



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNANBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

ADRIANO BARBOSA DA SILVA

DESCRIÇÃO DA AÇÃO CICATRIZANTE E TOXICIDADE DO EXTRATO
AQUOSO DE *Psidium guajava* L. GOIABEIRA EM RATOS WISTAR

RECIFE

2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

ADRIANO BARBOSA DA SILVA

**DESCRIÇÃO DA AÇÃO CICATRIZANTE E TOXICIDADE DO EXTRATO
AQUOSO DE *Psidium guajava* L. GOIABEIRA EM RATOS WISTAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal Tropical.

Orientador:

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira

Co-orientadora:

Prof^a. Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira

Co-orientadora:

Dr^a. Ismaela Maria Ferreira de Melo

RECIFE

2020

ADRIANO BARBOSA DA SILVA

DESCRIÇÃO DA AÇÃO CICATRIZANTE E TOXICIDADE DO EXTRATO

AQUOSO DE *Psidium guajava* L. GOIABEIRA EM RATOS WISTAR

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal Tropical.

Aprovado em ____ de fevereiro de 2020.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira - (Orientador)

Profa. Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira - UFRPE

Prof. Dr. Anísio Francisco Soares – UFRPE

Dr^a. Ismaela Maria Ferreira de Melo – BOLSISTA PNPB UFRPE

Prof. Dr. Bruno Mendes Tenório - UFPB

"DEDICO a minha mãe, Sr^a. Edjane Barbosa da Silva, incansável em sua generosidade, dedicação e apoio em toda minha vida. Obrigado por tudo".

AGRADECIMENTOS

À Deus por me fazer parte de sua criação e pelo amparo nos momentos mais difíceis quando precisei.

Aos meus pais pela compreensão, afeto e apoio durante todos os anos em que estivemos juntos.

À Profa. Rosa Maria Nunes Galdino, pela amizade, apoio, colaboração e ensinamentos responsáveis por minha persistência em alcançar meus objetivos. Sempre serei grato por seus ensinamentos, sua companhia, seu carinho, não só comigo, mas com todos que precisam de você. Que Deus continue abençoando sua vida.

À minha querida esposa que em tão pouco tempo tornou-se meu alicerce, meu ponto de refúgio e minha confidente nos momentos tristes e alegres. Te amarei para sempre.

À técnica Rosa Nunes da Área de Microbiologia pela confiança, pelas oportunidades, apoio e incentivo.

À Profa. Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira, por sua gentileza e disponibilidade com seus alunos na resolução de questões técnicas.

Ao Prof.^o Dr.^o. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira, por me ter aceito em seu grupo de trabalho, por ter me depositado sua confiança, por sua fundamental orientação, disponibilidade e apoio durante a realização deste trabalho. Lhe serei eternamente grato, obrigado.

Ao Doutorando e colega de laboratório Erique Alves, pela incansável assistência no desenvolvimento de atividades de laboratório.

Ao Doutorando e colega de laboratório Clóvis Neto, pela ajuda com as traduções dos trabalhos para publicação.

À PNPd Ismaela Melo por sua atenção e disponibilidade em todos os momentos que precisei. Você é uma pessoa especial e que trata seus amigos como pessoas especiais, acredito que todos que trabalham com você se sentem abraçados e acolhidos por seu carinho e generosidade. Obrigado.

Aos professores, amigos e funcionários de pós-graduação do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelo apoio e amizade durante estes anos.

Aos bioteristas Marcos André e Renata Carneiro pelo apoio durante o período de trabalhos com os animais.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte com o programa de apoio financeiro (bolsa de estudo) durante parte do curso.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O aumento das doenças crônicas e de estimativas que apontam para 300 milhões de pessoas com Diabetes Mellitus, no mundo até o ano de 2025, indicam um cenário com elevada prevalência de feridas, portanto, é imprescindível o melhoramento dos protocolos de tratamento das lesões cutâneas com distúrbios patológicos como esse. O objetivo desta pesquisa foi descrever a atividade cicatrizante e a toxicidade do extrato aquoso de *Psidium guajava* em ratos diabéticos. Os tratamentos foram tópicos e orais em 4 grupos de animais para os testes de cicatrização (com lesões cutâneas) e toxicidade respectivamente: (I) ratos não diabéticos tratados com extrato (0,2 g/mL); (II) ratos não diabéticos sem tratamento; (III) ratos diabéticos tratados com extrato (0,2 g/mL) e (IV) ratos diabéticos sem tratamento nos testes de cicatrização. (I) ratos tratados com água; (II) ratos tratados com 100, 200 e 400 mg/Kg para os testes de toxicidade. Foram realizadas as avaliações histológica, morfométrica, histoquímica e imunohistoquímica para o estudo da cicatrização e histopatológica, histoquímica, bioquímica e morfométrica para o de toxicidade. Observou-se queratinização significativa, estatisticamente, nos grupos de animais I, II e III apenas. Nos animais tratados com o extrato foi verificada a presença de numerosos macrófagos e células gigantes. Nas lesões dos animais diabéticos sem tratamento o teor de colágenos foi menor e a taxa de cicatrização, na avaliação ao 14º dia, foi elevada nos animais tratados com o extrato, quando comparados aos outros animais. Os níveis séricos das enzimas alanina ALT, AST, ureia, creatinina e albumina foram elevados nos animais tratados com 400 mg/Kg. No fígado dos animais tratados com 400 mg/Kg foi verificada a presença de congestão de veia porta, centrolobular e nos capilares sinusóides. Já nos rins, com o mesmo tratamento, foram observadas a presença de áreas com glomerulonefrite proliferativa. A morfometria do fígado revelou redução significativa do parênquima lobular e aumento no parênquima não lobular dos animais tratados com 400 mg/kg assim como aumento significativo do diâmetro e volume do glomérulo, além do diâmetro e volume da cápsula de Bowman nos rins dos animais tratados com a mesma dosagem. Na avaliação bioquímica para o glicogênio houve redução significativa no fígado dos animais do grupo tratado com 400 mg/kg em relação aos demais, o que mostra maior prejuízo com uso dessa dosagem, não ocorrendo alterações significativas para os demais e permitindo assim, a indicação do extrato bruto de *P. guajava* como recurso fitoterápico promissor.

Palavra-chave: *Psidium guajava*, goiaba, cicatrização, diabetes, ratos.

ABSTRACT

The increase of chronic diseases and estimates indicate that 300 million people will have diabetes in the world by the year 2025. This leads to a scenario with a high wound prevalence, being therefore essential to improve the protocols for the treatment of skin lesions with pathological disturbances like these. The goal of this research is to describe the healing activity and toxicity of the aqueous extract of *Psidium guajava* in diabetic rats. The treatments were topical and oral in 4 groups of animals for the test of cicatrization (cutaneous lesions) and toxicity respectively: (I) non diabetic rats treated with the extract (0.2 g/mL); (II) non diabetic rat without treatment; (III) diabetic rats treated with the extract (0.2 g/mL) and (IV) diabetic rats without treatment, for the cicatrization tests. And, (I) rats treated with water; (II) rats treated with 100, 200 and 400 mg/KG, for the toxicity tests. It was performed histological, morphometric, histochemical and immunohistochemical tests for the cicatrization study, and histopathological, histochemical, biochemical and morphometric tests for the toxicity study. It was observed statistically significant keratinization in the animal groups I, II and III only. In the animals treated with the extract it was found the presence of numerous macrophages and giant cells. In the lesions of diabetic animals without treatment the concentration of collagen was smaller, and the rate of healing was higher by the 14 th day for the animals treated with the extract when compared to the other animals. The serum levels of enzymes Alanine ALT, AST, urea, creatinine and albumin were elevated in the animals treated with 400 mg/Kg. In the liver of the animals treated with 400 mg/Kg we evidenced a congestion of the portal vein, centrilobular and sinusoid capillaries. In the kidneys, with the same treatment, we observed the presence of areas with proliferative glomerulonephritis. The liver morphometry revealed a significant reduction of the lobular parenchyma and increase of the non lobular parenchyma in the animals treated with 400 mg/Kg as well as a significant glomerulus increase in diameter and volume , besides the diameter and volume of the Bowman capsules in the kidneys of animals treated with the same dosage. In the biochemical evaluation for glycogen there was a significant reduction in the liver of animals treated with 400 mg/Kg in relation to the others, which represents greater disadvantage with the use of such dosage, fact which does not occur in significant number for the other dosages, allowing therefore the recommendation of the crude extract of *P. guajava* as a promising phytotherapeutic asset.

Keywords: *Psidium guajava*, guava, cicatrization, diabetes, rats.

SUMÁRIO

Capítulos		Pág.
1	1. INTRODUÇÃO.....	17
	2. OBJETIVOS.....	19
	3. REVISÃO DE LITERATURA	19
	3.1 Características de <i>Psidium guajava</i> L.....	19
	3.1.1 Potencial economico.....	21
	3.1.2 Uso terapeutico.....	21
	3.1.3 Compostos fitoquímicos.....	24
	3.2 Estrutura e organização da pele.....	28
	3.2.1 Sistema tegumentar.....	28
	3.2.1 Epiderme.....	29
	3.2.2 Derme.....	31
	3.3 Cicatrização.....	32
	3.3.1 Fase Inflamatória.....	33
	3.3.2 Fase Proliferativa.....	34
	3.3.3 Fase de Remodelaento.....	34
	3.3.3 Diabetes	35
	3.3 Toxicidade de plantas medicinais.....	37
	4. REFERÊNCIAS.....	39
2.	Efeito Cicatrizante do Extrato de Goiabeira (<i>Psidium guajava</i> L.) em Lesões Cutâneas de Ratos Diabéticos.....	32

RESUMO.....	61
ABSTRACT.....	62
INTRODUÇÃO.....	63
MATERIAL E MÉTODOS.....	65
RESULTADOS.....	67
DISCUSSÃO.....	68
REFERÊNCIAS.....	71

3. **Avaliação da toxicidade hepática e renal do extrato aquoso de *Psidium guajava* L.....** 79

RESUMO.....	80
ABSTRACT.....	81
INTRODUÇÃO.....	82
MEDODOLOGIA.....	83
RESULTADOS.....	86
REFERÊNCIAS.....	90

Anexos.....103

Arquivos Brasileiros de Ciências e Saúde: formato de referência para
submissão de artigos originais.....103

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1: Figura 1. Planta <i>Psidium guajava</i> (A), floração (B), fruto variedade Paluma (C).....	20
Figura 2: Estrutura básica dos flavonóides	26
Figura 3: Estrutura química básica dos flavonóides em A e estrutura química básica dos flavonóides com grupo carbonila no C-4 em B.....	26
Figura 4: Estrutura química de um tanino hidrossolúvel.....	27
Figura 5: Estrutura de um tanino condensado.....	28
Figura 6: Desenho esquemático da formação anatômica da pele.....	29
Figura 7: Epiderme: camadas ou estratos da epiderme.....	31
Figura 8: Composição estrutural do tegumento.....	32

Capítulo 2

Figura 1: Figura 1: Fotomicrografia de lesões cutâneas avaliadas após 21 dias após a indução e respectivos tratamentos. A- B – G I; C - D – G II; E - F – G III e G – H – G IV. Seta longa – epitélio; Seta curta – queratina; Tc - tecido conjuntivo; Ponta de seta – célula gigante de corpos estranhos. H.E.....	74
Figura 2: Histoquímica pelo picrosirius nas lesões cutâneas avaliadas após 21 dias após a indução e respectivos tratamentos. A) G I; B) G II; C) G III e D) G IV. E) Quantificação do colágeno total em pixels. Verificar redução significativa no grupo G IV. Médias com a mesma letra são estatisticamente insignificantes pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney com $P < 0,05$	75

Figura 3: Imunohistoquímica para colágeno tipo I nas lesões cutâneas avaliadas após 21 dias após a indução e respectivos tratamentos. A) G I; B) G II; C) G III e D) G IV. E) Quantificação em pixels. Verificar redução significativa nos grupos G II e IV. Médias com mesma letra são estatisticamente insignificantes pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney com $P < 0,05$ 76

Figura 4: Médias do percentual da taxa de cicatrização das lesões tratadas ou não com extrato de *P. guajava* após 14 dias. Médias com mesma letra são estatisticamente insignificantes pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney com $P < 0,05$ 77

Figura 5: Médias do percentual de fibroblastos, macrófagos e vasos sanguíneos nas lesões cutâneas dos animais dos grupos experimentais aos 21 dias. Médias com mesma letra são estatisticamente insignificantes pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney com $P < 0,05$ 78

Capítulo 3

Figura 1: Fotomicrografia do fígado dos animais dos grupos experimentais. A – B: controle; C – D: 100 mg/kg; E – F: 200 mg/kg; G – H: 400 mg/kg. Seta longa – veia centrolobular; Seta curta – veias com congestão; Asteriscos – congestão da veia centrolobular. H.E. 98

Figura 2: Fotomicrografia dos rins dos animais dos grupos experimentais. A – B: controle; C – D: 100 mg/kg; E – F: 200 mg/kg; G – H: 400 mg/kg. Seta – Glomerulo normal; Asteriscos – Glomerulonefrite proliferativa. H.E. 99

Figura 3: Histoquímica do fígado dos animais dos grupos experimentais. PAS: A – controle; B - 100 mg/kg; C - 200 mg/kg; D - 400 mg/kg. Picrosirius: E – controle; F - 100 mg/kg; F - 200 mg/kg; G - 400 mg/kg. H – Quantificação do glicogênio em pixels. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste Anova one-way com post hoc de Tukey ($p < 0,05$), Seta – Notar fibras colágenas em torno dos vasos. 101

Figura 4: Histoquímica dos rins dos animais dos grupos experimentais. A - controle; B - 100 mg/kg; C - 200 mg/kg; D - 400 mg/kg; Quantificação do colágeno em pixels. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste Anova one-way com post hoc de Tukey ($p < 0,05$), Picrosirius. 102

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Uso medicinal de diferentes partes de <i>Psidium guajava</i> (goiabeira)	23
---	----

Capítulo 3

Tabela 1. Média \pm desvio padrão dos parâmetros bioquímicos hepático e renal dos animais aos 7, 14 e 21 dias de tratamento com extrato aquoso de <i>P. guajava</i>	97
--	----

Tabela 2. Média \pm desvio padrão do percentual do parênquima lobular e não lobular do fígado dos animais dos grupos experimentais.	100
---	-----

Tabela 3. Média \pm desvio padrão do diâmetro do glomerular (DG), volume do glomérulo (VG) e diâmetro (DCB) e volume (VCB) da cápsula de Bowman dos rins dos animais dos grupos experimentais.	100
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS

- DM** – Diabetes mellitus
- AST** – Aminotransferase aspartato
- ALT** – Aminotransferase alanina
- OMS** – Organização Mundial da Saúde
- COLO320DMA** – Célula de adenocarcinoma
- PZ-HPV-7** – Células epiteliais da próstata humana
- DU-145** – Carcinoma
- HeLa** – Câncer cervical
- MDA-MB-231** – Câncer de mama
- EPEQ** – Epitélio pavimentoso estratificado queratinizado
- TGF)- β** – Fator de crescimento transformador
- PDGF** – Fator de crescimento derivado de plaquetas
- FGF** – Fator de crescimento de fibroblastos
- ROS** – Espécies reativas de oxigênio
- T CD4+** – Células T-auxiliares
- CD8+** – Células T-citotóxicas
- FGF-7** – Fator de crescimento de fibroblastos 7
- KGF** – Fator de crescimento dos queratinócitos
- IGF-1** – Fator de crescimento semelhante a insulina-1
- ECM** – Componentes da matriz extracelular
- DM1** – Diabetes Mellitus do tipo 1
- HLA** – Genes de histocompatibilidade
- DM2** – Diabetes Mellitus tipo 2
- DFUs** – Ulceras crônicas do pé diabético
- TNF- α** – Fator de necrose tumoral alfa
- 6 (IL-6)** – Interleucina
- 1 (IL-1)** – Interleucina
- ALT** – Alanina aminotransferase
- AST** – Aspartato-aminotransferase
- CD95L** – Proteína transmembranar
- EAPg** – Extrato aquoso de *P. guajava*
- UFRPE** – Universidade Federal Rural de Pernambuco

H.E – Hematoxilina-eosina

Area_n – Área da ferida não cicatrizada

Area_i – Área da ferida original

TGF β – Fator de Transformador de Crescimento Beta

VEGF – Fator de Crescimento Vascular Epidermal

HGF – Fator de Crescimento Hepático

GRO- α – Oncogene α Relacionado ao Crescimento

TNF – Fator de Necrose Tumoral

IGF-1 – Fator de Crescimento Semelhante a Insulina

COX)-2 – Ciclo-oxigenase

iNOS – Oxido nítrico sintase induzível

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

A pele é um órgão que compreende diversos tipos celulares, caracterizada por diferentes tecidos com composição complexa e estrutura própria. É o maior órgão do corpo humano com área aproximada de 1,5 a 2 m² que reveste o organismo em sua totalidade, promovendo função de defesa e adaptando-se as variações do meio ambiente. Além de defesa exerce funções essenciais a vida, dentre elas, termorregulação, vigilância imunológica, sensibilidade e proteção contra agressões exógenas (físicas, químicas ou biológicas) e contra a perda de água e de proteínas para o meio externo (CESTARI, 2012).

O mecanismo fundamental da pele é a manutenção constante do equilíbrio ou homeostasia, com propriedades biomecânicas e intrínsecas, que garantem sua integridade como os mecanismos de cicatrização (MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009; HUSSAIN et al., 2013).

Há muitos fatores que podem afetar a cicatrização, que interferem em uma ou mais fases deste processo, causando, assim, uma reparação inadequada do tecido (LEAL; CARVALHO, 2014). Em indivíduos saudáveis o reparo tecidual é um processo complexo de eventos celulares e bioquímicos, gradativo e sistêmico caracterizado em cinco etapas fundamentais: inflamação, reepitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de matriz intersticial (TAGLIARI et al., 2019). Em indivíduos portadores de patologias como o diabetes mellitus (DM) o processo cicatricial é prejudicado. Em feridas diabéticas se verifica a disfunção das células T, a diminuição na quimiotaxia, fagocitose leucocitária diminuída, a disfunção dos fibroblastos e das células epidérmicas. Estes defeitos são responsáveis pela inadequada remoção bacteriana e reparação demorada ou deficiente das feridas em pessoas com diabetes (LEAL; CARVALHO, 2014).

A patologia apresenta repercussões sistêmicas em longo prazo e as suas complicações podem ser classificadas em agudas e crônicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). Em relação às complicações crônicas, destaca-se o aparecimento de nefropatias, retinopatias, neuropatias e vasculopatias, sendo as duas últimas as principais responsáveis pelo aparecimento de feridas em membros inferiores e nos pés (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2015). As úlceras venosas crônicas são

as mais frequentes e mais de 70% delas não cicatrizam mesmo com terapia tópica adequada e terapia compressiva, levando ao seu reaparecimento (STONE et al., 2017).

Em virtude do aumento das doenças crônicas, como a DM, que contribuem para elevar a prevalência de feridas de difícil cicatrização, é imprescindível o melhoramento dos protocolos de tratamento das lesões cutâneas com distúrbios patológicos como o diabetes. Nesse sentido, uma alternativa é o uso de plantas medicinais, com importância para a saúde dos seres vivos, pois, elas são à base da maioria dos tratamentos ministrados ao redor do mundo (SILVA et al., 2015).

Vários estudos demonstraram o potencial biológico de *Psidium guajava* como recurso alternativo em pesquisas de atividade antimicrobiana, antioxidante, antineoplásico, anti-helmíntico e efeito cicatrizante (ANURAG et al., 2010; ANDRADE et al., 2019; GUPTA et al., 2019, PIZA et al., 2019; ZHU et al., 2019). Essa última atividade é frequentemente atribuída à presença de compostos fenólicos como o grupo dos taninos e flavonóides (FERNANDES et al., 2010).

P. guajava é uma planta da família das Myrtaceae e conhecida popularmente por goiabeira (VÁSQUEZ et al., 2019). Os compostos fenólicos, presentes no vegetal, são produtos aromáticos do seu metabolismo secundário e devido a sua funcionalidade sobre a saúde humana, o interesse por alimentos de origem vegetal, fontes destes compostos, tem crescido anualmente.

Ainda assim, a errônea ideia de que os fitoterápicos, por serem de origem natural, estão isentos de efeitos tóxicos ou adversos, e que o uso medicinal tradicional valida a eficiência destes medicamentos, é que se faz necessário a investigação toxicológica dessas formulações (CUNHA et al., 2009).

O fígado é um órgão importante, que cumpre diversas funções, dentre elas detoxificação sanguínea após exposição a certos agentes farmacológicos. Vários métodos são utilizados para apontar danos neste órgão, a detecção dos níveis das aminotransferase aspartato (AST) e aminotransferase alanina (ALT), enzimas localizadas nos hepatócitos, e que são liberadas no sangue quando há o rompimento da membrana das células hepáticas indicam danos hepáticos (UBOH et al., 2010; ROSA et al., 2019).

Os rins também são essenciais nos mecanismos de detoxificação mantendo a homeostase do organismo. Está propenso a lesões devido às doenças crônicas e exposição a drogas, tóxicos ambientais e outros xenobióticos como os extratos vegetais. O provável mecanismo para essa lesão está associado à indução do estresse oxidativo,

devido ao aumento das espécies reativas de oxigênio em dosagens altas (BRUNIERA et al., 2014; UDEMEZUE *et al.*, 2014)

Em virtude dos aspectos relacionados ao potencial fitoterápico de *P. guajava* e a preocupação, decorrente dos fatores de risco, causados pela ineficiente cicatrização de lesões crônicas é que se buscou descrever a ação cicatrizante do extrato aquoso de *P. guajava* em ratos diabéticos e não diabéticos para avaliar a toxicidade hepática e renal.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade cicatrizante do extrato aquoso das folhas de *P. guajava* em lesões cutâneas de ratos diabéticos e a toxicidade hepática e renal em ratos não diabéticos.

2.2 Específicos

- Obter o extrato aquoso das folhas de *P. guajava*;
- Analisar histológica, morfológica, histoquímica e imunohistoquimicamente o processo de cicatrização em ratos diabéticos;
- Avaliar os efeitos do extrato sobre a morfometria e histopatologia nos rins e fígado de ratos não diabéticos;
- Analisar os níveis séricos de creatinina, uréia, albumina e das transaminases ALT e AST de ratos não diabéticos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Características de *Psidium guajava* L.

A espécie *Psidium guajava* é provavelmente uma planta que teve sua origem entre o México e o Peru e que se propagou por toda a América do Sul, Europa, Ásia e África (UDEMEZUE et al., 2014). Pertence a família das Myrtaceae com mais de 130 gêneros e 3.600 espécies, distribuídas nos trópicos e subtropicais, principalmente nas Américas, Ásia e Austrália (HAIDA et al., 2011).

O gênero *Psidium* consiste em aproximadamente 150 espécies sendo *P. guajava* a mais conhecida e distribuída em todo o mundo (SOUZA et al., 2015; Barbosa, 2016). A goiabeira é um arbusto ou árvore esgalhada, podendo atingir 8 m de altura, com casca fina, lisa e irregular. As folhas são opostas, pecioladas, a lâmina é ovalada com nervuras pinadas e proeminentes, com 5 a 15 cm de comprimento. As flores são vistosas com pétalas esbranquiçadas de até 2 cm de comprimento e estames numerosos. O fruto é uma baga, que consiste de casca, polpa carnuda e sementes pequenas, brancas e duras distribuídas desuniformemente na região central da polpa (Figura 1). Comumente possui 5 centímetros de diâmetro e de 4 a 12 centímetros de comprimento, sendo o seu formato redondo ou oval. O fruto apresenta aroma peculiar semelhante à casca de limão, porém menos acentuado. A polpa com sabor de doce a azedo apresenta coloração de quase branca à rosa escuro/vermelha, já a casca apresenta sabor de amargo a doce e textura áspera (POMMER; MURAKAMI, 2009; ARSHIYA, 2013).

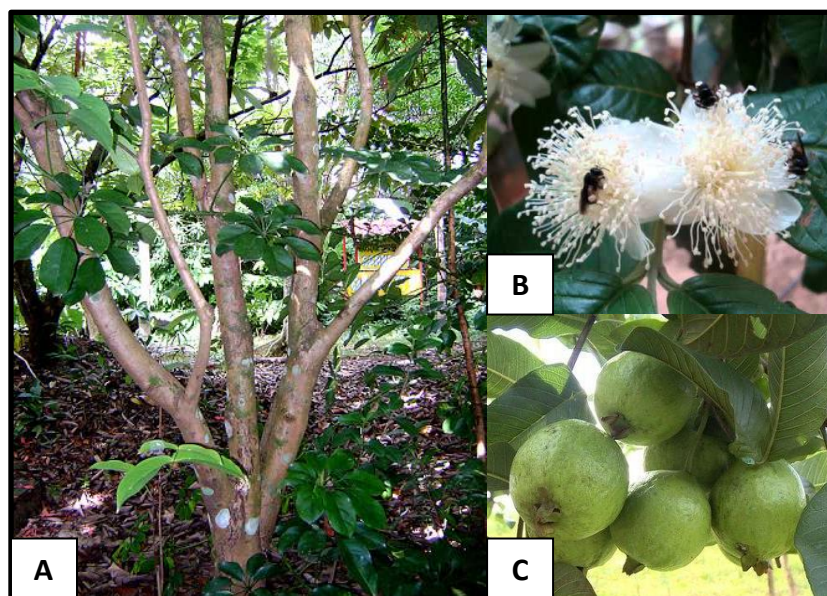


Figura 1. Planta *Psidium guajava* (A), floração (B), fruto variedade Paluma (C).
Fonte: Plants of Theworl. Disponível em: <http://plantsoftheworldonline.org/>.

O conhecimento das características nutricionais da goiaba ainda é limitado. A goiaba é uma fruta rica em vitaminas como ácido ascórbico (teor no mínimo quatro ou cinco vezes superior ao da laranja), vitamina A, E, do complexo B (ácido pantotênico e niacina), além de ser fonte de minerais como cálcio, fósforo, e ferro, selênio, cobre e magnésio, e fibras (ROBERTO, 2012).

3.1.1 Potencial econômico

A goiabeira apresenta excelentes condições para exploração em escala comercial, em função de seus frutos atingirem bons preços no mercado e serem muito apreciados pelas suas características tanto para o consumo de mesa como para a fabricação de produtos industrializados (OLIVEIRA et al., 2012). A produtividade mundial da goiaba alcança em torno de 500 mil toneladas por ano, com grande distribuição e importância no comércio internacional e na economia interna de mais de 50 países das áreas tropicais e subtropicais, sendo produzida, principalmente, em países da América Latina destacando-se o Brasil, a Colômbia, o México e a Venezuela (MELO, 2010; OLIVEIRA et al., 2012).

No Brasil, a goiaba se destaca dentre as frutas tropicais, sendo uma das mais cultivadas, colocando o país na terceira posição de maior produtor mundial no ano de 2015, atrás apenas da Índia e China (NASCIMENTO; ARAÚJO, 2010; SEBRAE, 2015). O volume de produção de goiaba no Brasil é de cerca de 316 mil toneladas, plantada em uma área de aproximadamente 15 mil ha (RAMOS et al., 2011). E devido às condições climáticas e do solo brasileiro serem favoráveis ao cultivo da goiabeira, além do ótimo valor nutricional, a tendência de melhorar o desenvolvimento da produção agrícola e, conseqüentemente, aumentar a produção da fruta, leva a expansão da atividade industrial e aumento do potencial de exportação (SANTOS, 2011).

Sua importância se deve mais a fatores como bom valor nutricional, boa aceitação da fruta *in natura*, diversidade na aplicação em produtos alimentícios (suco, néctar, polpa, compota, desidratados, xarope e sorvete) e excelente adaptação em climas adversos (ARSHIYA, 2013).

Dentre as cultivares mais plantadas, a variedade Paluma, de coloração vermelha na polpa, apresenta características excepcionais para o processamento industrial e o consumo *in natura*, além de ser muito produtiva e vigorosa. Por isso, nos últimos anos têm apresentado um aumento nas áreas destinadas ao plantio, onde a maioria dos frutos produzidos são voltados à industrialização. Além disso, houve um aumento no interesse por frutas tropicais e seus sucos pelos países europeus e pelos Estados Unidos, o que impulsionou o comércio da goiaba (OLIVEIRA et al., 2012).

3.1.2 Uso terapêutico

Desde o século passado, os produtos naturais têm sido a maior fonte de diversidade química para o desenvolvimento de produtos na indústria farmacêutica.

Historicamente, estas empresas utilizavam extratos de plantas para produzir formulações farmacêuticas, porém com os avanços decorrentes da descoberta dos antibióticos, em meados do século XX, estas formulações passaram a ser compostas de substâncias mais purificadas (FIRN; JONES, 2003).

O uso medicinal das plantas continua a desempenhar um importante papel no sistema de saúde, em todo o mundo, com o apoio de programas oficiais, e seu uso em diferentes culturas já foi extensivamente documentado para o tratamento de doenças comuns. Há um grande número de espécies vegetais nativas que são consideradas terapêuticas, porém muitas não possuem avaliação científica (PEREIRA et al., 2009).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 80% da população mundial buscam nas plantas fins terapêuticos, seja por motivo de pobreza ou precariedade no sistema de saúde (CARVALHO et al., 2014) e cerca de 85% da medicina tradicional envolve o uso de extratos de plantas (AZEVEDO; SILVA, 2006). Desde 1977, a OMS incentiva o estudo de plantas medicinais, a fim de avaliar os benefícios da utilização de medicamentos fitoterápicos e de conhecer os riscos de seu uso indevido (YUNES; CALIXTO, 2001).

Segundo alguns autores as folhas, cascas, flores e sementes da goiabeira estão associadas a diversas aplicações medicinais como hipertensão, diabetes, anti-inflamatório, anticancerígeno (BARBALHO et al., 2012), antibacteriano, analgésico (LOZOYA et al., 2002), úlcera, distúrbios gastrointestinais (GUTIÉRREZ, et al., 2008), tosse, hemorragias, antioxidante (MELO, 2010), tratamentos gastrointestinais, antialérgica, anticarcinogênico (BARBALHO et al., 2012), cicatrizante (FERNANDES et al., 2010; OKOMOTO, 2010) entre outras. A tabela 1 detalha o uso medicinal de diferentes partes de *P. guajava*.

Anas et al., (2008) e Milyani et al., (2012), relataram propriedades antibacterianas de extratos aquosos e orgânicos de folhas de goiabeira, pelo efeito inibitório do crescimento de isolados clínicos de cepas resistentes (*Staphylococcus aureus*) a antibióticos. Nair e Chanda (2007) e Nisha et al., (2011), também avaliaram a inibição de crescimento de microrganismo (bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos) pelo extrato aquoso das folhas de *P. guajava* e mostraram o seu potencial antimicrobiano. A mesma atividade foi comprovada por Bezerra et al., (2016) que avaliaram o efeito das folhas de goiabeira em diferentes cepas bacterianas, concluindo que a ação sinérgica entre o extrato das folhas e vários antibióticos aumentaram sua atividade antibacteriana.

Metwally et al., (2010), associaram a atividade antimicrobiana contra algumas bactérias e fungos com cinco flavonóides isolados das folhas de *P. guajava*. Este efeito também estava relacionado à concentração de taninos nas folhas (MAILLOA et al., 2014) e ao teor de ácido gálico e catequina (ARAÚJO et al., 2014). Essa atividade, contra patógenos bacterianos e fúngicos, também foi atribuída ao ácido betulínico e ao lupeol (GHOSH et al., 2010).

Tabela 1. Uso medicinal de diferentes partes de *Psidium guajava* (goiabeira). Fonte: SILVA, 2015.

Tipo de resíduo	Ação	Referências
Folhas	Tratamentos respiratórios, hipertensão, obesidade, diabete, antiespasmódico, anti-inflamatório, sedativo para a tosse, anticancerígenas	Barbalho et al., 2012
	Antibacterial, analgésico, Tratamento de aftas	Lozoya et al., 2002 Mailoa et al., 2013
	Tratamento de gastroenterite e disenteria	Lozoya et al., 2002; Gutiérrez,Mitchell, Solis, 2008; Barbalho et al., 2012
	Tratamento para diarreias	Lozoya et al., 2002; Gutiérrez,Mitchell, Solis, 2008; Barbalho et al., 2012; Kumar, 2012; Mailoa et al., 2013
	Tratamento de dor reumática, úlcera e dor de dente Tratamento malária, inflamações nos rins, dores menstruais, tosses, alergias, hemorragia uterina Atividade antioxidante	Gutiérrez, Mitchell, Solis, 2008; Kumar, 2012 Melo, 2010
Cascas	Tratamento de leucorréia, de cólera asiática e de úlceras externas; Atividade antifúngica	Okamoto, 2010 Gutiérrez ,Mitchell, Solis, 2008; Richard, Joshua, Philips, 2013
	Atividade antibacteriana	Rahim et al., 2010, Richard, Joshua, Philips, 2013
	Tratamento de diarreia, distúrbios gastrointestinais	Gutiérrez, Mitchell, Solis, 2008; Okamoto, 2010; Barbalho et al., 2012; Richard, Joshua, Philips, 2013
	Dores de dente, resfriados e inchaço Problemas respiratórios, hipertensão, obesidade, diabete, antiespasmódico, anti-inflamatório, sedativo para a tosse, anticancerígenas	Richard, Joshua, Philips, 2013 Barbalho et al., 2012 Kumar, 2012
	Cicatrização de feridas Atividade antioxidante	Hassimotto, Genovese, Lajolo, 2005; Melo et al., 2008; Nascimento, Araújo, Melo, 2010
Sementes	Tratamentos gastrointestinais, antialérgica, anticarcinogênico, antiglicêmico	Barbalho et al., 2012
	Antimicrobiana Atividade antioxidante	Pelegrini et al., 2008; Castro-Vargas et al., 2010; Barbalho et al., 2012 Guo et al., 2003; Castro-Vargas et al., 2010; Melo, 2010

Kawakami et al., (2009), avaliaram a atividade antiproliferativa do extrato de folha de goiaba em cólon humano da linha celular de adenocarcinoma (COLO320DMA). Esses autores descobriram que o extrato depreciava a taxa de proliferação de células cancerígenas devido à presença de quercetina e glicosídeos.

O extrato aquoso de folhas de goiabeira em brotamento apresentou efeito antitumoral contra células epiteliais da próstata humana (PZ-HPV-7) e carcinoma (DU-145), tendo em vista o coeficientes da taxa de morte celular, bem como atividades anti-angiogênese e anti-migração, respectivamente (CHEN et al., 2009; PENG et al., 2011)

Mais recentemente, diferentes extratos de *P. guajava* foram testados em três linhas celulares de câncer (câncer cervical – HeLa, câncer de mama – MDA-MB-231), e osteossarcoma (MG-63). Os extratos não mostraram atividade antiproliferativa contra as células HeLa, porém, exibiram atividade contra MDA-MB-231 e MG-63 (SUL'AIN et al., 2012).

O fruto de *P. guajava* da variedade Paluma é fonte de licopeno, um elemento predominante no plasma e nos tecidos humanos, sendo encontrado em um número limitado de alimentos de cor vermelha como tomate, melancia, mamão e pitanga. É um dos mais potentes antioxidantes, sendo sugerido na prevenção de cânceres e da formação de placas de gorduras nos vasos sanguíneos (KIMIYO et al., 2015).

Além das propriedades já mencionadas, o extrato aquoso desse vegetal também apresentou atividade hipoglicêmica em diversas pesquisas (FRÖDE; MEDEIROS, 2008; IHA et al., 2008; DEGUCHI, 2010). Outras pesquisas relataram também o efeito de diferentes extratos na cicatrização. Okamoto (2010), realizou um estudo com um extrato glicólico de *P. guajava* para atividades antimicrobianas e cicatrizante de feridas cutâneas em ratos e conseguiu observar, em análise histológica das lesões, diferenças qualitativas, evidências de fibroplasia e proliferação vascular nos grupos tratados com o extrato, o que não foi observado nos grupos controle. Fernandes et al., (2010), investigou o efeito cicatrizante *in vivo* pela avaliação clínica e histológica de lesões traumáticas na mucosa oral de ratos tratados com o extrato da planta e descobriu que o extrato de goiaba causou cicatrização acelerada a partir do terceiro dia de tratamento.

3.1.3 Compostos fitoquímicos

Conhecida por apresentar grande quantidade de vitamina C (ácido ascórbico), a goiaba vermelha possui níveis dessa vitamina de 6 a 7 vezes superiores aos das frutas cítricas (ABREU et al., 2012), possui quantidades razoáveis de vitaminas A e do

complexo B, além de sais minerais, como cálcio, fósforo e ferro (SILVA et al., 2010). Possui ainda na sua constituição fitoquímicos como taninos, flavonoides, óleos essenciais, álcoois sesquiterpenoides e ácidos triterpenoides (CHENG; SHEN; WU, 2009; IHA et al., 2008). As sementes são ricas em fibras, principalmente celulose e lignina (SANTOS, 2011).

Silva et al., (2013) determinaram os principais metabólitos secundários presentes nas folhas de goiabeira e verificaram, na análise fitoquímica preliminar, a presença de três classes de metabólitos secundários, das cinco analisadas, sendo elas: taninos condensados, saponinas e flavonoides correspondendo aos relatos da literatura.

De acordo com Carvalho et al., (2002), as folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L.), apresentam taninos, óleos essenciais, triterpenóides e β -sitosterol em sua constituição. Segundo Bermúdez-Vásquez et al., (2019), na composição de óleos essenciais (soma relativa das áreas, g/100 g), em amostras de folhas de goiabeira, coletadas nas cidades de San José e Escazu (Costa Rica), foi de 3,06 para limoneno, 3,37 para eucaliptol, 10,74 para cariofileno, 36,15 para α -selineno, 8,3 para óxido de cariofileno, 3,77 para neointermediol, 2,23 para α -cardinol, 30,56 para 2,4-di-tert-butilfenol na cidade de San José e de, 3,22 para limoneno, 1,17 para eucaliptol, 18,62 para cariofileno, 30,67 para α -selineno, 20,84 para 1-nonadeceno, 2,66 para neointermediol, 7,53 para 2,4-di-tert-butilfenol, 4,89 para cariofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol e 2,46 para 1-octadecanol na cidade de Escazu.

Manosroi et al., (2006), em avaliação para atividade antiproliferativa em células KB (câncer epidermal de boca) e em P388 (leucemia murina), sugeriram que os principais óleos flavonóides, obtidos a partir das folhas de goiabeira eram a miricetina e apigenina. Os flavonoides representam o maior grupo dos compostos fenólicos de plantas, estando presentes, principalmente, nas frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta (ROCKENBACH et al., 2008; NASCIMENTO, 2010). Oriundos da junção de derivados sintetizados a partir da fenilalanina e ácido acético (HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008), os flavonoides são constituídos por 15 átomos de carbono arranjados em uma configuração C6-C3-C6 (Figura 2), resultando em uma estrutura de baixo peso molecular (ROCKENBACH et al., 2008).

Na variedade de goiabeira com fruto branco são encontrados comumente 12 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de parte comestível de quercetina e 10 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ na vermelha. Esses compostos pertencem a classe de flavonóides em que se analisa normalmente os subgrupos

miricetina, quercetina e kaempferol e as flavonas apigenina e luteolina (HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

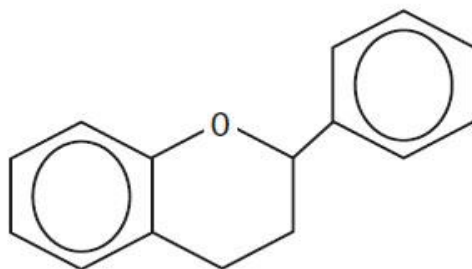


Figura 2. Estrutura básica dos flavonóides. Fonte: OLIVEIRA et al., 2006.

Presentes na forma de glicosídeos ou agliconas, a estrutura química dos flavonoides consiste em dois anéis aromáticos (anel A e B), unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico (anel C). Formam uma pirona como nos flavonóis, flavonas, isoflavonas e flavanonas, que possuem um grupo carbonila na posição C-4 do anel C, compreendendo as principais classes dos flavonoides como mostrado na Figura 3. O anel aromático A é oriundo do ciclo acetato/malonato, já o anel B é oriundo da fenilalanina por meio da via metabólica do shikimato (ANGELO; JORGE, 2007; PRADO, 2009; ROCKENBACH et al., 2008).

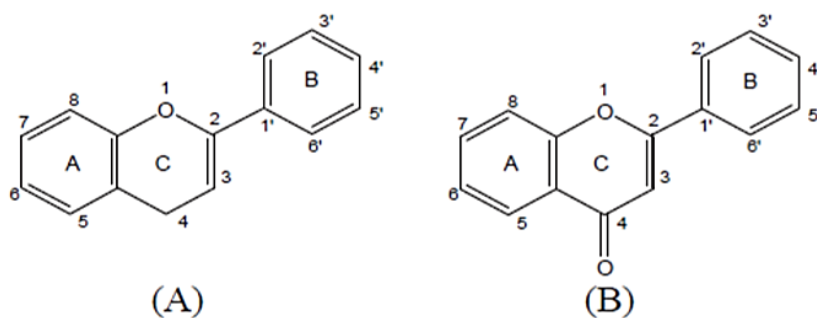


Figura 3. Estrutura química básica dos flavonóides em A e estrutura química básica dos flavonóides com grupo carbonila no C-4 em B. Fonte: HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008.

Pesquisas já comprovaram a eficiência de tanino contido nas folhas de *P. guajava* com atividade antibacteriana (MAILLOA et al., 2013). Os taninos são polímeros fenólicos solúveis em água e solventes orgânicos amplamente distribuídos no reino

vegetal, podendo ser encontrado de forma variada (teor e tipo) nas raízes, no lenho, na casca, nas folhas, nos frutos, nas sementes e na seiva das plantas (BATTESTIN et al., 2008).

De peso molecular relativamente alto são classificados em taninos hidrolisáveis e taninos condensados de acordo com a estrutura química que apresentam (ANGELO; JORGE, 2007). Os taninos hidrolisáveis (Figura 4), são formados por ésteres complexos, consistindo em uma cadeia de carboidrato central, normalmente a D-glicose, na qual duas ou mais hidroxilas são esterificadas com ácido gálico ou ácido hexa-hidroxidifênico (CASTEJON, 2011; OLIVEIRA; BERCHIELLI, 2007). Já os taninos condensados, mostrado na figura 5, são mais comuns na dieta humana do que os taninos hidrolisáveis, em concentrações relativamente importantes em alguns frutos (CASTEJON, 2011). Estão amplamente distribuídos nas folhas, flores, frutos e raízes de plantas de grande porte e são oriundos da polimerização de flavonoides como flavan-3-ol (catequina) e flavan-3,4-diol (leucoantocianinas) e por conferir um conjunto de nuances rosa, vermelha, violeta e azul às plantas (BATTESTIN et al., 2008) como as antocianidinas também recebe o nome de proantocianidinas (MARTINS, 2012).

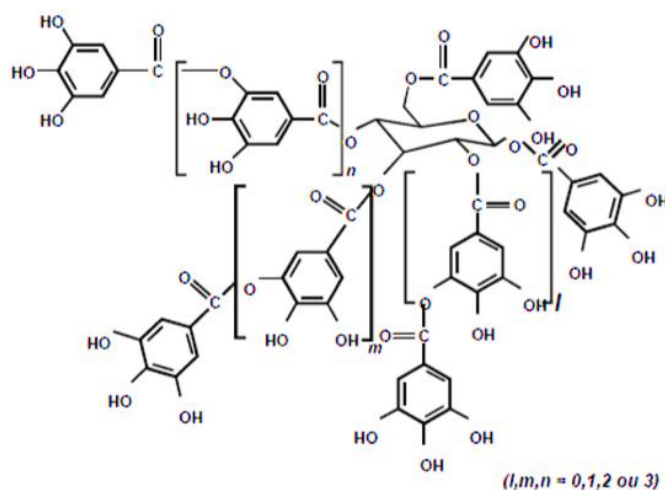


Figura 4. Estrutura química de um tanino hidrossolúvel. Fonte: BATTESTIN et al, 2008.

Os taninos condensados estão envolvidos no fornecimento de adstringência de frutas, sucos e vinhos (BATTESTIN et al., 2008). A sensação de adstringência aparentemente é resultante da interação entre os constituintes de tanino e proteínas da saliva e/ou o tecido da mucosa da boca (AMAROWICZ, 2007).

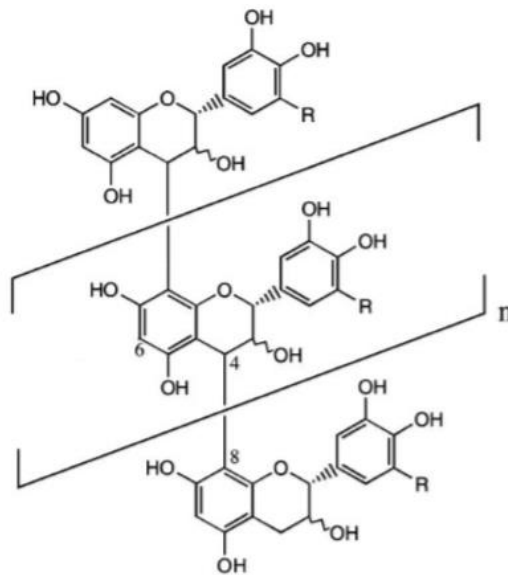


Figura 5. Estrutura de um tanino condensado. Fonte: MARTINS, 2012.

3.2 Estrutura e organização da pele humana

3.2.1 Sistema tegumentar

Por definição, a pele é órgão integrante do sistema tegumentar junto com estruturas anexas como cabelos e pelos, unhas, glândulas sudoríparas e sebáceas. É o maior órgão do corpo humano representando de 10 a 16% de seu peso corporal com aproximadamente 2 m² de extensão e ocupa lugar de destaque na interação dos indivíduos com o meio ambiente físico. Reveste e delimita o organismo desempenhando funções de defesa contra agressões químicas, físicas e biológicas. A pele tem como função vital a conservação da homeostasia, desempenhando funções sensoriais. É composta de duas camadas (Figura 6): a epiderme, mais externa, constituída por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado e, uma camada interna de tecido conjuntivo, a derme, onde são encontrados vasos e nervos (FIRMINO 2010; GEOVANINI, 2014; ROTTA, 2008; JUNQUEIRA, 2017).

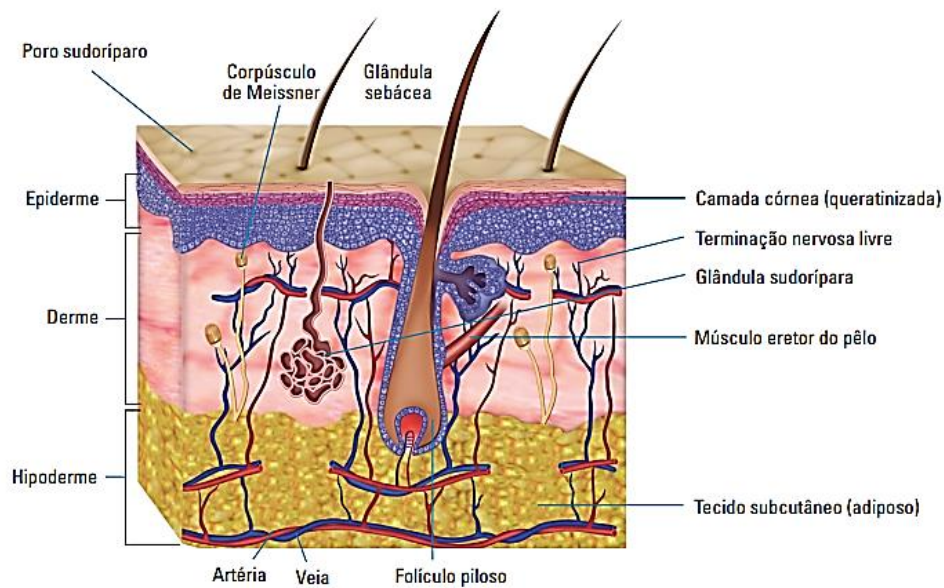


Figura 6. Desenho esquemático da formação anômica da pele. Fonte: CESTARI, 2012.

3.2.2 Epiderme

A epiderme é a camada mais superficial da pele. Tem espessura irregular, variando conforme a região do corpo e é constituída por um epitélio pavimentoso estratificado queratinizado (EPEQ), com várias camadas de células achatadas justapostas e com duas funções básicas: o revestimento do corpo como um todo e a secreção de substâncias, seja pelas próprias células do epitélio ou por grupos de células especializadas na formação de estruturas como as glândulas (CESTARI, 2012; JUNQUEIRA, 2017).

O EPEQ que constitui a epiderme é caracterizado por apresentar células que revestem as superfícies, que secretam moléculas e, com pouca matriz extracelular. As células mais abundantes desse tecido são os queratinócitos que se aderem firmemente umas às outras graças a junções intercelulares, o que lhes permite se organizarem em folhetos de revestimento de superfícies, garantindo proteção, uma de suas funções mais importantes, pois, tudo que entra ou deixa o corpo deve atravessar um folheto epitelial. O tecido possui ainda os melanócitos, as células de Langerhans e as de Merkel (JUNQUEIRA, 2017).

Apresenta cinco camadas distintas: a camada basal (estrato germinativo), a camada espinhosa, a camada granulosa, o estrato lúcido e a camada córnea (Figura 7): o estrato basal é a camada de células mais interna, em contato com a derme, sendo

constituída por células de forma cúbica que se multiplicam continuamente, dando origem a todas as outras camadas. As células da camada basal (queratinócitos) são cilíndricas, com citoplasma basófilo e núcleos grandes, alongados, ovais e hipercromáticos, em contínua divisão mitótica. Estão dispostas lado a lado, e são ligadas à derme por finos prolongamentos radiculares, originando a membrana basal; A camada espinhosa está acima da camada basal, sendo formada por 5 a 10 camadas de células poliédricas que vão se tornando achatadas à medida que se aproximam da superfície. As células espinhosas estão justapostas e unidas por junções intercelulares, os desmossomas e as tight junctions (aspecto de espinhos). Os desmossomos são estruturas complexas que conferem à pele resistência a traumas mecânicos. Na camada basal, há apenas uma placa de aderência ligando a membrana plasmática das células basais à membrana basal denominada hemidesmossomos; a camada granulosa é constituída de 1 a 3 camadas de células losangulares, de coloração mais escura e estrutura granulosa, devido aos grânulos de queratohialina (precursora da eleidina e da filagrina, é um importante componente do envelope das células corneificadas). Esta camada é rica em lipídios e proteínas, além de outros componentes necessários para a morte programada das células e a formação da barreira superficial impermeável à água, como involucrina, queratolinina, pancornulinas e lorícina; o estrato lúcido é a zona de células achatadas, sem núcleo, com aspecto homogêneo e translúcido, eosinofílico. Apresenta na sua constituição a eleidina, substância gelatinosa que impede a entrada e saída de água e que, posteriormente, vai originar a queratina. Esse estrato é muito fino, podendo mesmo não existir em algumas áreas. Normalmente, está presente na pele com folículos pilosos ausentes, como as palmas das mãos e plantar dos pés; o estrato córneo é a camada mais superficial da pele. Sua espessura é variável de acordo com a topografia anatômica, sendo maior nas palmas das mãos e plantas dos pés. As células dessa camada correspondem ao estágio final de diferenciação celular. São células eosinofílicas, anucleadas, e possuem um sistema de filamentos de queratina imerso em uma matriz contínua, circundada por uma membrana celular espessada. Encontram-se achatadas e empilhadas umas sobre as outras, descamando continuamente. (MARTINI et al., 2009; BARRETT et al., 2013; ANDERSON, 2014; TORTORA; DERRICKSON, 2016; VANPUTTE et al., 2016).

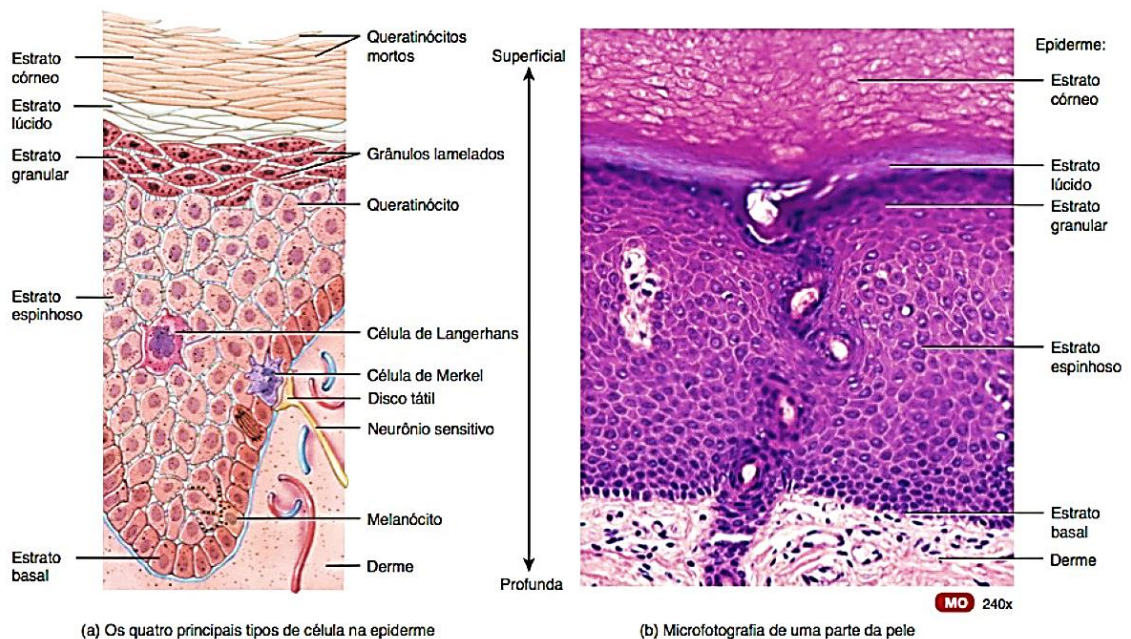


Figura 7. Epiderme: camadas ou estratos da epiderme. Fonte: TORTORA; NIELSEN, 2012.

3.2.3 Derme

A derme é composta por tecido conjuntivo que apoia a epiderme e une a pele ao tecido subcutâneo, a hipoderme (Figura 8). Sua superfície externa irregular apresenta saliências, as papilas dérmicas. As papilas aumentam a área de contato da derme com a epiderme, reforçando a união entre essas duas camadas. A derme apresenta duas camadas, uma superficial, a papilar, e outra mais profunda, a reticular. A camada papilar é constituída por tecido conjuntivo frouxo que forma as papilas dérmicas. Nesta camada foram descritas fibras de colágeno especiais (fibras de ancoragem) que se inserem na membrana basal por um lado e penetram profundamente na derme por outro. Com isso essas fibras contribuem para prender a derme à epiderme, já a camada reticular é mais espessa e constituída por tecido conjuntivo denso não modulado. As duas camadas da derme apresentam muitas fibras do sistema elástico conferindo elasticidade à pele. Além dos vasos sanguíneos e linfáticos encontrados na derme também podem ser encontrados folículos pilosos, glândulas sebáceas e glândulas sudoríparas (JUNQUEIRA, 2013).

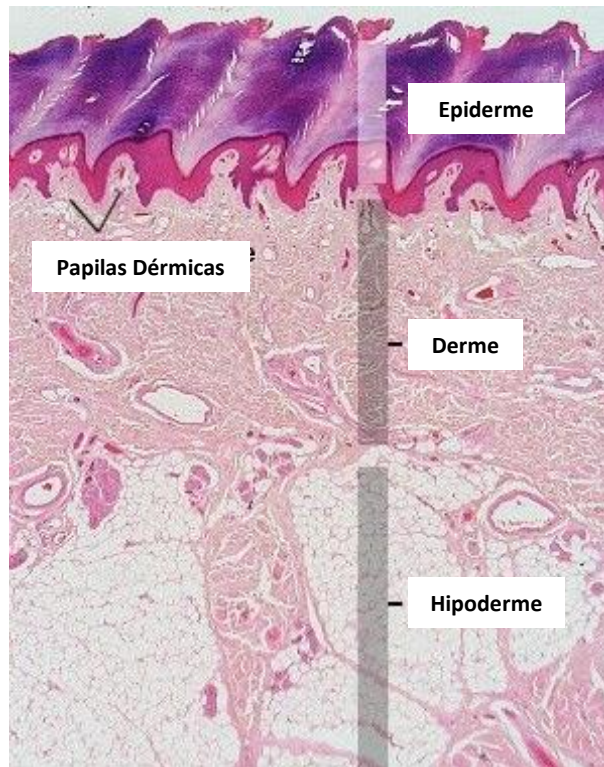


Figura 8. Composição estrutural do tegumento. Fonte: Histology. Disponível em: <https://br.pinterest.com/utahija/histology/>.

3.3 Cicatrização

Todos os animais possuem mecanismos eficazes de reparo de lesões teciduais que garantem o reestabelecimento do epitélio da epiderme e a substituição da derme por nova matriz extracelular. A reparação do tecido é compreendida por um processo dinâmico que envolve mediadores solúveis, elementos sanguíneos e matriz extracelular. A capacidade de reparo dos tecidos lesados nos seres vivos é impressionante e tem início após sofrer um trauma em um processo complexo, gradativo e sistêmico que pode durar até dois anos envolvendo mecanismos de hemostasia, inflamação e reparação (GLINARDELLO et al., 2009).

De acordo com alguns autores (CAMPOS et al., 2007; CAMPOS et al., 2008; WILGUS., 2008; SALGADO et al., 2016), A cicatrização de feridas é processo altamente dinâmico que envolve sequência complexa de eventos celulares e bioquímicos que variam desde uma resposta imediata ao dano celular da pele e sinais microbianos invasivos até respostas inflamatórias, angiogênicas e, finalmente, fibroplasia e formação de cicatriz. Os fenômenos acontecem simultaneamente, se autorregulam e interferem um no outro envolvendo três fases dinâmicas: fase

inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelamento (CAMPOS et al., 2008; CASTILHO et al., 2015).

3.3.1 Fase Inflamatória

A primeira fase da hemostase começa imediatamente após o ferimento, com a constrição vascular e a formação do coágulo de fibrina. O coágulo e o tecido circundante libertam citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento, tais como o fator de crescimento transformador (TGF)- β , o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), o fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e o fator de crescimento da epiderme (EGF). Após controlo da hemorragia, as células inflamatórias migram para o local da ferida (quimiotaxia) e promovem a fase inflamatória, a qual é caracterizada pela infiltração sequencial de neutrófilos, macrófagos e linfócitos (GOSAIN; DIPIETRO, 2004; BROUGHTON et al., 2006). A função dos neutrófilos é crítica uma vez que têm a função de eliminar os micróbios invasores e os restos celulares na área da ferida, embora estas células também produzam substâncias como proteases e espécies reativas de oxigênio (ROS), que causam algum dano adicional. Os macrófagos desempenham vários papéis na cicatrização de feridas. Numa fase inicial, os macrófagos libertam citocinas que promovem a resposta inflamatória, recrutando e ativando leucócitos adicionais. Estes macrófagos são designados por pró-inflamatórios, ou M1, e são responsáveis por induzir e limpar as células em apoptose (incluindo neutrófilos), abrindo assim o caminho para a resolução da inflamação. Numa fase mais adiantada da cicatrização das feridas, os macrófagos passam por uma transição fenotípica a um estado reparador que estimula os queratinócitos, os fibroblastos e a angiogénese para promover a regeneração do tecido. Estes macrófagos são designados de reparadores, ou M2, e promovem a transição para a fase proliferativa da cura da ferida (PLOEGER et al., 2013; LEAL; CARVALHO, 2014).

Os linfócitos T migram para o local das feridas com as células inflamatórias e macrófagos, e essa migração é máxima durante a fase final proliferativa ou fase inicial de remodelação. Vários estudos sugerem que a infiltração tardia de células T, juntamente com a diminuição da concentração de células T no local da ferida, se associa a uma deficiente cura da ferida. Outros estudos descrevem que as células T CD4+ (células T-auxiliares) têm um papel positivo na cicatrização de feridas e as células CD8+ (células T-citotóxicas) desempenham um papel inibitório na cicatrização de feridas (PARK; BARBUL, 2004; LEAL; CARVALHO, 2014).

Curiosamente, estudos feitos em murganhos deficientes em ambas células T e células B, demonstraram que a formação da cicatriz está diminuída na ausência de linfócitos (GAWRONSKA-KOZAK et al., 2006). Além disso, as células dendríticas da pele regulam muitos aspectos da cicatrização de feridas, incluindo a manutenção da integridade do tecido, a proteção contra agentes patogênicos, e a regulação da inflamação. Estas células são ativadas por queratinócitos em stress ou danificados e produzem o fator de crescimento de fibroblastos 7 (FGF-7), o fator de crescimento dos queratinócitos (KGF), e o fator de crescimento semelhante a insulina-1 (IGF-1), para suportar a proliferação dos queratinócitos e a sobrevivência das células. As células dendríticas também geram quimiocinas e citocinas que contribuem para a iniciação e regulação da resposta inflamatória durante a cicatrização de feridas. Esta comunicação entre as células dendríticas e os queratinócitos é essencial para a manutenção de uma pele normal e para a cicatrização de feridas. Em murganhos com deficiência nas células dendríticas verificou-se um atraso no fecho da ferida e uma diminuição na proliferação de queratinócitos no sítio da ferida (JAMESON; HAVRAN, 2007; MILLS et al., 2008).

3.3.2 Fase Proliferativa

A fase proliferativa normalmente segue e sobrepõe-se parcialmente à fase inflamatória, sendo caracterizada pela proliferação e migração epitelial sobre a matriz provisória no interior da ferida (re-epitelização). Na reparação da derme, os tipos de células mais proeminentes são os fibroblastos e as células endoteliais. Estas células são responsáveis pelo suporte da proliferação dos capilares, pela formação de colágeno e pela formação de tecido de granulação, no local da lesão. Dentro do leito da ferida os fibroblastos produzem colágeno, bem como os glicosaminoglicanos e proteoglicanos que são os principais componentes da matriz extracelular (ECM) (GOSAIN; DIPIETRO, 2004; LEAL; CARVALHO, 2014).

3.3.3 Fase de Remodelamento

A última fase do processo de cicatrização (remodelamento) tem início com a ferida preenchida por tecido de granulação, novos vasos e com presença de fibras colágenas (MANDELBAUM et al., 2003; BALBINO et al., 2005). Ainda nesta fase, o tecido continua a ser enrijecido por mais fibras colágenas obtendo aparência de cicatriz (BALBINO et al., 2005). A última fase compreende a remodelação da matriz extracelular e a maturação do novo tecido nas bordas das grandes feridas. Enquanto o

tecido de granulação invade o espaço mais central, a matriz extracelular das bordas se diferencia, qualitativa e quantitativamente, daquela situada no centro (CARNEIRO; RAMOS-E-SILVA, 2007). O colágeno é responsável pela resistência e integridade do tecido e dos novos vasos dependendo do tipo e quantidade das fibras formadas. Estas fibras são classificadas colágeno do tipo I e III de acordo com o grau de maturação, sendo a sua quantificação essencial para se comparar a reparação tecidual. O colágeno tipo I é considerado a fibra madura e o colágeno III a fibra jovem (CUTTLE et al., 2005). A quantidade de colágeno produzida e a forma como as fibras estão organizadas determina a resistência do novo tecido formado (BALBINO et al., 2005). Os anexos da pele como folículo piloso e glândulas reaparecem no final desta fase.

Em casos particulares de feridas cutâneas ocorre dificuldade em sua cicatrização, devido a estados patológicos associados como a diabetes, perturbações-imune, isquemia e estase venosa e, em ferimentos, tais como queimadura. O diabetes prejudica numerosos componentes de cicatrização de feridas, incluindo a hemostasia, a fase inflamatória, a deposição matriz e a angiogênese. Estas deficiências estão presentes em uma ampla variedade de tecidos, incluindo os da pele (CANDIDO, 2001).

Em pacientes diabéticos o processo de cicatrização é lento e precário. Grande parte das complicações está relacionada a problemas nos vasos sanguíneos que, além de conterem a glicose, levam nutrientes e recolhem toxinas dos tecidos corporais. Esses vasos podem ser danificados pela alta glicemia, o que causa danos nos órgãos que irrigam e prejudicam o processo de reparo e cicatrização. Além disso, ocorre menor síntese de colágeno e lesão no tecido conjuntivo (MENDONÇA; NETTO., 2009).

Os elevados custos dos tratamentos de alterações relacionadas à deficiência cicatricial aumentam a importância das pesquisas em busca de medicamentos capazes de interagir com o tecido lesado, tendo por objetivo acelerar o processo. O retardo de cicatrização, como ocorre no caso de úlceras de pés diabéticos, constitui grave problema mundial, tanto financeiro quanto social (MENDONÇA; NETTO, 2009). As feridas nesses pacientes são lesões de difícil tratamento e os métodos atuais incluem o uso de antibióticos, enxertos de tecidos e enzimas proteolíticas, com grandes desvantagens e efeitos colaterais indesejados (MONTES et al., 2009; MENDONÇA; NETTO, 2009).

3.4 Diabetes Mellitus

O Diabetes Mellitus (DM) é considerado um distúrbio crônico não transmissível, com altas taxas de prevalência, em razão de fatores como o aumento maior urbanização,

do progressivo predomínio de obesidade e sedentarismo. Calcula-se que em 2035 a população mundial com DM atingirá 471 milhões de pessoas (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016). No Brasil, também se observa um aumento do número de pessoas diagnosticadas com DM, devendo alcançar mais de 14,3 milhões de pessoas no mesmo período (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017; BRITO et al., 2016).

O Diabetes Mellitus do tipo 1 (DM1) é considerado uma doença endócrina autoimune órgão-específica que resulta da destruição seletiva das células beta das ilhotas pancreáticas, produtoras de insulina, pela infiltração progressiva de células inflamatórias, particularmente por linfócitos T autorreativos (SOUZA, 2016).

A doença apresenta patogenia complexa que envolve a participação de vários fatores, dentre eles a susceptibilidade imunogenética associado aos genes de histocompatibilidade (HLA), eventos ambientais (infecções) e resposta autoimune contra antígenos próprios pancreáticos, presença de linfócitos autorreativos e/ou autoanticorpos, provocando a destruição das células β pancreáticas, desencadeando as anormalidades metabólicas típicas dessa doença (VAN BELLE; COPPIETERS; VON HERRATH, 2011; COPPIETERS et al., 2012).

O Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é caracterizado pela deterioração da função de células beta-pancreáticas, resultando a combinação da resistência à ação da insulina e da resposta secretora inadequada de insulina compensatória. É causada pela interação de fatores genéticos e ambientais. Existem fatores que contribuem para o desenvolvimento do DM2, tais como hereditariedade, idade maior ou igual a 45 anos, excesso de peso, sedentarismo, hipertensão arterial, doença coronariana HDL baixo ou triglicérides elevados, uso de medicamentos hiperglicemiantes (corticoides, betabloqueadores) e DM gestacional prévio (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016).

Os indivíduos diabéticos exibem uma deficiência na cicatrização de feridas agudas já descrita na literatura. Além disso, esta população está propensa a desenvolver úlceras crônicas do pé diabético (DFUs), que são estimadas ocorrer em 15% das pessoas com diabetes. As DFUs são uma complicação grave da diabetes, e respondem por 84% das amputações em diabéticos (BREM; TOMIC-CANIC, 2007; CAIAFA et al., 2011).

A cicatrização comprometida em DFUs e em feridas cutâneas agudas diabéticos envolve diversos mecanismos fisiopatológicos complexos. Pesquisas têm demonstrado que, no soro de pacientes com diabetes tipo 2, muitas substâncias pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina 6 (IL-6) e a interleucina 1

(IL-1) estão elevadas tendo sido associados com o desenvolvimento de resistência à insulina (BALBINO et al., 2005; CARVALHO et al., 2006; ALBA-LOUREIRO et al., 2006; TILG; MOSCHEN, 2008). Nestas feridas os neutrófilos mostram uma redução das atividades quimiotáticas e fagocíticas, tornando-as mais propensas à infecção (CARVALHO, 2014). Também se verifica a disfunção das células T, a diminuição na quimiotaxia, fagocitose e capacidade bactericida dos leucócitos, a disfunção dos fibroblastos e das células epidérmicas. Estes defeitos são responsáveis pela inadequada remoção bacteriana e reparação demorada ou deficiente das feridas (GARY; WOO, 2008.).

3.5 Toxicidade de plantas medicinais

O uso de plantas medicinais como tratamento por curandeiros é uma prática comum e, por tratar de material de origem vegetal, os pacientes não costumam acreditar em efeitos tóxicos que essas podem causar e acabam não buscando ajuda especializada (BRUNING et al., 2012).

De maneira geral, os efeitos produzidos por tratamentos alternativos com medicamentos de origem vegetal, é semelhante aos observados no uso de medicamentos convencionais. A interação medicamentosa entre os compostos quimioterápicos e fitoterápicos é mais uma preocupação na saúde humana e os riscos que as plantas medicinais podem apresentar representam, por vezes, severos efeitos colaterais (BRUNING et al., 2012; ZENI et al., 2017).

Alguns fatores podem ser mencionados na observação de toxicidade durante o tratamento com plantas medicinais. Misturas de plantas, período do ano em que o vegetal foi coletado, métodos de extração diversos, erros de identificação botânica. Outros como a contaminação das plantas por microrganismos, micotoxinas, pesticidas, metais pesados, substâncias sintéticas, adulteração e a própria constituição química da planta (STICKEL et al., 2005; VEIGA JUNIOR; PINTO, 2005).

Entre os efeitos colaterais que podem ocorrer devido ao uso de plantas medicinais são relatadas diversas lesões hepáticas. Algumas plantas têm sido identificadas como causadoras de hepatite aguda e crônica, colestase, lesões autoimunes induzidas pelas plantas, lesões vasculares, insuficiência hepática e cirrose (STICKEL et al., 2005).

De acordo com Stickel et al. (2005), 21% dos pacientes que procuram clínicas especializadas no tratamento do fígado fizeram uso de preparações de plantas. Esse é

órgão desempenha função central na metabolização de substâncias sendo o primeiro alvo das doenças relacionadas a medicamentos. Componentes ingeridos são predominantemente biotransformados no fígado por ação de enzimas metabolizadoras, incluindo as enzimas do citocromo P450, monooxigenases, glutatona transferases, entre outras. A indução de algumas destas enzimas pode apresentar mecanismos com uma grande variabilidade individual na susceptibilidade a danos hepáticos (STICKEL et al., 2005).

Níveis aumentados das enzimas hepatobiliares é um dos marcadores mais sensíveis da doença hepática induzida por drogas (TELLI et al., 2016). Dentre as enzimas hepáticas, o aumento das taxas de alanina aminotransferase (ALT) e da aspartato-aminotransferase (AST) pode resultar de alterações reversíveis a irreversíveis nas membranas hepatocelulares associadas com necrose, colestase, hipoxia, hipoperfusão, inflamação, ação de agentes infecciosos e toxinas ou excesso de depósitos hepatocitários de lipídeos, cobre ou glicogênio (VASCONCELOS et al., 2007).

As enzimas AST e ALT, com papéis centrais na catalisação de várias reações, tanto para síntese como para degradação de aminoácidos, estão amplamente distribuídas nos tecidos humanos com atividades mais elevadas de AST no tecido cardíaco, fígado, músculo esquelético e mais baixas nos rins, pâncreas, baço e eritrócitos. A ALT apresenta-se em elevados níveis no fígado. Alguns distúrbios hepatocelulares agudos são observados com o aumento nas taxas de ALT e AST: as taxas de ALT estão geralmente aumentadas em relação a AST na hepatite tóxica; Na cirrose hepática as taxas de AST são maiores que as de ALT (MOTTA, 2009).

O fígado é o principal órgão de produção da albumina. A albumina é uma molécula responsável pelo transporte de medicamentos, nutrientes, e outros constituintes químicos no sangue. O aumento drástico desta proteína, ou hiperalbuminemia, ocorre na desidratação. A redução das concentrações plasmáticas, entretanto, é observada em várias situações, como na síndrome nefrótica, pela perda elevada do constituinte pelos rins e a diminuição da capacidade de síntese pelo organismo (RHOADES; TANNER, 2005).

Para avaliação da função renal, a creatinina sérica pode ser utilizada para estimar o ritmo de filtração glomerular. A creatina perde água espontaneamente, em condições fisiológicas, para formar a creatinina (anidrido). A creatinina livre não é reutilizada no metabolismo e assim funciona como um produto dos resíduos de creatina. Valores aumentados indicam a deterioração da função renal e a severidade da doença neste

órgão geralmente acompanha o nível sérico. Os níveis de creatinina muitas vezes não ultrapassam os limites de referência até que 50 a 70% da função renal esteja comprometida (KIRSZTAINS, 2007).

As taxas de uréia no plasma são afetadas pela função renal, pelo conteúdo protéico da dieta, pelo teor do catabolismo protéico e o estado de hidratação do paciente. Os níveis de uréia funcionam como um indicativo da insuficiência renal sintomática e no estabelecimento de diagnóstico na distinção entre várias causas de insuficiência renal. Os aminoácidos provenientes do catabolismo protéico são desaminados com a produção da amônia. Sendo a amônia tóxica, esta é convertida em uréia no fígado associada ao CO₂ (MOTTA, 2009).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J. R.; SANTOS, C. D.; ABREU, C. M. P.; CASTRO, E. M. Histochemistry and morphoanatomy study on guava fruit during ripening. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n.1, p.179-186, 2012.

AIRES, M. B. Histologia básica. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe, CESAD, 2011. 14 p.

ALBA-LOUREIRO, T. C.; HIRABARA, S. M.; MENDONCA, J. R.; CURI, R.; PITHONCURI, T. C. Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. **Journal of Endocrinology**, v. 188, n. 2, p. 295-303, 2006.

AMAROWICZ, R. Tannins: the new natural antioxidants? **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p. 549–551, 2007.

ANAS, K.; JAYASREE, P. R.; VIJAYAKUMAR, T.; MANISH K. P. R. In vitro antibacterial activity of *Psidium guajava* Linn. leaf extract on clinical isolates of multidrug resistant *Staphylococcus aureus*. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 46, n. 1, p. 41-46, 2008.

ANDERSON, B.E. Sistema Tegumentar – V. 4. Coleção Netter de Ilustrações Médicas. 2ª ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2014.

ANDRADE, A. P. C.; MAGALHÃES, N. P.; SILVA, A. S. A.; OLIVEIRA, D. R.; FARIAS A. S.; RIOS D. A. S. Ação antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos e aquosos da folha da goiabeira (*Psidium guajava* L.) no controle de *Staphylococcus aureus* ATCC 27922, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Listeria monocytogenes* SCOTT A. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, n. 1, p. 1-7, 2019.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ANJENEYULU, M.; CHOPRA, K. Quercetin, an anti-oxidant bioflavonoid, attenuates diabetic nephropathy in rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 31, n. 1, p. 24-48, 2004.

ANURAG, N.; AK, P.; ANKUR, C.; PRIYA, S.; YOGESH. Avaliação de uma preparação poliarbal para atividade de cicatrização de feridas. **Revista de Pesquisa em Farmacologia e Farmacodinâmica**, v. 2, n. 5, p. 340-342, 2015.

ARSHIYA, S. The antioxidant effect of certain fruits: - a review. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 12, p. 265- 268, 2013.

ARAÚJO, A. A.; SOARES, L. A. L.; ASSUNÇÃO, F. M. R.; SOUZA, N. M. A.; SILVA, G. R.; ARAÚJO, R. F.; GUERRA, G. C. B.; MELO, M. C. N. Quantification of polyphenols and evaluation of antimicrobial, analgesic and anti-inflammatory activities of aqueous and acetone-water extracts of *Libidibia ferrea*, *Parapiptadenia rigida* and *Psidium guajava*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 156, n. 1, p. 88–96, 2014.

AZEVEDO, S. K. S.; SILVA, I. M. Plantas medicinais e de uso religioso comercializadas em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 185-194, 2006.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.

BARBALHO, S. M.; FARINAZZI-MACHADO, F. M. V.; GOULART, R. A.; BRUNNATI, A. C. S.; OTTOBONI, A. M. M. B.; NICOLAU, C. C. T. *Psidium guajava* (Guava): a plant of multipurpose medicinal applications. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 1. n. 4, 2012.

BARBOSA, R. M. **Avaliação citológica de espécies de Psidium**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 44 p. 2016.

BARRETT, K. E.; BARMAN, S. M.; BOITANO, S.; BROOKS, H. L. Fisiologia Médica de Ganong. 24ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2013.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. BEELEN, P. M. G.; PEREIRA FILHO, J. M.; Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 63-72, 2004.

BERMÚDEZ-VÁSQUEZ, M. J. B.; CHINCHILLA, F. G.; MOLINA, A. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y *Cymbopogon citratus*. **Agronomía Mesoamericana**, v. 30, n. 1, p. 147-163, 2019.

BEZERRA, M. B. M. F.; LIMA, S. D.; SANTOS, S. F.; PEREIRA, C. T.; CARVALHO, N. B. V.; TORRES, A. W. M.; RIBEIRO-FILHO, J.; DOUGLAS M. C. H. *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC. potentiate the effect of antibiotics against Gram-positive and Gram-negative bacteria. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 8, n. 5, p. 683–687, 2016.

BISTNER, S. I.; FORD, R. B.; RAFFE, M. R. Interpretação de testes laboratoriais. In: Bistner SI, Ford RB, Raffe MR. Manual de Procedimentos Veterinários e tratamento emergencial. 7. ed. São Paulo: Roca; 2002. p. 607-760.

BREM H, TOMIC-CANIC M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 5, p. 1219-22, 2007.

BRITO G. M. G.; GOIS, C. F. L.; ZANETTI, M. L.; RESENDE, G. G. S.; SILVA, J. R. S. Qualidade de vida, conhecimento e atitude após programa educacional de diabetes. **Acta Paul Enferm**, v. 29, n. 3, p. 298-306, 2016.

BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. The basic science of wound healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 117, n. 7, p. 12-34, 2006.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G. VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, 2012.

BRUNIERA, F. R.; FERREIRA, F. M.; SAVIOLI, L. R. M.; BACCI, M. R.; FEDER, D.; PEREIRA, E. C.; PEDREIRA, M. L. G.; PETERLINI, M. A. S.; PERAZZO, F. F.; AZZALIS, L. A.; ROSA, P. C. P.; JUNQUEIRA, V. B. C.; SATO, M. A.; FONSECA, F. L. A. Endothelial, renal and hepatic variables in wistar rats treated with Vancomycin. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 4, p. 1963-1971, 2014.

CAIAFA, J. S.; CASTRO, A. A.; FIDELIS, C.; SANTOS, V. P.; SILVA, E. S.; SITRÂNGULO, C. J. J. Atenção integral ao portador de pé diabético. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.10 n.4 supl.2, 2011.

CALIXTO, J. B.. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CAMPOS, A, BORGES-BRANCO, A, GROTH, A. Cicatrização de feridas. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 20, n. 1, p. 51-58, 2007.

CAMPOS A, GROTH A, BRANCO A. Assessment and nutritional aspects of wound healing. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 11, n. 3, p. 281-288, 2008.

CANDIDO, L. C. Novas abordagens no tratamento de feridas. São Paulo: Senac, 2001. 282 p.

CAÑIZARES, A.; LAVERDE, D.; PUESME, R. Crecimiento y desarrollo del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) en Santa Bárbara, Estado Monagas, Venezuela. **Revista Científica UDO Agrícola**, v. 3, n. 1, p. 34-38, 2003.

CARNEIRO, S. C. S.; RAMOS-E-SILVA, M. Cicatrização. In: KEDE, M. P. V.; SABATOVICHE, O. Dermatologia estética. São Paulo: Atheneu, 2007. 11-14 p.

CARRICONDE, C. Introdução ao uso de fitoterápicos nas patologias de APS. Olinda: CNMP, 2000.

CASTEJON, F.V. Taninos e saponinas. Seminário Aplicados do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

CASTILHO, T.; CAMPOS, A.; MELLO E. Effect of Omega-3 Fatty Acid in the Healing Process of Colonic Anastomosis in Rats. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 28, n. 4, p. 258-261, 2015.

CARVALHO, A. A. T.; SAMPAIO, M. C.C.; SAMPAIO, F. C.; MELO, A.F. M.; SENA, K.X. F. R.; CHIAPPETA, A. A.; HIGINO, J. S. Atividade Antimicrobiana in vitro de extratos hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre bactérias gram-negativas. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 21, n. 4, p. 255-258, 2002.

CARVALHO, A. F.; SILVA, D. M.; SILVA, T. R. C.; SCARCELLI, E.; MANHANI, M. R. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 1, p. 521-526, 2014.

CARVALHO, M. H. C.; COLAÇO, A. L.; FORTES, Z. B. Citocinas, Disfunção Endotelial e Resistência à Insulina. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, v. 50, n, 2, p. 304-312, 2006.

CESTARI, S. C. P. Dermatologia Pediátrica. Noções de anatomia e histologia da pele. 1. Ed. Atheneu, p. 728, 2012.

CHENG, F. C.; SHEN, S. C.; WU, J. S. B. Effect of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extract on glucose uptake in rat hepatocytes. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 1, p. 132-138, 2009.

CHEN, K. C.; HSIEH, C. L.; HUANG, K. D.; KER, Y. B.; CHYAU, C. C.; PENG, R. Y. Anticancer activity of rhamnoallosan against DU-145 cells is kinetically complementary to coexisting polyphenolics in *Psidium guajava* budding leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 14, p. 6114–6122, 2009.

CLARK R.A.F. Wound repair. In: Kumar, Robbins, Cotran: Pathologic Basis of Disease, 7th ed., Ed. Saunders, p.112, 2005.

CUNHA, L. C.; AZEREDO, F. S.; MENDONÇA, A. C. V.; VIEIRA, M. S.; PUCCI, L. L.; VALADARES, M. C.; FREITAS, H. O. G.; SENA, A. A. S.; JUNIOR, R. S. L. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2, p. 403-411, 2009.

CUTTLE, L. et al. Collagen in the scarless fetal skin wound: Detection with Picrosirius-polarization. **Wound Repair Regen**, v. 13, n. 2, p. 198-204, 2005.

DASGUPTA A. Review of abnormal laboratory test results and toxic effects due to use of herbal medicines. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 120, n. 1, p. 127-137, 2003.

DEGUCHI, Y.; MIYAZAKI, K. Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects of guava leaf extract. **Nutrition & Metabolism**, v. 7, n. 9, p. 1-10, 2010.

DENG JF. Clinical and laboratory investigations in herbal poisonings. **Toxicology**, v. 181, n. 182, p. 571-576, 2002.

DIAS, A.L.P.; SILVA, L.D. Perfil do portador de lesão crônica de pele: fundamentando a autopercepção de qualidade de vida. **Escola Anna Nery**, v. 10, n. 2, p. 280-5, 2006.

DIABETES CARE. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **American Diabetes Association**, v. 37, n. 1, p. 81-90, 2014.

DIEGELMANN, R. F.; COHEN, I. K.; KAPLAN, A. M. The role of macrophages in wound repair: a review. **Plast Reconstr Sur**, v. 68, n. 1, p. 107-113, 1981.

FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES. Bruxelas: Federação Internacional de Diabetes Atlas. 8th ed., 2017. Acesso em: 24 fev. 2020. Disponível em: <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas.html>.

FERNANDES, K. P. S.; BUSSADORI, S. K.; MARQUES, M. M.; WADT, N. S. Y.; BACH, E.; MARTINS, M D. Healing and cytotoxic effects of Psidiumguajava (Myrtaceae) leaf extracts. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, v. 9, n. 4, p. 449-454, 2010.

FIRN, R. D.; JONES, C. G. Natural products – a simple model to explain chemical diversity. **Natural Product Reports**, v. 20, n. 4, p. 382-391, 2003.

FRÖDE, T. S.; MEDEIROS, Y. S. Animal models to test drugs with potencial antidiabetic activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 1, n. 15, p. 173-183, 2008.

GAYOTTO, L. C. C.; ALVES, V. A. F. Doenças do Fígado e Vias Biliares. São Paulo: Atheneu; 2001.

GARY, S.R.; WOO, K.Y. The biology of chronic foot ulcers in persons with diabetes. **Diabetes Metab Res Ver**, v. 24, Suppl 1, p. 25-30, 2008.

GAWRONSKA-KOZAK, B.; BOGACKI, M.; RIM, J. S.; MONROE, W. T.; MANUEL, J. A. Scarless skin repair in immunodeficient mice. **Wound Repair and Regeneration**, v. 14, n. 3, p. 265-276, 2006.

GEOVANINI T. Tratado de Feridas e Curativos: enfoque multiprofissional. São Paulo, Rideel, 2014.

GHOSH, P.; MANDAL, A.; CHAKRABORTY, P.; RASUL, M. G.; CHAKRABORTY, M.; SAHA, A. Triterpenoids from *Psidium guajava* with biocidal activity. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 72, n. 4, p. 504–507, 2010.

GLINARDELLO, M. M. M. C.; SANTOS, A. R.; SANT'ANNA, C. M.; CRUZ, C. R.; CARVALHO, D. P.; SILVA, V. P. Lesão epitelial e cicatrização de natureza hipertrófica e queiloide, **Corpus et Scientia**, v. 5, n. 2, p. 37-44, 2009.

GOSAIN, A.; DIPIETRO, L. A. Aging and wound healing. *World Journal of Surgery*, v. 28, n. 3, p. 321-326, 2004.

GOUVEIA, J.P.G. DE; ALMEIDA, F.A.C.; MEDEIROS, B.C.S.; RIBEIRO, C.F.A.; DUARTE, S.M.A. Determinação de características físico-químicas da goiaba: goiabeiras adubadas no semi-árido da Paraíba. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v. 6, n. 1, p.35-38, 2004.

GRINNELL, F.; BILLINGHAN, R.; BURGESS, L. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 76, n. 3, p. 181-189, 1981.

GRUPO DE TRABALHO INTERNACIONAL SOBRE PÉ DIABÉTICO. Brasília: Consenso internacional sobre pé diabético.; 2001. Disponível em: http://189.28.128.100/dab/docs/publicacoes/geral/conce_inter_pediabetico.pdf. Acesso em: 5 fev. 2020.

GUPTA, R.; MALIK, P.; DAS, N.; SINGH, Man. Estudo antioxidante e físico-químico de *Psidium guajava* nanopartículas de óxido de zinco preparadas. **Journal of Molecular Liquids**, v. 275, n. 1, p. 749-767, 2019.

HAIDA, K.S.; BARON, A.; HAIDA, K.S.; FACI, D. da; HAAS, J.; SILVA, F.J. da. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de duas variedades de goiaba e arruda. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 9, n. 28, p. 11-19, 2011.

HUBER, L.S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.1, p. 97-108, 2008.

HUSSAIN, S.H; LIMTHONGKUL, B; HUMPHREYS, T.R. As propriedades biomecânicas da pele. **Cirurgia Dermatológica**, v. 39, n. 1, p. 193-203, 2013.

IHA, S. M MIGLIATO, K. F.; VELLOSA J. C. R.; SACRAMENTO, L. V. S; PIETRO, R. C. L. R.; ISAAC, V. L. B.; BRUNETTI, I. L.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 387-393, 2008.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION-IDF. Brussels: International Diabetes Federation. Atlas, 8th ed., 2017. Disponível em: <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas.html>. Acesso em: 5 fev. 2020.

JAIARJ, P.; et al. Anticough and Antimicrobial activities os *Psidium guajava* Linn. Leaf Extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n. 1, p. 203-212, 1999.

JAMESON, J.; HAVRAN, W. L. Skin gammadelta T-cell functions in homeostasis and wound healing. **Immunological Reviews**, v. 215, n. 1, p. 114-122, 2007.

JOHNSON T, C. R. C. Ethnobotany desk reference, CRC Press, Boca Raton, FL. 1999.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. Histologia básica: texto e atlas. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

KAWAKAMI, Y.; NAKAMURA, T.; HOSOKAWA, T.; SUZUKI, Y. T.; YAMASHITA, H.; KIMOTO, M.; TSUJI, H.; YOSHIDA, H.; HADA, T.; TAKAHASHI, Y. Antiproliferative activity of guava leaf extract via inhibition of prostaglandin endoperoxide H synthase isoforms. **Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids**, v. 80, n. 6, p. 239–245, 2009.

KILLION, K.H., 2000. The Review of Natural Products, third ed. Facts and Comparison, USA, pp. 250–251.

KIMIYO, S. H; JUCELAINE, H. A. A. S; SONIA, A. M; KARISSA, S. H; RICARDO, M. A; RAPHAEL, S. A. H. D. Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Goiaba (*Psidium guajava* L.). **Revista Fitos**, v 9, n. 1, p. 1-72, 2015.

KUMAR, A. Importance for Life ‘*Psidium guava*’. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 1, 2012.

LEAL, E. C.; CARVALHO, E. Cicatrização de Feridas: O Fisiológico e o Patológico. **Revista Portuguesa de Diabetes**, v. 9, n. 3, p. 133-143, 2014.

LEONARD, A.L.; HANKE, CW. Cura por segunda intenção para defeitos pós-cirúrgicos médios e grandes do lábio. **Journal of the American Academy of Dermatology**. v. 57, n. 1, p. 832-835, 2007.

LIU, E.; EISENBARTH, G. S. Type 1 diabetes mellitus-associated autoimmunity. **Endocrinology Metabolism Clinics of North America**, v. 31, n. 2, p. 391-410, 2002.

LOZOYA, X.; et al. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug os *Psidium guajava folia* in the treatment of acute diarrheic disease. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 19-24, 2002.

LOOTS, M.A.; LAMME, E.N.; ZEEGELAAR, J.; MEKKES, J.R.; BOS, J.D.; MIDDELKOOP, E. Differences in cellular infiltrate and extracellular matrix of chronic diabetic and venous ulcers versus acute wounds. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 111, n. 5, p. 850-857, 1998.

LUTTERODT, D. G.; MALEQUE, A. Effects on mice locomotor activity of a narcotic-like principle from *Psidium guajava* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 24, n. 1, p. 219-231, 1988.

MAILOA, M. N.; MAHENDRADATTA, M.; LAGA, A.; DJIDE, N. Tannin extract of guava leaves (*Psidium guajava* L) variation with concentration organic solvents. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v. 2, n. 9, p. 106-110, 2013.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, É. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MANICA, I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SALVADOR, J. O.; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. Fruticultura tropical 6. Goiaba. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. 374 p.

MANOSROIA, J.; DHUMTANOMA, P.; MANOSROIA, A. Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines. **Cancer Letters**, v. 235, n. 1, p. 114-20, 2006.

MARHOFFER, W.; STEIN, M.; SCHLEINKOFER, L.; FEDERLIN K. Evidence of ex vivo and in vitro impaired neutrophil oxidative burst and phagocytic capacity in type 1 diabetes mellitus. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 19, n. 3, p. 183-188, 1993.

MARTINI, F. H.; TIMMONS, M. J.; TALLITSCH, R. B. Anatomia humana. 6ª ed. Porto Alegre, Ed. Artmed, 2009.

MARTINS, M.M. **Constituintes voláteis, fenóis totais, capacidade antioxidante e biológica de folhas, flores e raízes da Vernonia brasilliana Less.** Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MENDONÇA, F. A. S.; JUNIOR, J. R. P.; ESQUISATTO, M. A. M.; MENDONÇA, J. S.; FRANCHINI, C. C.; SANTOS, M. G. T. Effects of the application of Aloe vera (L.) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 150-155, 2009.

MENDONÇA, R.J; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. V. 84, n. 3, p. 257-62, 2009.

MILLS, R. E.; TAYLOR, K. R.; PODSHIVALOVA, K.; MCKAY, D. B.; JAMESON, J. M. Defects in skin gamma delta T cell function contribute to delayed wound repair in rapamycin-treated mice. **The Journal of Immunology**, v. 181, n. 6, p. 3974-3983, 2008.

MILYANI, R. Inhibitory effect of some plant extracts on clinical isolates of Staphylococcus aureus. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 36, p. 6517–6524, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde – Departamento de Atenção Básica. Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: diabetes mellitus. Brasília, 2013. 160 p.

MOERMAN DE. Medicinal plants of native America, University of Michigan Museum of Anthropology, Ann Arbor, MI. 1986.

MOTTA, V.T. Bioquímica Clínica para Laboratório – princípios e interpretações. 5ª edição. Rio de Janeiro: MedBook, 2009.

NAIR, R.; CHANDA, S. In Vitro antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. leaf extracts against clinically important pathogenic microbial strains. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 3, p. 452–458, 2007.

NASCIMENTO, R.J. **Potencial antioxidante de resíduo agroindustrial de goiaba**. 2010. 110 p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2010.

NASCIMENTO, R.J. do; ARAÚJO, C.R.; MELO, E.A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*Psidium guajava* L.). **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 2, p. 209-216, 2010.

NIGGEMANN, B.; GRÜBER, C. Side-effects of complementary and alternative medicine. **Allergy**, v. 58, n. 8, p. 707-716, 2003.

NISHA, K.; DARSHANA, M.; MADHU, G.; BHUPENDRA, M. K. GC-MS Analysis and anti-microbial activity of *Psidium guajava* (leaves) grown in Malva region of India. **International Journal of Drug Development and Research**, v. 3, n. 4, p. 237–245, 2011.

OKAMOTO, M. K. H.. **Estudo das atividades cicatrizantes e antimicrobiana do extrato glicólico e do gel de *Psidium guajava* L. e estudo da estabilidade do gel**. 2010. 118 p. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamentos) –Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

OLIVEIRA, V. P.; ESPESCHIT, A. C. R.; PELUZIO, M. C. G. Flavonóides e doenças cardiovasculares: ação antioxidante. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 16, n. 4, p. 234-23, 2006.

OLIVEIRA, S.G.; BERCHIELLI, T.T. Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.1, p. 1-9, 2007.

OLIVEIRA, I. P.; OLIVEIRA, L. C.; MOURA, C. S. F. T.; LIMA JÚNIOR, A. F.; ROSA, S. R. A. Cultivo da goiabeira: do plantio ao manejo. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 5, 137-156, 2012.

OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. Netter bases da histologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

OKUNROBO, O. L.; IMAFIDON, K. E.; ALABI, A. A. Phytochemical, Proximate and Metal Content Analysis of the Leaves of *Psidium guajava* Linn (Myrtaceae). **International Journal of Health Research**, v. 3, n. 4, p. 217-225, 2010.

PARK, J. E.; BARBUL, A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. **The American Journal of Surgery**, v. 187, n. 5, p. 11-16, 2004.

PAULL, R.E; BITTENBENDER, HC. *Psidium guajava* goiaba. In: JANICK, J.; PAULL, RE. A enciclopédia de frutas e nozes. Cambridge: Cambridge University Press, 2006. p.541-549.

PENG, C. C.; PENG, C. H.; CHEN, K. C.; HSIEH, C. L.; PENG, R. Y. The aqueous soluble polyphenolic fraction of *Psidium guajava* leaves exhibits potent anti-angiogenesis and anti-migration actions on DU145 cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 20, n. 11, p. 219069, 2011.

PEREIRA, A. C. S. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante total de frutas tropicais e cítricas produzidas no Ceará**. 2009. 120 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2009.

PEREIRA, C. A.; VILELA, P. G. F.; OLIVEIRA, L. D.; JORGE, A. O. C. Ação antimicrobiana in vitro de extratos glicólicos de *Psidium guajava* L., *Syzygium cumini* L. e *Pimpinella anisum* L. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 1, p. 102-108, 2009.

PEREIRA, F.M.; CARVALHO, C.; NACHTIGAL, J.C. Século XXI: nova cultivar de goiabeira de dupla finalidade. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p.498-500, 2003.

PIZA, M.; FÉBOLI, A.; AUGUSTO, J.; ANJOS, L.; LAURENTIZ, A.; ROYO, V.; ALVARENGA, F.; LAURENTIZ, R. In vitro ovicidal and larvicidal activity of *Psidium cattleianum* Sabine leaves against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. **Boletim De Indústria Animal**, v. 76, n. 1, p. 1-8, 2019.

PLOEGER, D. T.; HOSPER, N. A.; SCHIPPER, M.; KOERTS, J. A.; ROND, S.; BANK, R. A. Cell plasticity in wound healing: paracrine factors of M1/M2 polarized macrophages influence the phenotypical state of dermal fibroblasts. **Cell Communication and Signaling**, v. 11, n. 1, p. 1-17, 2013.

POMMER, C. V.; MURAKAMI, K. R. N. Breeding guava (*Psidium guajava* L.). In: JAIN, S. M.; PRIYADARSHAN, P. M. Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species. New York: Springer, 82-120, 2009.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2009.

RAMOS, D.P.; LEONEL, S.; SILVA, A.C. DA; SOUZA, M.E. DE; SOUZA, A.P. DE; FRAGOSO, A.M. Épocas de poda na sazonalidade, produção e qualidade dos frutos da goiabeira ‘Paluma’. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 3, p. 909-918, 2011.

RHOADES, R.A.; TANNER, G.A. Fisiologia Médica. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

RIZZO, L.Y.; LONGATO, G.B.; RUIZ, A.L.G.; TINTI, S.V.; POSSENTI, A. Vendramini-Costa DB. In vitro, in vivo and in silico analysis of the anticancer and estrogen-like activity of guava leaf extracts. **Current Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 2322-2330, 2014.

ROBERTO, B. S. **Resíduo de goiaba: metabolismo em ratos e aplicabilidade em barras de cereais**. 2012. 145 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2012.

ROCKENBACH, I.I.; RODRIGUES, E.; CATANEO, C.; GONZAGA, L.V.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Ácidos fenólicos e atividade antioxidante em fruto de *Physalis peruviana* L. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.3, p. 271-276, 2008.

ROSA, A. L.; SANTOS, PAULA, R. K. F.; AKEL, S. M. Análise da influência do café sobre as enzimas hepáticas. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 13, n. 16, p. 120-132, 2019.

ROTTA, O. Guia de dermatologia: clínica, cirúrgica e cosmética. São Paulo: Manole, 2008. p. 3-6.

SALGADO, F.; ARTIGIANI-NETO R.; LOPES-FILHO G. Growth Factors and Cox2 in Wound Healing: an Experimental Study with Ehrlich Tumors. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 29, n. 4, p. 223-226, 2016.

SANTOS, C.X. **Caracterização físico-química e análise da composição química da semente de goiaba oriunda de resíduos agroindustriais**. Dissertação de Mestrado, Engenharia da Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2011.

SEBRAE (2015). Agronegócio fruticultura. Boletim de inteligência. Disponível em:<[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/64ab878c176e5103877bfd3f92a2a68f/\\$File/5791.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/64ab878c176e5103877bfd3f92a2a68f/$File/5791.pdf)>. Acesso em 2 fev 2016.

SINGER, A. J.; CLARK, R. A. F. Cutaneous wound healing. **New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 10, p. 738-746, 1999.

SILVA, D.S.; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; FIGUEIREDO, R.W.; COSTA, J.M.C.; FONSECA, A.V.V. Estabilidade de componentes bioativos do suco tropical de goiaba não adoçado obtido pelos processos de enchimento a quente e asséptico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p.237-243, 2010.

SILVA, I.C.A1; ALEIXO, A.A.; ALEIXO, A.M.; FIGUEIREDO, A.P.; LEMUCHI, M.O.; LIMA, L.A.R.S. Análise fitoquímica e atividade antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas de *Psidium guajava* L. (Goiabeira). **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 2, p. 76-78, 2013.

SILVA, M. O. **Atividade antioxidante e composição de oligossacarídeos em subproduto obtido do processamento industrial da goiaba (*Psidium guajava*)**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2015.

SENA, K. **Efeito de extratos epicuticulares de frutos de duas cultivares de goiabeira (*Psidium guajava*) sobre a germinação de uredíniosporos de *Puccinia psidii***. 2008. 59 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos do Goytacasez, Rio de Janeiro, 2008.

POMMER, C.V.; MURAKAMI, K.R.N.; WATLINGTON, F. Goiaba no mundo. **O Agrônomo**, v. 58, n. 1, p. 22-26, 2006.

SANTOS, C.X. **Caracterização físico-química e análise da composição química da semente de goiaba oriunda de resíduos agroindustriais**. 2011. 61 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetininha, Bahia, 2011.

SILVA, L. L.; LOPES, P. F.; MONTEIRO, M. H. D. A.; MACEDO, H. W. Importância do uso de plantas medicinais nos processos de xerose, fissuras e cicatrização na diabetes mellitus. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.4, p.827-835, 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES: 2014-2015. São Paulo: AC Farmacêutica; 2015. Acesso em: 2 de Fev. 2020. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/publico/images/2015/area-restrita/diretrizes-sbd-2015.pdf>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES-SBD. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. São Paulo: A.C. Farmacêutica; 2016. Acesso em: 2 de Fev. 2020. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/profissionais/images/docs/DIRETRIZES-SBD-2015-2016.pdf>.

SOUZA, A. G.; RESENDE, L. V.; LIMA, I. P.; MARTINS, L. S. S.; TECHIO, V. H. Chromosome number and nuclear DNA amount in *Psidium* spp. resistant and susceptible to *Meloidogyne enterolobii* and its relation with compatibility between rootstocks and commercial varieties of guava tree. **Plant Systematics and Evolution**, v. 301, p. 231-237, 2015.

SOUZA, A. A.; ALBERNAZ A. C.; SOBRINHO H. M. R. Diabetes Mellito tipo 1 autoimune: aspectos imunológicos. **Ciências da Saúde**, v. 14, n. 1, p. 53-65, 2016.

STICKEL, F.; PATSENKER, E.; SCHUPPAN, D. Herbal hepatotoxicity. **Journal of Hepatology**, v. 43, n. 5, p. 901-910, 2005.

STONE, R.C.; STOJADNOVIC, O.; ROSA, A.M.; RAMIREZ, H.A.; BADIAVAS, E.; BLUMEMBERG, M. et al. A bioengineered living cell construct activates an acute wound healing response in venous leg ulcers. **Science Translational Medicine**, v. 9, n. 371, p. 8611, 2017.

STONE, B. The flora of Guam. **Micronesica**, v. 6, n. 1, p. 454–455, 1970.

SUL'AIN, M. D.; ZAZALI, K. E.; AHMAD, N. Screening on anti-proliferative activity of *Psidium guajava* Leaves extract towards selected cancer cell lines. **Journal of US-China Medical Science**, v. 9, n. 1, p. 30-37, 2012.

TAGLIARI, E.; CAMPOS, L. F.; CAMPOS A. C.; COSTA-CASAGRANDE, T. A.; NORONHA, L. Efeito da administração oral de probióticos na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 32, n. 3, p. 1-6, 2019.

TELLI, E. M. R. P.; FRIGERI, M.; MELLO, S. R. Evaluation of hepatic enzyme activity in dependent, ex-dependent and non-users of ethanol. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 48, n. 3, p. 245-252, 2016.

TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. **Molecular Medicine**, v. 14, n. 3-4, p. 222-31, 2008.

TORTORA, G. J.; NIELSEN, M. T. **Princípios de Anatomia Humana**. 12^a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2012.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Princípios de anatomia e fisiologia**. 14^a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2016.

UBOH, F. E.; OKON, I. E.; EKONG, M. B. Effect of Aqueous Extract of Psidium Guajava Leaves on Liver Enzymes, Histological Integrity and Hematological Indices in Rats. **Gastroenterology Research**, v. 3, n. 1, p. 32-38, 2010.

UCHÔA, A. M. A. **Adição de pós alimentícios obtidos de resíduos de frutas tropicais na formulação de biscoitos**. Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2007.

UDEMEZUE, O. O.; UKOHA, U.; EZEJINDU, D. N.; OKAFOR, J. I.; OBILOR, A. D. The histological effects of guava leaf aqueous extract on kidneys of adult wistar rats. **International Journal of Research In Medical and Health Sciences**, v. 4, n. 3, p. 1-6, 2014.

SUL'AIN, M. D.; ZAZALI, K. E.; AHMAD, N. Screening on anti-proliferative activity of Psidium guajava Leaves extract towards selected cancer cell lines. **Journal of US-China Medical Science**, v. 9, n. 1, p. 30-37, 2012.

VAN BELLE, T. L.; COPPIETERS, K. T.; VON HERRATH, M. G. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. **Physiological Reviews**, v. 91, n. 1, p. 79-118, 2011.

VANPUTTE, C.L.; REGAN, J.L.; RUSSO, A.F. Anatomia e Fisiologia de Seeley. Porto Alegre, AMGH, 2016.

VASCONCELOS, L. A. B. A.; ALMEIDA, E. A.; BACHUR, L. F. Avaliação clínica e laboratorial hepática em indivíduos com insuficiência cardíaca congestiva. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, n.5, 2007.

VEIGA, V.F. Jr.; PINTO, A.C. Plantas medicinais: cura segura? **Quim Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VENTER, M. V.; ROUX, S.; BUNGU, L. C.; BUNGU, L. C.; LOUW, J.; LOUW, J.; CROUCH, N. R.; GRACE, O. M.; MAHARAJ, V.; MAHARAJ, V.; PILLAY, P.; PILLAY, P.; SEWNARIAN, P.; BHAGWANDIN, N.; P. FOLB. Antidiabetic screening and scoring of 11 plants traditionally used in South Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 2, p. 81-86, 2008.

VIZZOTTO, J. A.; NORONHA, L.; SCHEFFEL, D.; CAMPOS A. Influência da cisplatina administrada no pré e no pós-operatório sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 2, p. 143-149, 2003.

WILGUS, T. Immune cells in the healing skin wound: Influential players at each stage of repair. **Pharmacological Research**, v. 58, n. 2, p. 112-116, 2008.

WOODMAN, O. L.; CHAN, E. C. Vascular end ant-oxidant actions of flavonols and flavones. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, Carlton, v. 31, p. 786-90, nov. 2004.

YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna, Chapecó: Argos Editora Universitária, 2001.

ZENI, A. L. B.; PARISOTTO, A. V.; MATTOS, G.; HELENA, E. T. S. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 8, 2017.

ZHU, X.; OUYANG, W.; PAN, C.; GAO, Z.; HAN, Y.; CANÇÃO, M.; FENG K.; XIAO, P.; CAO, Y. Identificação de uma nova benzofenona das folhas de *Psidium guajava* L. e seus efeitos antineoplásicos em células cancerígenas do cólon humano. **Food & Function**, v. 10, n. 1, p. 4189-4198, 2019.

CAPÍTULO 2

Recebido: 02/10/2019

Arquivos Brasileiros de Ciências e Saúde

Artigo Original (MS 2019-111)

Efeito Cicatrizante do Extrato de Goiabeira (*Psidium guajava* L.) em Lesões Cutâneas de Ratos Diabéticos

Healing Effect of the Extract of Guava tree (*Psidium guajava* L.) in Skin Injuries of Diabetic Rats

Adriano Barbosa da Silva¹, Jade Porfíria da Silva Lopes¹, Ismaela Maria Ferreira de Melo¹, Clovis José Cavalcanti Lapa Neto¹, Erique Ricardo Alves¹, Anthony Marcos Gomes dos Santos¹, Valéria Wanderley Teixeira¹, Álvaro Aguiar Coelho Teixeira¹

¹Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) – Recife (PE), Brasil.

Autor para correspondência: Adriano Barbosa da Silva - Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco - Dom Manoel de Medeiros Street, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900 – Recife (PE), Brasil - E-mail: adrianoabs.silva@gmail.com

RESUMO

A reparação tecidual em indivíduos diabéticos é um processo lento. Assim, a busca de medicamentos que aceleraram esse processo vem aumentando, e uma das alternativas é o uso de plantas medicinais. Dentre elas destaca-se a *Psidium guajava* L., que apresenta em suas folhas, atividade cicatrizante em várias enfermidades. O objetivo da pesquisa foi avaliar histologicamente, morfometricamente, histoquimicamente e imunohistoquimicamente a atividade cicatrizante do extrato de *P. guajava*, utilizando como modelo experimental protocolos de lesões cutâneas na região dorsal em ratos diabéticos. Utilizou-se o extrato aquoso das folhas na proporção de 0,2g/mL para tratamento tópico em 40 ratos da linhagem Wistar, divididos nos grupos não diabéticos com extrato (I), não diabéticos sem tratamento (II), diabéticos com extrato (III) e diabéticos sem tratamento (IV). Houve reepitelização nas lesões nos animais dos grupos experimentais. Entretanto, só foi observado queratinização nas lesões dos animais dos grupos I, II e III. A histoquímica para o colágeno total e imunohistoquímica para o colágeno I mostraram forte marcação nas lesões dos animais que receberam o extrato. Já aos 14 dias verificou-se uma elevada taxa de cicatrização nas lesões dos animais tratados com o extrato. A morfometria revelou aumento significativo de fibroblastos e redução de macrófagos e vasos sanguíneos nas lesões dos animais tratados com extrato. Portanto, os dados sugerem interferência positiva do extrato de *P. guajava* no tratamento de lesões cutâneas em ratos.

Palavras-chave: Ratos, *Diabetes Mellitus*, hiperglicemia, goiaba, pele.

ABSTRACT

Tissue repair in diabetic individuals is a slow process. Thus, the search for medicines that accelerated this process has been increasing, and one of the alternatives is the use of medicinal plants. Among them stands out the *Psidium guajava*, which presents in its leaves healing activity in various diseases. The objective of this research was to histologically, morphometrically, histochemically and immunohistochemically evaluate the healing activity of *P. guajava* extract, using as an experimental model protocols of dorsal skin lesions in diabetic rats. Aqueous 0.2g / mL leaf extract was used for topical treatment in 40 Wistar rats, divided into non-diabetic with extract (I), non-diabetic untreated (II), and diabetic with extract (III) groups and untreated diabetics (IV). There was reepithelization of the lesions in the animals of the experimental groups. However, keratinization was only observed in lesions of animals in groups I, II and III. Histochemistry for total collagen and immunohistochemistry for collagen, group I showed strong marking on the lesions of the animals that received the extract. At 14 days, there was a high healing rate in the lesions of the animals treated with the extract. The morphometry revealed significant increase of fibroblasts and reduction of macrophages and blood vessels in the lesions of the animals treated with extract. Therefore, the data suggest positive interference of *P. guajava* extract in the treatment of skin lesions in rats.

Keywords: Rats, Diabetes Mellitus, hyperglycemia, guava, skin.

Introdução

O *Diabetes Mellitus* (DM) é uma disfunção metabólica, caracterizada pela deficiência na secreção ou na ação da insulina, resultando em um quadro fisiológico hiperglicêmico que, com o passar do tempo pode causar danos em diversos órgãos como olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos. Seu desenvolvimento está relacionado a diversos processos patogênicos, dentre eles, a destruição autoimune das células beta pancreáticas que leva a perda de sua capacidade de secretar insulina. Quando ativadas, as células imunes acessam as ilhotas de Langerhans, e os efeitos deletérios nas células beta são mediados por mecanismos relacionados a uma proteína transmembranar (CD95L), enzimas e proteínas liberadas por células citotóxicas como as granzimas e perforinas, espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e mediadores pró-inflamatórias. A ativação da MAP-quinase e dos fatores de transcrição STAT-1 e NFκB são resultados da ligação de citocinas aos seus receptores nas células beta causando comprometimento funcional, sobrecarga do retículo endoplasmático, e por fim, apoptose².

Segundo o Atlas Mundial de Diabetes¹ aproximadamente 500 milhões de pessoas no mundo possuem a doença e a estimativa para o ano de 2040 são de 642 milhões. No Brasil, estima-se que esse número chegue a 23,3 milhões entre pessoas com 20 e 79 anos¹. Os gastos mundiais com diabetes em 2015 foram estimados entre US\$ 673 e US\$ 1,197 bilhão, com projeção, para 2040, da ordem de US\$ 802 a US\$ 1,452 bilhão. Para o Brasil, o custo avaliado em 2015 foi de US\$ 22 bilhões, com projeção de US\$ 29 bilhões para 2040¹.

Dentre as consequências patológicas decorrentes desta disfunção, destacam-se as úlceras diabéticas, caracterizadas por ferimento cutâneo crônico de difícil cicatrização,

geralmente lesões difíceis de serem tratadas, com maior incidência em membros inferiores tornando-a um problema mundial de saúde pública e a causa mais comum de internações com 85% dos casos de amputações de extremidades inferiores relacionadas com a diabetes³.

A cicatrização é um processo biológico complexo que apresenta as seguintes fases: hemostasia e inflamação controlada, formação de tecido novo e remodelamento⁴. A primeira fase envolve interações entre diferentes tipos celulares e matriz extracelular com liberação de mediadores inflamatórios. A segunda fase inclui reepitelização, formação de tecido de granulação e matriz extracelular, além de angiogênese. Na terceira fase, ocorre substituição do colágeno tipo III pelo I⁵⁻⁷.

Neste sentido, os mecanismos eficientes de reparação tecidual, que promovem a reepitelização da epiderme e a substituição da derme por nova matriz extracelular são dificultados, uma vez que, é um processo complexo, envolvendo a organização de células e sinais químicos gradativos e sistêmicos, que podem durar até dois anos, com o objetivo de reparar o tecido. Em diabéticos ocorre prejuízo de numerosos componentes de cicatrização de feridas, incluindo o colágeno tipo I⁸.

A busca de medicamentos que possam acelerar esse processo cicatricial vem aumentando e uma das alternativas é o uso de plantas medicinais, por serem muito utilizadas desde o início da humanidade no tratamento de feridas. Dentre as plantas medicinais destaca-se a *Psidium guajava* L., popularmente conhecida como goiabeira, da família das mirtáceas e de grande importância econômica. Por tanto, o presente estudo avaliou histologicamente, morfometricamente, histoquimicamente e imunohistoquimicamente a atividade cicatrizante do extrato de *P. guajava*, em ratos diabéticos com lesões cutâneas.

Material e Métodos

As folhas para obtenção do extrato aquoso de *P. guajava* (EAPg) foram coletadas no Campus Dois Irmãos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) sob latitude 8.01343714 e longitude 34.95081156. O material vegetal foi identificado a partir da comparação com a exsicata nº 12715 do HST - Herbário Sérgio Tavares. Foram coletadas folhas em estado de maturação ainda jovem, livres de parasitas e patologias para obtenção do extrato. As folhas foram lavadas em água corrente e a assepsia realizada com álcool a 70%. Logo após foram cortadas e deixadas em estufa a 45°C por 5 dias. Após desidratação as folhas foram trituradas e solubilizadas em água destilada esterilizada na proporção de 0,2g/mL. O extrato puro foi obtido após filtração em papel de filtro Whatman nº 1 e esterilização em filtro ptfé com membrana de 0,20µm.

Quarenta ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus albinus*), com idade de 60 dias com peso médio de 250 g, foram adquiridos no Biotério da UFRPE. Os animais foram divididos nos seguintes grupos: I) ratos não diabéticos com lesões cutâneas e tratados com extrato de *P. guajava*; II) ratos não diabéticos com lesões cutâneas sem tratamento; III) ratos diabéticos com lesões cutâneas e tratados com extrato de *P. guajava* e IV) ratos diabéticos com lesões cutâneas sem tratamento. O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais sob a licença 043/2019.

A indução ao diabetes foi realizada por administração por via intraperitoneal de solução de estreptozotocina com jejum de 14 horas e avaliação de confirmação após sete dias da aplicação. A diluição da estreptozotocina foi realizada em tampão citrato de sódio 10 nM em pH 4,5 com aplicação em dose única de 60 mg/kg do peso animal. Os animais saudáveis receberam doses similares de solução salina e após 30 minutos da administração todos os animais receberam ração. Os animais com índice glicêmico

superior a 200 mg/dL foram selecionados para os grupos III e IV (Accu-Chek Activ Kit Glycosimeter).

Para indução das feridas os animais foram anestesiados com cloridrato de ketamina (80mg/kg) e cloridrato de xilazina (20mg/kg). Após anestesia foram colocados sobre prancha cirúrgica em decúbito ventral. Inicialmente foi realizada a epilação por tração manual dos pêlos do dorso com extensão de 6 cm². Para realização do procedimento operatório foram utilizadas lâminas de bisturi. Foi incisado um fragmento cutâneo de 1 cm² de diâmetro na área epilada, até exposição da fáscia muscular dorsal. A hemostasia foi realizada por compressão digital, utilizando-se gaze.

Os animais foram tratados diariamente com aplicação de 100µL do extrato no local da ferida até completa formação de tecido de cicatrização. Foi realizada avaliação macroscópica da ferida operatória, observando-se a presença ou ausência de secreção (indicativo de infecção), cicatriz hipertrófica, crosta, necrose e tamanho da ferida residual, no maior e menor eixo, medidos com paquímetro digital. Foi estabelecido um período de avaliação a cada 7 dias (7, 14 e 21 dias).

Após indução das feridas os animais foram mantidos em biotério sob condições controladas de luminosidade e umidade do ar, com água e ração *ad libitum*. No 21º dia os animais foram eutanasiados mediante dose excessiva dos anestésicos de cloridrato de xilazina, cloridrato de ketamina e tiopental sódico⁹, para retirada de fragmentos da área cicatrizada. Esses foram fixados em formol a 10% tamponado e processados para inclusão em parafina. Os cortes foram submetidos a coloração pela técnica de hematoxilina-eosina (H.E) e picrossirius, e analisados em microscópio óptico de luz, da marca OLYMPUS BX-49, fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50.

A taxa de cicatrização foi calculada comparando-se a área da ferida não cicatrizada ($Area_n$) com a área da ferida original ($Area_i$), aplicando-se a seguinte

fórmula: Taxa de cicatrização (%) = $(1 - \{[Area_i - Area_n] / Area_i\}) \times 100$ (Poonawala et al., 2005).

Para a avaliação morfométrica utilizou-se um microscópio óptico marca Olympus® modelo Bx 50, adaptado com uma ocular histométrica de 10x (Karl Zeiss Jena® modelo GF – P) dotada de um retículo de 100 pontos. A objetiva empregada foi de 100x. Em cada lâmina foram observados cinco campos, dois campos próximos à região de transição ferida/pele normal, em lados opostos, um campo central de fragmentos e mais dois campos da região de transição ferida/pele normal, em lados opostos do outro fragmento. Contou-se o número de fibroblastos, macrófagos e vasos sanguíneos¹¹. A quantificação do colágeno total, colágeno tipo I, taxa de cicatrização das lesões, porcentagem de fibroblastos, macrófagos e vasos sanguíneos nas lesões cutâneas foram analisadas pelo teste não paramétrico, seguido pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).

Resultados

A análise histopatológica revelou que após 21 dias da indução das lesões cutâneas e seus respectivos tratamentos, houve reepitelização nas lesões de todos os animais dos grupos experimentais. Entretanto, só foi observado queratinização nas lesões dos animais dos grupos G I, II e III (Figura 1 A, C, E e G). O tecido conjuntivo subjacente apresentou-se com características histológicas normais nas lesões dos animais tratados com o extrato de *P. guajava*, sem a presença de células do processo inflamatório e tecido de granulação. Porém nas lesões dos animais que não receberam o extrato, verificou-se a presença de numerosos macrófagos e células gigantes de corpos estranhos (Figura 1 B, D, F e H).

A histoquímica pelo picrosírius para o colágeno total mostrou marcação positiva em todas as lesões (Figura 2 A-D). Contudo, na quantificação em pixels verificou-se menor teor de colágeno nas lesões dos animais diabéticos sem tratamento com o extrato de *P. guajava* (Figura 2 E). Com relação à imunohistoquímica para o colágeno tipo I observou-se forte marcação nas lesões dos animais dos grupos que receberam o extrato de *P. guajava*, quando comparados aos demais grupos, principalmente em relação aos animais do grupo diabético sem tratamento, o que foi confirmado pela sua quantificação em pixels (Figura 3 A-E).

A análise da taxa de cicatrização não mostrou diferenças significativas entre os tratamentos aos 7 dias. Porém, aos 14 dias verificou-se uma elevada taxa de cicatrização nas lesões dos animais tratados com o extrato de *P. guajava*, diferindo significativamente dos demais tratamentos (Figura 4).

A morfometria revelou que nas lesões tratadas com extrato de *P. guajava* houve aumento significativo de fibroblastos e de vasos sanguíneos, além de redução de macrófagos quando comparadas às lesões dos animais saudáveis ou diabéticos não tratados com extrato (Figura 5).

Discussão

Em nosso experimento observou-se reepitelização total apenas nas lesões dos animais não diabéticos tratados ou não com o extrato e diabéticos que receberam extrato, uma vez que nas lesões dos animais diabéticos sem tratamento não foi evidenciado queratinização. Isso sugere que em animais saudáveis o extrato tem pouca ou nenhuma influência no processo de reepitelização na cicatrização de feridas. Porém, em se tratando de animais diabéticos o extrato de *P. guajava* parece promover a reepitelização normal.

Segundo a literatura os fatores TGF β (Fator de Transformador de Crescimento Beta), VEGF (Fator de Crescimento Vascular Epidermal), HGF (Fator de Crescimento Hepatico), GRO- α (Oncogene α Relacionado ao Crescimento), TNF (Fator de Necrose Tumoral), IGF-1 (Fator de Crescimento Semelhante a Insulina) estão envolvidos no processo de reepitelização atuando na proliferação das células epiteliais e queratinocitos¹²⁻¹³.

Blakytyny *et al.*¹⁴, Perez Gutierrez *at al.*¹⁵ e Teoh *et al.*¹⁶ relataram a diminuição de TGF β , IGF e VEGF nos queratinocitos de feridas crônicas em pacientes diabéticos dificultando a reepitelização deste tipo de lesão. Assim, podemos inferir que o extrato de *P. guajava* pode de alguma forma regular esses fatores promovendo a reepitelização total das lesões em indivíduos diabéticos. De fato, a eficiência dos fitoterápicos no processo de cicatrização está relacionada, principalmente, a presença de flavonóides, taninos e saponinas¹⁷, compostos estes encontrados nas folhas de *P. guajava*¹⁹⁻²⁰.

A taxa de cicatrização mostrou-se bastante elevada aos 14 dias nas lesões dos animais tratados com o extrato de *P. guajava*, demonstrando um processo de cicatrização bastante rápido. Isso pode ser explicado pela ação dos flavonoides, taninos e saponinas os quais inibem a ciclo-oxigenase (COX)-2, óxido nítrico sintase induzível (iNOS), além de reduzir a ativação do complemento, diminuindo assim a presença de células inflamatórias e conseqüentemente a resposta inflamatória²¹⁻²².

A análise do colágeno nas lesões revelou aumento do colágeno total nos animais que receberam extrato de *P. guajava*, e com predomínio do colágeno tipo I. Os flavonóides foram relacionados ao aumento da síntese de colágeno, por diminuir a sua degradação²³. McDonald *et al.*²⁴, Scatterfield *et al.*²⁵ e De Souza *et al.*²⁶ afirmaram que é possível que os flavanoides atuem potencialmente como inibidores da colagenase. Considerando os aspectos clínicos, a fase mais importante da cicatrização é a deposição

de colágeno na ferida, que facilita a difusão de oxigênio, aumenta a drenagem linfática e reduz a superprodução de radicais livres de oxigênio, reduzindo o tempo de cicatrização²⁷.

O aumento significativo de fibroblastos e de vasos sanguíneos nas lesões tratadas com extrato de *P. guajava*, pode estar relacionada a ação angiogênica dos flavonoides por estimular a expressão do VEGF²⁸⁻²⁹. Na condição diabética a insuficiência vascular pode produzir uma hipóxia tecidual e disfunção dos fibroblastos³⁰. Assim, o nível adequado de oxigênio é crucial para uma melhor cicatrização da ferida³¹, pois a formação de novos vasos acelera a síntese de colágeno, aumenta o suprimento de oxigênio e outros nutrientes no local da lesão³²⁻³³. A presença de macrófagos e células gigantes de corpos estranhos nas lesões dos animais diabéticos sem tratamento sugere ainda processo inflamatório, Okamoto⁹, Paton³⁴, relataram que na fase inflamatória da cicatrização os neutrófilos são gradativamente substituídos pelos macrófagos.

Diante do exposto, podemos concluir que o extrato hidroalcolico da folha de *P. guajava* tem a capacidade de acelerar a cicatrização de feridas em animais diabéticos, provavelmente pela atividade de seus flavonoides. Entretanto, são necessários mais estudos no sentido de identificar esses flavonoides para conhecermos o verdadeiro o potencial farmacológico dessa planta.

REFERENCES

1. International Diabetes Federation [Internet]. IDF Diabetes Atlas. Available from: <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html>. Access in: 2017 jun 27.
2. Pirot P, Cardozo AK, Eizirik DL. Mecanismos de destruição e morte da célula-beta pancreática no diabetes. Arq Bras Endocrinol Metab. 2008;52(2):156-65. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302008000200003>
3. Kwan RL, Cheing GL, Vong SK, Lo SK. Electrophysical therapy for managing diabetic foot ulcers: a systematic review. Int Wound J. 2013;10(2):121-31. <http://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2012.01085.x>
4. Dash GK, Murthy PN. Studies on Wound Healing Activity of *Heliotropium indicum* Linn. Leaves on Rats. ISRN Pharmacol. 2011;2011:847980. <http://doi.org/10.5402/2011/847980>
5. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. Nature. 2008;453(7193):314-21.
6. Behm B, Babilas P, Landthaler M, Schreml S. Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2011;26(7):812-20.
7. Ebeling S, Naumann K, Pollok S, Wardecki T, Vidal-Y-Sy S, Nascimento JM, et al. From a traditional medicinal plant to a rational drug: understanding the clinically proven wound healing efficacy of birch bark extract. PloS One. 2014;9(1):e86147.
8. Moreski DAB, Leite-Mello EVS, Bueno FG. Ação cicatrizante de plantas medicinais: um estudo de revisão. Arq Cienc. 2018;22(1):63-9.
9. Okamoto MKH. Estudos das atividades cicatrizante e antimicrobiana do extrato glicólico e do gel da *Psidium guajava* L. e estudo da estabilidade do gel. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2010. 118p.
10. Poonawala T, Levayy-Young BK, Hebbel RP, Gupta K. Opioids heal ischemic wounds in the rat. Wound Repair and Regeneration. 2005;13(2):165–74.
11. Nitz AC, Ely JB, D’Acampora AJ, Tames DR, Corrêa BP. Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: *Coronopa didymus* e *Calendula officinalis*. Arquivos Catarinenses de Medicina. 2006;35(4):74-9.
12. Comoglio PM, Boccaccio C. Scatter factors and invasive growth. Semin. Cancer Biol. 2001;11(2):153-65.
13. Mori R, Kondo T, Ohshima T, Ishida Y, Mukaida N. Accelerated wound healing in tumor necrosis factor receptor p55-deficient mice with reduced leukocyte infiltration. FASEB J. 2002;16(9):963-74.

14. Blakytyn R, Jude EB, Martin Gibson J, Boulton AJ, Ferguson MW. Lack of insulinlike growth factor 1 (IGF1) in the basal keratinocyte layer of diabetic skin and diabetic foot ulcers. *J. Pathol.* 2000;190(5):589-94.
15. Perez Gutierrez R, Vargas SR. Evaluation of the wound healing properties of *Acalypha langianain* diabetic rats. *Fitoterapia.* 2006;77(4):286-9.
16. Teoh SL, Latiff AA, Das S. The effect of topical extract of *Momordica charantia* (bitter melon) on wound healing in nondiabetic rats and in rats with diabetes induced by streptozotocin. *Clin Exp Dermatol.* 2009;34(7):815-22.
17. Peruchi CMS, Silva EB, Andrade RA, Franco SL, Ramalho L. Efecto del propóleo en la cicatrización de lesiones subcutáneas inducidas en el dorso de ratones: estudio histológico. *Rev Fac Odontol Univ Chile.* 2001;19(2):23-34.
18. Pérez-Carreón JI, Cruz-Jimenez G, Licea-Vega JA, Popoca EA, Fazenda SF, Villa-Trevino S. Genotoxic and anti-genotoxic properties of *Calendula officinalis* extracts in rat liver cell cultures treated with Diethylnitrosamine. *Toxicol. In Vitro.* 2002;16(3):253-8.
19. Gutiérrez RMP, Mitchell S, Solis RV. *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* 2008;117(1):1-27.
20. Simão AA, Marques TR, Marcussi S, Corrêa AD. Aqueous extract of *Psidium guajava* leaves: phenolic compounds and inhibitory potential on digestive enzymes. *An Acad. Bras. Cienc.* 2017;89(3):2155-65.
21. Rivera-Arce E, Gattuso M, Alvarado R, Zárate E, Agüero J, Ferial I, et al. Pharmacognostical studies of the plant drug *Mimosae tenuiflorae cortex*. *J Ethnopharmacol.* 2007;113(3):400-8.
22. Majtan J, Bohova J, Garcia-Villalba R, Tomas-Barberan FA, Madakova Z, Majtan T, et al. Fir honeydew honey flavonoids inhibit TNF- α -induced MMP-9 expression in human keratinocytes: a new action of honey in wound healing. *Arch Dermatol Res.* 2013;305(7):619-27.
23. Lodhi S, Singhai AK. Wound healing effect of flavonoid rich fraction and luteolin isolated from *Martynia annua* Linn. on streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Med.* 2013;6(4):253-9.
24. McDonald M, Mila I, Scalbert A. Precipitation of metal ions by plant polyphenols: Optimal conditions and origin of precipitation. *J Agric Food Chem.* 1996;44(2):599-606.
25. Scatterfield M, Brodbelt JS. Enhanced detection of flavonoids by metal complexation and electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Chem.* 2000;72(24):5898-906.

26. De Souza RF, De Giovanni WF. Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al(III) and Zn(II) complexes with flavonoids. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2005;61(9):1985-90.
27. Inan A, Sen M, Koca C, Akpınar A, Dener C. The effect of purified micronized flavonoid fraction on the healing of anastomoses in the colon in rats. *Surg Today.* 2006;36(9):818-22.
28. Pan C, Chen YG, Ma XY, Jiang JH, He F, Zhang Y. Phytochemical constituents and pharmacological activities of plants from the genus *Adiantum*: A review. *Trop. J. Pharm. Res.* 2011;10(5):681-9.
29. Ahmad M, Ansari MN, Alam A, Khan TH. Oral dose of citrus peel extracts promotes wound repair in diabetic rats. *Pak J Biol Sci.* 2013;16(20):1086-94. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 2017;89(3):2155-65.
30. Tandara AA, Mustoe TA. Oxygen in wound healing- More than a nutrient. *World J Surg.* 2004;28(3):294-300.
31. Bishop A. Role of oxygen in wound healing. *J Wound Care.* 2008;17(9):399-402.
32. Buemi M, Vaccaro M, Sturiale A, Galeano MR, Sansotta C, Cavallari V, et al. Recombinant human erythropoietin influences revascularization and healing in a rat model of random ischaemic flaps. *Acta Derm Venereol.* 2002;82(6):411-17.
33. Kandhare AD, Ghosh P, Bodhankar SL. Naringin, a flavanone glycoside, promotes angiogenesis and inhibits endothelial apoptosis through modulation of inflammatory and growth factor expression in diabetic foot ulcer in rats. *Chem Biol Interact.* 2014;219(5):101-12.
34. Paton JS, Stenhouse EA, Bruce G, Zahra D, Jones RB. A comparison of customized and prefabricated insoles to reduce risk factors for neuropathic diabetic foot ulceration: a participant-blinded randomized controlled trial. *Journal of Foot and Ankle Research.* 2012;5(1):1-11.

Figuras

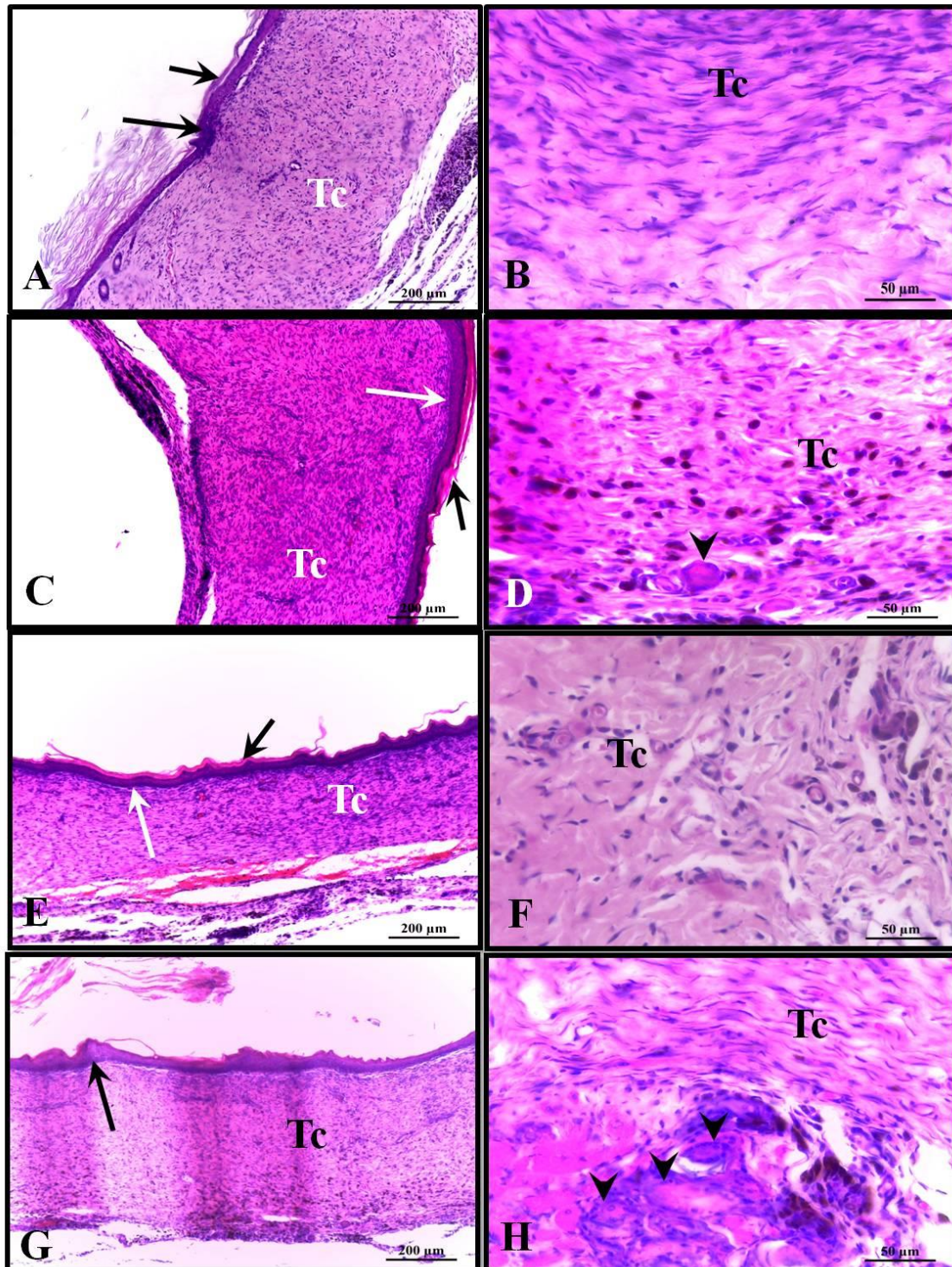


Figura 1: Fotomicrografia de lesões cutâneas avaliadas após 21 dias após a indução e respectivos tratamentos. A- B – G I; C - D – G II; E - F – G III e G – H – G IV. Seta longa – epitélio; Seta curta – queratina; Tc - tecido conjuntivo; Ponta de seta – célula gigante de corpos estranhos. H.E.

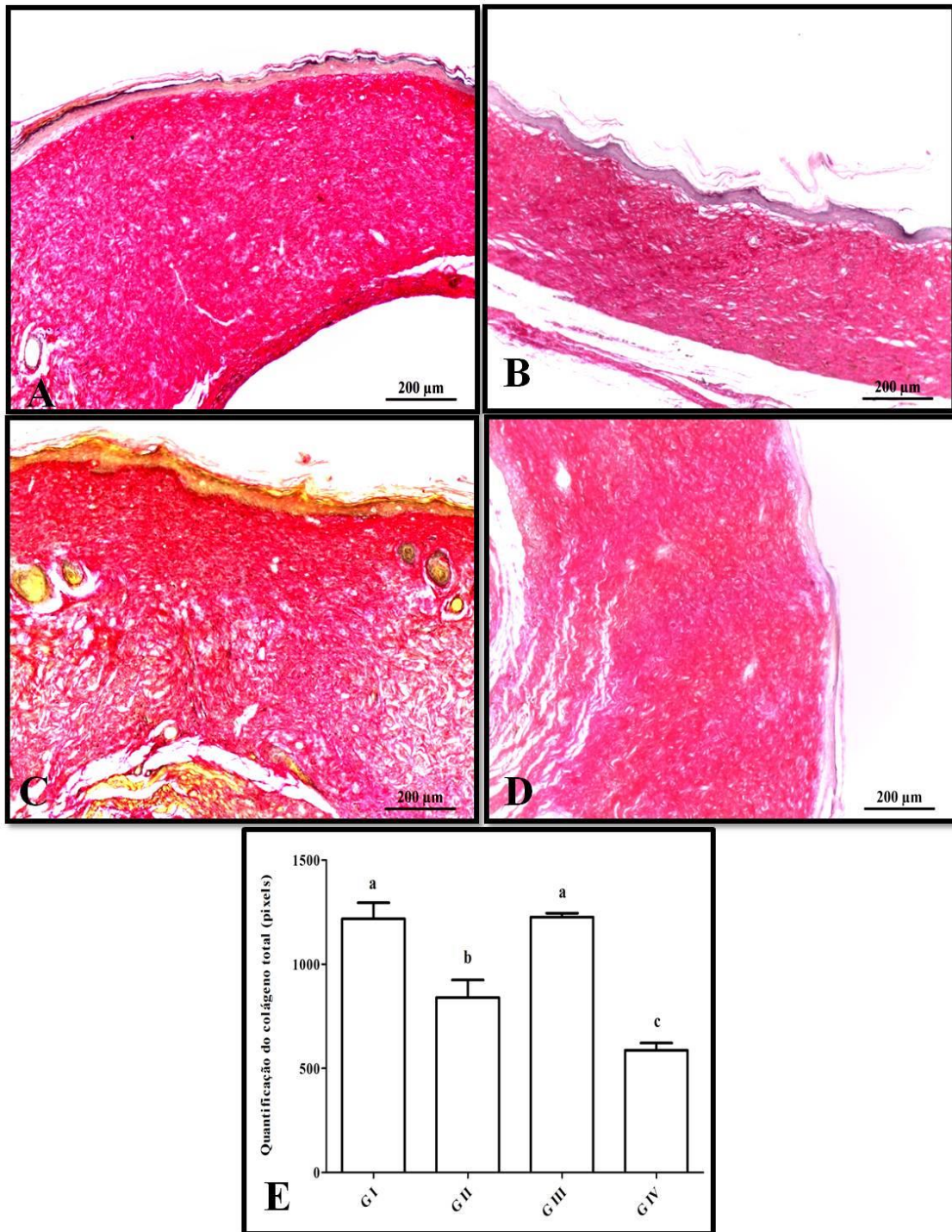


Figura 2: Histoquímica pelo picrossirius nas lesões cutâneas avaliadas após 21 dias após a indução e respectivos tratamentos. A) G I; B) G II; C) G III e D) G IV. E) Quantificação do colágeno total em pixels. Verificar redução significativa no grupo G IV. Médias com a mesma letra são estatisticamente insignificantes pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney com $P < 0,05$.

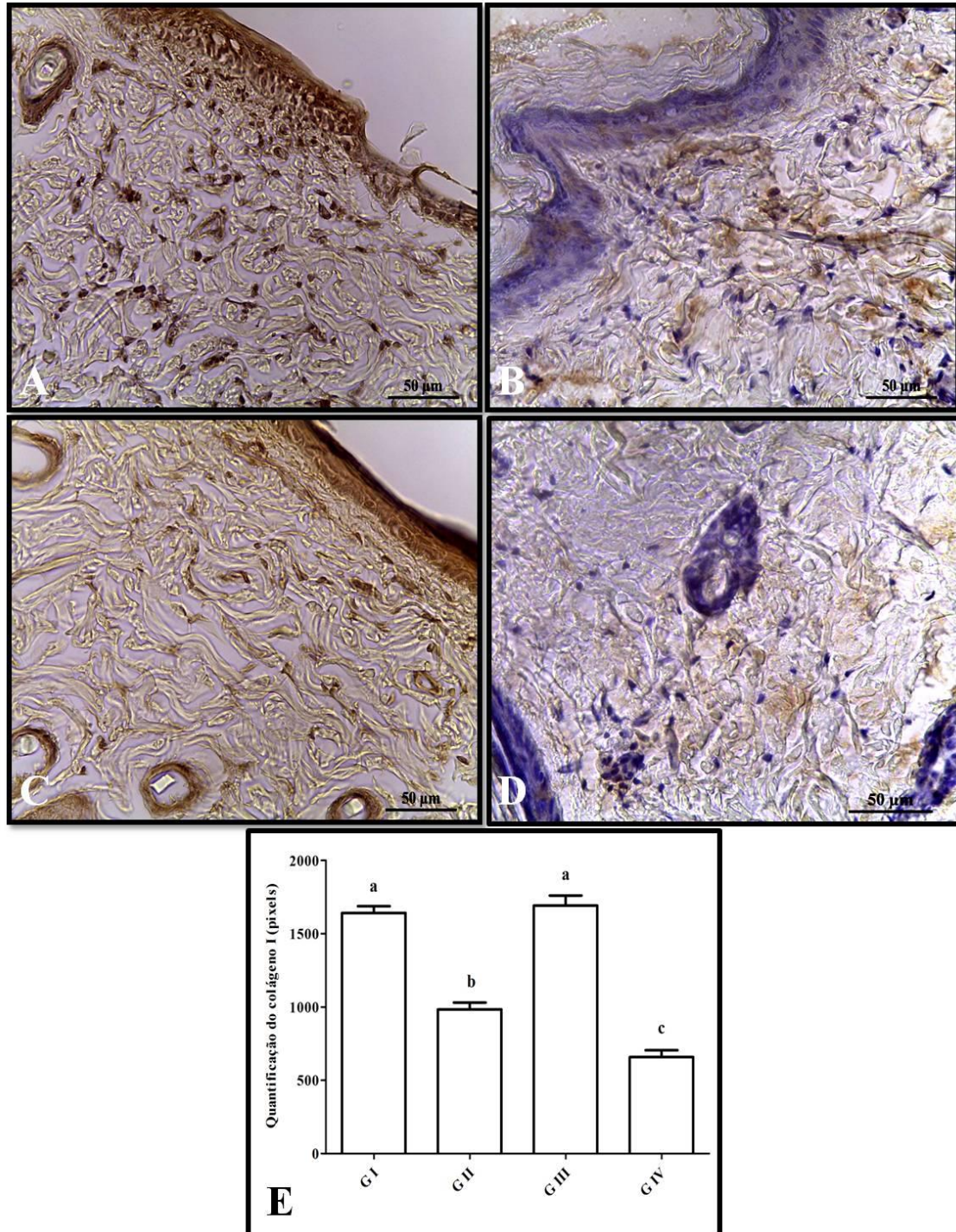


Figura 3: Imunohistoquímica para colágeno tipo I nas lesões cutâneas avaliadas após 21 dias após a indução e respectivos tratamentos. A) G I; B) G II; C) G III e D) G IV. E) Quantificação em pixels. Verificar redução significativa nos grupos G II e IV. Médias com mesma letra são estatisticamente insignificantes pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney com $P < 0,05$.

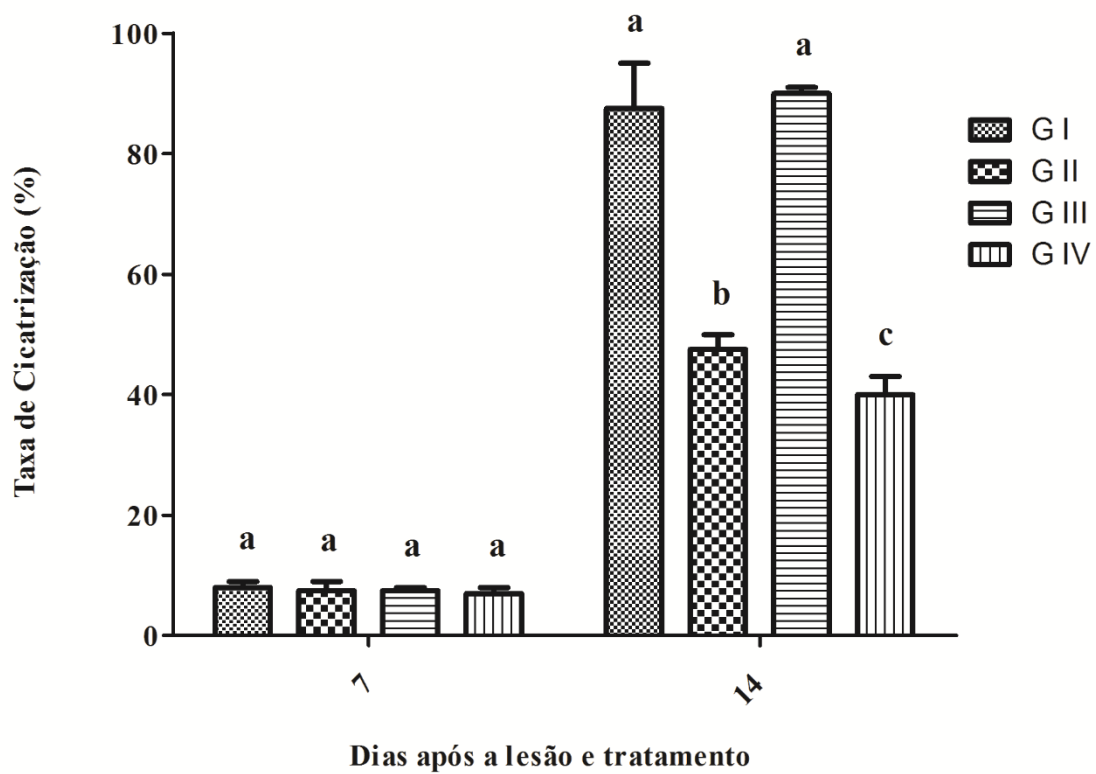


Figura 4: Médias do percentual da taxa de cicatrização das lesões tratadas ou não com extrato de *P. guajava* após 14 dias. Médias com mesma letra são estatisticamente insignificantes pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney com $P < 0,05$.

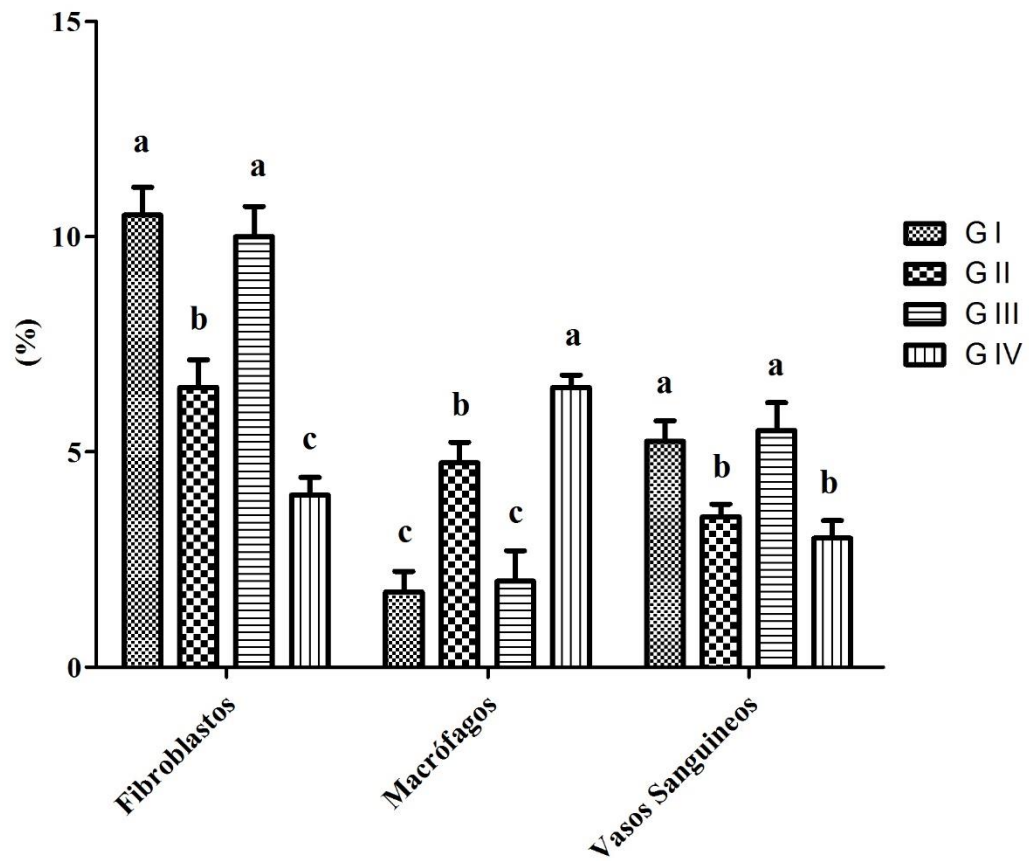


Figura 5: Médias do percentual de fibroblastos, macrófagos e vasos sanguíneos nas lesões cutâneas dos animais dos grupos experimentais aos 21 dias. Médias com mesma letra são estatisticamente insignificantes pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney com $P < 0,05$.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE HEPÁTICA E RENAL DO EXTRATO

AQUOSO DE *Psidium guajava* L.

Evaluation of Hepatic and Renal Toxicity of the Aqueous Extract of *Psidium guajava* L.

Adriano Barbosa da Silva¹, Ismaela Maria Ferreira de Melo¹, Clovis José Cavalcanti Lapa Neto¹, Erique Ricardo Alves¹, Valéria Wanderley Teixeira¹, Álvaro Aguiar Coelho Teixeira¹

¹Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) – Recife (PE), Brasil.

Autor para correspondência: Adriano Barbosa da Silva - Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco - Dom Manoel de Medeiros Street, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-900 – Recife (PE), Brasil -
E-mail: adrianoabs.silva@gmail.com

RESUMO

Os produtos de origem natural desempenham um importante papel no desenvolvimento de novas drogas quimioterápicas, sobretudo os de origem vegetal, como as folhas da goiabeira, utilizada pela população sob a forma de chá ou extratos para aplicação em feridas e infecções. No entanto, pouco se sabe sobre possíveis efeitos tóxicos desses produtos vegetais a nível hepático e renal, a fim de garantir a seguridade no seu uso terapêutico. Avaliou-se efeitos toxicológicos de varias dosagens (100, 200 e 400 mg/kg), por 21 dias, do extrato aquoso de *P. guajava* sobre os biomarcadores hepático (AST e ALT) e renal (ureia, creatinina e albumina), além da histopatologia e morfometria desses órgãos em 40 ratos. Os níveis séricos das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), ureia, creatinina e albumina sofreram alterações significativas caracterizadas pelo aumento na dosagem de 400 mg/Kg do extrato de *P. guajava* em todos os períodos analisados. Essa dosagem promoveu congestão de veia porta, centrolobular e nos capilares sinusóides, redução do parênquima lobular e aumento do não lobular no fígado, além de glomerulonefrite proliferativa nos rins, e aumento significativo do diâmetro e volume do glomérulo e do diâmetro e volume da cápsula de Bowman. Assim, doses elevadas do extrato aquoso de *P. guajava*, por um período longo, podem levar a uma insuficiência hepática e renal.

Palavras-chave: Bioquímica, toxicidade, histopatologia hepática e renal, goiabeira, ratos.

ABSTRACT

Products of natural origin play an important role in the development of new chemotherapeutic drugs, especially those of plant origin, such as guava leaves, used by the population in the form of tea or extracts for use in wounds and infections. However, little is known about the possible toxic effects of these plant products on the liver and kidneys, in order to ensure safety in their therapeutic use. Toxicological effects of various dosages (100, 200 and 400 mg / kg) were evaluated, for 21 days, of the aqueous extract of *P. guajava* on the liver (AST and ALT) and renal (urea, creatinine and albumin) biomarkers, in addition to histopathology and morphometry of these organs in rats. Serum levels of the enzymes alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), urea, creatinine and albumin underwent significant changes characterized by an increase in the dosage of 400 mg / kg of *P. guajava* extract in all periods analyzed. This dosage promoted congestion of the portal vein, centrilobular and sinusoidal capillaries, reduced lobular parenchyma and increased non-lobular parenchyma in the liver, in addition to proliferative glomerulonephritis in the kidneys, and a significant increase in the diameter and volume of the glomerulus and the diameter and volume of the Bowman capsule. Thus, high doses of the aqueous extract of *P. guajava*, for a long period, can lead to liver and kidney failure.

Keywords: Biochemistry, toxicity, hepatic and renal histopathology, guava, rats

Introdução

O isolamento e identificação de compostos de origem natural têm propiciado o aumento no número de novas formulações químicas bioativas para diversas indicações terapêuticas. Nessa busca por novos agentes bioativos foram desenvolvidos métodos de seleção biológica que permitem testar em laboratório milhares de substâncias em organismos específicos em curto espaço de tempo¹. A contribuição dos produtos naturais para o desenvolvimento de novas drogas quimioterápicas é claramente evidente, e ainda há um campo vasto de estudos a serem realizados nesta área de pesquisa².

Muitas plantas são comumente utilizadas pela população, várias delas usadas como chás, ou mesmo pelo consumo dos frutos, tanto para a alimentação, quanto para o suposto combate a algumas doenças e sintomas³. A espécie *Psidium guajava* L. é uma delas. Conhecida popularmente como goiabeira, pertence à Família das Myrtaceae com cerca de 130 gêneros e mais de 3800 espécies. É nativa da América Central, mas amplamente distribuída e cultivada em diversos países tropicais e seus frutos compõe a dieta de milhões de pessoas nestas regiões⁴⁻⁵.

O uso histórico da espécie *P. guajava* na medicina natural levou muitos pesquisadores modernos a estudar o efeito de extratos da goiaba no tratamento de diferentes patologias⁶. As práticas etnomedicinais incluem a trituração das folhas e a aplicação do extrato em feridas, furúnculos e infecções⁷. Outras pesquisas mostram que a utilização no tratamento de diversas doenças como diabetes, úlceras e hipertensão, apresentando ainda, efeito anti-inflamatório e analgésico⁸.

Mesmos com todas essas propriedades, há relatos controversos sobre possíveis efeitos tóxicos do extrato das folhas de *P. guajava*, principalmente a nível hepático e renal. Alguns autores relataram modificações nos níveis séricos dos biomarcadores

hepáticos e renal, além de alterações patológicas em ratos⁹⁻¹⁰⁻¹¹⁻¹². Por outro lado, extrato das folhas de goiaba exibiram efeito hepato-protetor devido à redução dos níveis séricos dos biomarcadores no quadro de lesão hepática aguda induzida em ratos¹³⁻¹⁴⁻¹⁵⁻¹⁶⁻¹⁷. Esses autores relataram que esses efeitos podem estar relacionados a dose ou ao tempo de exposição, sendo necessários mais estudos para uma avaliação mais detalhada.

Dessa forma, tendo em vista que estudos toxicológicos têm a finalidade de avaliar a ideia errônea de que produtos fitoterápicos, por serem naturais, são isentos de efeitos tóxicos ou adversos, e que o uso popular de plantas medicinais serve como validação da eficácia destes medicamentos¹⁸⁻¹⁹⁻²⁰, avaliou-se efeitos toxicológicos de várias dosagens do extrato aquoso de *P. guajava* sobre os biomarcadores hepático e renal, além da histopatologia e morfometria desses órgãos.

Material e Métodos

Foram coletadas folhas para obtenção do extrato aquoso de *P. guajava* (EAPg) no Campus Dois Irmãos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) sob latitude 8.01343714 e longitude 34.95081156. A identificação do material vegetal foi realizada a partir da comparação com a exsicata nº 12715 do HST - Herbário Sérgio Tavares. As folhas foram lavadas em água corrente e a assepsia realizada com álcool a 70% e deixadas em estufa a 45 °C por 5 dias. Após desidratação as folhas foram trituradas e solubilizadas em água destilada esterilizada na proporção de 100, 200 e 400 mg/mL e filtrado em papel de filtro Whatman nº 1, esterilização em filtro ptfé com membrana de 0,20µm²¹.

Foram utilizados quarenta ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus albinus*), com idade de 60 dias e peso médio de 250 g, adquiridos no Biotério da UFRPE. Os animais foram divididos em quatro grupos com 10 animais cada e tratados via oral: controle;

100 mg/Kg do extrato; 200 mg/Kg do extrato e 400 mg/Kg. Os animais receberam, por método de gavagem, 1 mL do extrato e água destilada (controle) por um período de 21 dias seguindo o período de tempo descrito em Fernandes *et al.*²² com alterações. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais institucional sob a licença 043/2019.

O fígado e rins foram retirados após o 21º dia de tratamento por meio de eutanásia mediante dose excessiva dos anestésicos de cloridrato de xilazina, cloridrato de ketamina e tiopental sódico²³. Esses foram fixados em formol a 10% tamponado e processados para inclusão em parafina. Para análise histopatológica os cortes foram submetidos a coloração pela técnica de hematoxilina-eosina (H.E) e analisados em microscópio óptico de luz, da marca OLYMPUS BX-49, fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50. Para histoquímica os cortes foram submetidos à técnica de coloração pelo PAS (fígado) e Picrosirius (fígado e rins). A quantificação em pixels dos grânulos de glicogênio e das fibras colágenas foi realizada utilizando o programa GIMP 2.8.

Para avaliação bioquímica das dosagens séricas os animais foram imobilizados em contensor e o sangue coletado por punção da veia caudal lateral como uso de cateter (24G). Após centrifugação refrigerada, o soro foi acondicionado em eppendorf e congelados a -20° até o momento das dosagens²⁴. As dosagens foram realizadas nos períodos de 7, 14 e 21 dias de tratamento. A avaliação bioquímica da albumina, creatina, ureia e das transaminases (ALT e AST), foram realizadas em triplicata utilizando kits da Doles, conforme especificações do fabricante.

O estudo morfométrico do fígado foi realizado através da observação das lâminas em uma objetiva de 40x, utilizando um retículo de WEIBEL com 100 pontos, acoplado à ocular do microscópio, onde foram contados 5 campos por lâmina, segundo a

metodologia descrita por Engelman *et al.*²⁵, sendo quantificado o parênquima lobular (hepatócitos, sinusóides, espaços de Disse e ductos biliares) e não lobular (espaços portais, veia centro-lobular e ramos da veia hepática).

Para os rins, também se utilizou cinco lâminas de cada grupo, sendo analisados dez glomérulos em cada lâmina. As medidas foram restritas aos glomérulos que demonstraram, num único corte os polos vascular e urinário. Essa disposição indica a secção coincidente com a região equatorial do glomérulo. Esses glomérulos, assim selecionados ao acaso, foram utilizados para as mensurações. A captura da imagem foi efetuada por meio de câmera de Vídeo Sony®, acoplada ao microscópio Olympus® Bx50. A morfometria foi realizada através de aplicativo Morfometria de Linhas, calibrado em micrômetros, associado ao programa Optimas® 6.2 para Windows. Para a obtenção da área glomerular o cursor foi posicionado na área central deste, estabelecendo-se, a partir daí, uma linha circular externa, coincidente com os limites do tufo glomerular. Foi utilizada a mesma metodologia para a mensuração da cápsula de Bowman²⁶⁻²⁷. O volume glomerular e da cápsula de Bowman, foram calculados de acordo com os critérios preconizados por Pagtalunan *et al.*²⁸ e Hoy *et al.*²⁹. Para essa estimativa, foi utilizada a equação $4/3\pi r^3$, destinada ao cálculo do volume da esfera, na qual “r” representa o raio. A quantificação dos glomérulos foi realizada utilizando-se uma ocular de 10X contendo internamente um retículo de WAIBEL com 25 pontos onde foram contados seis campos, todos aleatórios e em sentido horário, levando-se em consideração apenas os pontos que incidiram sobre os glomérulos. Este procedimento foi realizado utilizando a objetiva de 10X obtendo um aumento final de 100X. Foram contados 150 pontos por animal totalizando 750 pontos por grupo.

A análise estatística foi realizada no programa computacional GraphicPad Prism 5, onde os dados foram avaliados por meio de testes paramétricos de Anova One-way com post-hoc de Tukey ($P < 0,05$).

Resultados

Os níveis séricos das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), ureia, creatinina e albumina sofreram alterações significativas caracterizadas pelo aumento na dosagem de 400 mg/Kg do extrato de *P. guajava* em todos os períodos analisados (Tabela 1).

A análise histopatológica do fígado dos animais dos grupos controle e os que receberam as dosagens de 100 e 200 mg/kg do extrato de *P. guajava* apresentou parênquima hepático sem alterações com cordões de hepatócitos organizados margeando a veia centro lobular, entremeados por capilares sinusóides. Porém, no tratamento com 400 mg/kg do extrato verificou-se a presença de congestão de veia porta, centrolobular e nos capilares sinusóides (Figura 1).

Os rins dos animais do grupo controle demonstraram estar bem preservados, com os glomérulos e espaço subcapsular bem definidos, além de túbulos contorcidos proximais e distais com características normais, sem nenhuma alteração. Essas características também foram verificadas nos rins dos animais que receberam 100 e 200 mg/kg do extrato de *P. guajava*. Já nos rins do tratamento com 400 mg/kg do extrato foram observadas a presença de áreas com glomerulonefrite proliferativa, caracterizado pelo desaparecimento do espaço subcapsular (Figura 2).

A morfometria do fígado revelou redução significativa do parênquima lobular e aumento no parênquima não lobular no fígado dos animais tratados com 400 mg/kg de extrato aquoso de *P. guajava*. Na análise morfométrica dos rins observou-se aumento

significativo do diâmetro e volume do glomérulo, além do diâmetro e volume da cápsula de Bowman nos animais tratados 400 mg/kg de extrato (Tabelas 2 e 3).

A avaliação histoquímica para glicogênio no fígado, revelou marcação em todos os animais dos grupos experimentais. Entretanto, houve redução significativa no fígado dos animais do grupo tratado com 400 mg/kg de extrato em relação aos demais (Figura 3). Já na avaliação histoquímica para fibras colágenas tanto no fígado como nos rins, não foi observada diferenças entre os grupos experimentais (Figuras 3 e 4).

Discussão

Os resultados mostraram que os níveis de ALT, AST e albumina não tiveram diferença estatística significativa entre os grupos experimentais controle, 100 e 200 mg/Kg de extrato aquoso de *P. guajava*, sugerindo que a duração e a dosagem utilizadas no nosso modelo experimental não foram capazes de alterar esses parâmetros. No entanto, na dosagem de 400 mg/kg essas enzimas apresentaram-se bastante elevadas sugerindo dano na função hepática, pois segundo Friday *et al.*³⁰ e Pratt; Kaplan³¹, a análise dessas enzimas pode ser usada para determinar a integridade dos tecidos após exposição a certos agentes farmacológicos.

Assim como o fígado, os rins são órgãos-alvo de substâncias tóxicas devido às suas funções essenciais nos processos de desintoxicação e excreção; sendo muito útil em estudos de toxicidade em decorrência da sua sensibilidade a compostos tóxicos³². Em nosso estudo, os níveis séricos de ureia e creatinina não sofreram alterações significativas nos animais dos grupos controle, 100 e 200 mg/Kg. Entretanto, assim como nas enzimas hepáticas, os animais que receberam dose de 400 mg/kg apresentaram altos níveis desses marcadores renais, sugerindo um possível mau funcionamento renal³².

Estudos fotoquímicos têm demonstrado que as folhas *P. guajava* contêm óleo (com componentes principais sendo α -pineno, limoneno, mentol, acetato de terpenil, álcool isopropílico, longiciclono, cardineno e curcumeno) alcalóides, flavonoides, taninos e saponinas em seus extratos aquosos. Esses fitoquímicos são conhecidos por desempenharem várias funções gerais e específicas nas plantas, e pode exibir diferentes ações bioquímicas e farmacológicas quando ingeridos. Essas ações variam de efeitos protetores celulares a toxicidade celular³³⁻³⁴.

Dentre os flavonoides encontrados nas folhas incluem miricetina, quercetina, luteolina, rutina e kaempfero³³. O consumo suprafisiológico de flavonoides pode potencializar efeitos nocivos alterando suas propriedades farmacológicas promovendo alterações nas atividades enzimáticas no organismo³⁵⁻³⁶⁻³⁷, o que pode explicar os níveis elevados dos biomarcadores hepático e renal observados com a dose de 400 mg/kg. Dessa forma, embora haja evidências que flavonoides forneçam proteção contra muitas doenças³⁷, a quantidade de flavonoides ingerida pode representar um risco potencial a saúde.

As análises histopatológica e morfométrica revelaram alterações relevantes tanto no fígado como nos rins, apenas nos animais que receberam a dose de 400 mg/Kg do extrato aquoso de *P. guajava*, sugerindo dano tecidual nesses órgãos. Vários estudos indicam que a quercetina, rutina e kaempferol podem exacerbar a função endotelial via aumento da produção de óxido nítrico levando à vasodilatação³⁸⁻³⁹. Isso pode ter ocasionado à congestão vascular no fígado e rins promovendo a redução do parênquima lobular e o desenvolvimento da glomerulonefrite proliferativa, respectivamente.

Com relação a histoquímica para o glicogênio hepático os resultados mostraram uma redução significativa nos animais que receberam 400mg/Kg do extrato. Isso pode ser explicado pelo fato de que alguns flavonoides tem ação inibitória nas enzimas que

degradam carboidratos e absorvem glicose⁴⁰⁻⁴¹. Assim podemos inferir que como o fígado tem um papel vital na manutenção da homeostase da glicose nos estados de alimentação e jejum com uma contribuição importante para este último⁴² [24], o aumento da produção hepática de glicose pode ser considerado uma mudança patológica precoce⁴³⁻⁴⁴⁻⁴⁵.

O extrato aquoso das folhas de *Psidium guajava* mostrou-se seguro por via oral em ratos, nas dosagens de 100 e 200 mg/Kg, enquanto que, a dosagem de 400 mg/Kg as promoveu alterações hepáticas e renais.

REFERENCES

1. Brandão HN. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. *Quimica Nova*. 2010; 33(6): 1359-69.
2. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*. 2016; 79 (3): 629-61.
3. Bagatini MD, Silva ACF, Tedesco SB. Uso do Sistema Teste de *Allium cepa* como Bioindicador de Genotoxicidade de Infusões de Plantas Medicinais. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2007; 17(3): 444-47.
4. Rathish N, Sumitra C. In-vitro antimicrobial activity of *Psidium guajava* l. leaf extracts against clinically important pathogenic microbial strains. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2007; 38(3): 452-58.
5. El-Mahmood MA. The use of *Psidium guajava* Linn. in treating wound, skin and soft tissue infections. *Scientific Research and Essay*. 2009; 4(6): 605-11.
6. Pakpahan EL, Gabriella A, Wardoyo M, Caesaria R. In vitro anticancer activity of guava (*Psidium guajava* L.) against HSC-2 human oral cancer cells. *Dental Student's research*. 2013; 1: 16-20.

7. Bala SA. *Psidium guajava*. In: some ethno-medicinal plants of the savannah regions of West Africa: Description and phytochemicals. Triumph publishing company limited, Kano, Nigeria. (Vol. II). 2006. p. 21-56.
8. Gutierrez RM, Mitchell S, Solis RV. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2008; 11(11): 1749-55.
9. Chen HH. Hepatoprotective effect of guava (*Psidium guajava* L.) Leaf extracts on ethanol-induced injury on clone 9 rat liver cells. *Food Science & Nutrition*. 2011; 2(9): 983–88.
10. Udem SC, Anyanwu MU, Obidike RI, Udem ND. The effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf chloroform extract on some hematological and biochemical parameters in mice. *Comparative Clinical Pathology*. 2011; 20(1): 47–51.
11. Adeyemi OS, Akanji MA. Biochemical changes in the kidney and liver of rats following administration of ethanolic extract of *Psidium guajava* leaves. *Human & Experimental Toxicology*. 2011; 30(9): 1266–74.
12. Adeyemi OS, Akanji MA. *Psidium guajava* leaf extract: Effects on rat serum homeostasis and tissue morphology. *Comparative Clinical Pathology*. 2012; 21: 401–407.

13. Roy CK, Kamath JV, Asad M. Hepatoprotective activity of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2006; 44(4): 305–311.
14. D’Mello P, Rana M. Hepatoprotective activity of *Psidium guajava* extract and its phospholipid complex in paracetamol induced hepatic damage in rats. *International Journal of Phytomedicine*. 2010; 2(1): 85–93.
15. Taju G, Jayanthi M, Majeed SA. Evaluation of hepatoprotective and antioxidant activity of *Psidium guajava* leaf extract against acetaminophen induced liver injury in rats. *Int. J. Toxicology and Applied Pharmacology*. 2011; 1(2): 13–20.
16. Osaman M, Ahamad M, Mahfouz S, Elaby S. Biochemical studies on the hepatoprotective effects of pomegranate and guava ethanol extracts. *New York Science Journal*. 2011; 4(3): 1–15.
17. Mohamed EAK. Hepatoprotective effect of aqueous leaves extract of *Psidium guajava* and *Zizyphus spina-christi* against paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Applied Sciences Research*. 2012; 8(5): 2800–6.
18. Craveiro ACS, Carvalho DMM, Nunes RS, Fakhouri R, Rodrigues AS, Teixeira-Silva F. Toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina* em animais experimentais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008; 18 (Supl.): 739-43.

19. Marlière LDP, Ribeiro AQ, Brandão MGL, Klein CH, Acurcio FA 2008. Utilização de fitoterápicos por idosos: resultados de um inquérito domiciliar em Belo Horizonte (MG), Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 18; (Supl.): 754-60.
20. Silveira PF, Bandeira MAM, Arrais PSD. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008; 18(4): 618-26.
21. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Memento fitoterápico. Farmacopéia brasileira. Brasília, 2016.
22. Fernandes KPS, Bussadori SK, Marques M M, Wadt NSY, Bach E, Martins MD. Healing and cytotoxic effects of *Psidium guajava* (Myrtaceae) leaf extracts. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, 2010; 9(4): 449-54.
23. Etuk EU, Francis UU. Toxicidade aguda e eficácia de *Psidium guajava* Deixa extrato de água em ratos Wistar infectados por *Salmonella Typhi*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2003; 6(3): 195-7.
24. Teixeira AAC, et al. Evaluation of the implantation in pinealectomized and/or submitted to the constant illumination rats. *International Journal of Morphology*. 2004; 22(3): 405-14.
25. Engelman MFB, Neto JG, Andrade CHV, Hernandez R, Goulart LBNT. Estudo morfométrico do fígado de ratos submetidos a doses supra-fisiológica de tiroxina. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2001; 45(2): 189-94.

26. Akaoka K, White R.H, Raafat F. Human glomerular growth during childhood: a morphometric study. *The Journal of Pathology*. 1994; 173(3): 261-8.
27. Kashgarian M. The contribution of quantitative techniques including morphometry to renal diagnosis. *Ultrastructural Pathology*. 2006; 30(5): 339-43
28. Pagtalunan, M.E.; Drachman, J.A.; Meyer, T.W. Methods for estimating the volume of individual glomeruli. *Kidney International*. 2000; 57(6): 2644-9.
29. Hoy WE, Bertram JFR, Douglas-Denton M, Zimanyi T, Samuel, MD. Hughson, Nephron number, glomerular volume, renal disease and hypertension. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 2008; 17(3): 258–65.
30. Friday EU, Iniobong EO, Moses BE. Effect of Aqueous Extract of *Psidium Guajava* Leaves on Liver Enzymes, Histological Integrity and Hematological Indices in Rats. *Gastroenterology Research*. 2010; 3(1): 32-38.
31. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of Abnormal Liver-Enzyme Result in Asymptomatic Patients. *The New England Journal of Medicine*. 2000; 342(17): 1266-1271.
32. Bello I, Bakkouri AS, Tabana YM, Al-Hindi B, Al-Mansoub MA, Mahmud R, AMZ. Acute and subacute toxicity evaluation of the methanolic extract of *Alstonia scholaris* stem bark. *Medical Sciences*. v. 4, n. 1, p. 1–14, 2016.

33. Palm M, Lundblad A. Creatinine concentration in plasma from dog, rat, and mouse: a comparison of 3 different methods. *Veterinary Clinical Pathology*. 2005; 34(3): 232–236.
34. Hung-Hui C, Po-Hua W, Diana L, Yun-Chieh P, Ming-Chang W. Hepatoprotective Effect of Guava (*Psidium guajava* L.) Leaf Extracts on Ethanol-Induced Injury on Clone 9 Rat Liver Cells. *Food and Nutrition Sciences*. 2011; 2(9): 983-988.
35. Cermak R. Effect of dietary flavonoids on pathways involved in drug metabolism. *Expert Opin Drug MetabToxicol*. 2008; 4(1): 17-35.
36. Brand W, Schutte ME, Williamson G, et al. Flavonoid-mediated inhibition of intestinal ABC transporters may affect the oral bioavailability of drugs, food-borne toxic compounds and bioactive ingredients. *Biomed Pharmacother*. 2006; 60(9): 508-519.
37. Skibola CF, Smith MT. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free RadicBiol Med*. 2000; 29(3): 375-383.
38. Larson AJ, Symons JD, Jalili T. Quercetin: A treatment for hypertension? A Review of efficacy and mechanisms. *Pharmaceuticals* 2010; 3:237- 250.
39. Potenza MA, Marasciulo FL, Tarquinio M, et al. EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protects against myocardial I/R injury in SHR. *Am J PhysiolEndocrinolMetab* 2007; 292: E1378-E1387.

40. Lo PE, Scheib H, Frei N, Williamson G, Grigorov M, Chou CJ. Flavonoids for controlling starch digestion: Structural requirements for inhibiting human alpha-amylase. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2008; 51(1): 3555–3561.
41. Yang, J.P.; He, H.; Lu, Y.H. Four flavonoid compounds from *phyllostachys edulis* leaf extract retard the digestion of starch and its working mechanisms. *J. Agric. Food Chem*. 2014; 62(1): 7760–7770.
42. Triplitt CL. Examining the mechanisms of glucose regulation. *American Journal of Managed Care*. 2012; 18(1): S4–S10.
43. Chung ST, Hsia DS, Chacko SK, Rodriguez LM, Haymond MW. Increased gluconeogenesis in youth with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2014; 58(1): 596–603.
44. Rizza, RA. Pathogenesis of fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes: Implications for therapy. *Diabetes*. 2010; 59(1): 2697–2707.
45. Basu R, Chandramouli V, Dicke B, Landau B, Rizza R. Obesity and type 2 diabetes impair insulin-induced suppression of glycogenolysis as well as gluconeogenesis. *Diabetes* 2005; 54(1): 1942–1948.

Tabela 1. Média \pm desvio padrão dos parâmetros bioquímicos hepático e renal dos animais aos 7, 14 e 21 dias de tratamento com extrato aquoso de *P. guajava*.

Grupos	Controle	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg	P
7 dias					
AST (UI/L)	103,79 \pm 6,11b	104,35 \pm 3,21b	105,76 \pm 2,82b	162,33 \pm 5,50a	0,0111
ALT (UI/L)	37,33 \pm 2,08b	38,67 \pm 1,52b	40,00 \pm 3,60b	115,08 \pm 2,88a	0,0009
Uréia (mg/dL)	53,00 \pm 4,00b	55,13 \pm 0,57b	58,33 \pm 8,21b	75,33 \pm 1,66a	0,0307
Creatinina (mg/dL)	0,54 \pm 0,03b	0,55 \pm 0,02b	0,56 \pm 0,03b	0,76 \pm 0,05a	0,0213
Albumina (mg/dL)	2,40 \pm 0,10b	2,23 \pm 0,12b	2,30 \pm 0,05b	2,90 \pm 0,05a	0,0476
14 dias					
AST (UI/L)	118,34 \pm 5,03b	131,00 \pm 7,21b	138,02 \pm 1,73b	177,36 \pm 9,20a	0,0003
ALT (UI/L)	32,67 \pm 2,08b	35,00 \pm 6,08b	38,67 \pm 4,16b	119,06 \pm 13,53a	0,0289
Uréia (mg/dL)	51,33 \pm 4,84b	49,67 \pm 3,71b	51,67 \pm 1,15b	78,67 \pm 3,21a	0,0012
Creatinina (mg/dL)	0,54 \pm 0,03b	0,57 \pm 0,04b	0,61 \pm 0,06b	0,81 \pm 0,04a	0,0018
Albumina (mg/dL)	2,45 \pm 0,10b	2,46 \pm 0,15b	2,56 \pm 0,11b	3,06 \pm 0,16a	0,0074
21 dias					
AST (UI/L)	132,38 \pm 3,21b	140,71 \pm 4,17b	137,00 \pm 1,73b	230,33 \pm 5,77a	0,0375
ALT (UI/L)	34,67 \pm 1,52b	37,00 \pm 2,64b	35,00 \pm 2,08b	110,75 \pm 7,17a	0,0219
Uréia (mg/dL)	51,00 \pm 5,50b	58,09 \pm 4,58b	57,67 \pm 1,15b	80,00 \pm 4,50a	0,0064
Creatinina (mg/dL)	0,57 \pm 0,01b	0,55 \pm 0,01b	0,62 \pm 0,02b	0,87 \pm 0,05a	0,0101
Albumina (mg/dL)	2,53 \pm 0,15b	2,43 \pm 0,09b	2,61 \pm 0,03b	3,00 \pm 0,20a	0,0069

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente pelo teste Anova one-way com post hoc de Tukey ($p < 0,05$).

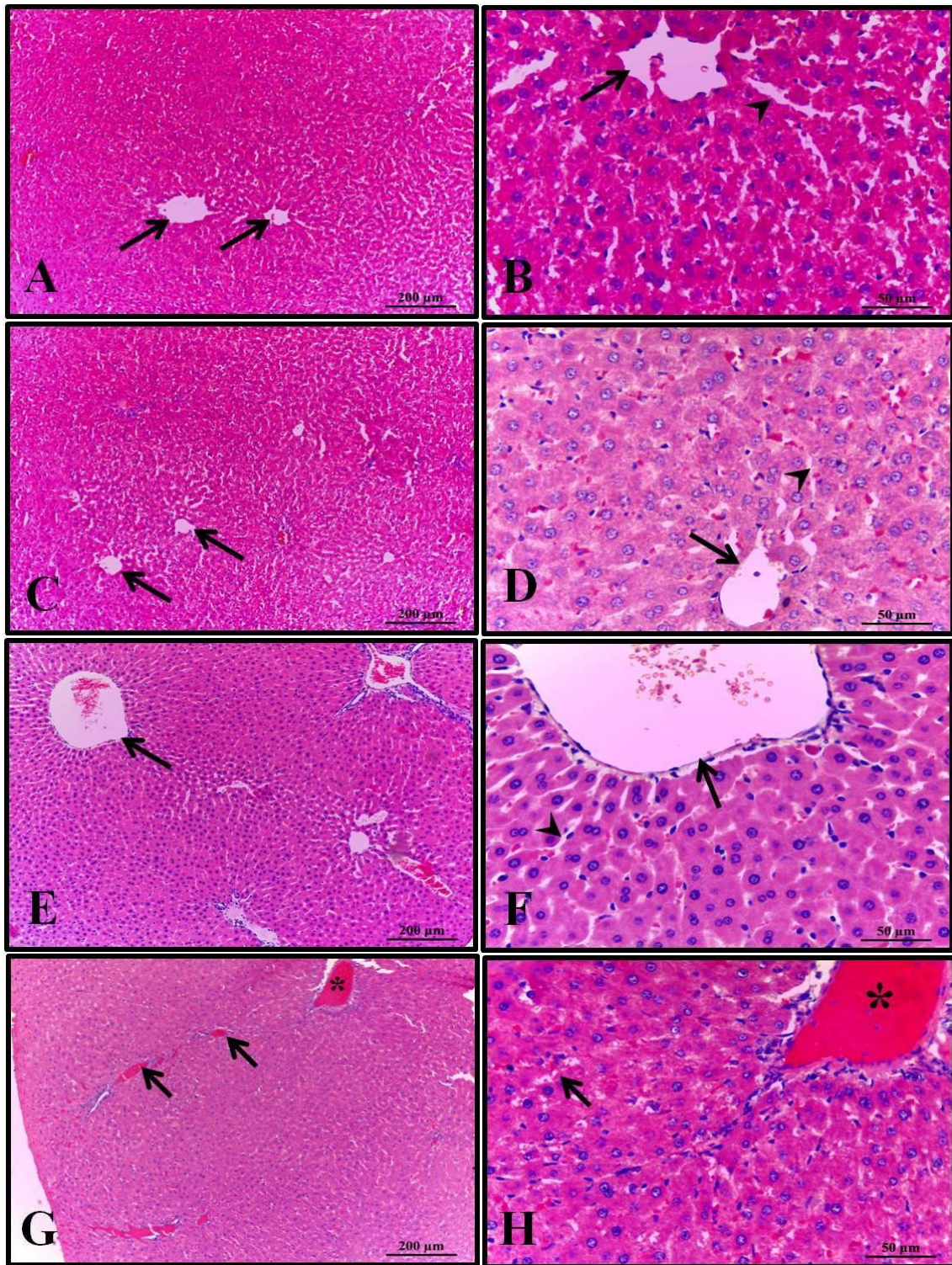


Figura 1: Fotomicrografia do fígado dos animais dos grupos experimentais. A – B: controle; C – D: 100 mg/kg; E – F: 200 mg/kg; G – H: 400 mg/kg. Seta longa – veia centrolobular; Seta curta – veias com congestão; Asteriscos – congestão da veia centrolobular. H.E.

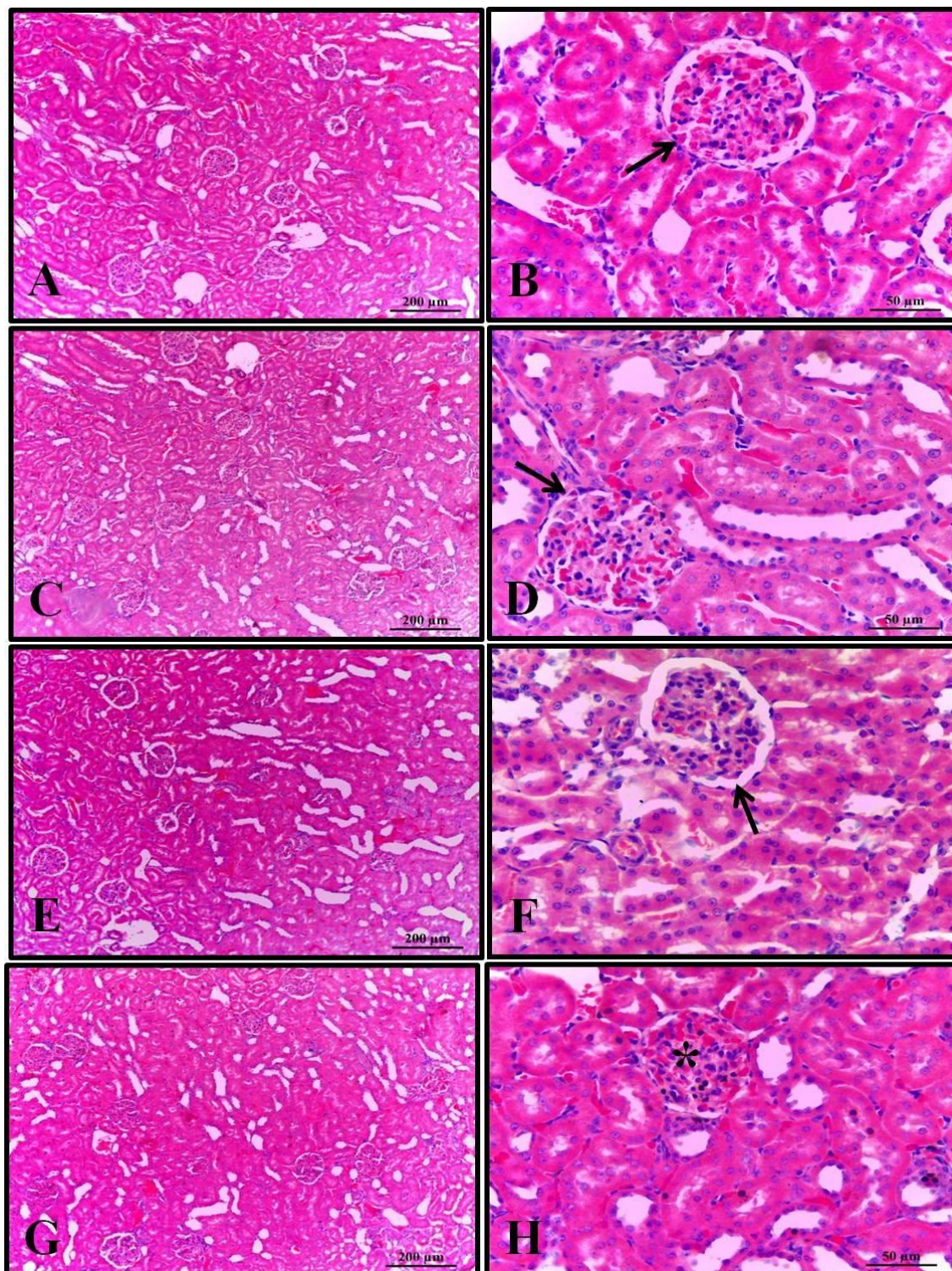


Figura 2: Fotomicrografia dos rins dos animais dos grupos experimentais. A – B: controle; C – D: 100 mg/kg; E – F: 200 mg/kg; G – H: 400 mg/kg. Seta – Glomerulo normal; Asteriscos – Glomerulonefrite proliferativa. H.E.

Tabela 2. Média \pm desvio padrão do percentual do parênquima lobular e não lobular do fígado dos animais dos grupos experimentais.

Grupos	Controle	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg	P
Parênquima Lobular	79,27 \pm 2,33a	76,17 \pm 1,98a	75,82 \pm 4,02a	62,57 \pm 3,88b	0,0222
Parênquima Não Lobular	20,73 \pm 2,43a	23,83 \pm 2,45a	24,18 \pm 2,47a	37,43 \pm 3,73b	0,0182

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente pelo teste Anova one-way com post hoc de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 3. Média \pm desvio padrão do diâmetro do glomerular (DG), volume do glomérulo (VG) e diâmetro (DCB) e volume (VCB) da cápsula de Bowman dos rins dos animais dos grupos experimentais.

Grupos	Controle	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg	P
DG (μm)	53,23 \pm 2,73b	50,65 \pm 3,02b	52,43 \pm 4,14b	63,02 \pm 2,75a	0,0014
VG (μm^3)	1342,22 \pm 113,56b	1322,69 \pm 109,30b	1309,99 \pm 129,87b	1565,92 \pm 100,11a	0,0106
DCB (μm)	65,74 \pm 3,18b	61,66 \pm 4,27b	59,93 \pm 5,79b	73,13 \pm 2,37a	0,0149
VCB (μm^3)	14301,65 \pm 103,68b	14046,54 \pm 131,51b	14284,09 \pm 112,45b	16992,37 \pm 106,66a	0,0117

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente pelo teste Anova one-way com post hoc de Tukey ($p < 0,05$).

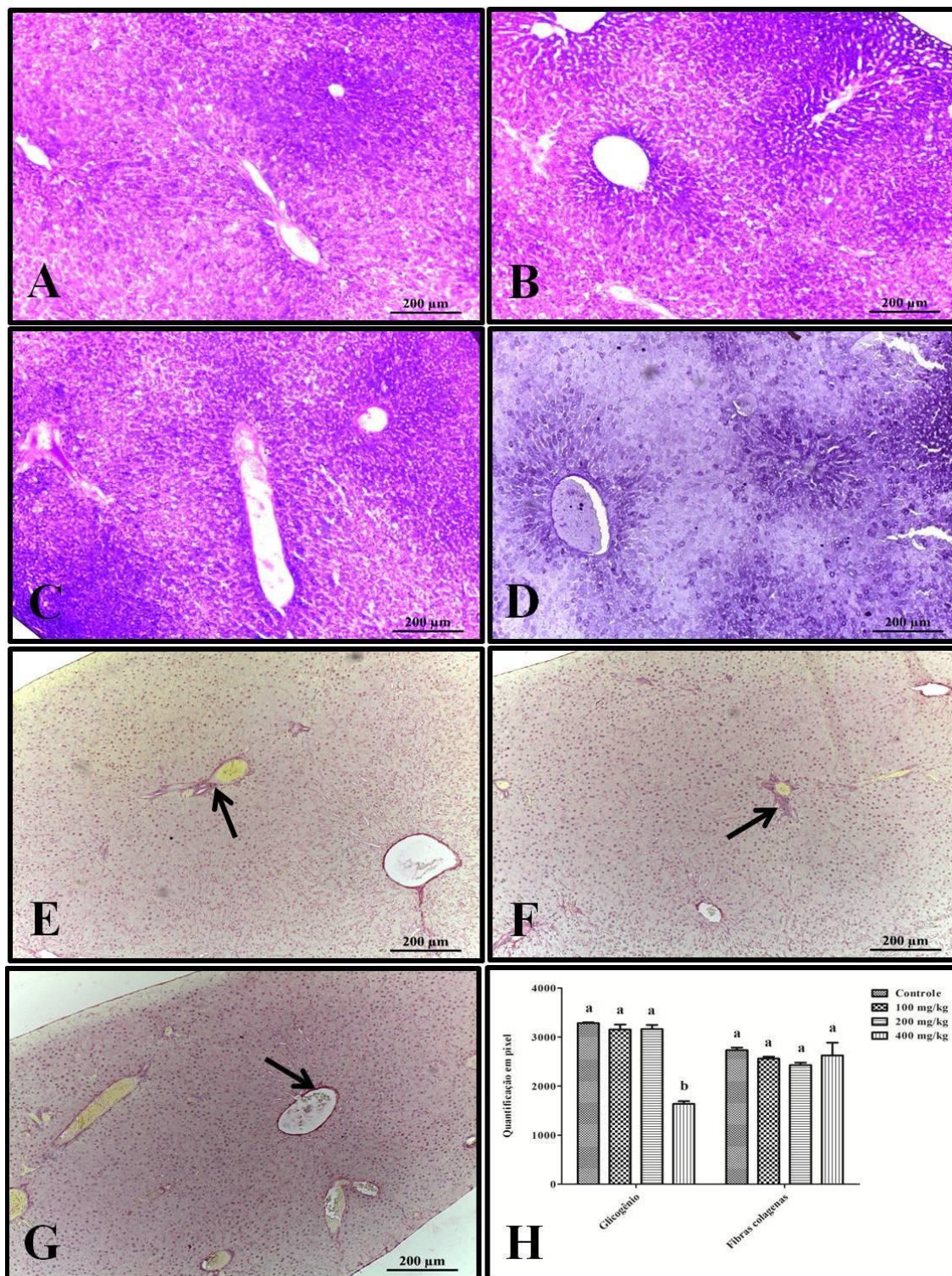


Figura 3: Histoquímica do fígado dos animais dos grupos experimentais. PAS: A – controle; B - 100 mg/kg; C - 200 mg/kg; D - 400 mg/kg. Picrosirius: E – controle; F - 100 mg/kg; F - 200 mg/kg; G - 400 mg/kg. H – Quantificação do glicogênio em pixels. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste Anova one-way com post hoc de Tukey ($p < 0,05$), Seta – Notar fibras colágenas em torno dos vasos.

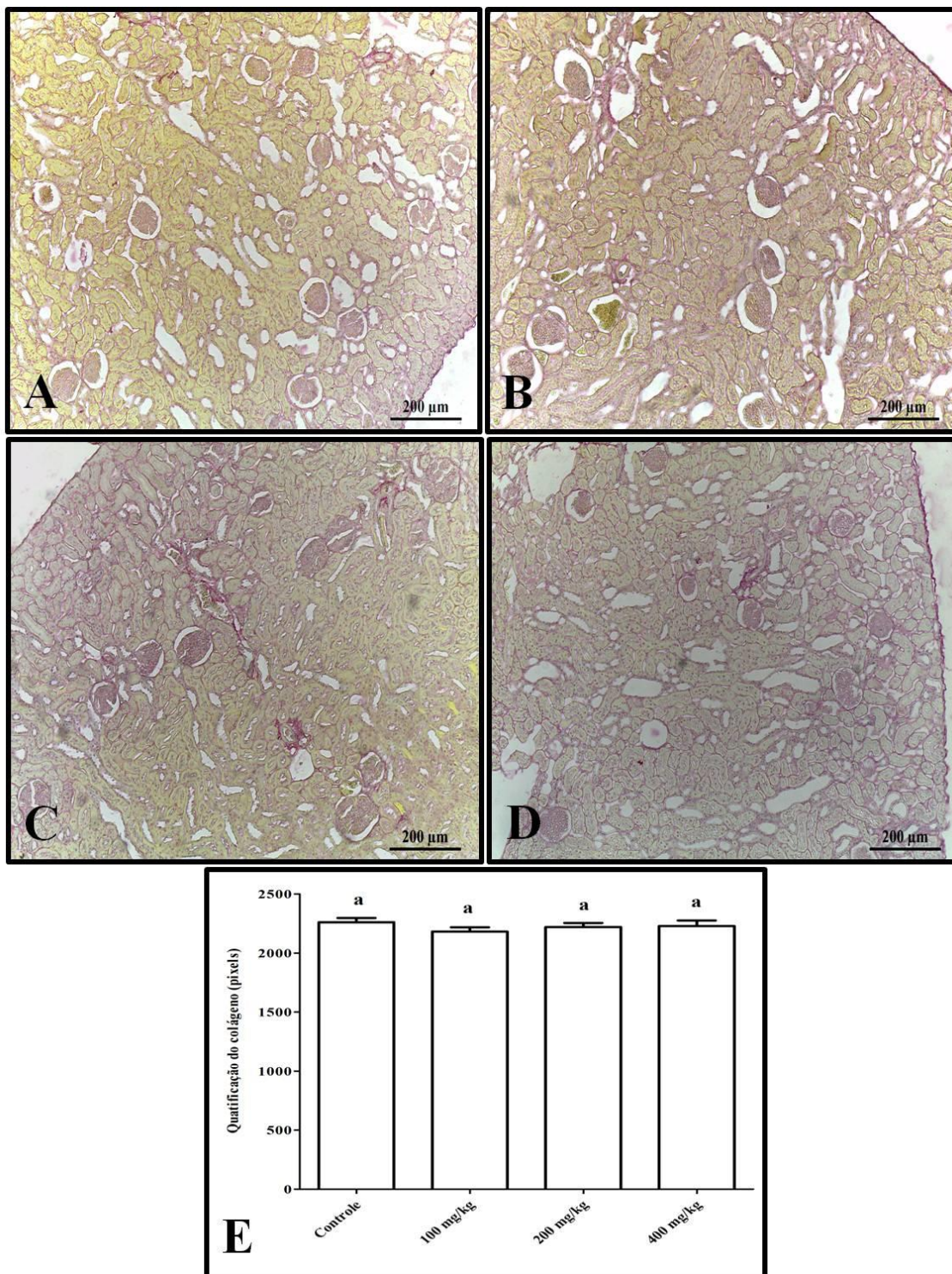


Figura 4: Histoquímica dos rins dos animais dos grupos experimentais. A - controle; B - 100 mg/kg; C - 200 mg/kg; D - 400 mg/kg; Quantificação do colágeno em pixels. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste Anova one-way com post hoc de Tukey ($p < 0,05$), Picrosirius.

Anexo I

ARQUIVOS BRASIEIROS DE CIENCIAS E SAÚDE FORMATO DE REFERÊNCIA PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS ORIGINAIS

As referências devem ser numeradas consecutivamente com números arábicos, de acordo com a ordem em que são mencionadas no texto com o número sobrescrito correspondente. Os autores devem fornecer as referências seguindo as regras das Recomendações para a Conduta, Relatórios, Edição e Publicação de Trabalhos Científicos em Revistas Médicas (disponível em www.icmje.org).

Todas as referências devem incluir DOI no endereço da Internet (<http://dx.doi.org/> ...), sempre que disponível.

Abaixo estão exemplos de formatação de referência:

Artigo:

Marshall AC, Levine J, Morash D, Silva V, Lock JE, Benson CB, et al. Resultados da eptoplastia atrial in utero em fetos com síndrome do coração esquerdo hipoplásico. Prenat Diagn. 2008; 28 (11): 1023-8. <http://dx.doi.org/10.1002/pd.2114>.

Livro: Melzack R. O quebra-cabeça da dor. Nova York: editores da Basic Books Inc; 1973. p. 50-1.

Capítulo de livro: Peerless SJ, Hernesniemi JA, Drake CG. Tratamento cirúrgico dos aneurismas basilares e posteriores da artéria cerebral terminal. In: Schmideck HH, WH doce, editores. Técnicas neurocirúrgicas operatórias. 3rd ed. Filadélfia: WB Saunders; 1995. v. 1. cap. 84. p. 1071-86.

Tese ou dissertação: Pimenta CA. Aspectos culturais, afetivos e terapêuticos relacionados ao câncer de mama. Tese (Doutorado) - Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995. p. 109-11.

Documento em formato eletrônico: Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas [Internet]. Requisitos uniformes para manuscritos submetidos a revistas biomédicas. Disponível em: <http://www.acponline.org/journals/annals/01jan97/unifreq.htm>. Citado em 15/06/2003.

FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS

Figuras e tabelas devem ser submetidas separadamente ou no final do texto, juntamente com suas legendas e / ou títulos.

Todas as imagens devem ser designadas como "Figuras" e numeradas em algarismos arábicos, de acordo com a ordem em que aparecem no texto. As imagens devem ser fornecidas em seu formato original (jpg, tif, gif, png) e em alta resolução (mínimo de 300 dpi).

Todas as figuras serão publicadas em preto e branco, exceto no caso em que os autores assumem a responsabilidade pelos custos adicionais da impressão em cores. As imagens que apresentam pacientes devem ser submetidas com os termos de aceitação da publicação assinados. Tabelas e gráficos devem ser numerados em algarismos romanos, de acordo com a ordem em que aparecem no texto.

Os autores podem ser solicitados a corrigir problemas de formatação no texto antes de o manuscrito ser enviado para análise pelos revisores.