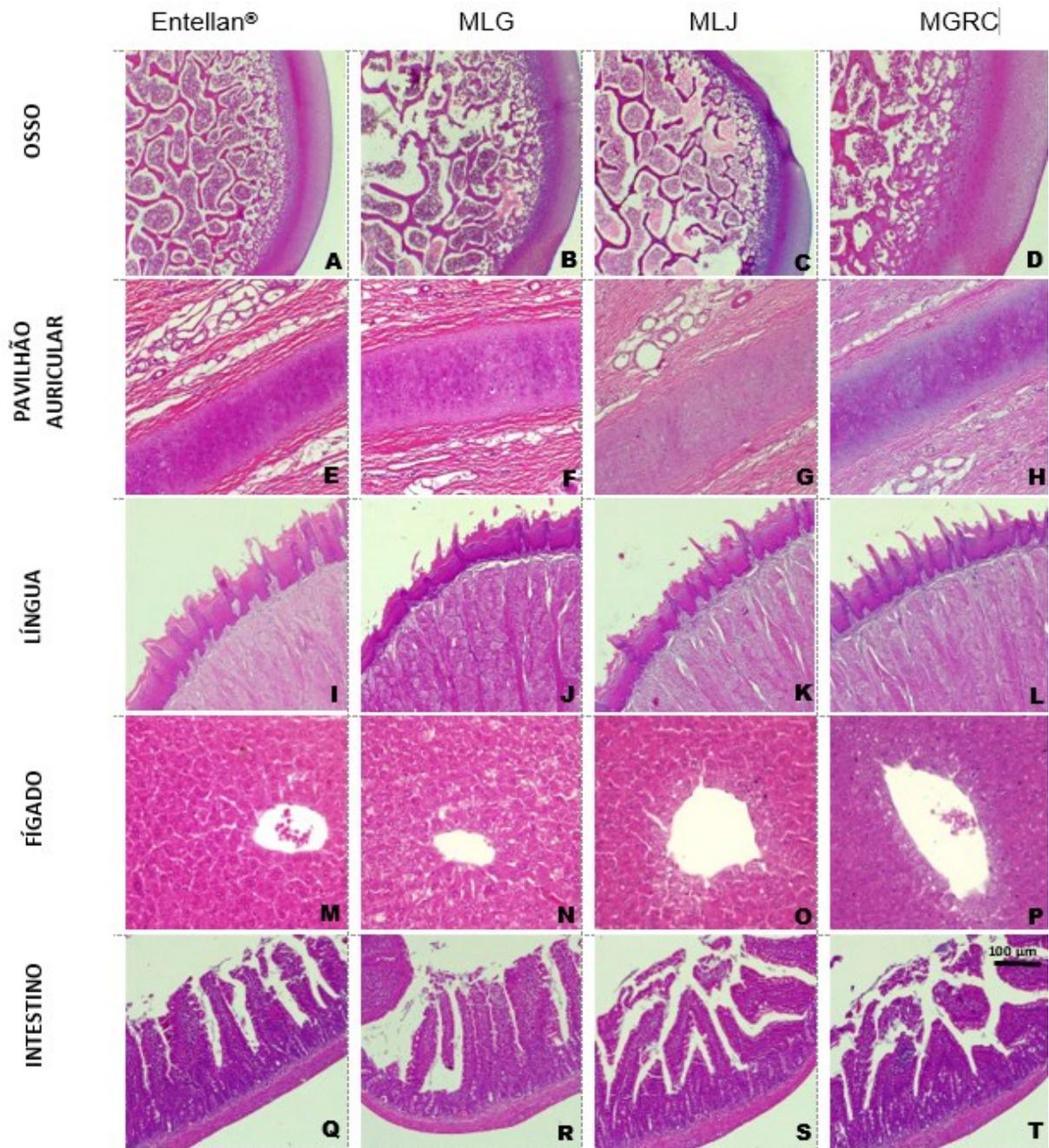
Todas as preparações montadas com os meios naturais foram observadas com auxílio de microscópio óptico de luz e de uma forma geral apresentaram-se com imagens nítidas e morfologia das estruturas conservadas, quando comparadas àquelas processadas e montadas com o Entellan®.

Figura 13 – Preparações de órgãos (testículo, epidídimo, colo de útero, coração e rim), montadas com Entellan® e meios de montagem naturais obtidos do processamento do látex da mangueira (MLG) e da jaqueira (MLJ), e do processamento da goma resinosa de cajueiro (MGRC).



Fotomicrografias das preparações de testículo, epidídimo, colo de útero, coração e rim, montadas com Entellan® (A, E, I, M e Q) e com meios de montagem naturais obtidos do processamento do látex da mangueira, MLG (B, F, J, N e R) e da jaqueira, MLJ (C, G, K, O e S), e da goma resinosa de cajueiro, MGRC (D, H, L, P e T). Imagens de **A** até **T** (escala de barra = 100 µm). Coloração: Hematoxilina & Eosina (H&E). **Fonte:** Paz (2022).

Figura 14 – Preparações de órgãos (osso, pavilhão auricular, língua, fígado e intestino), montadas com Entellan® e os meios de montagem naturais obtidos do processamento do látex da mangueira (MLG) e da jaqueira (MLJ), e do processamento da goma resinosa de cajueiro (MGRC).



Fotomicrografias das preparações de testículo, epidídimo, colo de útero, coração e rim, montadas com Entellan® (A, E, I, M e Q) e com meios de montagem naturais obtidos do processamento do látex da mangueira, MLG (B, F, J, N e R) e da jaqueira, MLJ (C, G, K, O e S), e da goma resinosa de cajueiro, MGRC (D, H, L, P e T). Imagens de **A** até **T** (escala de barra = 100 µm. Coloração: Hematoxilina & Eosina (H&E). **Fonte:** Paz (2022).

No sentido de refinar quantitativamente a avaliação morfológica, as preparações permanentes dos tecidos de ratos foram analisadas, segundo oito critérios tais como: clareza, uniformidade da coloração, nitidez, adequação da coloração nuclear, adequação da coloração citoplasmática, presença ou não de artefatos, integridade das estruturas e adequação para avaliação histológica. Todos os critérios foram avaliados por três observadores, sem o conhecimento prévio do tipo de meio de montagem usado na finalização das preparações e apresentaram acurácia geral de 100%, com exceção da uniformidade da coloração e presença de artefatos (Tabela 3).

Tabela 3 – Critérios de avaliação dos meios de montagem com relação à uniformidade da coloração e presença de artefatos de preparações histológicas finalizadas com Entellan® e meios naturais obtidos da goma resinosa de cajueiro e do látex da jaqueira e da mangueira.

CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO	MEIOS DE MONTAGEM	OBSERVADORES			ACURÁCIA GERAL
		A	B	C	
Uniformidade da coloração	Entellan®	10/10	10/10	10/10	100,00 %
	Goma resinosa do cajueiro	10/10	09/10	10/10	96,70 %
	Látex de Jaqueira	10/10	09/10	09/10	93,20%
	Látex de Mangueira	10/10	09/10	09/10	93,20%
Presença de artefatos	Entellan®	00/10	00/10	00/10	00,00 %
	Goma resinosa do cajueiro	04/10	04/10	04/10	40,00 %
	Látex de Jaqueira	00/10	00/10	00/10	00,00 %
	Látex de Mangueira	02/10	02/10	01/10	16,67 %

Nota: A acurácia ou precisão (número de respostas corretas/número de perguntas tentadas) foram expressas em números absolutos e percentagem. A exatidão geral das observações foi expressa como percentagem.

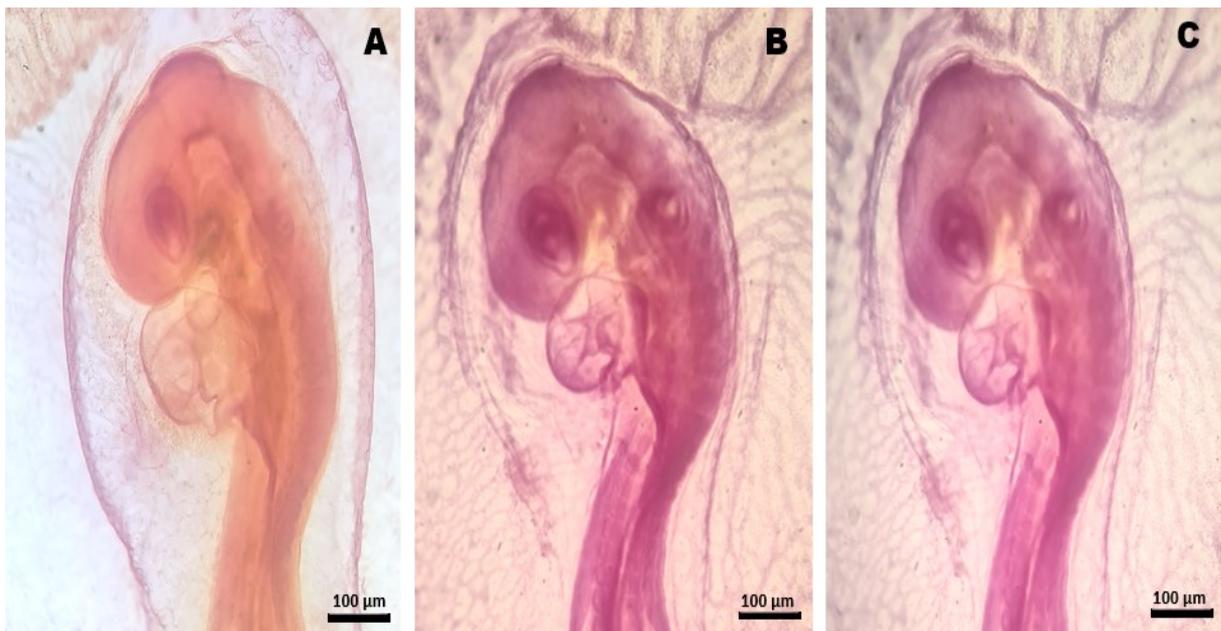
Independentemente dos resultados percentuais da acurácia geral para os dois critérios avaliados, a concordância entre os observadores foi satisfatória e os meios de montagem avaliados (goma resinosa do cajueiro e látex de jaqueira e mangueira) foram considerados eficientes quando comparados ao meio comercial (Entellan®).

4.5.2 Preparações embriológicas com *Gallus gallus domesticus*

Preparações com embriões de ave (*Gallus gallus domesticus*), montadas com colas naturais obtidas do processamento da goma resinosa do cajueiro e do látex da Mangueira e da Jaqueira, possibilitaram a visualização de estruturas e regiões do sistema nervoso central, como as vesículas encefálicas, tubo neural, primórdio do cálice óptico e área cardiogênica (Figura 15).

Independentemente do tipo de cola natural utilizado, as características embriológicas foram percebidas por meio da microscopia óptica, sendo inerentes ao estágio 15 do desenvolvimento (de 50 a 53 h) de acordo com a classificação de Hamburger e Hamilton (1951).

Figura 15 - Preparações com embriões de *Gallus gallus domesticus* montadas com meios obtidos da goma resinosa do cajueiro e do látex da mangueira e da jaqueira.



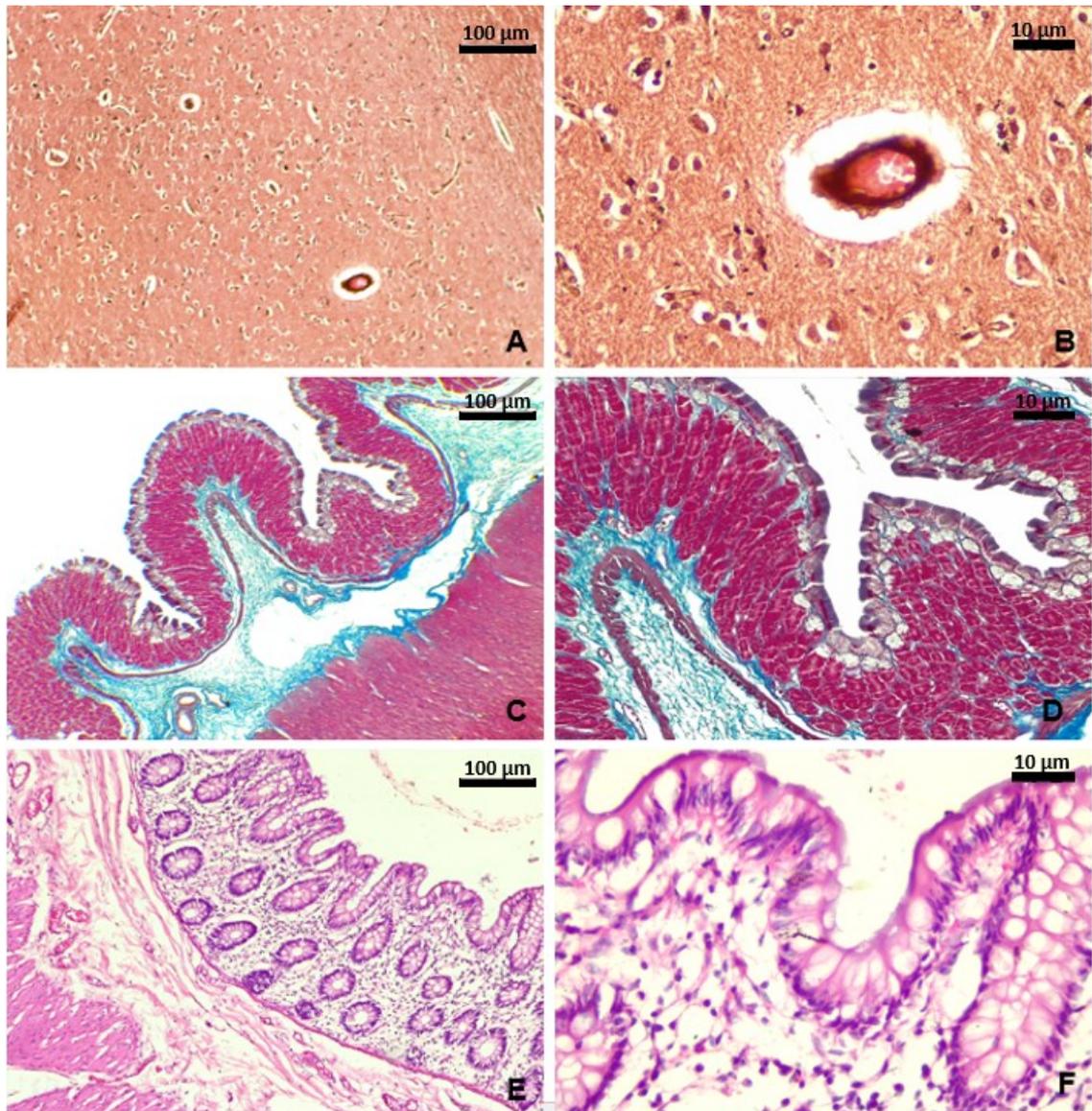
Fotomicrografias de montagens totais de *Gallus gallus domesticus* com meios naturais obtidos a partir do processamento: **A**) da goma resinosa de cajueiro, **B**) do látex da mangueira e **C**) do látex da jaqueira. Imagens: **A**, **B** e **C** (escala de barra = 100 µm). Coloração: Hematoxilina & Eosina (H&E). **Fonte:** Paz (2022).

4.5.3 Preparações histológicas com amostras humanas

As necropsias de cérebro, estômago e intestino foram processadas com o óleo mineral de acordo com metodologia de Paz (2017) e finalizadas com os meios de

montagem naturais obtidas do processamento da goma resinosa de cajueiro e do látex da jaqueira e da mangueira (Figura 16).

Figura 16 – Fotomicrografias de necropsias humanas de cérebro, estômago e intestino processadas com o óleo mineral e finalizadas meios de montagem naturais de cajueiro, jaqueira e mangueira.



Preparações processadas com o óleo mineral e finalizadas com os meios de montagem naturais, obtidos de diferentes processamentos: **A e B**) da goma resinosa (tecido cerebral corado com prata modificada por PAZ), **C e D**) do látex da jaqueira (parede de estômago corado com tricrômico de Masson) e **E e F**) do látex da mangueira (parede de intestino corado com Hematoxilina & Eosina). Magnitude das imagens: **A, C e E** (escala de barra = 100 µm), **B, D e F** (escala de barra = 10 µm).
Fonte: Paz (2022).

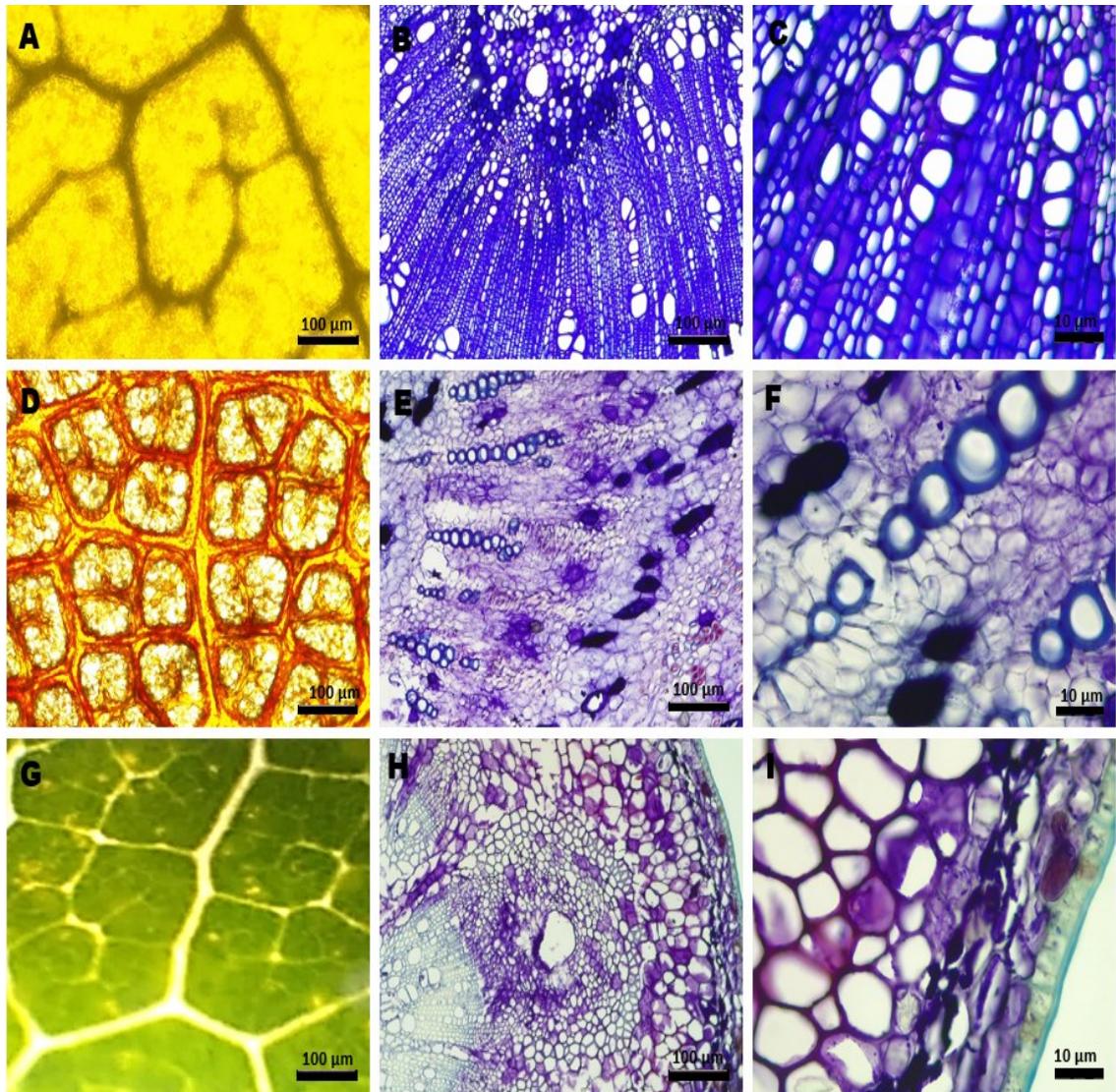
Independente das colorações usadas, os meios de montagem naturais proporcionaram nítida visualização das estruturas dos diferentes órgãos avaliados. As necropsias de cérebro humano processadas com o óleo mineral e coradas com a prata PAZ revelaram degeneração granulo-vacuolar e angiopatia amilóide (deposição amilóide na camada média de um vaso, visualizado no maior aumento). A observação microscópica de uma parede de estômago corado com tricrômico de Masson destacou detalhes da camada mucosa, muscular da mucosa e camada submucosa; assim como a parede intestinal analisada revelou características do epitélio de revestimento com considerável quantidade de células caliciformes.

No geral os resultados foram satisfatórios com relação à nitidez, integridade das colorações e conservação das estruturas, critérios indispensáveis para a realização do estudo morfológico. Neste consenso, levou-se em consideração a neutralidade do meio, especialmente quanto ao uso de corantes básicos de anilina ou metacromáticos e a confiabilidade da indicação do tipo de coloração para a realização da análise, corroborando com outros estudos realizados e voltados para diagnóstico (MICHALANY, 1988; BANCROFT; GAMBLE, 2002; RENSHAW, 2007).

4.5.4 Preparações histológicas com amostras vegetais

Montagens totais com folhas e preparações de pedúnculos de cajueiro, jaqueira e mangueira foram finalizadas com meios naturais obtidos a partir do processamento da goma e do látex das espécies *Anacardium occidentale* L. (cajueiro), *Artocarpus heterophyllus* Lam. (jaqueira) e *Mangifera indica* L. (mangueira). A montagem total das folhas dessas espécies possibilitou a observação do arcabouço foliar com presença de nervuras e regiões denominadas de limbo (Figura 17).

Figura 17 – Fotomicrografias de montagem total de folhas de *Anacardium occidentale* L. (cajeiro), *Mangifera indica* L. (mangueira), *Artocarpus heterophyllus* Lam. (jaqueira) e de pedúnculos das mesmas espécies processados até corte e coloração.



Fotomicrografias de montagem total do material foliar sem coloração, finalizado com os meios naturais de cajueiro, jaqueira e mangueira: **A, D e G**, respectivamente (escalas de barra = 100 µm). Fotomicrografias de pedúnculos das mesmas espécies processados até corte e coloração (violeta de Cresil): **B, E e H** (escalas de barra = 100 µm) e **C, F e I** (escalas de barra = 10 µm). **Fonte:** Paz (2022).

Alguns estudos mencionam o sistema de nervação como um suporte mecânico da lâmina foliar (KULL & HERBIG, 1994). A nervação pode ser altamente diversificada, quanto a sua arquitetura e tem influência no transporte de substâncias essenciais para o desenvolvimento da planta (NIINEMETS et al., 2007).

A nervação das folhas do cajueiro assim como da mangueira classifica-se como Broquidódroma (*gr.* Broqui: laço; *dromo*: caminho), tipo de nervação camptódroma

onde as nervuras laterais estão unidas entre si por arcos normalmente curvados (MARTINS-DA-SILVA et al., 2014).

Segundo Santos (2014) a folha tem como principal função a fotossíntese, mas também atua na transpiração, trocas gasosas através dos estômatos, condução e distribuição de seiva, reserva de nutrientes e/ou água e na atração de agentes polinizadores.

Os pedúnculos das espécies utilizadas foram processados até corte e coloração e revelaram características do sistema vascular, responsável pelo transporte interno na planta, ou seja, pela distribuição de água e sais minerais, assim como pela distribuição de fotoassimilados (SOUZA, 2003). O xilema é o tecido vascular responsável pela condução de água e sais minerais das raízes para as partes superiores da planta (condução ascendente), sendo constituído por diferentes tipos de células, vivas e mortas, que exercem funções distintas nesse tecido, e o floema é o tecido responsável pela translocação de nutrientes orgânicos produzidos pela fotossíntese para todas as partes do vegetal (condução descendente), também constituído por diferentes tipos de células, vivas e mortas, com funções distintas (SOUZA, 2003).

4.6 INTEGRIDADE E DURABILIDADE DAS PREPARAÇÕES PERMANENTES APÓS MONTAGEM E QUANDO ESTOCADAS AO LONGO DO TEMPO

O acompanhamento do estado físico do conjunto de preparações permanentes com as diferentes amostras (vegetais, tecidos, embriões e tumores) no período de 2018 a 2022, revelou integridade e durabilidade das preparações após montagem e quando estocadas ao longo do tempo.

Nossos resultados demonstram a eficiência do procedimento de montagem com os meios naturais, onde a maioria das preparações acompanhadas nesse período de observação contínua, mantiveram-se sem alterações e atenderam o requisito de durabilidade, com exceção de poucas preparações que apresentaram conservação moderada, caracterizada pelo deslizamento temporário da lamínula quando montadas com o látex da mangueira e pela formação de bolhas quando montadas com a goma resinosa de cajueiro (Tabela 4).

Tabela 4 – Conservação a longo prazo de preparações permanentes montadas com meios naturais obtidos do processamento da goma resinosa de cajueiro e do látex da jaqueira e da mangueira.

MEIOS DE MONTAGEM NATURAIS (obtidos com o processamento de látex ou resina)	AMOSTRAS	CONSERVAÇÃO A LONGO PRAZO DE PREPARAÇÕES PERMANENTES MONTADAS COM MEIOS NATURAIS														
		2018			2019			2020			2021			2022		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Látex de Jaqueira (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.)	Vegetal	06	-	-	06	-	-	06	-	-	06	-	-	06	-	-
	Tecidos	25	-	-	25	-	-	25	-	-	25	-	-	25	-	-
	Embrião	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-
	Tumor	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-
Látex de Mangueira (<i>Mangifera indica</i> L.)	Vegetal	06	-	-	06	-	-	06	-	-	06	-	-	06	-	-
	Tecidos	22	03*	-	25	-	-	25	-	-	25	-	-	25	-	-
	Embrião	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-
	Tumor	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-
Goma resinosa do Cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.)	Vegetal	05	01*	-	06	-	-	06	-	-	06	-	-	06	-	-
	Tecidos	21	04**	-	21	04**	-	21	04**	-	21	04**	-	21	04**	-
	Embrião	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-
	Tumor	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-	02	-	-

A = Conservação adequada (meio translúcido, adesividade imediata da lamínula, durabilidade)

B = Conservação moderada (*deslizamento temporário da lamínula, **formação de bolhas)

C = Conservação comprometida (opacificação do meio, desbotamentos, manchas e presença de fungos)

4.7 DEPÓSITO DE PATENTE

**Pedro nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2022 024169 4

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica**CNPJ/CNPJ:** 24134488000108**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa**Endereço:** Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária**Cidade:** Recife**Estado:** PE**CEP:** 50670-901**País:** Brasil**Telefone:** (81)2126 8959**Fax:** (81)2126 8959**Email:** patentes_dine.propesq@ufpe.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (64):** PROCESSO HISTOLÓGICO ATÓXICO E COM TEMPO REDUZIDO UTILIZANDO ÓLEO MINERAL**Resumo:** A produção diária de um Laboratório de Histotecnologia está voltada para o processamento de tecidos do organismo (humano ou animal) e até mesmo de amostras de plantas (folhas, caule ou raízes), usualmente corados com Hematoxilina e Eosina (H&E) ou com outras técnicas de colorações especiais. Nos dias atuais, a realização do processamento histológico de rotina ainda expõe os técnicos e pesquisadores da área, a um produto tóxico e bastante conhecido, o Xilol. Devido à toxicidade inerente ao xilol, com riscos para a saúde humana e ao meio ambiente, modificações metodológicas vêm sendo realizadas mundialmente para a retirada desse produto ou para minimizar ao máximo a sua utilização na rotina dos Laboratórios de Histotécnica. A busca por um substituto seguro continua sendo uma necessidade diária, especialmente para a biossegurança do histotecnologista. No presente processo inventivo propõe-se um processo histológico atóxico e com tempo reduzido utilizando óleo mineral para a rotina de laboratórios de histotécnica das áreas de ensino, pesquisa e diagnóstico.**Figura a publicar:** 3

Dados do Inventor (72)

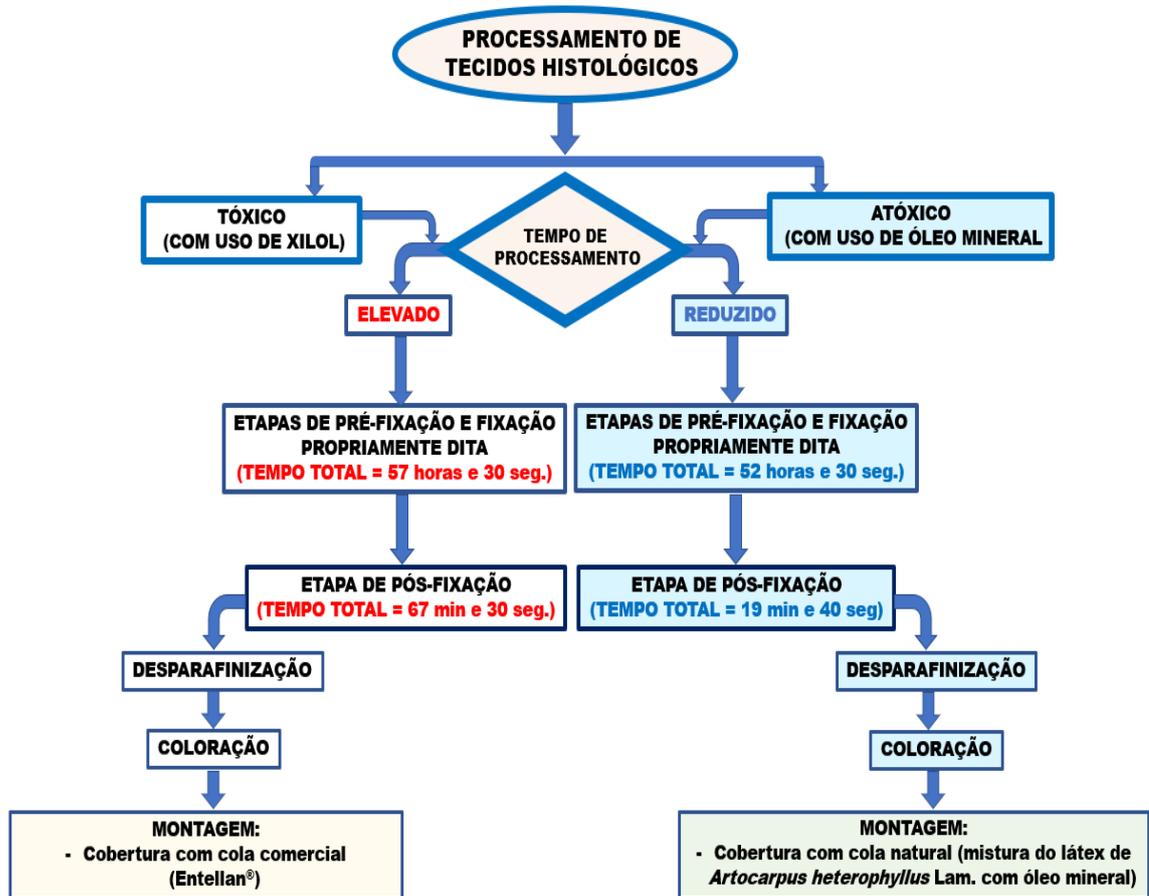
Inventor 1 de 2**Nome:** SILVANIA TAVARES PAZ**CPF:** 46720895468**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Técnico de laboratório, Raios-X e outros equipamentos e instrumentos de diagnóstico**Endereço:** Av. Prof. Moraes rego, 1235, Cidade Universitária**Cidade:** Recife**Estado:** PE**CEP:****País:** BRASIL**Telefone:** (81) 212 68959**Fax:****Email:****Inventor 2 de 2****Nome:** PALOMA LYS DE MEDEIROS**CPF:** 37514881468**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Professor do ensino superior**Endereço:** Av. Prof. Moraes rego, 1235, Cidade Universitária**Cidade:** Recife**Estado:** PE**CEP:****País:** BRASIL**Telefone:** (81) 212 68959**Fax:****Email:****Documentos anexados**

Tipo Anexo	Nome
Relatório Descritivo	Relatório descritivo.pdf
Reivindicação	Reivindicações.pdf
Desenho	Desenhos.pdf
Resumo	Resumo.pdf

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 26/11/2022 às 13:27, Petição 870220109801

Figura 18 – Processamento de tecidos histológicos



Fonte: Paz (2022).

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

- Os meios de montagem naturais obtidos do processamento da goma resinosa de cajueiro e do látex da jaqueira e da mangueira foram considerados economicamente viáveis e ambientalmente saudáveis, por não serem dissolvidos em solventes químicos como ocorre comumente com as colas comerciais utilizadas na rotina da técnica histológica.
- Preparações permanentes com diferentes amostras (humana, animal e vegetal) processadas com óleo mineral e finalizadas com o uso de meios de montagem naturais mantiveram nitidez e colorações conservadas.
- Independente das colorações utilizadas (rotina ou especiais), a qualidade das preparações permanentes obtidas neste trabalho possibilitou a identificação de estruturas com credibilidade diagnóstica.
- A concordância entre três observadores da área de estudo quanto aos critérios de avaliação (clareza e uniformidade da coloração, nitidez, adequação da coloração nuclear e citoplasmática, presença de artefatos, integridade das estruturas e adequação para avaliação histológica) confirmou-se em termos quantitativos e certificou a eficiência dos meios de montagem naturais.
- Preparações permanentes acompanhadas no período de 2018 a 2022 mantiveram-se sem alterações atendendo o requisito de durabilidade.
- Os meios de montagem naturais foram considerados apropriados para a finalização das preparações permanentes, sendo sugeridos como alternativas aos meios comerciais relativamente tóxicos e amplamente utilizados.

Diante do exposto, acredita-se que os meios de montagem naturais poderão ser gradativamente incorporados à rotina dos Laboratórios de Histotécnica, garantindo-se a qualidade da análise morfológica e principalmente a biossegurança pessoal e ambiental. Neste contexto, novos exsudatos de plantas do Nordeste brasileiro poderão ser testados no procedimento de finalização de preparações (citológicas, histológicas ou embriológicas) utilizadas no ensino, pesquisa ou diagnóstico.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A.E.; DARWISH, S.M.; AYAD, E.H.; EL-HAMAHMY, R.M. Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel. **Food Chemistry**, v. 103, n. 4, p. 1134–1140, 2007.
- ABREU, B.O. de; MESSIAS, I.M. de O.; ARAÚJO, R.J. de O.; FLORÊNCIO, M.S.; SILVA FILHO, J. F. da; MESSIAS, J. B. Substitution of xylol by extra virgin coconut oil in the diaphanization stage of histological routine. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e5911124609, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i1.24609.
- ADENIYI, I.M.; ADEOLA, A.A.; AREGHAN, S.A. Gum Arabic: An alternative mountant in wood histology. **Plants and Environment**, v. 1, n. 2, p. 66-69, 2019.
- AGRA, M.F.; FRANÇA, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 114 - 140, 2007.
- AGUIAR, M.J.N.; SOUSA NETO, N.C. de; BRAGA, C.C.; BRITO, J.I.B. de; SILVA, E.D.V.; SILVA, F.B.R.; BURGOS, N.; VAREJÃO-SILVA, M.A.; COSTA, C.A.R. da. **Zoneamento pedoclimático para a cultura do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) no Nordeste do Brasil e Norte de Minas Gerais**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical/Recife: Embrapa-CNPS-ERP-NE, 2000.
- ALWAHAIBI, N.; ALJARADI, S.; ALAZRI, H. Alternative to xylene as a clearing agent in histopathology. **Journal of Laboratory Physicians**, v. 10, n. 2, p. 189–193, 2018.
- ANDERSON, D. M. W.; BELL, P. C.; MILLAR, R. A. Composition of gum exudates from *Anacardium occidentale*. **Phytochemistry**, 13, pp. 2189-2193, 1974.
- ANKLE, M.; MADHURI, A.R.; PRIYA, S.J. Study to evaluate the efficacy of xylene-free hematoxylin and eosin staining procedure as compared to the conventional hematoxylin and eosin staining: an experimental study. **Journal of Oral Maxillofacial Pathology**, v. 15, n. 2, p. 161-167, 2015.
- ARAÚJO, T.S.L.; COSTA, D.S.; SOUSA, N.A.; *et al.* Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. in rodents. **Journal of Ethnopharmacol.**, v. 174, p. 299-307, 2015.
- ASSUNÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z. Caju *in natura* (*Anacardium occidentale* L.) - carotenóides e vitamina C. In: XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2000, Fortaleza, Ceará. **Resumos Fortaleza: SBCTA**, v. 2, n. 5, p. 101, 2000.
- ASWANI, E.; SHERLIN, H.J.; JAYARAJ, G, *et al.* Efficacy of natural vinegar and diluted lemon water as a deparaffinisation agent in haematoxylin and eosin staining procedure. **Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences**, v. 9, n. 51, p. 3841- 3845, 2020.

AZEEZ, O. S. Production of Gum from Cashew Tree Latex. ***Journal of Practices and Technologies***, n. 7, p. 17-22, 2005.

BALIGA, M. S.; SHIVASHANKARA, A. R.; HANIADKA, R.; et al. Phytochemistry, nutritional and pharmacological properties of *Artocarpus heterophyllus* Lam (jackfruit): A review. ***Food Research International***, v. 44, n. 7, p. 1800–1811, 2011.

BANCROFT, J.D.; GAMBLE, M. **Theory and Practice of Histological Techniques**. 5ª. edition. Churchill Livingstone Publication, 2002, p. 63-108.

BELTRÁN, A. E. et al. Vascular effects of the *Mangifera indica* L. extract (Vimang). ***European Journal of Pharmacology***, v. 499, p. 297–305, 2004.

BHADRA, S.; MOHAN, N.; PARIKH, G.; NAIR, S. Possibility of *Artocarpus heterophyllus* latex as an alternative source for natural rubber. ***Polymer Testing***, v. 79, p. 1-8, 2019.

BHAD, P. R.; BOBDE, M. V.; SIBI, G. Chemical constituents and biological activities of *Artocarpus heterophyllus* Lam (Jackfruit): A review. ***International Journal of Clinical Microbiology and Biochemical Technology***, v. 4, p. 005-009, 2021.

BLEUEL, E.P.; ROEBERS, T.P.; SCHULTING, E.; DEN DUNNEN, W. F. Solvent-free tissue processing using supercritical carbon dioxide. ***Histopathology***, v.61, p. 1198–1208, 2012.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego (MET) – Secretaria de Inspeção do Trabalho (SIT). **Norma Regulamentadora de Segurança e Saúde no Trabalho em Estabelecimentos de Saúde (NR 32)**. Aprovada pela portaria N°. 485 de 11 de novembro de 2005. D.O.U 16 de novembro de 2005.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego (MET) – Riscos Biológicos – Guia Técnico. **Os riscos biológicos no âmbito da Norma regulamentadora n°. 32**. MET 2006.

BROWN, P.A. A review of technique used in the preparation, curation, and conservation of microscope slides at the natural history museum London. ***The Biology Curator***, v. 10, p. 1-33, 1997.

BUESA, R.J. Microwave-assisted tissue processing: real impact on histology workflow. ***Annals of Diagnostic Pathology***, v.11, p. 206-211, 2007.

BUESA, R.J.; PERSKOV, M.V. Histology without xylene. ***Annals of Diagnostic Pathology***, v. 13, p. 246-256, 2009.

CAMPOS, D. A.; RIBEIRO, A. C.; COSTA, E. M.; et al. Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. ***Carbohydrate Polymers***, v. 90, p. 270-274, 2012.

CAPUTO, L.F.G.; GITIRANA, L.B.; MANSO, P.P.A. Técnicas histológicas. In: MOLINARO, E.; CAPUTO, L.; AMENDOEIRA, R. (Org.). **Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV, 2010. p. 89-188.

CARNEIRO-DA-CUNHA, MG; CERQUEIRA, MA; SOUZA, BWS & SOUZA, MP. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p. 379-385, 2009.

CARVALHO, C. de. et al. **Anuário brasileiro da fruticultura 2010**. Santa Cruz do Sul: Ed. Gazeta Santa Cruz, 2010, 128 p.

CASTRO, T.M. et al. Biossegurança e biosseguridade do manuseio do xilol em laboratórios de anatomia patológica. **Brasília Médica**, v. 47, n. 1, p. 100-107, 2010.

CETESB. Companhia de Tecnologia e Saneamento **Ambiental**. **Sistema integrado de gestão para prevenção, recuperação e resposta aos acidentes com produtos químicos: Manual de Orientação**. Marcos Antônio José Lainha, colaboração Edson Haddad, 1992, 45 pp.

CHANDA, I.; CHANDA, S. R.; DUTTA, S. K. Anti-inflammatory activity of a protease extracted from the fruit stem latex of the plant *Artocarpus heterophyllus* Lam. **Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics**, n. 1, p. 70-72, 2009.

CHANDRAKER, R.; RATHOD, V. C.; CHANDRAKER, N. K.; PUNDIR, S.; DIXIT, S.; DESAI, V. Comparison Between Xylene and Coconut Oil in Tissue Processing. **Modern Medical Laboratory Journal**, v. 2, n. 1, p. 96-99, 2019.

CHEN, C.Y.; HE, T.; MAO, X.L.; FRIIS, T. E.; QIN, R. H.; JIAN, Y. T. A novel xylene substitute for histotechnology and histochemistry. **Biotechnology & Histochemistry**, v. 85, p. 231 - 240, 2010.

COE, F.G. & ANDERSON, G.J. Ethnobotany of the Garifuna of Eastern Nicaragua. **Economic Botany**, v. 50, p. 71-108, 1996.

CORDEIRO, M.S.F.; DA SILVA, C.M.B.; VIEIRA, A.C.Q.D.M.; NADVORNY, D.; DE SÁ, L.L.F.; DE SOUZA, F.R.L.; RIBEIRO, A.J. Biopolymers and pilocarpine interaction study for use in drug delivery systems (DDS). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 2, p. 1777-1785, 2017.

COSTA, K.N.S.; PINHEIRO, I.O.P.; CALAZANS, G.T.; NASCIMENTO, M.S. Avaliação dos riscos associados ao uso do xilol em laboratórios de anatomia patológica e citologia. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 32, n. 16, p. 50- 56, 2007.

CULLING, C.F.; ALLISON, R.T.; BARR, WT. **Staining procedure**. Handbook of Cellular Pathology Techniques. 4th ed. London: Buerworths; 1988, p. 146-151.

CUNHA E SILVA, M.C.; SILVA, R.A.O.; MARQUES, L.G.A.; FREITAS, R.M.; SANTOS, M.S.F.; SILVA FILHO, E.C.; SANTOS, M.R.M.C. Aplicação da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) em nanotecnologia. **Anais SIMTEC**, v. 1, n. 1, p. 567-580, 2013.

DA SILVA, D. P. B.; FLORENTINO, I. F.; DA SILVA MOREIRA, L. K.; *et al.* Chemical characterization and pharmacological assessment of cashew gum extract (*Anacardium occidentale* L.), polysaccharide free. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 213, p. 395-402, 2017.

DERESE, S. *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). **Medicinal Spices and Vegetables from Africa**, p. 451-483, 2017.

DIASPRO, A.; FEDERIC, I.F.; ROBELLO, M. Influence of refractive-index mismatch in high-resolution three-dimensional confocal microscopy. **Applied Optics**, v. 41, n. 4, p. 685-690, 2002.

DIONI W. **About microscopy and chemistry of nail polish**. Micscape Magazine, Microscopy UK front page Article library August 2002 Edition; 2002.

ENRÍQUEZ, G.V. **A trajetória de tecnologia dos produtos naturais biotecnológicos derivados na Amazônia**. Belém: 2001. 168 ISBN 85-88307-01-3.

ELEVITCH, C. R.; MANNER, H. I. *Artocarpus heterophyllus* (jackfruit). Species Profiles for Pacific. Island Agroforestry. **Permanent Agriculture Resources (PAR)**, Holualoa, Hawai'i, p. 1-17, 2006.

EPA. **Toxicological review of Xylenes** (CASRN 1330-20-7). National Center for Environmental Assessment, Washington, DC, 2003. Available from: <http://www.epa.gov/IRIS/Toxreviews/0270-tr.pdf>.

FALKEHOLM, L.; GRANT, C. A; MAGNUSSON, A.; MÖLLER, E. Xylene-free method for histological preparation: a multicentre evaluation. **Laboratory Investigation**, v. 81, p. 1213–1221, 2001.

FLORÊNCIO, A.P.S.; MELO, J.H.L.; MOTA, C.R.F.C.; *et al.* Estudo da atividade anti-tumoral do polissacarídeo (PJU) extraído de *Anacardium occidentale* frente a um modelo experimental do sarcoma 180. **Revista Eletrônica de Farmácia**, n. 4, p. 61-65, 2007.

FONSECA, K. C., *et al.* Purification and biochemical characterization of Eumiliin from *Euphorbia milii* var. *hislopii* latex. **Phytochemistry**, v. 71, n. 7, p. 708-715, 2010.

FUENTE, *et al.* A Hearing Loss Associated with Xylene Exposure in a Laboratory Worker. **Journal American Academic Audiology**, v. 23, n. 10, p. 824-830, 2012.

FURTADO, R. A. A., ET AL. (2019). Ação do gel *Anacardium occidentale* L. associado ao ultrassom terapêutico no processo de cicatrização em camundongos. **Revista Saúde (Santa Maria)**, v. 45, n. 2, p.15.

GARDNER, R. A statistical analysis of data on exposure to xylene at selected workplaces in the U.K. *Annals of Occupational Hygiene*, v.40, n.4, p. 411-22, 1996.

GARRIDO, G.; GONZÁLEZ, D.; DELPORTE, C.; BACKHOUSE, N.; QUINTERO, G.; NÚÑEZ-SELLÉS, A.J.; MORALES, M.A. Analgesic and Antiinflammatory Effects of *Mangifera indica* L. Extract (Vimang). *Phytotherapeutic Research*, v. 15, n. 1, p. 18–21. 2001.

GARRIDO-SUÁREZ, B.B.; GARRIDO, G.; DELGADO, R.; BOSCH, F.; DEL C RABÍ, M. A *Mangifera indica* L. extract could be used to treat neuropathic pain and implication of mangiferin. *Molecules*, v. 15, n. 12, p. 9035-9045, 2010.

GIRON, L.M.; FREIRE, V.; ALONZO, A.; CACERES, A. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 34, p. 173 – 187, 1991.

GLICKSMAN M.; SAND R. E. **Industrial gums, Polysaccharide, and their derivative**. Edited by Whistler R.L. and Miller B. T., 1973, p. 119-230.

GOWTHAMARAJAN, K., *et al.* Preliminary study of *Anarcadium occidentale* gum as binder in formulation of paracetamol tablets. *Carbohydrate polymers*, v. 83, p. 506-511, 2011.

GUPTA, A. K. & TANDON, N. **Review on Indian Medicinal Plants**. New Delhi, India: Indian Council of Medical Research, 2004.

HAMBURGER, V.; HAMILTON, H. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Journal of Morphology*, v.88, p.49-92, 1951.

HASSAN, K. M.; DANN, E. K., IRVING, D. E.; COATES, L. M. Concentrations of constitutive alk(en)ylresorcinols in commercial mango varieties and resistance to postharvest anthracnose. *Physiological and Molecular Plant pathology*, n. 71, v.4-6, p. 158-165, 2007.

HOLMES, R. J.; O'HARE, T. J.; UNDERHILL, S. J. R.; LEDGER, S. N.; BALLY, I. S. E.; MACLOED, W. N. B.; FERGUSON, J.; BOWDEN, B. F.; LANDRIGAN, M. FR440: **Mango skin browning**. Horticultural Research and Development Corporation, Gordon, New south wales, Australia. 1999, p. 50-57.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. ANVISA. <https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>, 2008.

JACOBSON, G.A.; McLEAN, S. Biological monitoring of low-level occupational xylene exposure and the role of recent exposure. *Annals of Occupational Hygiene*, v. 47, n. 4, p. 331-336, 2003.

JAFARI, S.M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y & BHANDARI, B. Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. ***Drying Technology***, v. 6, n. 7, 816-835, 2008.

JAGTAP, U.B.; PANASKAR, S.N.; BAPAT, V. A. Evaluation of antioxidant capacity and phenol content in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) fruit pulp. ***Plant Foods for Human Nutrition***, v. 65, p. 99–104, 2010.

JOEL, D, M. The duct system of the base and stalk of the mango fruit. ***Botanical Gazette***, n. 142, v. 3, p. 329-333, 1981.

JOEL, D, M. Resin ducts in the mango fruit: A defence system. ***Journal of Experimental Botany***, v. 125, n. 31, p. 1707-1718, 1980.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. **Histologia básica: texto e atlas**. 13^a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017, p. 1-20.

HAQ, N. **Fruits for the Future 10 – Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*)**. Monographs - Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton/UK, 2006, 192p.

IWU, M.M. **Handbook of African Medicinal Plants** (2nd edition), CRC Press, Boca Raton, FL, 1993.

KANDYALA, R., RAGHAVENDRA, S.P., RAJASEKHARAN, S.T. Xileno: Uma visão geral de seus perigos para a saúde e medidas preventivas. ***Journal of oral and maxillofacial pathology***, 14 (1), 1–5, 2010.

KARUNANAYAKE, K. O. L. C. A qualitative analysis of mango (*Mangifera indica* L.) latex and anatomy of latex canals. ***JSc EUSL***, v. 10, n. 2, p. 11-20, 2019.

KARUNANAYAKE, K. O. L. C.; SINNIH, G. D.; ADIKARAM, N. K. B., ABAYASEKARA, C, L., AND WIJAYASEKARA, D, S. Retention of latex at harvest enhanced mango (*Mangifera indica* L.) fruit resistance and reduced anthracnose and stem-end rot. ***Australasian Plant Pathology***, n. 44, v. 1, p. 113-119, 2015.

KERETETSE, G. S. et al. DNA damage and repair detected by the comet assay in lymphocytes of African petrol attendants: a pilot study. ***Annals of Occupational Hygiene***, v. 52, n. 7, p. 653-662, 2008.

KITTIPHOOM, S. SUSTASINEE, S. Mango seed kernel oil and its physicochemical properties. ***International Food Research Journal***, v. 20, n. 3, p. 1145-1149, 2013

KRAUS, J.E. & ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro, EDUR, 1997.

KUM, C.; KIRAL, F.; SEKKIN, S.; SEYREK, K.; BOYACIOGLU, M. Effect of xylene and formaldehyde inhalations on oxidative stress in adult developing rats' livers. ***Experimental animals***, v. 56, n. 1, p. 35-42, 2007.

KUNHUA, W., CHUMING, F., TAO, L., YANMEI, Y., XIN, Y., XIAOMING, Z., et al. A novel non-toxic xylene substitute (sbo) for histology. ***Afr J Tradit Complement Altern Med***, v. 9, n. 1, p. 43-49, 2012.

LANDIS, J.R.; KOCK, G.G. The measurement of observer agreement for contrasts among multinomial populations. ***Biometrics***, v. 33, p. 159-174, 1997.

LICÁ, ICL; DOS SANTOS SOARES, AM.; DE MESQUITA, LSS & MALIK, S (2018). Biological properties and pharmacological potential of plant exudates. ***Food Research International***, v. 105, p. 1039-1053.

LIM, T. K. Anacardium occidentale. ***Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants***, Chapter 6, 2012, p. 45–68.

LOPES, L.; MILAS, M.; RINAUDO, M. Influence of the method of purification on some solution properties of welan gum. ***International Journal of Biological Macromolecules***, v. 16, n. 5, p. 253-258, 1994.

LOVE, V.; PAULL, R. E. **Jackfruit. Fruits and Nuts**. University of Hawaii at Manoa, University of Hawaii at Manoa, USA, 2011.

MAIA, G. A.; MONTEIRO, J. C. S.; GUIMARÃES, A. C. L. Estudo da estabilidade físico-química e química do suco de caju com alto teor de polpa. ***Ciência e Tecnologia de Alimentos***, v. 21, n. 1, p. 43-46, 2001.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. G. B. Volatile constituents of the leaves, fruits and flowers of cashew (*Anacardium occidentale* L.). ***Journal of food composition and analysis***, v. 13, p. 227-232, 2000.

MAKARE, N.; BODHANKAR, S.; RANGARI, V. Immunomodulatory activity of alcoholic extract of *Mangifera indica* L. in mice. ***Journal of Ethnopharmacology***, v. 78, p. 133–137. 2001.

MARSIGLIA-FUENTES, R.; QUINTANA, S.E.; ZAPATEIRO, L.A.G. Novel Hydrocolloids Obtained from Mango (*Mangifera indica*) var. Hilaza: Chemical, Physicochemical, Techno-Functional, and Structural Characteristics. ***Gels***, v. 8, p. 354, 2022.

MARTINS-DA-SILVA, R.C.V., SILVA, A.L., FERNANDES M.M., MARGALHO, L.F. **Noções morfológicas e taxonômicas para identificação botânica** / Martins-da-Silva [et al.]. – Brasília, DF : Embrapa, 2014

MAZZETTO, S.E. & LOMONACO, D. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. ***Química Nova***, v. 32, p. 732-741, 2009.

MERCK. **The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals**. New Jersey: Whitehouse Station, p. 1722-1723, 1996.

- MICHALANY, J. Operações fundamentais da técnica histológica. In: **Técnica Histológica em Anatomia Patológica**. São Paulo: Editora Michalany LTDA, cap. II, 1998, p. 24-31.
- MIRANDA, R. L. Cashew tree bark secretion – perspectives for its use in protein isolation strategies. **Open Glycoscience**, v. 2, p. 16-19, 2009.
- Miranda, J. A. L., et al. (2019). Protective Effect of Cashew Gum (*Anacardium occidentale* L.) on 5-Fluorouracil-Induced Intestinal Mucositis. **Pharmaceutical**, v. 12, n. 2, p. 51.
- MIRHOSSEINI, H.; AMID, B. T. Influence of chemical extraction conditions on the physicochemical and functional properties of polysaccharide gum from durian (*Durio zibethinus*) seed. **Molecules**, v. 17, p. 6465-6480, 2012.
- MIRZA B, CROLEY CR, AHMAD M, PUMAROL J, DAS N, SETHI G, BISHAYEE A. Mango (*Mangifera indica* L.): a magnificent plant with cancer preventive and anticancer therapeutic potential. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 61, n. 13, p. 2125-2151, 2021.
- MEKKRIENGKRAI, D.; et al. Structural characterization of rubber from jackfruit and euphorbia as a model of natural rubber. **Biomacromolecules**, v. 5, n. 5, p. 2013-2019, 2004.
- MONTHÉ, C.G.; RAO, M.A. Thermal behavior of gum arabic in comparison with cashew gum. **Thermochimica Acta**, v. 357-358, p. 9-13, 2000.
- MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. (Org.). **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, v. 2, 2010, p. 89 – 122.
- MOURA, C. F. H.; ALVES, R. E.; INNECCO, R. et al. Physical characteristics of cashew apples for fresh fruit market. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 537-540, 2001.
- MORFFI, J. et al. Antimutagenic Properties of *Mangifera indica* L. Stem Bark Extract and Evaluation of its Effects on Hepatic CYP1A1. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 3, p. 223-228, 2012.
- MOTHE, C.G.; SOUZA, I.A.; CALAZANS, G.M.T. Antitumor activity of cashew gum from *Anacardium occidentale* L. Agro food industryhi-tech. **Med. Nutr.**, v. 19, p. 50-52, 2008.
- MWAURAH, PW; KUMAR, S; KUMAR, N, et al. Physicochemical characteristics, bioactive compounds and industrial application of mango kernel and its products: A review. **Compr Rev Food Sci Food Saf**, v.1, p.2421– 2446, 2020.

- NAKAMURA, A.; YOSHIDA, R.; MAEDA, H.; CORREDIG, M. Soy soluble polysaccharide stabilization at oil-water interfaces. *Food hydrocolloids*, v. 20, n. 2-3, p. 277-283, 2006
- NEGI, A.; PURI, A.; GUPTA, R.; CHAUHAN, I.; NANGIA, R.; SACHDEVA, A. Alternativa biosafe ao xileno: um estudo comparativo. *Journal of oral and maxillofacial pathology*, v. 17, n. 3, p. 363-366, 2013.
- NEGI, P. S.; JOHN, K. S.; RAO, U. Antimicrobial activity of mango sap. European Food *Research and Technology*, 214: 327-330, 2002.
- NEPACINA, M.; LINIS, V.; JANAIRO, J. Physical characterization of latex from *Artocarpus heterophyllus* Lam.(jackfruit) and four related *Artocarpus* spp. *Mater.*, 833, 107-117, 2020.
- NOVAES, T. E. R.; NOVAES, A. S. R. Analysis of the medicinal potentials of cashew tree (*Anacardium occidentale* Linn): a brief review. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 1, p. e41810111838, 2021.
- OJEWOLE, J. A. Laboratory evaluation of the hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* L. (*Anacardiaceae*) stem-bark extracts in rats. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 25, p. 199-204, 2003.
- OJEWOLE, J. A. Anti-inflammatory, analgesic and hypoglycemic effects of *Mangifera indica* Linn. (*Anacardiaceae*) stem-bark aqueous extract. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*, v. 27, n. 8, p. 547-54, 2005.
- OLIVEIRA, L. F. de. **Efeito dos parâmetros do processo de desidratação de jaca (*Artocarpus heterophyllus*, Lam.) sobre as propriedades químicas, físico-químicas e a aceitação sensorial.** 2009. 121p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.
- OLIVER-BEVER, B. Medicinal Plants in Tropical West Africa. **Cambridge University Press**, London, 1986.
- ONO, M.; MURAKAMI, T.; KUDO, A.; ISSHIKI, M.; SAWADA, H.; SEGAWA, A. Quantitative Comparison of Anti-Fading Mounting Media for Confocal Laser Scanning Microscopy. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, v. 49, n. 3, p. 305-312, 2001.
- PALMA, R.L. Slide-mounting of Lice: a detailed description of the Canadá Balsam technique. *The New Zealand Entomologist*, v. 6, p. 432-436, 1978.
- PARDO-ANDREU, G. L. et al. Protective effects of *Mangifera indica* L extract (Vimang), and its major component mangiferin, on iron-induced oxidative damage to rat serum and liver. *Pharmacology Research*, v. 57, p. 79-86, 2008.

PATRO, C. & BEHERA, R.N. Cashew helps to fix sand dunes in Orissa. *Indian Farming*, 28, p. 31-32, 1979.

PAZ, S.T. **Metodologia inovadora sem uso do xilol para a técnica histológica de rotina**. 2017, 68 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Patologia) - Programa de Pós-Graduação em Patologia, do Departamento de Patologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2017.

PRAKASH, O.; KUMAR, R.; MISHRA, A.; GUPTA, R. *Artocarpus heterophyllus* (Jackfruit): An overview. *Pharmacognosy Review*, n. 3, p. 353–358, 2009.

RAI, R. YADAV, R.; BHARDWAJ, A. Biosafe substitutes to xylene: Review. *International Journal of Information Research and Review*, v. 3, n. 6, p. 2529-2532, 2016

RAJAN, S.; THIRUNALASUNDARI, T.; JEEVA, S. Anti-enteric bacterial activity and phytochemical analysis of the seed kernel extract of *Mangifera indica* Linnaeus against *Shigella dysenteriae* (Shiga, corrig.) Castellani and Chalmers. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 4, n. 4, p. 294- 300, 2012.

RAMAMOORTH, A.; RAVI, S.; JEDDY, N.; THAGAVELU, R.; JANARDHANAN, S. Natural alternatives for chemicals used in histopathology Lab-A Literature Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, v. 10, n. 11, p. EE01-EE04, 2016.

RANASINGHE, R.; MADUWANTHI, S.; MARAPANA, R. Nutritional and Health Benefits of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.): A Review. *International journal of food science*, 2019, 1-12, 2019.

RAHMAWATI, S.; WULAN, A. J.; UTAMI, N.; JAYA, B. P. D. Preliminary study: the potency of vegetable cooking oil as alternative clearing agent for histological preparation. *International Conference on Agromedicine and Medical Sciences* (ICAMS), 2020.

RAVIKUMAR, S.; SUREKHA, R.; THAVARAJAH, R.; SACRAMENTO, C. K.; MOURA, J. I. L.; COELHO JUNIOR, E. Graviola. In: SANTOS-SEREJO, J. A. et al. (eds.). Mounting media: An overview. **Fruticultura tropical: espécies regionais e exóticas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2014, p. 95-132.

RENSHAW S. **Immunochemical staining techniques**. *Immunochemistry: methods Express*. Bloxham: Scion Publishers. 2007, p. 46-95.

RODRIGUES, J.F.; DE PAULA, R.C.M.; COSTA, S.M.O. Métodos de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). *Polímeros: Ciência e Tecnologia, São Carlos, ano III*, v.1, p. 31- 36, 1993.

SABY, J.K.; JAGAN, M.R.; BHAT, S.G.; PRASAD RAO, U.J. S. Characterization of aroma components of sap from different Indian mango varieties. *Phytochemistry*, n. 52, v. 5, p. 891-894, 1999.

SABY, J K.; BHAT, S.G.; PRASAD RAO, U.J.S. Biochemical characterization of sap (latex) of a few Indian mango cultivars. **Phytochemistry**, v. 52, p. 891-894, 2003.

SAHA R. K.; JAMIRUDDIN, M.; ACHARYA, S. Analysis of lectins isolated from seed and testa of *Artocarpus heterophyllus* LAM. **International Journal of Current Research in Chemistry and Pharmaceutical Science**, n. 2, p. 65-75, 2015.

SAHA, S.; SARKER, M.; HAQUE, A.R.; NAYEEM, T.A.; MAUKEEB, A.R.MD. A review on tropical fruit: jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*). **Asian Journal of Advances in Research**, v. 13, n. 2, p. 25-34, 2022.

SAIFY, F.; TIWARI, N. Mounting Media - An Untouched Aspect. *Oral and Maxillofacial Pathology Journal*, v. 11, n. 1, p. 20-24, 2020.

SAIRAM, K., et al. Evaluation of anti-diarrhoeal activity in seed extracts of *Mangifera indica*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, p. 11-15, 2003.

SAMROT, A. V.; SEAN, T. C. Investigating the Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jackfruit) Latex. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, 12 (3), p. 3019-3033, 2022.

SÁNCHEZ, G. M. S., et al. Protective effects of *Mangifera indica* L. extract, mangiferin and selected antioxidants against TPA-induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice. **Pharmacological Research**, v. 42, n. 6, p. 565-573, 2000.

SANDIKCI, M.; SEYREK, K; AKSIT, H.; KOSE, H. Inhalation of formaldehyde and xylene induces apoptotic cell death in lung tissue. **Toxicology and Industrial Health**, v. 25, p. 455-461, 2009.

SANTOS-SEREJO, J.A.; DANTAS, J.L.L.; SAMPAIO, C.V.; COELHO, Y.S. **Fruticultura tropical - espécies regionais e exóticas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2009. 509 p.

SANCHO, S. De O.; MAIA, G. A.; De FIGUEIREDO, R. W.; RODRIGUES, S.; De Sousa, P. H. M. Alterações químicas e físico-químicas no processamento de suco de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 878-882, 2007.

SARAVANAKUMAR, P.; BHARANIDHARAN, R.; RAMADOSS, R.; ARAVIND; KUMAR, A. R. Efficacy of “groundnut oil” and “coconut oil” as a substitute for “xylene” in clearing tissues samples – A comparative study. **Journal of Research in Dental Sciences**, v. 10, n. 4, p. 194-196, 2020.

SATO, M.; FUJIWARA, S.; TSUCHIYA, H.; et al. Flavones with antibacterial activity against cariogenic bacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 54, p. 171-176, 1996.

SELLÉS, A. J. N., et al. Isolation and Quantitative Analysis of Phenolic Antioxidants, Free Sugars, and Polyols from Mango (*Mangifera indica* L.) Stem Bark Aqueous

Decoction Used in Cuba as a Nutritional Supplement. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, v. 50, p. 762–766, 2002.

SERMADI, W.; PRABHU, S.; ACHARYA, S.; JAVALI, S. B. Comparing the efficacy of coconut oil and xylene as a clearing agent in the histopathology laboratory. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, v. 18, n. 1, p. 49-53, 2014.

SHAFI, M.; MEHMOOD, S.; YASMIN, A.; KHAN, S.J.; KHAN, N.H.; ALI, S. Evaluation of phytochemical, nutritional and antioxidant activity of indigenously grown jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam). *J Journal of Scientific Research*, v. 9, n. 1, p. 135-143, 2017; 9: 135-143.

SHAH, K.A., PATEL, R.J., PARMAR, P.K. *Mangifera indica* (mango). *Pharmacognosy Reviews*, v. 4, p. 42–48, 2010.

SILVA, R.A.O.; MARQUES, L.G.A.; DE FREITAS, R.M.; DOS SANTOS, M.S.F.; SILVA FILHO, E.A.; DO Ó PESSOA, C.; SANTOS, M.R.M.C. Prospecção tecnológica: aplicação da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) em nanotecnologia. *Revista GEINTEC - Gestão, Inovação e Tecnologias*, v. 3, n. 4, p. 55-69, 2013.

SIRITAPETAWE, J.; THAMMASIRIRAK, S.; SAMOSORNUSUK, W. Antimicrobial activity of a 48-kDa protease (AMP48) from *Artocarpus heterophyllus* latex. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.*, 16, 132–137, 2012.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem.*, 88, 411-417, 2004.

SOUZA, A. C. R. **Contribuição para o uso da goma de cajueiro como um insumo industrial.** UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA FORTALEZA, 2014.

SOUZA, L.A. de. **Morfologia e Anatomia Vegetal: célula, tecidos, órgãos e plântula.** Ponta Grossa: Editora UEPG, 2003. 259p.

SUNDARRAJAN, K.S.; POTTAIL, L. Green synthesis of bimetallic Ag@Au nanoparticles with aqueous fruit latex extract of *Artocarpus heterophyllus* and their synergistic medicinal efficacies. *Applied Nanoscience*, v. 11, p. 971–981, 2021.

SUDARSHAN, S.R.; TRUST, V.P.C.; RAO, S.K.R. Encyclopedia of Indian Medicine 4, *Popular Prakashan*, p. 116, 1985.

SWAMI, S.B.; THAKOR, N.J.; HALDANKAR, P.M.; KALSE, S.B. Jackfruit and its many functional components a related to human health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 11, p. 565-576, 2012.

SWUAMY, S.R.G.; NANDAN, S.R.; KULKARNI, P.G.; RAO, T.M.; PALAKURTHY, P. Bio-Friendly Alternatives for Xylene – Carrot oil, Olive oil, Pine oil, Rose oil. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 9, n. 11, p. ZC16–ZC18, 2015.

TAING, M. W., et al. Mango fruit peel and flesh extracts affect adipogenesis in 3T3-L1 cells. **Food Function**, v. 3, n. 8, p. 828-836, 2012

TOLOSA, E.M.C., et al. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. Editora Manole, 2ª edição, Barueri - São Paulo, 2003.

TORQUATO, D. S.; FERREIRA, M. L.; SÁ, G.C.; BRITO, E.S.; PINTO, G.A.S.; AZEVEDO, E.H.F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, n. 20, p. 505-507, 2004.

TSAMIYA, R.I.; MUHAMMAD, H.T.; MOHAMMED, M.O.; ABUBAKAR, U.; MOHAMMED, I.; MUHAMMAD, A.T.; AJAYI, A.S. **Journal of Medical Laboratory Science**, v. 31, n. 1, p. 43-53, 2021.

TSIAKA, T., SINANOGLU, V. J., & ZOUMPOULAKIS, P. Extracting bioactive compounds from natural sources using green highenergy approaches: **Trends and opportunities in lab-and largescale applications**. In A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Ingredients extraction by physicochemical methods in food*. London: Academic Press. 2017, p. 307– 365.

VALEXPOR. **Associação dos produtores e exportadores de hortifrutigranjeiros do Vale do São Francisco**. Petrolina, PE, 2003. 16p.

VAZQUEZ-GONZALEZ, Y.; RAGAZZO-SANCHEZ, J. A.; CALDERON-SANTOYO, M. Characterization and antifungal activity of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) leaf extract obtained using conventional and emerging technologies. **Food Chemistry**, v. 330, p. 127211, 2020.

VILLETTI, M.A. **Determinação do Coeficiente de viscosidade pelo Viscosímetro de Oswald**, 2010. Documento eletrônico disponível em <<http://w3.ufsm.br/juca/viscosidade.pdf>>.

YAMASSAKI, F.T.; LENZI, R.M.; CAMPESTRINI, L.H.; *et al.* Effect of the native polysaccharide of cashew-nut tree gum exudate on murine peritoneal macrophage modulatory activities. **Carbohydrate Polymers**, v. 125, p. 241-248, 2015.

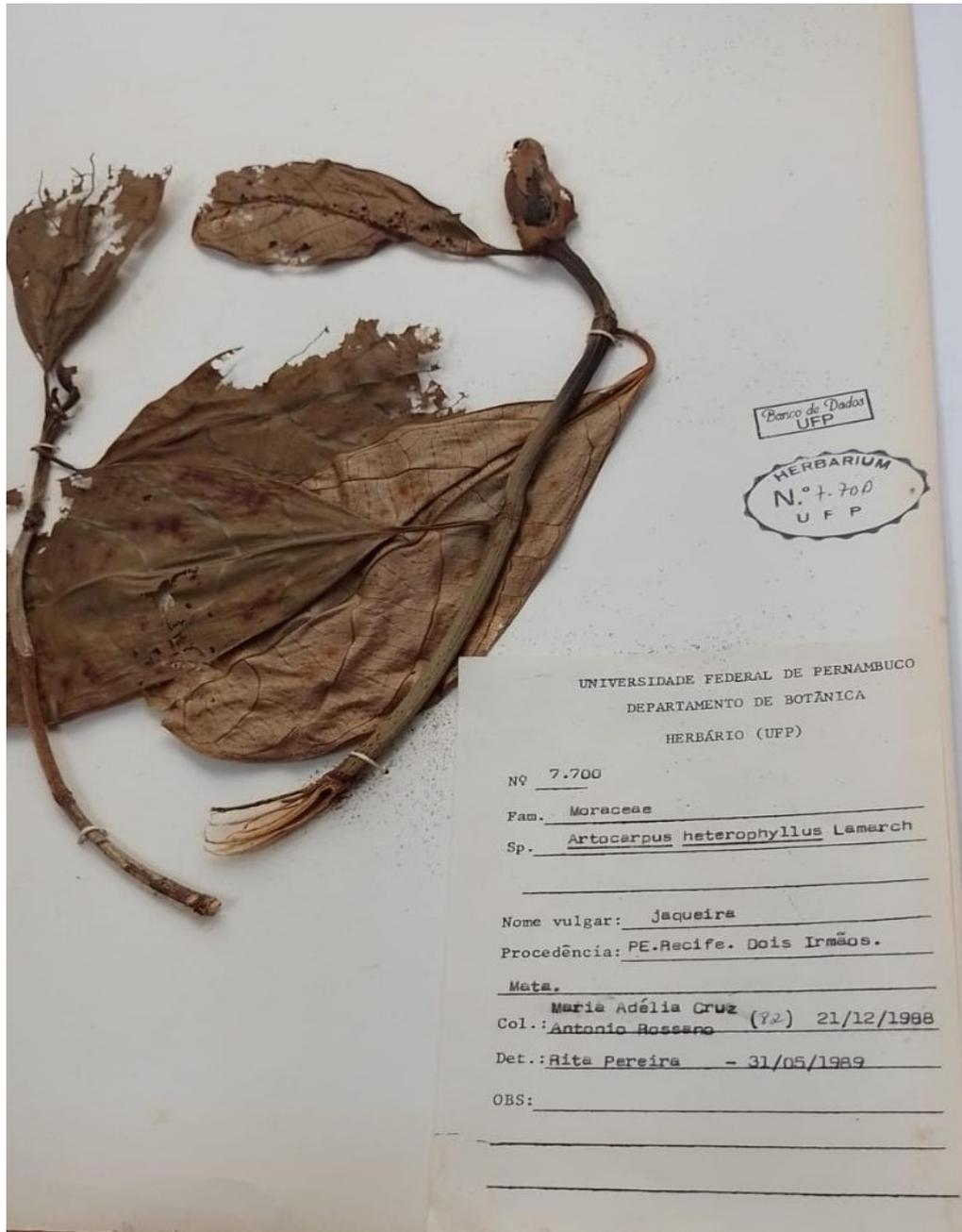
ZHANG, L.; TU, Z.C.; XIE, X.; WANG, H.; WANG, H.; et al. Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) peel: A better source of antioxidants and α -glucosidase inhibitors than pulp, flake and seed, and phytochemical profile by HPLC-QTOF-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 234, p. 303-313, 2017.

ZHANG Y, ZUO H, XU F, ZHU K, TAN L, et al. The digestion mechanism of jackfruit seed starch using improved extrusion cooking technology. **Food Hydrocolloids**, v. 110, p. 106-154, 2004.

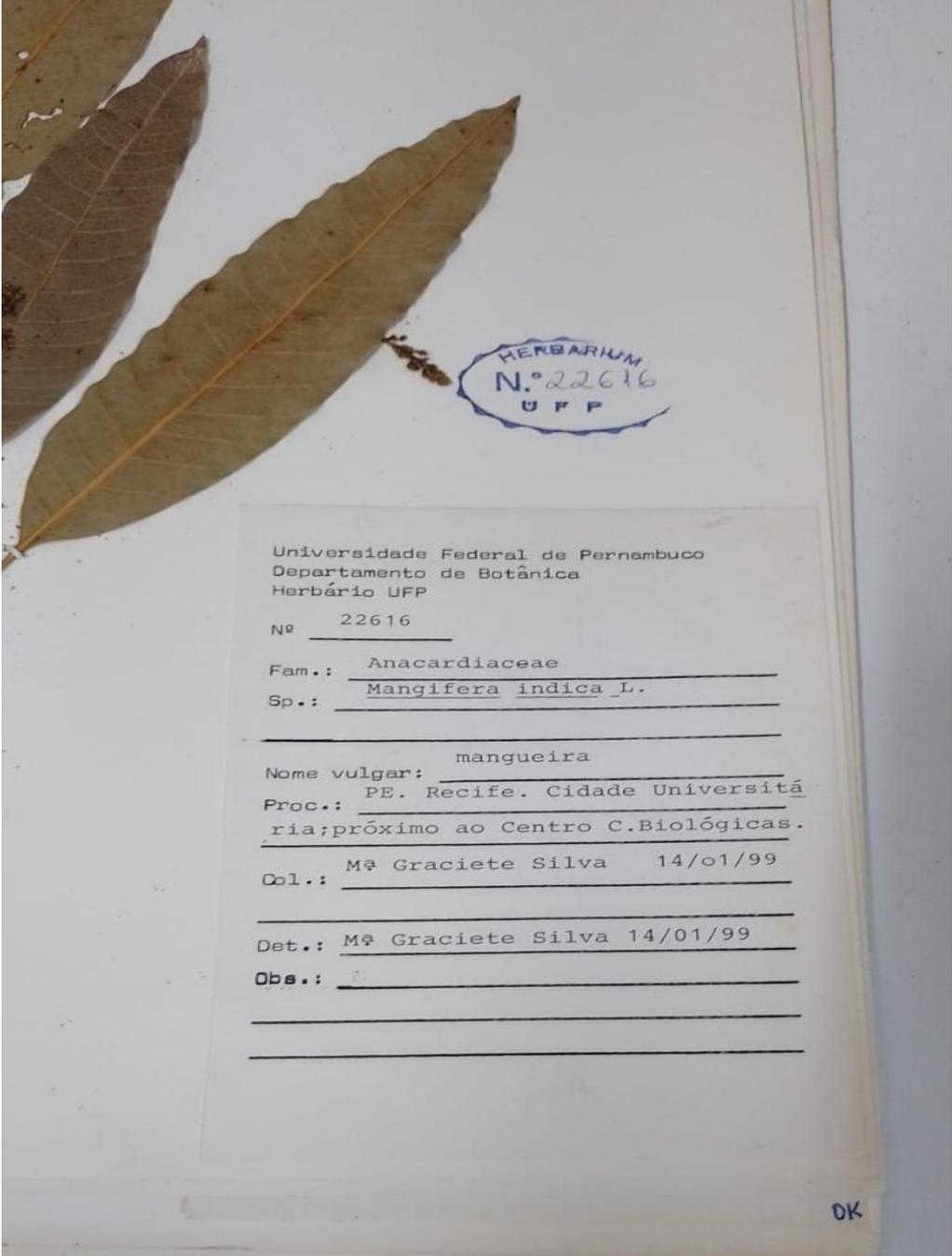
ZORTÉA, MEB., DEMIATE, IM., PRAXEDES, MA., & WOSIACKI, G. Avaliação da viscosidade aparente de pastas de amidos nos viscosímetros Brookfield RVDV-II+ PRO e rápido visco-analisador RVA-4. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n.1, 2011.

ANEXOS

ANEXO A – REGISTRO DE DEPÓSITO DE EXEMPLAR DE *ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS* LAM. NO HERBÁRIO UFP GERALDO MARIZ DO CENTRO DE BIOCÊNCIAS DA UFPE (Nº: 7.700).



ANEXO B – REGISTRO DE DEPÓSITO DE EXEMPLAR DE *MANGIFERA INDICA* L. NO HERBÁRIO UFP GERALDO MARIZ DO CENTRO DE BIOCÊNCIAS DA UFPE (Nº: 22616)



HERBARIUM
N.º 22616
UFP

Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Botânica
Herbário UFP

Nº 22616

Fam.: Anacardiaceae

Sp.: Mangifera indica L.

Nome vulgar: mangueira

Proc.: PE. Recife. Cidade Universitária; próximo ao Centro C. Biológicas.

Col.: Mª Graciete Silva 14/01/99

Det.: Mª Graciete Silva 14/01/99

Obs.: _____

DK

ANEXO C – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE: OFÍCIO N.º 110/16.



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351

fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 23 de novembro de 2016.

Ofício nº 110/16

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.ª Paloma Lys de Medeiros**
Departamento de Histologia e Embriologia
Centro de Biociências
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 0041/2016

Certificamos que a proposta intitulada “**Metodologia inovadora sem uso de xilol para a técnica histológica de rotina**”, registrada com o nº **0041/2016**, sob a responsabilidade de **Prof.ª Paloma Lys de Medeiros** - 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 23/11/2016.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Até 20/10/2018
Espécie/linhagem/raça	Ratos <i>Wistar</i> albinos
Nº de animais	06
Peso/idade	250g/adultos
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Biotério do Departamento de Nutrição – CCS/UFPE

Atenciosamente,

ANEXO D – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE: OFÍCIO N.º 40/22.



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

Recife, 06 de junho de 2022

Ofício nº 40/22

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.ª Teresinha Gonçalves da Silva**

Departamento de Antibióticos

Processo nº 108/2021

Certificamos que a proposta intitulada **“uso de resinas naturais de plantas do nordeste brasileiro na técnica histológica de rotina como alternativa de meios de montagem economicamente viáveis e ambientalmente saudáveis.” Registrado com o nº 108/2021** sob a responsabilidade de **Prof.ª Teresinha Gonçalves da Silva** o 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 31/05/2022

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	31/05/2022 / 31/12/2022
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico
Nº de animais	04 animais
Peso/Idade	270g/ Adulto
Sexo	(04) fêmea (04) Macho
Origem: Biotério de Criação	Biotério de Criação José Paulino Ventura Ramos do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério de Criação José Paulino Ventura Ramos do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Atenciosamente


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



**ANEXO E - APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)
DA UFPE: OFÍCIO N.º 37/18.**



**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências**

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50470-420 / Recife - PE - Brasil
Fones 3126 8840 / 3126 8312
www.cobi.ufpe.br

Recife, 13 de junho de 2018

Ofício nº 37/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para **Prof.ª Eliete Cavalcanti da Silva**
Departamento de Histologia e Embriologia
Centro de Biociências
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.010939/2018-31

Certificamos que a proposta intitulada "**Caracterização morfológica de embriões de Galos gallus domesticus L. exposta a produtos naturais e sintéticos bioativos com ênfase no desenvolvimento dos sistemas nervoso e cardiovascular e teratogênese**", Registrada com o nº 23076.010939/2018-31 sob a responsabilidade de **Prof.ª Eliete Cavalcanti 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 06/06/2018

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	11/06/2018 a 01/05/2022
Espécie/linhagem/raça	Embriões de Galos gallus domesticus
Nº de animais	1200
Peso/idade	Embriões
Sexo	Machos e fêmea
Origem	G-3 Agrovicola Ltda

Atenciosamente,

Pedro V. Carreira

 Prof. Dr. Pedro V. Carreira
 Presidente da CEUA/UFPE
 UFPE 54461

ANEXO F – DECLARAÇÃO DE LIBERAÇÃO DE ACESSO E COLETA DE MATERIAL DA BLOCOTECA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE TRANSLACIONAL – CM/UFPE.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional

Recife, 31 de abril de 2021

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que autorizo a doutoranda **SILVANIA TAVARES PAZ** (SIAPE: 1133375) a ter acesso a blocoteca desta pós-graduação a fim de coletar blocos com amostras de diferentes tecidos (cérebro, meninges e intestino) para desenvolver estudos referentes ao seu projeto de pesquisa.

Mario Ribeiro de MELO-JÚNIOR

Coordenador PPGST
SIAPE: 3617065

ANEXO G – CARTA DE ACEITE DE MANUSCRITO PARA PUBLICAÇÃO (2022).

RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT

Letter of Acceptance

The manuscript entitled "Goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) utilizada como alternativa de meio de montagem na técnica histológica", submitted on "09/03/2022" was accepted for publication and will be published within 30 days in the Research, Society and Development Journal - ISSN 2525-3409.

The manuscript is authored by:

Silvania Tavares Paz, Emanuela Paz Rosas, Thiago Barbosa Cahú, Cláudio Gabriel Rodrigues, Teresinha Gonçalves da Silva and Paloma Lys de Medeiros.

São Paulo, September 20, 2022, Brazil.



Dr. Ricardo Shitsuka
Editor