

# Tratamento da Osteoartrose Experimental em Joelhos de Ratos com Extrato Hidroalcoólico do *Cisampelos Sympodialis* Eichl

## Osteoarthritis Experimental Treatment in Knees of Rats with Hydroalcoholic *Cisampelos sympodialis* EICHL

LUPICÍNIO TORRES<sup>1</sup>JULIANA FARIAS<sup>2</sup>TAMIRES LIMA<sup>3</sup>FREDERICO BARBOSA DE SOUZA<sup>4</sup>JOSUÉ RAMALHO<sup>5</sup>LIANA MORAES<sup>6</sup>MARGARETH DE FÁTIMA FORMIGA MELO DINIZ<sup>7</sup>

### RESUMO

**Objetivo:** Avaliar in vivo o efeito do extrato hidroalcoólico do *Cisampelos sympodialis* na osteoartrose induzida nos joelhos direitos de ratos Wistar machos e fêmeas. O extrato hidroalcoólico foi obtido a partir da folha do *Cisampelos sympodialis*. **Material Métodos:** Sessenta e quatro ratos Wistar foram divididos em 08 grupos, cada um contendo 04 machos e 04 fêmeas. A osteoartrose foi induzida através da aplicação do Adjuvante Completo de Freud's no joelho direito dos ratos dos grupos de 1 a 7. Não houve indução de osteoartrose nos animais do grupo 8. A partir do décimo sexto dia após a indução, os animais do grupo 1, 2 e 3 receberam durante 30 dias, via oral, uma vez ao dia, 12,5 mg/kg, 25,0 mg/kg e 50,0 mg/kg, respectivamente, do extrato hidroalcoólico do *Cisampelos sympodialis*. Os animais dos grupos 4, 5 e 6 receberam 1,2 mg/kg, 2,5 mg/kg e 5,0 mg/kg do extrato hidroalcoólico do *Cisampelos sympodialis*, via intra articular dos joelhos direito no 8º, 15º e 22º dias após a indução da osteoartrose. Os animais do grupo 7 e 8 receberam 03 infiltrações com NaCl 0,9%, também em 8º, 15º e 22º dias após a indução. **Resultados:** Este estudo demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os graus e estágios das lesões degenerativas nas cartilagens dos joelhos dos ratos que fizeram uso do extrato hidroalcoólico do *Cisampelos sympodialis*, pós indução de osteoartrose, quando comparadas com as cartilagens dos joelhos dos ratos do grupo controle. **Conclusão:** O Extrato Hidroalcoólico do *Cisampelos sympodialis* não provoca regeneração de cartilagens articulares de joelhos de ratos submetidas à degeneração química.

### DESCRIPTORIOS

Osteoartrose. Wistar. Cartilagem.

### SUMMARY

**Objective:** To evaluate the in vivo effect of the hydroalcoholic *Cisampelos sympodialis* in osteoarthritis induced in the right knees of male and female rats. The hydroalcoholic extract was obtained from leaf *Cisampelos sympodialis*. **Material Methods:** Sixty-four rats were divided into 08 groups, each containing 04 males and 04 females. Osteoarthritis was induced by application of Freud's Complete Adjuvant in the right knee of mice of groups 1-7. There was no induction of osteoarthritis in group 8. From the sixteenth day after induction, the animals in group 1, 2 and 3 received 30 days, orally, once daily, 12.5 mg / kg, 25.0 mg / kg and 50.0 mg / kg, respectively, of the hydroalcoholic *Cisampelos sympodialis* for 30 days. Animals in groups 4, 5 and 6 received 1.2 mg / kg, 2.5 mg / kg and 5.0 mg / kg of hydroalcoholic *Cisampelos sympodialis*, intra articular knee right at 8, 15 and 22 days after induction of osteoarthritis. The animals in group 7 and 8 received 03 injections with 0.9% NaCl, also at 8, 15 and 22 days after induction. **Results:** This study demonstrated that there was no statistically significant difference between grades and stages of the degenerative cartilage in the knees of mice that made use of hydroalcoholic *Cisampelos sympodialis*, post induction of osteoarthritis, when compared with the cartilage of the knees of rats control group. **Conclusion:** The hydroalcoholic extract of *Cisampelos sympodialis* not cause regeneration of articular cartilage of the knees of rats subjected to chemical degeneration.

### DESCRIPTORS

Osteoarthritis. Rats. Inbred WF. Cartilage.

1 Professor Assistente do Departamento de Fisiologia e Patologia da Universidade Federal da Paraíba.

2 Médica Residente em Mastologia na Liga Norte-Rio-Grandense Contra o Câncer – LNRCC, Hospital Dr. Luiz Antônio Natal, RN, Brasil.

3 Aluna do Curso Técnico em Histologia do Laboratório de Microscopia e Imagem Biológica, Universidade Federal da Paraíba.

4 Professor de Histologia do Departamento de Morfologia da Universidade Federal da Paraíba.

5 Farmacêutico.

6 Professora Adjunta do Departamento de Fisiologia e Patologia da Universidade Federal da Paraíba.

7 Professora Adjunta do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba.

**A** osteoartrite, osteoartrite, doença articular degenerativa ou simplesmente artrose, é um processo caracterizado por progressiva erosão da cartilagem articular, levando a esclerose e cistos subcondrais, formação de osteófitos marginais, inflamação sinovial, diminuição do espaço articular, dor a mobilização com redução da amplitude de movimento articular, deformidade da articulação, atrofia muscular, impotência funcional, com redução progressiva da mobilidade do paciente e da sua qualidade de vida (SARZI-PUTINI *et al.*, 2005).

Cursa com processo inflamatório e degenerativo que envolve praticamente todas as estruturas que fazem parte da articulação acompanhada de diminuição das propriedades visco elásticas do líquido sinovial (WILSON *et al.*, 2005).

É a forma de artrite mais comum no mundo. Atingindo a população mais idosa, e com o envelhecimento da população mundial esta doença tem se tornado causa de incapacidade física e afastamento do trabalho, onerando os sistemas de saúde e de previdência (FLORES, HOCHBERG, 2003) resultando em um dos mais altos custos de tratamento para os sistemas de saúde em todo o mundo (CAMANHO, 2001; WATTERSON, 2000).

Nos ambulatórios de Reumatologia é a doença mais freqüente, representando 30% a 40% dos atendimentos. Dados da Previdência Social no Brasil apontam a osteoartrite como responsável por 7.5% de todos os afastamentos do trabalho, como a segunda doença entre as que justificam auxílio inicial. É a segunda causa de prorrogação do auxílio doença com 10,5% do total e a quarta a determinar aposentadoria (SEDA, 2006).

A cartilagem normal é um tecido avascular formado por uma grande matriz extracelular e esparsamente povoada de células. A água representa 66% a 80% de sua estrutura e o material orgânico é composto de 48% a 62% de colágeno tipo II e de 22% a 38% de proteoglicanos.

Esse conjunto de líquido de densidade variável, com fibras diversas entre as células é nutrido por imbebição, e seu processo anabólico e catabólico é regido por diversos fatores, em especial os de crescimento.

A homogeneidade e o equilíbrio dessa complexa estrutura são mantidos por diversas enzimas, na sua maioria secretada pelo condrócito e por células sinoviais.

Durante décadas a fisiopatologia da osteoartrite permaneceu obscura, sendo constantemente considerada como resultado de simples desgaste da articulação.

Nas últimas décadas progressos consideráveis na compreensão desta doença têm sido alcançados embora os fatores desencadeantes do início da agressão articular ainda não sejam totalmente conhecidos.

No desenvolvimento da osteoartrite a desestruturação da cartilagem ocorre pela liberação de enzimas

degradadoras da matriz pelos condrócitos, levando inicialmente à fibrilação, fragmentação e finalmente às lesões na superfície articular como abaulamento e ulceração da cartilagem (RESENDE, 2002).

Os condrócitos têm a capacidade de produzir diversas citocinas e mediadores da inflamação (IL- 1b, TNFa, IL-6, IL-8, óxido nítrico, prostaglandinas), moléculas essas que agem de maneira autócrina ou paráquina para promover um estado catabólico que leva a dano cartilaginosa progressivo (PELLETIER, 2001).

O processo catabólico que resulta em degeneração da cartilagem inicia-se quando a IL-1 faz com que os condrócitos produzam quantidades aumentadas de fatores catabólicos como as metaloproteases da matriz (MMPS) e óxido nítrico (NO) o que estimula os condrócitos produzirem mais NO (MARTEL-PELLETIER *et al.*, 1998).

O óxido nítrico é um radical que pode danificar a matriz extra celular da cartilagem. Além disso, a sua produção aumentada diminui os níveis do inibidor natural da IL-1, o antagonista do receptor da interleucina -1 (IL-1ra) (PELLETIER *et al.*, 1996). É também um dos mais poderosos indutores da resposta imune, ativando e estimulando significativamente a migração de células imunes (FRODO *et al.*, 1999). Como o sistema monócito/macrófago é a principal fonte celular da IL - 1 (PELLETIER *et al.*, 1993), isto pode levar a um aumento substancial da concentração local de IL-1.

A IL-1 pode induzir a síntese de potentes ativadores de enzimas, como o ativador receptor do plasminogênio semelhante auroquinase (uPA-r), o qual converte o plasminogênio em plasmina, que por sua vez converte pró-MMPs inativadas em MMPs ativadas (MOLDOVAN *et al.*, 2000), levando a posterior degradação da matriz extra celular.

Além disso, as citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 podem regular para baixo o processo anabólico (reparação) ao diminuir a síntese dos componentes da matriz da cartilagem como o colágeno tipo II pelos condrócitos (GOLDRING *et al.*, 1988).

O tratamento das lesões nas cartilagens articulares, apesar de todo o progresso observado na Medicina, ainda é um grande desafio para Reumatologistas, Ortopedistas, Fisiatras e Cirurgiões dos Joelhos.

Inúmeros tratamentos clínicos e cirúrgicos já foram tentados, outros estão em estudos, mas até o momento não há uma terapêutica que resulte em uma recuperação definitiva ou uma “cura das lesões das cartilagens articulares” podendo haver necessidade de colocação de próteses metálicas nos joelhos, nos casos mais graves. A terapêutica até recentemente usada objetivava apenas tratar os sintomas, melhorar a mobilidade articular, diminuir a dor, e melhorar a qualidade de vida do paciente, sem interferir na fisiopatologia da osteoartrite.

A procura de agentes terapêuticos provenientes de plantas medicinais para tratamento de artrose tem aumentado significativamente na última década. Isso significa que num grande número de preparações herbárias com possível potencial terapêutico tem sido avaliado em diversos modelos animais.

Diversos estudos, utilizando preparações herbárias foram e estão sendo realizados, alguns controversos, outros indicando efeitos na diminuição da dor, outros sugerindo reparo da cartilagem com lesões, outros não identificando estes efeitos.

Nos últimos anos surgiram medicamentos que tentam retardar a progressão da degeneração articular e provocar a sua regeneração. São medicações que procuram agir diretamente no processo que desencadeia a degeneração da cartilagem, procurando prevenir, retardar ou reverter esta alteração tecidual.

São medicamentos feitos a partir do extrato insaponificável de Abacate e Soja (*Persea gratissima* e *Glycine max*), Babosa (*Aloe vera*), do *Harpagophitum procumbens* (planta originária da África). Sem serem derivados de plantas, mas com este mesmo objetivo, são usados o ácido hialurônico, glicosamina (sintética ou retirada da carapaça de crustáceos) e a condroitina. São produtos relativamente caros, que necessitam uso por período prolongado, o que dificulta seu uso por uma parcela maior da população.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação intra articular e do uso oral do extrato hidroalcoólico do *Cissampelos Sympodialis* Eichl em ratos com osteoartrose induzida nos joelhos.

No presente estudo foi usado o extrato hidroalcoólico do *Cissampelos sympodialis* Eichl, que é uma espécie da flora brasileira, procurando identificar efeito na recuperação da degeneração da cartilagem em joelhos de ratos Wistar, em que foi induzido osteoartrose,

A *Cissampelos sympodialis* é uma planta encontrada desde o Ceará até o norte de Minas Gerais ocorrendo principalmente em áreas de semi-árido (RHODES, 1975). A espécie é conhecida popularmente como “milona”, “jarrinha”, “orelha-de-onça” e “abuteira”, cujas folhas e raízes são empregadas na medicina popular no tratamento de doenças do aparelho respiratório, reumatismos e artrites (BARBOSA-FILHO *et al.*, 1997) e (AGRA *et al.*, 2007a,b).

Para avaliarmos a ação do extrato hidroalcoólico do *Cissampelos sympodialis*, foi feita a utilização do extrato em aplicações intra articulares e por via oral. Os ratos foram sacrificados, após 15 dias do término do uso do extrato. Os joelhos foram dissecados e levados a estudo histológico.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os protocolos experimentais foram aprovados e

realizados de acordo com as orientações do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal da Paraíba.

O material botânico foi coletado de plantas cultivadas no Horto do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes Medeiros”, também da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, em março e abril de 2007.

Foram utilizados ratos Wistar, albinos (*Rattus norvegicus*), adultos, machos e fêmeas (núlparas e não grávidas) pesando entre 200 e 300 gramas obtidos no biotério do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba. A idade mínima para inclusão no trabalho foi de 08 semanas. Ratos com idade superior a 16 semanas e peso acima de 350 gramas não foram utilizados neste estudo.

Os animais foram alojados em gaiolas de aço de 16 cm x 34 cm x 49 cm, cobertos com tampa de ferro e espaço para colocação de ração padrão e um bebedouro de 500ml de água filtrada fornecida ad libitum. O ambiente foi mantido com temperatura de 22 °C ± 2°C em ciclo claro/escuro de 12 horas e tinham livre acesso a água e alimento.

O estudo histológico foi realizado no Laboratório de Microscopia e Imagem Biológica da Universidade Federal da Paraíba.

Foi induzida osteoartrose no joelho direito dos ratos do grupo 1 a 7, com a utilização de 0,1 mg intra articular de Freud’s Adjuvant em dose única. No grupo 8 não houve indução de osteoartrose. No oitavo dia após a indução, os animais do grupo 1, 2 e 3 receberam 12,5 mg/Kg, 25,0 mg/Kg e 50,0 mg/kg respectivamente do extrato hidroalcoólico do via oral durante 30 dias.

Os animais dos grupos 4, 5, e 6 receberam 1,2 mg/kg, 2,5mg/Kg e 5,0 mg/Kg, via intra articular, nos joelhos submetidos à indução de osteoartrose no 8º, 15º e 22º dia respectivamente. Os animais do grupo 7 e 8 receberam 03 infiltrações com NaCl 0,9%, também no 8º, 15º e 22º dia após a indução da osteoartrose.

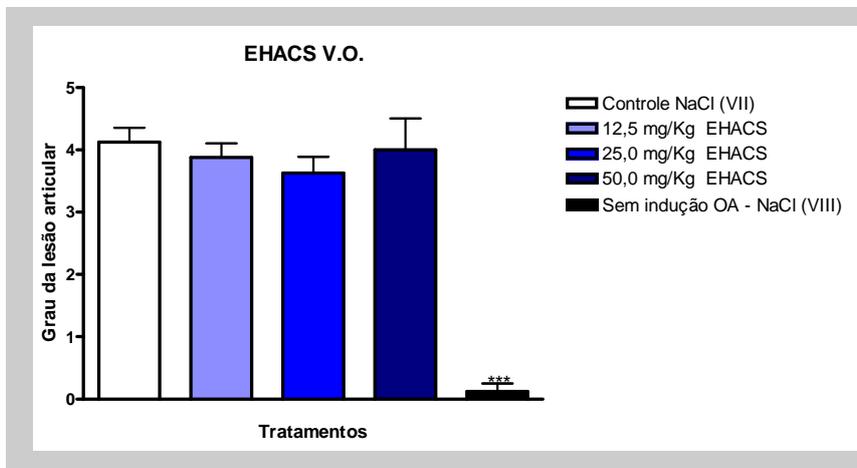
No 15º dia após o término do uso do extrato os ratos foram sacrificados por tração cervical, e os joelhos dissecados e encaminhados para estudo histológico. Quinze dias após o término do uso do extrato hidroalcoólico, todos os ratos foram sacrificados por tração cervical, os joelhos das patas direitas foram dissecados e enviados para estudo histológico.

## RESULTADOS

No que diz respeito à administração do Extrato hidroalcoólico do *Cissampelos sympodialis*, (EHACS) por via oral, analisando os graus e estágios da lesão da cartilagem articular de ratos não se observou diferenças estatísticas significantes nas doses de 12,5mg/kg, 25

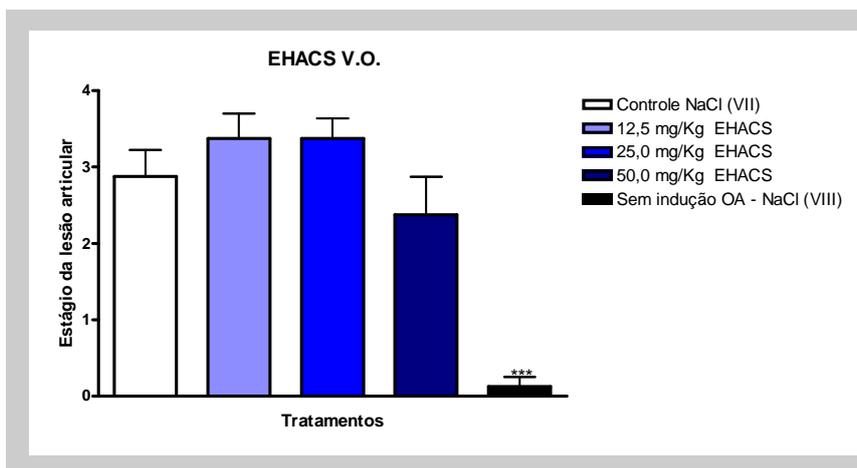
mg/kg e 50 mg/kg, conforme Figuras 1 e 2. Na Figura 3 estão expressos os valores obtidos da área lesada, que resultou da multiplicação do grau pelo estágio, corroborando com a ausência do efeito do Extrato

hidroalcoólico usado sob as lesões das cartilagens articulares. Os resultados expressos em mediana (menor valor-maior valor) constam na Tabela 1.



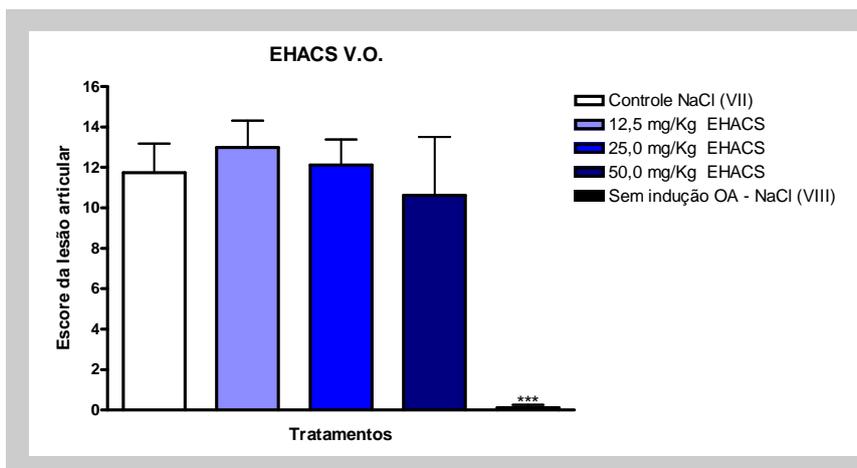
Os valores representam média ± e.p.m. (n=8); \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 (Mann Whitney test).

**Figura 1:** Efeito do EHACS por via oral sobre o **grau** de lesão histológica da cartilagem articular de ratos.



Os valores representam média ± e.p.m. (n=8); \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 (Mann Whitney test).

**Figura 2:** Efeito do EHACS por via oral sobre o **estágio** de lesão histológica da cartilagem articular de ratos.



Os valores representam média ± e.p.m. (n=8); \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 (Mann Whitney test).

**Figura 3:** Efeito do EHACS por via oral sobre o **escore** da lesão histológica da cartilagem articular de ratos.

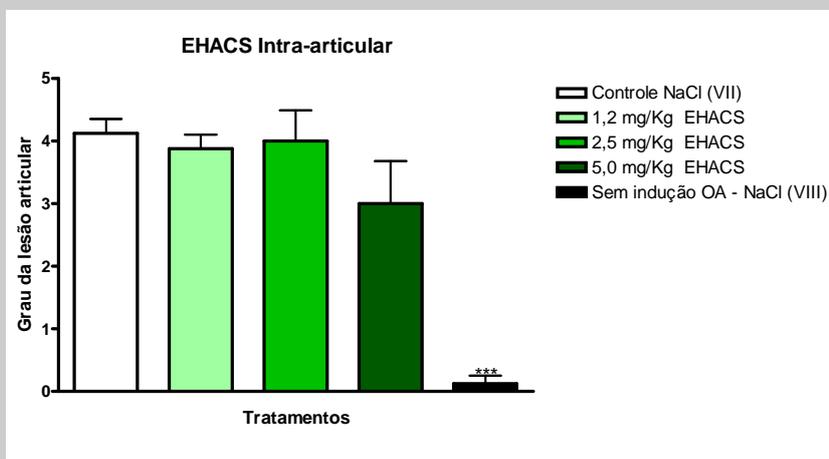
**Tabela 1:** Efeito do EHACS por via oral sobre a lesão histológica da cartilagem articular de ratos.

	Controle NaCl (VII)	12,5 mg/Kg EHACS	25,0 mg/Kg EHACS	50,0 mg/Kg EHACS	Sem indução OA NaCl (VIII)
Grau (0-6)	4(3-5)	4(3-5)	4(2-4)	4,5(1-5)	0(0-1)***
Estágio (1-4)	3(1-4)	4(2-4)	3,5(2-4)	2(1-4)	0(0-1)***
Escore (0-24)	12(4-16)	14(6-16)	12(8-16)	8(1-20)	0(0-1)***

Valores: Mediana (menor valor – maior valor). \*\*\*p<0,001, \* p<0,05 vs. Controle (Mann Whitney test)

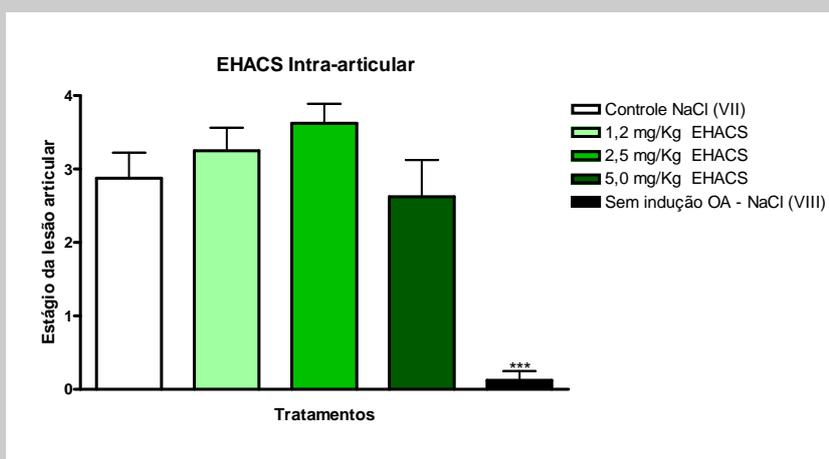
Quando administrado por via intra-articular, nas doses de 1,2 mg”kg, 2,5 mg”kg, 5,0 mg”kg, também não foram observadas diferenças significativas quando comparados às medianas correspondentes aos graus,

estágios e aos escores, das lesões histológicas da cartilagem articular de ratos, entre os grupos tratados e o controle (Figuras 4, 5, 6). Os resultados expressos em mediana (menor valor-maior valor) constam na Tabela 2.



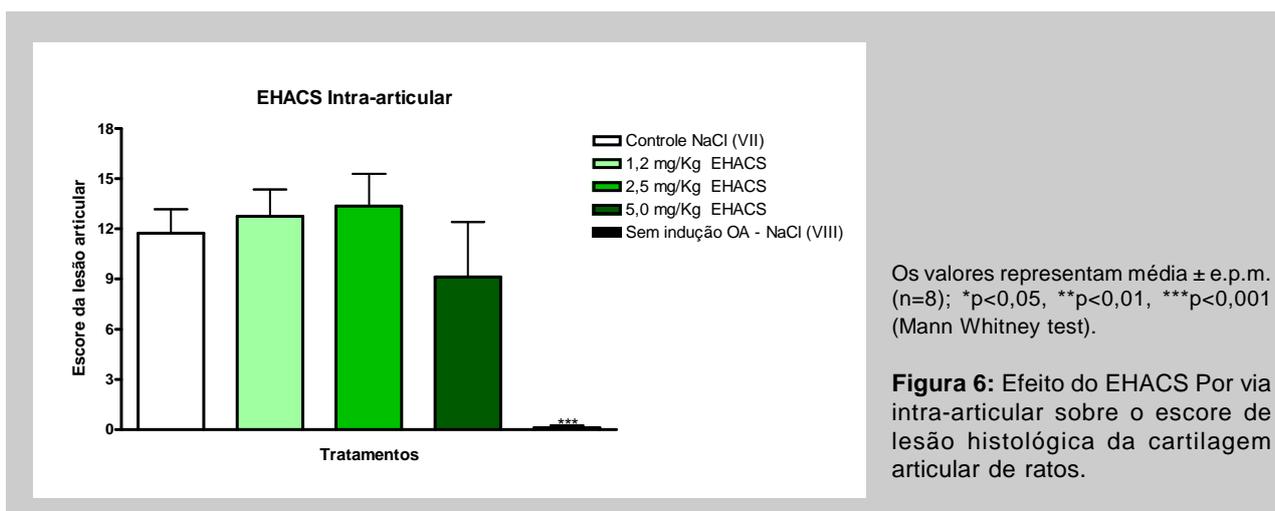
Os valores representam média ± e.p.m. (n=8); \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 (Mann Whitney test).

**Figura 4:** Efeito do EHACS por via intra-articular sobre o grau de lesão histológica da cartilagem articular de ratos



Os valores representam média ± e.p.m. (n=8); \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 (Mann Whitney test).

**Figura 5:** Efeito do EHACS Por via intra-articular sobre o estágio de lesão histológica da cartilagem articular de ratos



**Tabela 2:** Efeito do EHACS por via intra-articular sobre a lesão histológica da cartilagem articular de ratos.

	Controle NaCl (VII)	1,2 mg/Kg EHACS	2,5 mg/Kg EHACS	5,0 mg/Kg EHACS	Sem indução OA NaCl (VIII)
Grau (0-6)	4(3-5)	4(3-5)	4(1-5)	3(1-6)	0(0-1)***
Estágio (1-4)	3(1-4)	3,5(2-4)	3,5(3-5)	3(1-4)	0(0-1)***
Escore (0-24)	12(4-16)	12(6-20)	13,5(4-20)	3(1-24)	0(0-1)***

Valores: Mediana (menor valor – maior valor). \*\*\*p<0,001, \* p<0,05 vs Controle (Mann Whitney test).

Atividade antiinflamatória e o uso do *Cisampelos sympodialis* em doenças reumáticas e artrites (BARBOSA-FILHO *et al.*, 1997) (AGRA *et al.*, 2007a,b) foram reportados na literatura (referências), entretanto este efeito não foi observado neste estudo, talvez por ter sido administrado, por via intra-articular em doses

muito baixas abrindo assim perspectivas para novas pesquisas.

Assim conclui-se que o Extrato Hidroalcoólico do *Cisampelos sympodialis* não provoca ou induz a regeneração de cartilagens articulares submetidas à degeneração química.

## REFERÊNCIAS

1. AGRAMF, FRANÇA PF, BARBOSA-FILHO JM. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev. Brás Farmacogn* 17(sn): 114-140, 2007a.
2. AGRAMF, NURIT-SILVA K, BARACHO GS, BASÍLIO, 2007b. Estudo farmacobotânico de folhas de *Nicotiana glauca* (Solanaceae). *Lat Am J Pharm* 26(sn): 499-506, 2007b.
3. BARBOSA-FILHO JM, AGRAMF, THOMAS G. Botanical, chemical and pharmacological investigation on *Cissampelos* species from Paraíba (Brazil). *J Braz Assoc Advanc Sci* 49(sn): 386-394, 1997.
4. CAMANHO GL. Tratamento da osteoartrose do joelho. *Revista Brasileira de Ortopedia*. 26(5): 135-140, 2001.
5. FRODO TS, CALIXTO JB, MEDEIROS YS. Effects of anti-inflammatory drugs upon nitrate and myeloperoxidase levels the mouse pleurisy induced by carrageenan. *Pepitides*. 20(15): 949-956, 1999.
6. FLORES RH, HOCHBERT MC. Definition and classification of osteoarthritis. In: Brandt KD, Doherty M, Lohmander LS. Osteoarthritis 2<sup>nd</sup> edition. New York: Oxford; p.108, 2003.
7. GOLDRING MB, BIRKHEAD J, SANDELL LJ, KIMURAT, KRANE SM. Interleukin 1 suppresses expression of cartilage-specific types II and IX collagens and increases types I and III collagens in human chondrocytes. *Journal of Clinic Investigation*. 82 (10):2026-2037, 1988.

8. MOLDOVAN FP, JOLICOERU FC, CLOUTIER JM, MARTEL-PELLETIER J. Diacerein and rhein reduce ICE-induced IL-1b and IL-18 activation human osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*. 8(5):186-189, 2000.
9. MARTEL-PELLETIER J, MINEAU F, JOLICOEUR FC, CLOUTIER JM. In vitro effects of Diacerein and Rhein on IL-1 and TNF- $\alpha$  systems in human osteoarthritic synovium and chondrocytes. *Journal Rheumatology*. 25(3):753-762, 1998.
10. PELLETIER, J.P, ABRAMSON B. Osteoarthritis. *Arthritis Rheumatism*. 44 (9): 1237-1247, 2001.
11. PELLRTIER JP, MINEAU F, RANGER P, TARDIFF G, MARTEL-PELLETIER J. The increased synthesis of inducible nitric inhibits IL-1ra synthesis by human articular chondrocytes: possible role in osteoarthritic cartilage degradation. *Osteoarthritis Cartilage*. 4 (1):77-88, 1996.
12. PELLETIER J, DIBATISTA J, ROUGHLEY P, MARTEL-PELLETIER J. Cytokines and inflammation in cartilage degradation. *Rheumatology Disease Clinic North America*. 3(7):545-568, 1993.
13. REZENDE UM. Efeito do Ácido Hialurônico e da Diacireina na Artrose: Modelo Experimental em Ratos (Dissertação). São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2002.
14. RHODES DG. A revision of the genus *Cissampelos*. *Phytol* 30 (sn): 415-485, 1975.
15. SARZI-PUTTINI P, CAMMINO MA, SCARPAR, CAPORALI R, PARAZZINI F, ZANINELLI A, ATZENI F, CANESI KB. Osteoarthritis: An overview of the disease and its treatment strategies *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 35 (1):1-10, 2005.
16. SEDA, H; SEDA, AC. Osteoartrose (texto na internet). São Paulo; Sociedade Brasileira de Reumatologia (citado 2006 Abr 12). Disponível em [http://www.reumatologia.com.br/orient\\_09.htm](http://www.reumatologia.com.br/orient_09.htm).
17. WATTERSON JR, ESDAILE JM. Viscosupplementation: Therapeutic Mechanisms and Clinical Potential in Osteoarthritis of the Knee. *Journal American of Academic Orthopedic*. 5 (8): 277-284, 2000.
18. WILSON AR, CHUEIRE GA, CORDEIROAJ, PETEANCF, FILHO GC. Avaliação do uso do Hylano GF-90 no pós-operatório de artroscopia do joelho por artrose. *Acta Ortopédica Brasileira*. 13(1):15-30, 2005.

#### CORESPONDÊNCIA

Lupicínio Farias Torres  
Departamento de Fisiologia e Patologia, Centro de Ciências da Saúde  
Universidade Federal da Paraíba  
58051-970 – João Pessoa – Paraíba - Brasil

E-mail  
dfp@ccs.ufpb.br