

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO**  
**MESTRADO EM NUTRIÇÃO**

**Avaliação da Atividade Antimicrobiana e de Citotoxicidade *in vitro* e *in vivo* do extrato etanólico bruto do caule da *Zeyheria tuberculosa* (Vell) Bur. (Bignoniaceae): Perspectiva de um suplemento para Cicatrização de Feridas**

**PATRÍCIA DE ALBUQUERQUE SARMENTO**

**PATRÍCIA DE ALBUQUERQUE SARMENTO**

**Avaliação da Atividade Antimicrobiana e de  
Citotoxicidade *in vitro* e *in vivo* do extrato etanólico  
bruto do caule da *Zeyheria tuberculosa* (Vell) Bur.  
(Bignoniaceae): Perspectiva de um suplemento para  
Cicatrização de Feridas**

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Nutrição da  
Universidade Federal de Alagoas  
como requisito à obtenção do  
título de Mestre em Nutrição

Orientadora: **Prof. (ª) Dr. (a). Terezinha da Rocha Ataíde**  
Faculdade de Nutrição  
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientadora: **Prof. (ª) Dr. (a). Maria Lysete de Assis Bastos**  
Escola de Enfermagem e Farmácia  
Universidade Federal de Alagoas

**MACEIÓ-2012**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico Bibliotecária**  
Bibliotecária: Helena Cristina Pimentel do Vale

- S246a Sarmiento, Patrícia de Albuquerque.  
Avaliação da atividade antimicrobiana e de citotoxicidade *in vitro* e *in vivo* do extrato etanólico bruto do caule da *Zeyheria tuberculosa*: perspectiva de um suplemento para cicatrização de feridas /Patrícia de Albuquerque Sarmiento. – 2012.  
67 f : grafs.
- Orientadora: Regina Maria dos Santos.  
Monografia (TCC em Enfermagem) – Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia. Curso de Enfermagem. Maceió, 2012.
- Bibliografia: f. 55-60  
Apêndice: f. 61-65  
Anexo: f. 66-67.
1. Cicatrização de feridas 2. Bioensaios. 3. Extratos vegetais. 4. Suplemento. 5. Teste de sensibilidade microbiana. I. Título.

CDU: 616-083:616-003.9



**MESTRADO EM NUTRIÇÃO**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**



Campus A. C. Simões  
BR 104, km 14, Tabuleiro dos Martins  
Maceió-AL 57072-970  
Fone/fax: 81 3214-1160

---

**PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE  
DISSERTAÇÃO**

**“Avaliação da Atividade Antimicrobiana e de Citotoxicidade *in vitro* e *in vivo* do extrato etanólico bruto do caule da *Zeyheria tuberculosa* (Vell) Bur. (Bignoniaceae): Perspectiva de um suplemento para Cicatrização de Feridas”**

por

***Patrícia de Albuquerque Sarmiento***

A Banca Examinadora, reunida aos 14 dias do mês de agosto do ano de 2012, considera a candidata **APROVADA**.

---

Prof. Dra. Maria Lysete de Assis Bastos  
Escola de Enfermagem e Farmácia  
Universidade Federal de Alagoas

---

Prof. Dra. Patrícia Emanuella Silva de Oliveira  
Instituto Federal de Alagoas  
Campus Marechal Deodoro

---

Prof. Dra. Suzana Lima de Oliveira  
Faculdade de Nutrição  
Universidade Federal de Alagoas

Dedico esta pesquisa à minha avó Joana (*in memoriam*), que com certeza deve estar vibrando com mais esta vitória. Ao meu esposo Felipe e as minhas princesas Anna Lara e Clarissa motivação para esta conquista.

## AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora por me encherem de ricas bênçãos todos os dias.

A Universidade Federal de Alagoas e ao programa de Pós- Graduação em Nutrição pela oportunidade de realização deste curso de mestrado.

A professora Terezinha da Rocha Ataíde, minha orientadora, meu respeito, admiração e gratidão.

A professora Maria Lysete de Assis Bastos, minha co-orientadora, pela confiança, paciência, amizade e orientação durante toda esta caminhada.

A professora Maria Lúcia Conserva e a todos do Laboratório de Recursos naturais, do Instituto de Química e Biotecnologia, pelos ensinamentos e colaboração no trabalho de extração.

Aos Profs. Dr. Irinaldo Diniz Basílio Júnior e Dra. Suzana Lima de Oliveira, membros da banca de qualificação, pelas valiosas sugestões.

A professora Dra. Patrícia Emanuella Silva de Oliveira pela participação na banca de defesa da dissertação.

A todos do Laboratório de Pesquisa e Tratamento de Feridas pelo empenho e dedicação durante a realização dos experimentos, pelos cuidados e carinho com os animais, agradeço muito.

Aos meus pais pelo incentivo e apoio na busca dos meus ideais.

As minhas filhas Anna Lara e Clarissa pela inocência, bondade e paciência que tiveram comigo nos momentos de maior tensão.

A meu esposo Felipe pelo incentivo e confiança diários, que mesmo vivenciando seu doutoramento sempre esteve ao meu lado me apoiando "...na alegria e na tristeza".

Aos meus companheiros de trabalho peço desculpas pelas ausências e agradeço a todos por sempre me incentivarem e entenderem este momento.

Às pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste estudo.

Ao CNPq e a FAPEAL pelo incentivo financeiro para a realização desta pesquisa.

*... "as árvores produzirão novos frutos mês a mês, porque sua água provém do santuário; seus frutos servirão de alimento e suas folhas de remédio."*

**Ezequiel 47,12**

## RESUMO

Inúmeras pesquisas têm sido direcionadas para o descobrimento de novos agentes, com ação cicatrizante e/ou antimicrobiana, oriundos de extratos de plantas, para serem utilizados como fitoterápicos chás, suplementos ou outro insumo natural que venham a trazer benefícios para o indivíduo, mesmo que estes benefícios sejam indiretos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a atividade antimicrobiana e citotóxica do extrato etanólico do caule da espécie vegetal *Zeyheria tuberculosa* para utilização por via tópica e/ou ingestão oral como cicatrizante em feridas cutâneas. O extrato foi submetido a ensaios *in vitro* de avaliação da atividade antimicrobiana, pela técnica de difusão de disco, com cepas padrão ATCC (American Type Culture Collection) e a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Para os ensaios *in vivo* utilizou-se como modelo animal ratos de linhagem *Wistar*. Os animais foram divididos seis grupos (n=4) identificados a partir da terapêutica. Diariamente realizaram-se curativos e avaliação das lesões e das condições clínicas do animal. No 3º, 7º, 11º e 14º dias do experimento foram realizadas cultura e biopsia de uma das lesões para realização de histopatológicos. Ao término do experimento foi coletado sangue para análise bioquímica e retirado baço e fígado para análise histológica. Os ensaios antimicrobianos por difusão em disco mostraram atividade frente às cepas de *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*, sendo este último na concentração inibitória mínima foi 62,5 µg/mL. O extrato atuou de forma significativa por via tópica, diminuindo a resposta inflamatória inicial. A análise histológica do fígado mostrou ausência de hepatotoxicidade. A avaliação bioquímica evidenciou parâmetros semelhantes de

colesterol, triglicérido e glicose entre todos os animais do experimento. Portanto, mostra-se promissor para o desenvolvimento de um produto que possa ser utilizado de forma alternativa no reparo de feridas cutâneas infectadas.

Descritores: Cicatrização de feridas; Bioensaios; Extratos vegetais; Suplemento; Testes de sensibilidade microbiana.

## ABSTRACT

Numerous studies have been directed to the discovery of new agents, with healing action and / or antimicrobial, from plant extracts to be used as herbal teas, supplements or other natural ingredient that will bring benefits to the individual, even if they benefits are indirect. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial and cytotoxic activities of ethanolic extract of the stem of the plant species for use *Zeyheria tuberculosa* topically and / or oral ingestion as a healing of skin wounds. The extract was subjected to in vitro evaluation of antimicrobial activity by the disk diffusion technique, with strains ATCC (American Type Culture Collection) and the determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC). For in vivo testing was used as an animal model of Wistar rats. The animals were divided into six groups (n = 4) identified from the treatment. Daily dressings were carried out and evaluation of lesions and the clinical condition of the animal. In the 3rd, 7th, 11th and 14th days of the experiment were performed culture and biopsy of a lesion to perform histopathology. At the end of the experiment was collected blood for biochemical analysis and spleen and liver removed for histological analysis. Antimicrobial assays by disk diffusion showed activity against the strains of *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*, the latter being the minimum inhibitory concentration was 62.5 mg / mL. The extract acted significantly topically, by decreasing the initial inflammatory response. Histological analysis of the liver showed no hepatotoxicity. The biochemical evaluation parameters showed similar cholesterol, triglyceride and glucose among all animals in the experiment. Therefore shows promise for the

development of a product that can be used alternatively for the repair of infected wounds.

Descriptors: Wound healing; Bioassays; Vegetal extracts; supplement; Microbial sensitivity tests.

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>1 Introdução Geral</b>	
Figura 1 - Representação esquemática da pele.....	15
<b>2 Revisão da literatura</b>	
Figura 2 - Representação esquemática da especificidade celular imunológica correlacionada temporalmente com as fases da cicatrização.....	22
Figura 3 - <i>Zeyheria tuberculosa</i> (Vell). Bur. – popularmente conhecida Ipê felpudo.....	32
Figura 4 – Flavonóides isolados na espécie <i>Zeyheria tuberculosa</i> .....	33
<b>3 Artigo de resultados</b>	
Figura 1 – Teste de microdiluição em caldo para determinação da CIM. Valores expressos em µg.....	40
Figura 2 - Lesões no dorso do animal no dia da cirurgia (D0) .....	42
Figura 3 - Curvas médias dos parâmetros macroscópicos de Temperatura (A), Peso (B), Diâmetro (C).....	44
Figura 4 – (A) Fotomicrografia de ferida cutânea do extrato tópico, 3º dia pós-cirúrgico ; (B) Fotomicrografia de ferida cutânea do extrato tópico e oral, 7º dia pós-cirúrgico e (C) Fotomicrografia de ferida cutânea do extrato oral 11º pós-cirúrgico. (Aumento 10x, HE).....	46

## LISTA DE TABELAS

<b>3 Artigo de resultados</b>	<b>Página</b>
Tabela 1 - Escores utilizados para avaliação do exame Histopatológico.....	43

## Lista de abreviaturas

**ATCC** - American Type Culture Collection

**CCCD** – Coleção de Culturas Cefar Diagnóstica

**CIM** - Concentração inibitória mínima

**ETOH** - Etanol

**LTF** - Laboratório de Tratamento de Feridas

**g** - gramas

**MIC** - Concentração inibitória mínima

**NCCLS** - National Committee for Clinical Laboratory Standards

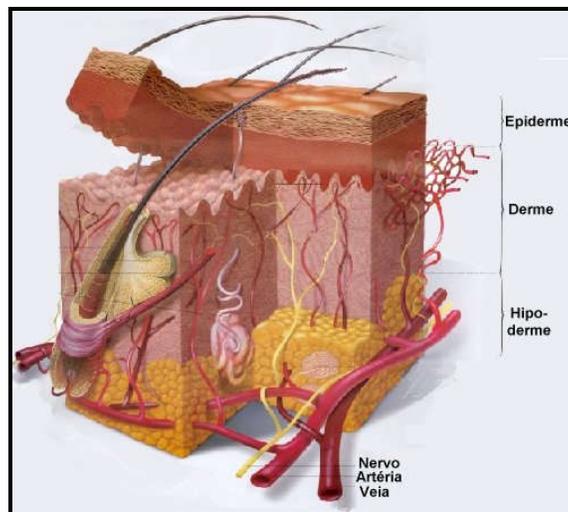
**UFC** - Unidade Formadora de Colônia

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
2.1 O processo de cicatrização das feridas.....	21
2.2 A terapêutica da cicatrização de feridas .....	25
2.3 A utilização de plantas na cicatrização de feridas.....	27
2.4 Família Bignoniaceae e Gênero <i>Zeyheria</i> .....	30
<b>3. ARTIGO DE RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>53</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>
<b>6. APÊNDICES.....</b>	<b>61</b>
<b>7. ANEXO.....</b>	<b>66</b>

**1 INTRODUÇÃO GERAL**

A pele é o maior sistema do corpo humano correspondendo aproximadamente a 6% do peso corporal. Ela é composta por duas camadas a epiderme, mais superficial, e a derme mais profunda, que une a epiderme ao tecido subcutâneo ou hipoderme (Figura 1). As células mais encontradas na derme são os fibroblastos, responsáveis pela produção de matriz extracelular. Na ocorrência de lesão tecidual, os fibroblastos que circundam a ferida migram para seu leito produzindo matriz rica em colágeno, que atua para isolar e reparar a injúria (GONÇALVES et al., 2010).



**Figura 1:** Representação esquemática da pele.  
Fonte: [http://www.reginaambar.com.br/cursos/artigo\\_anatomia\\_da\\_pele.html](http://www.reginaambar.com.br/cursos/artigo_anatomia_da_pele.html)

Epiderme e derme atuam protegendo o organismo de agressões e agentes externos, exercendo assim importantes funções tais como: auxílio na manutenção da temperatura corporal, proteção contra invasão de microrganismos patogênicos, participação na regulação e equilíbrio da perda de líquidos e síntese da vitamina D, o que a torna um órgão vital, indispensável à homeostase humana e à sobrevivência (SILVA et al., 2011). Como qualquer outro órgão, está sujeita a sofrer agressões oriundas de fatores patológicos intrínsecos e extrínsecos que irão causar o desenvolvimento de alterações na

sua constituição como, por exemplo, as feridas cutâneas, que podem levar à sua incapacidade funcional (MORAIS et al., 2008)

As feridas são um grande problema tanto para os indivíduos portadores, como para o sistema de saúde. O processo de cicatrização por ser complexo e demorado, onera o tratamento e traz grandes repercussões na vida do indivíduo, tornando-se então um problema de saúde pública com repercussões físicas e sociais (MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009). Também há relato de que as feridas, além de promoverem mudanças significativas no estilo de vida de seu portador, em decorrência da dor crônica e desconforto, podem ser geradoras de depressão, perda da autoestima, isolamento social, inabilidade para o trabalho, bem como, hospitalizações (WAIDMAN et al., 2011).

O principal tratamento clínico destinado às feridas ainda é o curativo. Esses curativos visam manter o meio favorável à cicatrização, previnem a desidratação do tecido, o que levaria à morte celular; aceleram a angiogênese; estimulam a epitelização e a formação do tecido de granulação; facilitam a remoção do tecido necrótico e de fibrina; servem como barreira protetora contra microorganismos; promovem a diminuição da dor; evitam a perda excessiva de líquidos e traumas mecânicos durante a troca (FRANCO; GONÇALVES, 2008).

Apesar de a indústria farmacêutica ter conseguido avançar tecnologicamente, ainda é difícil reprimir as infecções bacterianas e/ou fúngicas presentes no leito da ferida, as quais são consideradas como principal fator de retardo no processo de cicatrização (DEALEY, 2006). A infecção prolonga a fase inflamatória, retarda a síntese de colágeno, impede a epitelização e contribui para a destruição do tecido, provocando necrose tissular. Os

antimicrobianos sistêmicos e tópicos, quando utilizados com a finalidade de conter a infecção da ferida, podem provocar o aparecimento de cepas multirresistentes e só podem ser utilizados quando a infecção da ferida já afeta outros sistemas (SILVA; FIGUEIREDO; MEIRELES, 2007).

Nos últimos anos pode-se observar um movimento de busca por produtos naturais, que não sejam modificados quimicamente. Há uma busca por fitoterápicos, chás, suplementos e outros insumos naturais que venham a trazer benefícios para o indivíduo, mesmo que estes benefícios sejam indiretos (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

Neste contexto, a utilização de plantas medicinais tem recebido apoio da Organização Mundial da Saúde, sendo refletida no Brasil, pela a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde – SUS. Esta política atende, sobretudo, a necessidade de se conhecer, pesquisar, apoiar, incorporar e programar experiências já consolidadas em outras partes do mundo. A medicina tradicional chinesa é um grande exemplo desta evolução e até hoje vem aprimorando suas pesquisas com vistas à utilização de tratamentos mais naturais e com segurança para o usuário (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O Brasil possui uma ampla biodiversidade de plantas, considerada das maiores do mundo, muito embora, menos de 10% de suas espécies vegetais tenham sido avaliadas quanto a sua atividade biológica, e menos de 5% das mesmas foram submetidas a estudos fitoquímicos (LUNA et al., 2005). O Nordeste brasileiro detém uma variada flora nativa, rica em espécies com propriedades terapêuticas de uso etnobotânico. Porém, pesquisas

biomonitoradas são necessárias para investigação e validação do potencial fitoterápico e aproveitamento racional dessas espécies (SANTOS et al., 2006).

Diante dessa problemática, tornam-se necessários estudos experimentais com o objetivo de identificar produtos ou substâncias naturais, de origem vegetal, que promovam a cicatrização e debelem a infecção, em apresentações que sigam as características do curativo ideal e que favoreçam os processos bioquímicos e moleculares envolvidos na reparação tecidual.

A espécie escolhida para este estudo, *Zeyheria tuberculosa*, é conhecida popularmente como Ipê felpudo, apresenta altura de 15 a 23 m de comprimento, com tronco de até 60 cm de diâmetro, tendo como principal característica um revestimento de casca de até cinco cm de espessura. Apresenta fácil multiplicação e rapidez no crescimento, sendo utilizada em reflorestamentos. Sua madeira é leve, flexível, de alta durabilidade, sendo importante na fabricação de cabos para ferramentas, instrumentos agrícolas e papel (ORTOLANI, 2007). Foi muito utilizada para tratamento de afecções cutâneas (furúnculos, eczema, feridas e úlceras) por índios brasileiros da região sudeste e, no estado de Minas Gerais, vem sendo usada popularmente para o tratamento de câncer (DUARTE-WEINBERG; GOTTLIEB; OLIVEIRA, 1976).

Um estudo prévio com o extrato bruto em etanol (EtOH), bem como cinco frações oriundas da partição e da filtração do caule da planta, apresentaram atividade antimicrobiana e antifúngica frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. Neste mesmo estudo foram isolados quatro flavonóides, sendo eles: (1) 4'-hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona; (2) 4',5,6,7-tetraidroxiflavona; (3) 3,5,7,8-tetrametoxiflavona e (4)

5,6,7,8-tetrametoxiflavona (BASTOS et al., 2008). A partir destes resultados promissores continuou-se o estudo acrescentando a atividade cicatrizante *in vivo* do extrato etanólico bruto.

O presente trabalho visa avaliar a atividade antimicrobiana, citotóxica e cicatrizante do extrato etanólico bruto do caule da espécie vegetal *Zeyheria tuberculosa*, em feridas excisas em ratos *Wistar*, observando os efeitos do extrato por via tópica e/ou por ingestão oral.

Para tanto esta dissertação consta de um capítulo de revisão da literatura, abordando os pressupostos teóricos necessários a discussão da temática. Na sequência é apresentado o artigo de resultados, além das considerações finais com sugestões para futuros trabalhos.

**2 REVISÃO DA LITERATURA**

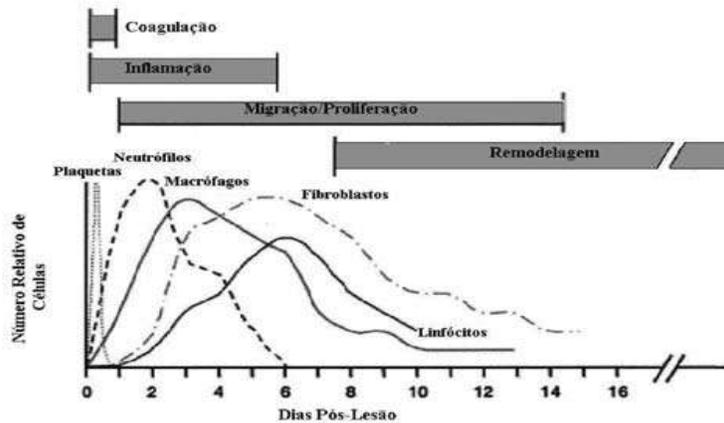
## 2.1 O processo de cicatrização das feridas

As feridas podem ser definidas como interrupções da integridade cutâneo-mucosa, decorrentes de desequilíbrios e agravos da saúde, a exemplo da deficiência circulatória, do trauma, das cirurgias, dentre outros. Elas podem impedir ou dificultar aspectos básicos da vida, como a locomoção, a convivência, as relações interpessoais, entre outros (SOUZA; MATOS, 2010).

De modo geral, uma ferida cicatriza-se por primeira, segunda ou terceira intenção. Nas feridas que cicatrizam por primeira intenção, a recuperação é mais rápida, pois as bordas do tecido são aproximadas por sutura e há pouca perda tecidual. Por segunda intenção, o processo é mais demorado e suscetível a sequelas, devido à perda tecidual extensa, o ferimento é mantido aberto, para que a lesão cicatrize, seguindo os processos naturais de granulação, contração e epitelização, muitas vezes apresentando fechamento lento e insuficiente. Nas feridas que cicatrizam por terceira intenção, a sutura é realizada tardiamente ou refeita após o rompimento por complicações graves ou infecções (DEALEY, 2006; SILVA, FIGUEREDO, MEIRELES, 2007; LIMA, 2010).

Quando um ferimento acontece, o organismo desencadeia uma cascata de eventos celulares e bioquímicos. Este processo de cicatrização é complexo e envolve as fases: inflamatória, proliferativa e de remodelagem (Figura 2).

Essas fases se sobrepõem de forma contínua e temporal sendo, portanto, impraticável a separação da sequência de eventos em períodos sistematicamente definidos (MENDONÇA; COUTINHO-NETO, 2009).



**Figura 2:** Representação esquemática da especificidade celular imunológica correlacionada temporalmente com as fases da cicatrização.

FORTE: MENDONÇA; COUTINHO-NETO, 2009

### 2.1.1 Fase inflamatória

A primeira etapa prepara a ferida para a cicatrização, removendo restos celulares e tecidos desvitalizados. Alguns autores denominam esta fase de defensiva, inicial ou exsudativa (SILVA; FIGUEIREDO; MEIRELES, 2007).

Imediatamente após a lesão, inicia-se o processo inflamatório, reação natural do organismo a qualquer tipo de agressão. Iniciando-se com uma vasoconstricção para que o sangramento cesse e simultaneamente há o desencadeamento da cascata de coagulação, resultando na conversão de fibrinogênio em fibrina, por meio da ação da trombina. Após essa etapa ocorre uma vasodilatação local, aumentando a quantidade de líquido plasmático o que favorece aos sinais clássicos da inflamação aguda, sendo: dor, calor, rubor e edema. Esses sinais podem ser mínimos, transitórios ou duradouros (MOURA et al., 2011).

Ainda na fase inflamatória, ocorrerá, primeiramente, a migração de neutrófilos dos vasos sanguíneos para a ferida e, posteriormente, monócitos se infiltrarão em resposta a estímulos semelhantes aos de neutrófilos, e se diferenciarão em macrófagos. Esses macrófagos ativados são as principais células efetoras do processo de reparo tecidual, degradando e removendo componentes do tecido conjuntivo danificado, como colágeno, elastina e proteoglicanas. Os macrófagos também são importantes por produzirem uma diversidade de fatores de crescimento que se destacam como as principais citocinas necessárias para estimular a angiogênese e, conseqüentemente, a formação do tecido de granulação (MENDONÇA; COUTINHO-NETO, 2009; ISAAC et al., 2010).

### **2.1.2 Fase proliferativa**

Essa fase é caracterizada pela presença de tecido de granulação, formação de novos vasos, se estendendo até a epitelização total e contração da ferida. A proliferação é a fase responsável pelo fechamento da lesão propriamente dita. Também pode ser chamada de fase fibroblástica ou reconstrutiva. O tecido de granulação ocupa o tecido lesionado, cerca de quatro dias após a lesão. Os fibroblastos produzem a nova matriz extracelular necessária ao crescimento celular, enquanto os novos vasos sanguíneos carregam oxigênio e nutrientes necessários ao metabolismo celular local (SILVA; MEIRELES; FIGUEREDO, 2007).

Esses fibroblastos estão envolvidos diretamente na produção de colágeno, proteína responsável por proporcionar resistência e rigidez ao tecido neoformado. À medida que a proliferação epitelial persiste e a ferida está

totalmente preenchida pelo tecido de granulação, ocorre a formação de uma fina cobertura sobre a pele; a esse processo dá-se o nome de reepitelização (ISAAC et al., 2010).

A ação de fibroblastos especializados (miofibroblastos) produz a contração da ferida, diminuindo gradativamente o tamanho da lesão, o que caracteriza o final da fase proliferativa (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

### **2.1.3 Fase de remodelagem**

Também chamada por alguns autores de fase de rematuração. Este processo ocorre lentamente levando muitos meses ou às vezes anos e, mesmo assim, uma cicatriz cutânea completamente madura possui apenas 70% a 80 % da resistência da pele normal (MENDONÇA; COUTINHO-NETO, 2009).

Consiste na reorganização das fibras de colágeno e na substituição das fibras tipo III pelas fibras tipo I. A resistência de uma cicatriz é dada pela quantidade de colágeno depositada e pela forma com que as fibras estão organizadas. Ao final desta etapa, os anexos da pele, como folículos pilosos e glândulas, sofrem regeneração limitada e a coloração da cicatriz permanece pálida, pois a regeneração dos melanócitos é deficiente (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

Alguns fatores podem influenciar, comprometendo a evolução destas fases, tais como: estado nutricional; doenças pré-existentes (diabetes, hipertensão); idade (idosos tem maior dificuldade na regeneração dos tecidos), infecção (seja ela localizada ao leito da lesão ou sistêmica) e a escolha inadequada da substância para curativo (DEALEY, 2006).

A escolha da substância para cada tipo de lesão é dinâmica, assim como o processo de cicatrização já descrito; para o sucesso de todas essas etapas, a escolha da substância correta para atuar em cada uma delas é fundamental. É preciso fazer o acompanhamento do processo de cicatrização para decidir qual o melhor método. Atualmente, são usados vários métodos para o tratamento de feridas crônicas, tais como desbridamento, irrigação, antibióticos, enxertos de tecido e enzimas proteolíticas. Cada um desses métodos apresentam suas vantagens e desvantagens, que vão desde grandes desconfortos, como dor e sangramentos, até os efeitos colaterais indesejados (NAYAK; SANDIFORD; MAXWELL, 2007).

## **2.2 A terapêutica da cicatrização de feridas**

O objetivo do tratamento de feridas é promover a cicatrização em um menor tempo possível com o mínimo de dor, desconforto e cicatrizes para o paciente. Deve ocorrer em um ambiente fisiológico, propício para o reparo e a regeneração tecidual (THAKUR et al., 2011).

Mesmo com o avanço tecnológico da indústria, ainda não se conseguiu produtos ideais que consigam favorecer por completo o processo de cicatrização. Algumas substâncias mostraram-se ineficientes ou mesmo atuantes no retardamento da cura (AMORIM et al., 2006). Isso acontece porque a terapêutica de reparação cutânea deve ser individualizada, considerando os fatores locais, como infecções e necrose, e os fatores sistêmicos, como a hipertensão, a diabetes e a desnutrição, que influenciam diretamente no sucesso do tratamento.

Por isso, a cada dia vê-se a necessidade da composição de equipes multiprofissionais, compostas por enfermeiros, nutricionistas, farmacêuticos, médicos, psicólogos e fisioterapeutas, com a finalidade de ver o indivíduo de forma holística, buscando controlar os fatores que causam ou perpetuam as lesões (PAGGIARO et al., 2010).

Atualmente, há no mercado mundial, diversas opções de materiais que podem ser utilizados nas diferentes etapas de tratamento das feridas como terapêutica tópica, durante a realização do curativo, que atuam na limpeza, desbridamento, diminuição da população bacteriana, controle do exsudado e até como estímulo à granulação.

Um estudo cita que existe em torno de 2.500 itens que se destinam ao tratamento de feridas agudas e crônicas, desde a mais simples cobertura, soluções para higienização e antissepsia até os mais complexos tipos de curativos, chamados "curativos inteligentes" ou "bioativos", que interferem de forma ativa nas diversas fases do processo cicatricial, dos vários tipos de feridas (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Apesar de alguns desses produtos apresentarem um excelente resultado, um complicador do tratamento é o custo desses curativos industrializados. As feridas crônicas, àquelas cujo período de recuperação é superior a três semanas, custam ao sistema de saúde dos EUA algo em torno de 25 bilhões de dólares por ano (FAN et al., 2011). No Brasil, um estudo realizado com portadores de úlceras de pressão estimou o custo entre R\$ 98,90 e R\$ 180,00 reais por dia. Esses valores são apenas dos curativos utilizados no tratamento ambulatorial. Quando este paciente necessita de internação, o custo para o sistema de saúde é ainda maior; a média do valor

diário de hospitalização, para os portadores de lesões cutâneas é 45% mais elevado se comparado com outras hospitalizações (LIMA; GUERRA, 2011).

A utilização de plantas ou produtos desenvolvidos a partir delas, pode, além de diminuir os gastos com o tratamento, proporcionar ao portador de lesões cutâneas melhoria na qualidade de vida, permitindo à população menos favorecida, o acesso a produtos com eficácia terapêutica e baixo custo, ampliando assim a capacidade de atendimento nas Unidades de Saúde da Família.

O crescente interesse por alternativas terapêuticas, na cicatrização de feridas, estimula a busca de produtos na flora, que possam ser utilizados com este fim. Dessa forma, pesquisas desta natureza necessitam ser estimuladas e apoiadas pelos órgãos de fomento, visando o incremento do arsenal terapêutico, na perspectiva da introdução da fitoterapia no tratamento das feridas, principalmente, as crônicas. O Brasil está entre os países que apresentam a chamada megadiversidade, possuindo, aproximadamente, 120.000 espécies vegetais. No entanto, somente 10% destas espécies foram estudadas do ponto de vista fitoquímico e biológico (PAGANO; SCOTTI, 2011).

### **2.3 A utilização de plantas na cicatrização de feridas**

A cultura brasileira popularizou o uso de plantas, no interior do país, quase todos os habitantes têm uma horta com plantas consagradas pela cultura popular, denominadas como medicinais, ou seja, os chamados chás de ervas, chás curativos. A camomila para cólica de bebê, hortelã, capim limão ou

capim cidreira como calmantes, barbatimão, como cicatrizante, entre outras (VULCANO; SILVEIRA; ALVAREZ-LEITE, 2008).

Desde o final da década de 70, a Organização Mundial da Saúde (OMS) vem incentivando o estudo das plantas medicinais, com o objetivo de avaliar cientificamente os benefícios da utilização de fitoterápicos e o conhecimento dos riscos de seu uso indevido (LOGUERCIO; BATTISTIN; VARGAS, 2005). O desenvolvimento de produtos menos elaborados quimicamente parece apresentar uma grande economia, em relação aos tratamentos convencionais com medicamentos laboratoriais, portanto, as terapêuticas alternativas devem ser pesquisadas e divulgadas (DEALEY, 2006).

No Brasil, o Ministério da Saúde tem incentivado financeiramente projetos de pesquisa para o desenvolvimento de fitoterápicos a partir de espécies que sirvam de suporte terapêutico ao tratamento de doenças e comorbidades de saúde. A criação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares do SUS/PNPIC/2006 propõe a inclusão das plantas medicinais, da fitoterapia, da homeopatia, da medicina tradicional chinesa/acupuntura e do termalismo social/crenoterapia como opções terapêuticas no SUS. Ademais, traz dentre suas diretrizes a elaboração da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) e a preocupação com o provimento e acesso de plantas medicinais e fitoterápicos aos usuários do SUS (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Quanto ao potencial antimicrobiano e cicatrizante das plantas, pesquisas realizadas em vários países têm demonstrado evidências, a partir de vários extratos, óleos essenciais e substâncias extraídas da flora mundial

(YATSUDA et al., 2005; FERREIRA et al., 2006; MARTINS et al., 2006). O uso de plantas para o tratamento de feridas parece promissor, no entanto as evidências científicas quanto ao uso de substâncias alternativas no tratamento de feridas, observou-se um pequeno número de estudos de caso, que correlacionavam a cicatrização de feridas com o uso de fitoterápicos (PIEPER; CALIRI, 2003).

Dos medicamentos listados na farmacopéia ocidental, entre 1 e 3% são destinados para uso na pele e em feridas, sendo que apenas um terço desses remédios são elaborados a partir de ervas (HAYOUNI et al., 2011).

Algumas espécies vegetais já são popularmente utilizadas no tratamento de lesões cutâneas. O Aloe vera (Liliaceae), conhecido como Babosa, também tem sido relatado como antimicrobiano e cicatrizante de feridas, principalmente em diabéticos e queimados (MAJEWSKA; GENDASZEWSKA-DARMACH, 2011). O uso tópico da solução de Papaína em diversas concentrações (2 a 10%), também tem apresentado bons resultados, em feridas cutâneas abertas que precisam de uma substância desbridante (FERREIRA et al., 2008). *Stryphnodendron polyphyllon* Mart. e *S. obovatum* Benth (Leguminosaceae), conhecidas popularmente como Barbatimão faz parte de um fitoterápico (Elixir Sanativo®) utilizado para diversas enfermidades, incluindo feridas contaminadas (LOPES et al., 2005).

Estudo relata a preparação de mucilagem de diferentes espécies de plantas, entre elas, a *Bletia purpurea* (Orchidaceae) e a *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae), conhecidas popularmente como orquídea e folha da fortuna, que apresentam atividade antimicrobiana no tratamento de feridas. Outro estudo isolou triterpenóides, das folhas de *Rhizophora mangle*

(Rizophoraceae), conhecida como mangue vermelho, que foram ativos como cicatrizantes. Pesquisadores confirmaram ainda a atividade antimicrobiana, frente a *S. aureus*, de três extratos vegetais hidroalcoólicos, sendo eles das folhas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*), erva-baleeira (*Cordia verbenacea*) e alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) (SILVA et al., 2010; PINHO, 2012).

A planta explorada nesta pesquisa faz parte da família Bignoniaceae, cujos os gêneros mais comuns são *Tabebuia*, que inclui os Ipês e o Pau-d'arco; *Pyrostegia*, Flor-de-São-João; a medicinal Unha-de-Gato do gênero *Bignonia* e as várias espécies do gênero *Zeyheria* (ORTOLANI, 2007).

#### **2.4. Família Bignoniaceae e Gênero *Zeyheria***

A família Bignoniaceae possui cerca de 120 gêneros e 800 espécies com distribuição em todo o mundo, com predominância nas regiões tropicais e sub-tropicais do mundo. Na América do Sul, os gêneros mais representativos são *Tabebuia* e *Zeyheria*, as quais possuem espécies que apresentam grande valor econômico na construção civil, fabricação de móveis e na indústria madeireira (RAHMATULLAH et al., 2010).

As plantas da família Bignoniaceae são importantes por relatos de constituintes bioativos e diversas atividades farmacológicas, inclusive na medicina tradicional para o tratamento de doenças como câncer, picada de cobra, doenças de pele, distúrbios gastrointestinais, distúrbios do trato respiratório, afecções ginecológicas, distúrbios hepáticos, epilepsia, cólera, dor, problemas urinários, malária, problemas cardíacos e doenças sexualmente transmissíveis (RAHMATULLAH et al., 2010).

As espécies pertencentes à família Bignoniaceae são angiospermas, que apresentam sementes com dois cotilêdones, caracterizadas por apresentar

corpo vegetativo dividido em raiz, caule e folha; possuem ainda, ciclo de longo crescimento secundário e caule lenhoso (CORRÊA, 1984).

Dentre as espécies deste gênero que possuem atividades antiinflamatória, anticoncepcional, antireumática, anestésica e antisifilítica, utilizadas pelas culturas indígenas da América do Sul, podemos citar as espécies *Jacaranda micranta* Cham., *Tabebuia caraiba* Bur., *Tecoma sambucifolia* Kunth e *T. stans* L. (MUÑOZ-MINGARRO et al., 2003).

Algumas pesquisas indicam que gêneros desta família possuem um alto índice de atividade antimicrobiana, dentre os quais pode-se citar: *Dolichandrone*, *Kigelia*, *Arrabidaea*, *Newbouldia*, *Oroxylum*, *Stereospermum*, *Mayodendron* e *Zeyheria* (HOUGHTON et al., 2002; LIMA et al., 2003; EYONG et al., 2006; HASHEM; EL-SAWI; SLEEM, 2007; BASTOS, et al., 2009).

#### **2.4.1 A espécie vegetal *Zeyheria tuberculosa***

É caracterizada por apresentar árvores de médio a grande porte, entre dez a trinta metros de altura, copa arredondada com diâmetro próximo dos cinco metros, conhecida popularmente como Ipê-felpudo ou Ipê-tabaco (CORRÊA, 1984; LORENZI, 2002).

A espécie *Z. tuberculosa* (Figura 3) possui tronco reto, cilíndrico e casca grossa cinza-clara a pardo-amarelada. A folha inteira, assim como o resto da planta, é recoberta por uma camada espessa, semelhante a um veludo, por esse motivo a origem do nome popular. Seus ramos geralmente são grossos, ásperos, e felpudos quando novos. As folhas são opostas cruzadas, pentadigitadas e grandes. A inflorescência surge após a brotação das folhas, em forma de cachos entre os meses de novembro a fevereiro. Seus frutos se apresentam capsulados na forma oval, externamente revestidos de densas

expansões, semelhantes a um pêlo grosso lenhoso, com inúmeras saliências, tipo tubérculos, sendo esta a razão do nome da espécie. As sementes são achatadas, branco-amareladas, felpudas, que germinam facilmente quando colocadas sob uma fina camada de solo ou palha úmida. Esta espécie, de grande potencial econômico, está ameaçada de extinção em decorrência da atuação humana em atividades agropecuárias, madeireiras e de carvoaria (LUZ; FERREIRA, 1985; GONZALES; VALERI, 2011). Possui mais de um tipo de habitat, no território brasileiro, podendo ser encontrada nos Cerrados, na Mata Atlântica e região Amazônica (PAULETTI et al., 2003).

3A



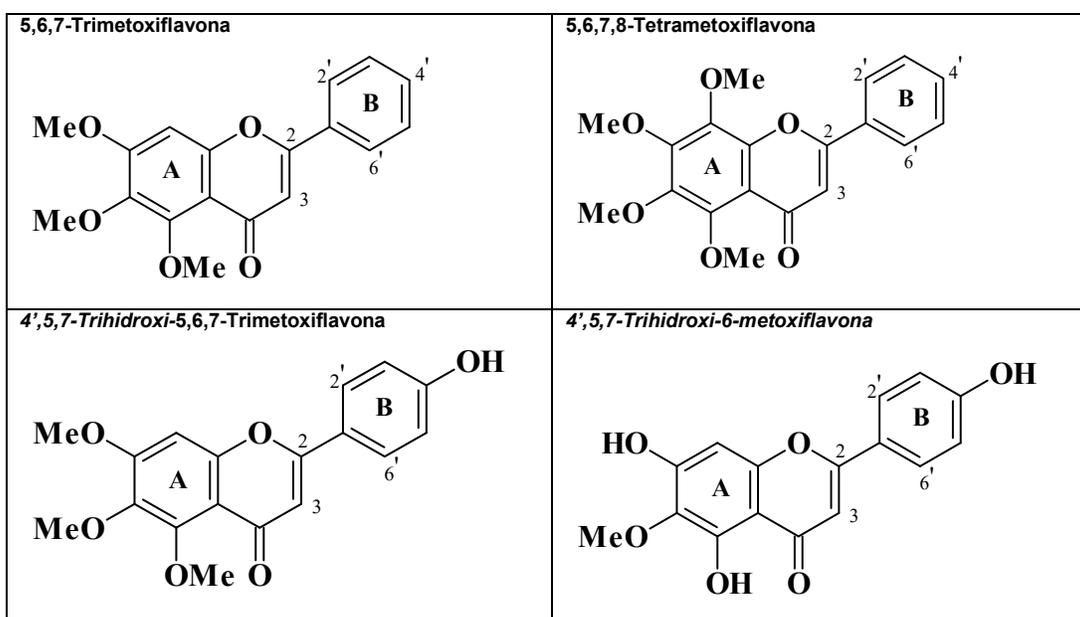
3B



**Figura 3** - 3A - *Zeyheria tuberculosa* (Vell). Bur. – popularmente conhecida Ipê felpudo; 3B - *Zeyheria tuberculosa* detalhe para folhas e flores. Fonte <http://www.arkive.org/zeyheria/zeyheria-tuberculosa/image-G101668.html>. Acesso em 09/06/12.

No gênero *Zeyheria*, a espécie *Z. tuberculosa* possui alguns relatos populares indicando o uso desta planta para o tratamento das afecções cutâneas (uso externo - banho) por índios brasileiros da região sudeste, e para o tratamento de câncer. O extrato aquoso é administrado por via oral em adultos, no estado de Minas Gerais, Brasil (DUARTE-WEINBERG; GOTTLIEB; OLIVEIRA, 1976) e o decocto, preparado a partir das raízes de *Z. montana* Mart., é utilizado sob a forma de banhos contra as doenças de pele (JÁCOME et al., 1999).

Para a espécie em estudo, *Zeyheria tuberculosa*, Bastos et al. (2008), comprovou sua atividade antimicrobiana frente ao *Staphylococcus aureus* e a *Candida albicans*, além do isolamento de quatro flavonóides (figura 4), dos quais três foram descritos pela primeira vez neste gênero.



**Figura 4** – Flavonóides isolados na espécie *Zeyheria tuberculosa*. Fonte: Bastos, 2008.

Portanto, prosseguir o estudo com a espécie *Zeyheria tuberculosa* é importante para avaliação do seu potencial cicatrizante, tendo em vista os

relatos descritos na literatura. A seguir serão apresentados os resultados da pesquisa em formato de artigo, o qual será submetido a Revista Latino-Americana de Enfermagem.

### **3 ARTIGO DE RESULTADOS**

SARMENTO, PA; BASTOS, MLA; ATAÍDE, TR. **Avaliação do extrato da *Zeyheria tuberculosa* na perspectiva de um produto para cicatrização de feridas.**

## **Resumo**

Esta pesquisa avaliou a atividade antimicrobiana e cicatrizante do extrato etanólico do caule da *Zeyheria tuberculosa* por via tópica e/ou ingestão oral. Para tanto, se utilizou ensaios antimicrobianos *in vitro* pelo método da difusão em disco e experimentos *in vivo* tendo como modelo ratos de linhagem *Wistar*. Os ensaios antimicrobianos por difusão em disco mostraram atividade frente às cepas de *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*, para este último obteve-se uma concentração inibitória mínima de 62,5 µg/mL. Nos ensaios *in vivo* utilizou-se 24 animais com n = 4, identificados a partir da terapêutica. Foram coletados dados clínicos, histológicos e bioquímicos para avaliação do processo de cicatrização. O extrato atuou de forma significativa por via tópica, diminuindo a resposta inflamatória inicial. Portanto, mostra-se promissor para o desenvolvimento de um produto que possa ser utilizado de forma alternativa no reparo de feridas cutâneas infectadas.

Descritores: Cicatrização de feridas; Bioensaios; Extratos vegetais; Testes de sensibilidade microbiana.

## **Abstract**

This study evaluated the antimicrobial activity and wound healing effects of the ethanol extract of the stem of *Zeyheria tuberculosa* topically and/or oral ingestion. For this purpose, was used *in vitro* antimicrobial assays by disc diffusion method and *in vivo* experiments using the model of *Wistar* rats. Antimicrobial assays by disc diffusion showed activity against the strains of *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*, the latter being the minimum inhibitory concentration was 62.5 µg/mL. In vivo assays we used 24 animals with n = 4, identified from the treatment. We collected clinical, histological and biochemical assessment of the healing process. Extract served significantly topically, by decreasing the initial

inflammatory response. Therefore shows promise for the development of a product that can be used alternatively for the repair of infected wounds.

**Descriptors:** Wound healing; Bioassays; Vegetal extracts; Microbial sensitivity tests.

### **Resumen**

Este estudio evaluó la actividad antimicrobiana, efectos de cicatrización de la herida del extracto etanólico de tallo de *Zeyheria tuberculosa* por vía tópica y/o ingestión oral. Para este fin, se utilizó en ensayos *in vitro* antimicrobianos por el método de difusión en disco y experimentos *in vivo* usando el modelo de ratos *Wistar*. Los ensayos antimicrobianos por difusión en disco mostró actividad contra las cepas de *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, siendo esta última la concentración inhibitoria mínima fue 62,5 µg/mL. En ensayos *in vivo* se utilizaron 24 animales con n = 4, identificados a partir de la terapia. Hemos recogido la evaluación clínica, histológica y bioquímica del proceso de curación. Extracto sirve significativamente por vía tópica, al disminuir la respuesta inflamatoria inicial. Por lo tanto se muestra prometedor para el desarrollo de un producto que puede ser utilizado alternativamente para la reparación de las heridas infectadas.

Descriptores: Cicatrización de heridas; Bioensayos; Extractos de plantas; Pruebas de sensibilidad microbiana.

### **Introdução**

O processo de cicatrização de feridas envolve uma cascata de eventos complexos, envolvendo as fases: inflamatória, proliferativa e de remodelagem. Essas fases se sobrepõem de forma contínua e temporal. O sucesso do tratamento está diretamente relacionado à escolha da substância correta para atuar em cada uma dessas etapas. Porém, quando há infecção no leito da ferida é necessário debelar o processo infeccioso para prosseguir com a terapêutica<sup>(1)</sup>.

Apesar da hegemonia da alopatia e do predomínio de substâncias sintéticas para uso local e sistêmico para tratar feridas, observa-se um crescente interesse por alternativas naturalistas, que promovam a cicatrização das lesões. Se antes o uso terapêutico de plantas medicinais no cuidado, situava-se à margem das instituições de saúde, hoje ultrapassa essas barreiras para legitimar-se nesse meio<sup>(2)</sup>.

Dessa forma, o Ministério da Saúde, gestor responsável por fazer cumprir as diretrizes do Sistema Único de saúde (SUS), lançou em 2006, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS, agregando benefícios de ordem política, técnica, econômica, social e cultural. Esta política atende, sobretudo, a necessidade de se conhecer, apoiar, incorporar e programar experiências que já vêm sendo desenvolvidas na rede pública de muitos municípios e estados, entre as quais se destacam aquelas no âmbito da Medicina Tradicional Chinesa-Acupuntura, da Homeopatia, da Fitoterapia, da Medicina Antroposófica e do Termalismo-Crenoterapia<sup>(3)</sup>.

O Brasil está entre os países que apresentam a chamada megadiversidade, possuindo, aproximadamente, 120.000 espécies vegetais. No entanto, somente 10% destas espécies foram estudadas do ponto de vista fitoquímico e biológico<sup>(4)</sup>. As plantas da família Bignoniaceae, na qual a espécie *Zeyheria tuberculosa* está inserida, são consideradas importantes por apresentarem em seus constituintes princípios bio-ativos e diversas atividades farmacológicas, inclusive na medicina tradicional para o tratamento de doenças como câncer, picada de cobra, doenças de pele, distúrbios gastrointestinais, distúrbios do trato respiratório, afecções ginecológicas, distúrbios hepáticos, epilepsia, cólera, dor, problemas urinários, malária, problemas cardíacos e doenças sexualmente transmissíveis<sup>(3,5)</sup>.

A perspectiva de utilização do extrato de caule da *Z. tuberculosa* partiu de um estudo<sup>(6)</sup> em que foi comprovada a atividade antimicrobiana frente ao *Staphylococcus aureus* e a *Candida albicans*, em bioensaios *in vitro*. Nesta pesquisa, também foram isolados e identificados quatro flavonóides, dos quais três foram descritos pela primeira vez para este gênero. Os flavonóides são compostos encontrados em alguns alimentos, cascas do caule de árvores, caule, raízes, talos e flores que possuem inúmeras atividades farmacológicas como antioxidantes, antimicrobiano, antiinflamatório, analgésico, vasodilatador, cicatrizante e regenerativa de cartilagens e ossos<sup>(5,7)</sup>.

O enfermeiro tem no seu cotidiano clínico a avaliação, tratamento e prevenção de feridas, para isso é necessário um suporte do conhecimento biomédico. Buscando recursos da pesquisa básica experimental é possível oferecer contribuições importantes em diferentes áreas de aplicação, favorecendo intersecção entre a ciência pura e a área assistencial<sup>(6,8)</sup>.

Com o objetivo de ampliar as possibilidades de recursos terapêuticos, para o tratamento de feridas cutâneas, a partir da pesquisa experimental, este estudo se propõe a avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* e cicatrizante *in vivo* do extrato etanólico bruto do caule da espécie vegetal *Z. tuberculosa* por via tópica e/ou por via oral.

## **Método**

Estudo experimental caracterizado pela utilização de testes antimicrobianos *in vitro* e bioensaios *in vivo* realizados no Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Feridas da Escola de Enfermagem e Farmácia da Universidade Federal de Alagoas – LpTF/ESENFAR/UFAL, no período de fevereiro a novembro de 2011. Pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética sob nº 009880/2009-77.

### *Planta e preparação dos extratos*

A espécie vegetal *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. foi coletada e identificada pela botânica Rosangela Pereira de Lyra Lemos do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas (IMA), onde a exsicata foi depositada com número 23.819.

Para o preparo do extrato, o caule foi seco em temperatura ambiente, triturado e colocado em etanol a 90%. Após 15 dias, o solvente foi evaporado em um evaporador rotatório, sob vácuo, à temperatura máxima de 45 °C, até volume constante. Esse processo de rotaevaporação aconteceu por três séries até a obtenção de um resíduo claro, o qual permaneceu exposto em capela de exaustão até volatilização de todo solvente contido e obtenção do extrato bruto concentrado.

### *Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro*

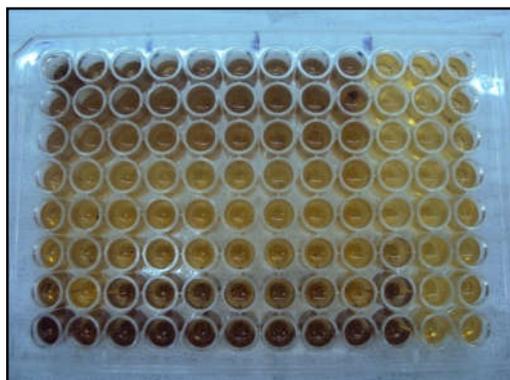
A atividade antimicrobiana do extrato do caule foi testada em triplicata, pelo método de difusão em disco descrito por Kirby-Bauer<sup>(6)</sup>, utilizando-se cepas bacterianas e fúngicas padronizadas e distribuídas pelo American Type Cell Collection (ATCC, Manassas/VA/USA). As cepas bacterianas testadas foram *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis* (ATCC 49565), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488) e *Escherichia coli* (ATCC 14942). Como cepa fúngica, testou-se a *Candida albicans* (ATCC 10231). As amostras foram mantidas em refrigerador, com temperatura entre 4 e 8°C até o momento do uso. Com a amostra que apresentou atividade foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM), a qual é definida a partir de diluições seriadas do extrato ativo.

### *Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)*

A CIM foi obtida através do método de microdiluição em caldo<sup>(9)</sup>. Os extratos foram dissolvidos em Dimetilsulfóxido (DMSO) e diluições seriadas foram preparadas (1000 a 7,8 µg/mL), sendo distribuídas em placas estéreis contendo 96 poços (Figura 1). Em cada orifício teste e de controle de crescimento adicionou-se 20 µL de inóculo microbiano ( $1,5 \times 10^6$  UFC/mL). Como controle positivo, utilizou-se o antimicrobiano adequado para o micro-organismo e o controle negativo DMSO. Os experimentos foram realizados em triplicata e a placa incubada a 35 °C por 24 horas para o microrganismo (*S. aureus*) em estudo. Após este período, adicionou-se em cada poço 20 µL do revelador cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazolio (5%). As placas de microdiluição foram novamente incubadas durante 30 minutos a 35 °C, para verificação da mudança de coloração para vermelho na presença de microrganismos.

Concentrações

1000→  
500→  
250→  
125→  
62,5→  
31,2→  
15,6→  
7,8→



**Figura 1** – Teste de microdiluição em caldo para determinação da CIM. Valores expressos em µg. Fonte: Dados da pesquisa.

#### *Toxicidade frente à Artemia salina Leach (TAS)*

O bioensaio da *Artemia salina* foi realizado de acordo com a literatura ( ) o descrito por Meyer et al. (1982) e Mclaughlin et al. (1995). A *Artemia salina* L. é um microcústáceo que pode ser utilizado laboratorialmente em bioensaios preliminares para determinar a toxicidade de extratos e produtos de origem natural com potencial ativo

biológico. O teste é realizado com larvas de segundo instar (náuplios), sendo considerado tóxico o extrato que induz a mortalidade maior ou igual a 30%.

Uma solução estoque foi preparada com 7,5 mg do extrato solubilizado e 2,5mL de água do mar filtrada contendo 1% de Dimetilsulfóxido (DMSO) e colocada em microplacas de poliestireno contendo 96 orifícios. Em cada orifício acrescentou-se 100µL de água do mar contendo entre 10 larvas de *Artemia salina* e 50µL do extrato a ser avaliado. O teste foi feito em triplicata, nas concentrações de 1000µg/mL, 100 µg/mL e 10 µg/mL. As placas permaneceram sob luz artificial por 24 horas e lidas ao microscópio estereoscópico para verificação da mortalidade. O controle negativo foi apenas água do mar com DMSO a 1% e para controle positivo solução de Timol a 0,01%.

Nos ensaios quantitativos os valores de concentração letal (CL50) serão avaliados conforme preconizado por Déciga-Campos et al. (2007). Estes autores consideram que amostras vegetais com:

- a)  $CL_{50} \geq 1000 \mu\text{g/mL}$  → atóxicas;
- b)  $CL_{50} < 1000$  e  $\geq 500 \mu\text{g/mL}$  → baixa toxicidade;
- c)  $CL_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$  → tóxico.

#### *Animais e grupos experimentais*

Os ensaios *in vivo* foram realizados com 24 ratos (*Ratus norvegicus albinus* - linhagem *Wistar*), adultos, machos, com idade de dois meses adquiridos no Biotério Central da UFAL e transferidos para o LpTF, respeitando-se os Princípios Éticos em Experimentação Animal. Os animais ficaram em observação por 15 dias antes do ensaio, para verificação das condições clínicas e a identificação de variáveis que pudessem influenciar no experimento<sup>(7)</sup>.

Os ratos foram pesados e separados pelo método probabilístico de escolhas aleatórias em seis grupos (n= 4), identificados a partir da terapêutica: Controle Positivo (CP); Controle negativo (CN); Extrato tópico (ET); Extrato tópico e oral (ETO); Extrato oral (EO) e Branco (B). Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, sendo um animal em cada gaiola, forradas com serragem, em fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro, ruídos mínimos, temperatura ambiente  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ , mantida por ar condicionado. A alimentação foi com ração comercial (Labina), com monitoramento da ingestão e água “*ad libitum*”.

#### *Pomadas para uso tópico*

As pomadas utilizadas neste experimento foram manipuladas por um farmacêutico e todas foram oriundas de uma base não-iônica sem conservantes. Para o CP agregou-se gentamicina 0,1% à referida base, ficando na concentração padrão para uso em humanos. Nos grupos ET e ETO acrescentou-se 5% do extrato à base não-iônica e para o CN e o grupo do EO foi utilizado apenas a base não-iônica.

#### *Extrato para uso oral*

Com o extrato etanólico bruto do caule da *Z. tuberculosa* foi preparada uma tintura, na concentração de 1mg/mL, valor determinado a partir da concentração inibitória mínima e do teste de toxicidade para *Artemia salina*, para ser adicionada à dieta dos animais dos grupos ETO e EO que receberam extrato oral.

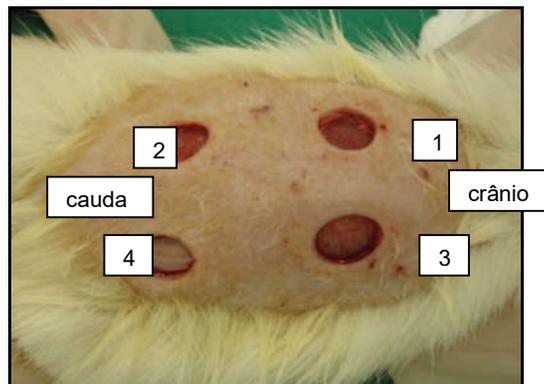
A cada pelete de ração desses grupos foi acrescido 01 ml de tintura e após 24 horas de evaporação do etanol, em estufa a temperatura de  $25^\circ\text{C}$ , foi oferecido aos animais diariamente com monitorização da ingestão.

#### *Ensaio biológico para avaliação da atividade cicatrizante e antimicrobiana in vivo*

Cada animal foi submetido à verificação do peso corpóreo para cálculo da anestesia. O anestésico utilizado foi o thiopental sódico, 40 mg/Kg de peso, via

intraperitoneal. Em seguida, procedeu-se a verificação da temperatura por via retal, epilação do dorso, antissepsia da pele, com clorexidina degermante a 2%, e, com um punch metálico, foram realizadas quatro lesões excisivas para-vertebrais de 12 mm cada, a partir da linha mediana dorsal, até o nível do tecido aponeurótico (Figura 2). Logo após os ferimentos, cada lesão recebeu 0,25 µl de uma suspensão contendo  $1,5 \times 10^6$  UFC/mL de *S. aureus*, para infectar o tecido aponeurótico superficialmente. Em seguida, as lesões foram cobertas com gaze e ataduras estéreis, aguardando-se 24 horas para realização de cultura das quatro lesões e início da terapêutica.

Os animais foram avaliados a cada 24 horas por 14 dias, para a observação clínica das lesões, quanto à presença de: efeitos adversos, irritação perilesional, retração cicatricial e realização dos curativos de acordo com tratamento do grupo. Todos os dados foram registrados em protocolos pré-estabelecidos.



**Figura 2** - Lesões no dorso do animal no D<sub>0</sub>. Fonte: Dados da pesquisa

Nos 3º, 7º, 11º e 14º dias de pós-operatório (DPO), foi verificada a temperatura corporal e realizada a coleta de exsudato para análise microbiológica. Após medição da área da lesão com paquímetro digital, retirou-se fragmento de uma das feridas para avaliação histopatológica. Esses dados foram coletados da lesão um no 3º dia, da lesão dois no 7º dia, da lesão três no 11º dia e da lesão quatro no 14º dia. No último dia do experimento, realizou-se a eutanásia de todos os animais com toracotomia e punção

cardíaca, retirando-se 4 mL de sangue, para análise de glicose, colesterol e triglicerídeos, além do fígado para avaliação microscópica de hepatotoxicidade do extrato.

#### *Análise histológica*

Todo o material retirado para exame microscópico foi numerado, sem a identificação do grupo ao qual pertencia, e colocado em recipientes individuais com solução de formol a 10%. A análise do material tomou como referência as fases inflamatória, proliferativa e de remodelação, as quais integram o processo de cicatrização. Para análise dos resultados, elegeu-se escores (Tabela 1) com base na literatura<sup>(6,10)</sup>. A intensidade das variáveis (1+ a 5+) foi multiplicada por fatores positivos ou negativos baseados na sua importância para a cicatrização. A soma destes produtos correspondeu ao escore total para cada animal, o qual posteriormente foi multiplicado por 4 (*n*).

**Tabela 1** - Escores utilizados para avaliação do exame histopatológico\*

Variáveis	Ausente	Presente	Discreto	Moderado	Intenso	Fator	Total
Crosta	+1	+2	-	-	-	-1	
Inflamação aguda	-	-	+3	+4	+5	-4	
Inflamação crônica	-	-	+3	+4	+5	+2	
Tecido de Granulação	-	-	+3	+4	+5	+5	
Proliferação fibroblástica	-	-	+3	+4	+5	+5	
Neovascularização	-	-	+3	+4	+5	+5	
Reepitelização	-	-	+3	+4	+5	+5	
Fibras de colágeno	+1	+2	-	-	-	+10	

Fonte: Adaptação de Medeiros et al. (1999) e Bastos (2008)

### Testes estatísticos

Os dados foram analisados no programa GraphPad InStat®. As variáveis numéricas foram avaliadas pelo teste da ANOVA com dois fatores de interação entre si, com pós-teste de Tukey para análise do efeito entre os grupos. Para os dados não paramétricos utilizou-se o teste de Mann-Whitney. O nível de significância estabelecido foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

### Resultados

#### *Avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da CIM*

O extrato bruto do caule da *Z. tuberculosa* não demonstrou atividade para o fungo testado, porém foi ativo contra as bactérias *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus* e *S. epidermidis*, com halos de inibição de 18, 14 e 10 mm, respectivamente, dentre as sete cepas avaliadas neste estudo. O *S. aureus* foi o microrganismo escolhido para continuação dos testes, por ser importante na ocorrência de infecção hospitalar e apresentar um halo de inibição de quase 50% do tamanho do controle positivo<sup>(11-12)</sup>. A CIM do extrato da *Z. tuberculosa* pode ser visualizada pela tabela 2.

**Tabela 2** - Detalhamento da Concentração Inibitória Mínima do extrato bruto do caule da *Z. tuberculosa* para *Staphylococcus aureus*.

<i>S. aureus</i>	Concentrações							
	1000	500	250	125	62,5	31,2	15,6	7,8
S	S	S	S	S	-	-	-	

Legenda: CIM expresso em µg. (S) apresentou inibição (-) Não apresentou inibição.

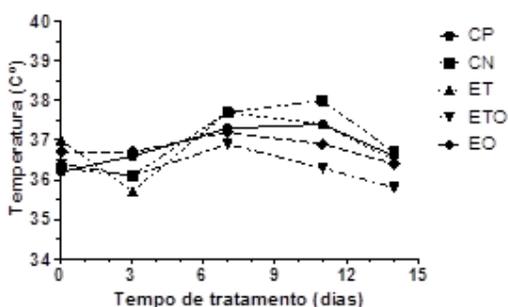
#### *Toxicidade frente à Artemia salina (TAS)*

Após a determinação da CIM procedeu-se o teste de toxicidade com a *Artemia salina*. Segundo os critérios determinados nesta pesquisa o extrato mostrou-se

atóxico nas concentrações entre 100 e 10 mg/mL. Sendo esta uma faixa segura para utilização nos animais deste estudo.

*Avaliação do processo de cicatrização in vivo.*

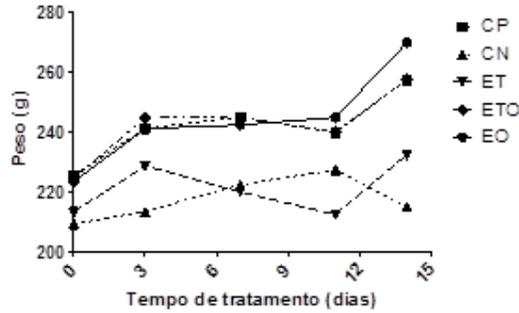
Durante o experimento, os animais foram monitorados quanto à temperatura, peso e observação macroscópica das lesões, incluindo a medição do diâmetro das lesões (Figura 3). Quanto à temperatura (Figura 3), no dia da cirurgia (D<sub>0</sub>) todos os animais estavam com temperatura dentro da normalidade entre 36,2 a 37 °C. Do 3º ao 7º DPO, somente os animais dos grupos ET e CN apresentaram aumento da temperatura. A média de temperatura dos animais variou entre 36,2 e 38 °C, não mostrando diferença significativa entre os grupos (p = 0.1116).



**Figura 3** – Valores médios das temperaturas em graus Celsius dos animais submetidos aos diferentes tratamentos em função do tempo. Fonte: Dados da pesquisa. Legenda: CP – Controle Positivo; CN – Controle negativo; ET – Extrato tópico; ETO – Extrato tópico e oral; EO – Extrato oral

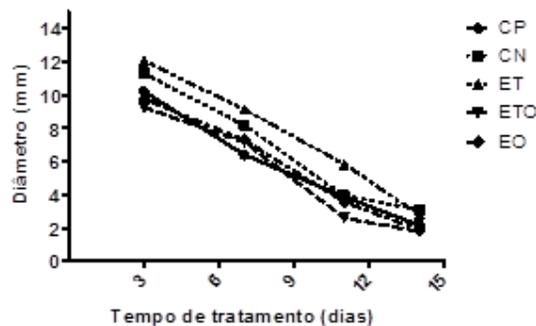
Os animais de todos os grupos apresentaram oscilação de peso durante os 14 dias de experimento (Figura 4). A média de peso máxima foi de 265,1 e a mínima 208,4 gramas. Essa diferença mostrou-se significativa entre o grupo CN e ETO e o grupo CN e EO. No entanto, os grupos ETO, EO e CP apresentaram padrão semelhante.

Observou-se que no pré-operatório, os animais mantinham uma ingestão diária de ração de 24 g/dia em média. Porém, a partir do D<sub>0</sub> houve oscilação, sendo a média dos dias no pós operatórios de 18,5 g/dia/animal.



**Figura 4** – Valores médios do peso em gramas dos animais submetidos aos diferentes tratamentos em função do tempo. Fonte: Dados da pesquisa Legenda: CP – Controle Positivo; CN – Controle negativo; ET – Extrato tópico; ETO – Extrato tópico e oral; EO – Extrato oral

Na avaliação do diâmetro da lesão (Figura 5) foi observada a contração da ferida, a partir do 3º DPO, porém os grupos CN e ET não tiveram essa característica. A partir do 7º DPO observou-se uma diminuição no diâmetro, que se acentuou no 11º e 14º dias. Os grupos ETO e EO tiveram melhor resposta em termos de contração da ferida. A maior média ao longo do experimento foi observada no grupo ET com 7,46 mm e a menor foi no ETO com 5,21 mm. O teste de Tukey mostrou diferença significativa entre CN e ETO, ET e ETO, bem como entre os grupos ET e EO.



**Figura 5** – Valores médios dos diâmetros das lesões no dorso dos animais submetidos aos diferentes tratamentos em função do tempo. Fonte: Dados da pesquisa Legenda: CP – Controle Positivo; CN – Controle negativo; ET – Extrato tópico; ETO – Extrato tópico e oral; EO – Extrato oral

O estudo macroscópico sobre os efeitos da pomada a 5% do extrato da *Z. tuberculosa* permitiu observar diferenças entre os grupos, quanto a cor da lesão. O aspecto da lesão, com relação à cor, reflete clinicamente o desenvolvimento do processo

de cicatrização. A coloração amarelada indica infecção. Estes dados conferem que os grupos tratados tiveram uma quantidade menor de animais com essa característica, mostrando a atividade antimicrobiana do extrato, quer seja por via tópica e/ou por via oral. Sendo corroborados pelos escores obtidos no estudo histológico.

**Tabela 3** – Resultado da cor na avaliação macroscópica das lesões.

Grupos	CP				CN				ET				ETO				EO			
	3°	7°	11°	14°	3°	7°	11°	14°	3°	7°	11°	14°	3°	7°	11°	14°	3°	7°	11°	14°
Animais	V	R	R	R	A	A	R	R	V	R	R	R	A	V	R	R	V	R	R	R
	A	V	R	R	V	A	R	R	A	A	V	V	V	V	R	R	V	A	R	R
	V	A	R	R	A	A	A	R	V	V	R	R	V	A	R	R	V	A	R	R
	V	R	R	R	A	R	R	R	V	A	R	R	V	V	R	R	V	R	R	R

Fonte: Dados da pesquisa. Legenda: CP – Controle Positivo; CN – Controle negativo; ET – Extrato tópico; ETO – Extrato tópico e oral; EO – Extrato oral; V – Vermelho; R - Rosa e A - Amarelo.

A partir do 11° dia foi observada, coloração vermelha ou rosa em 100% dos animais dos grupos CP, ET, ETO, EO e em 75% daqueles do grupo CN, indicando que iniciaram as fases de granulação e reepitelização. Nenhum animal apresentou coloração marrom que é indício de morte celular e necrose.

Os sinais flogísticos de inflamação como rubor perilesional ou hiperemia, edema e presença de exsudato não foram observados macroscopicamente em nenhum dos grupos. Evidenciando que o extrato utilizado na pesquisa não provoca irritação na pele perilesional, nem na lesão cutânea. Esses dados, também, são corroborados pelos escores obtidos no estudo histológico.

Ainda, macroscopicamente, no que se refere à ocorrência de tecido de granulação, foi observado que no 3° DPO os animais do grupo ET apresentaram 100% de granulação, nos dos grupos CP e ETO 75% e os do grupo EO 50% (Tabela 4). Esses achados confirmam que o grupo ET foi o que obteve melhor resposta, que também, foi legitimada pelos escores do estudo histopatológico.

**Tabela 4** – Resultado da presença de granulação na avaliação macroscópica das lesões.

Grupos	CP				CN				ET				ETO				EO			
	3°	7°	11°	14°	3°	7°	11°	14°	3°	7°	11°	14°	3°	7°	11°	14°	3°	7°	11°	14°
Animais	+	+	A	A	A	A	+	A	+	+	A	A	+	A	A	A	+	A	A	A
	+	A	A	A	+	A	A	A	+	A	+	+	+	+	A	A	+	+	A	A
	+	A	A	A	A	A	A	A	+	+	A	A	+	A	A	A	A	A	A	A
	A	A	A	A	A	A	A	A	+	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

Fonte: Dados da pesquisa. Legenda: (+) presente; A - ausente; CP – Controle Positivo; CN – Controle negativo; ET – Extrato tópico; ETO – Extrato tópico e oral; EO – Extrato oral.

### Avaliação histopatológica das lesões

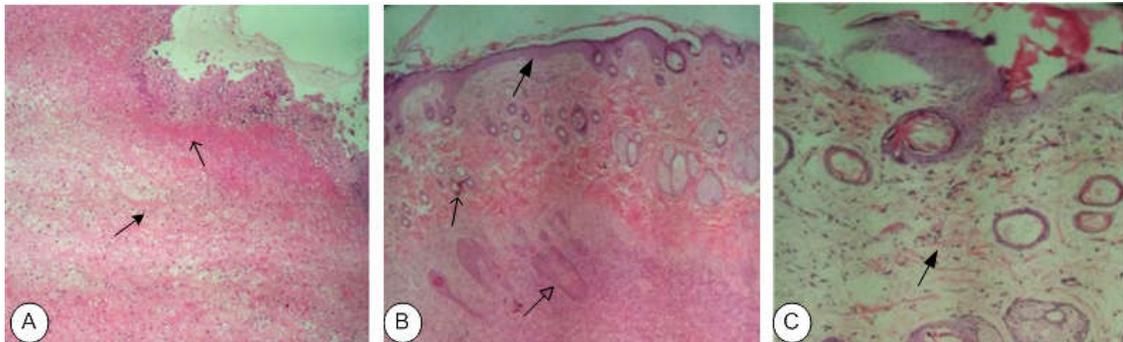
Os dados histológicos foram coletados de acordo com as fases de cicatrização e organizados de acordo com os escores para quantificação. Considerou-se a presença de crosta, inflamação aguda e crônica, tecido de granulação, proliferação fibroblástica, neovascularização, reepitelização e a formação de fibras de colágeno. As maiores médias nos escores foram obtidas pelos grupos que receberam o extrato, quer seja por via tópica e /ou por via oral (tabela 5). Essa diferença mostrou-se estatisticamente significativa entre os grupos CN e ET.

**Tabela 5** - Escores do estudo histopatológico das feridas infectadas pelo *S. aureus*.

Dias de Pós Operatório	Escore				
	CP	CN	ET	ETO	EO
3°	87,0	87,0	634	372	229
7°	493	293	300	272	842
11°	670	420	1231	1150	812
14°	704	634	1400	1004	1324
Média	488,5	358,5*	891,25*	699,5	801,75

\*p<0,05 Fonte: dados da pesquisa. Legenda: CP – Controle Positivo; CN – Controle negativo; ET – Extrato tópico; ETO – Extrato tópico e oral; EO – Extrato oral.

A análise das lesões dos grupos ET, ETO e EO tratados com o extrato da *Z. tuberculosa* evidenciaram achados importantes no processo de cicatrização (Figura 6). No 3° dia (6A) observa-se inflamação aguda com presença de macrófagos; no 7° dia (6B) pode-se identificar o tecido de granulação, com formação de neovascularização e início de epitelização; no 11° dia (6C) vê-se a formação de fibras colágenas.



**Figura 6** – (A) Fotomicrografia de ferida cutânea do extrato tópico, 3º dia pós-cirúrgico (→macrófago, →inflamação aguda); (B) Fotomicrografia de ferida cutânea do extrato tópico e oral, 7º dia pós-cirúrgico (→ epitelização, → neovascularização, → tecido de granulação) e (C) Fotomicrografia de ferida cutânea do extrato oral 11º pós-cirúrgico (→ fibras de colágeno). (Aumento 10x, HE)

A análise histológica do fígado mostrou ausência de hepatotoxicidade em todos os grupos estudados. A avaliação bioquímica evidenciou parâmetros semelhantes de colesterol, triglicerídeo e glicose entre todos os animais do experimento, não sendo possível estabelecer correlação entre esses achados e a utilização do extrato da *Z. tuberculosa*.

## Discussão

A terapêutica de feridas deve ser uma constante preocupação para o enfermeiro, pois ainda é um desafio cuidar de lesões cutâneas com os recursos atuais existentes. Apesar dos avanços tecnológicos, poucos têm acesso, devido ao alto custo e a limitação aos grandes centros urbanos<sup>(13)</sup>. Estudos mostram que a utilização de plantas vem a ser uma necessidade para a ampliação do arsenal terapêutico nesta área e a redução dos recursos dispensados para o tratamento<sup>(14-15)</sup>. No presente estudo o extrato etanólico bruto da *Z. tuberculosa*, mostrou atividade antimicrobiana *in vitro* para *S. aureus*, atóxico pelo teste com a *Artemia salina* e *in vivo* atuou como cicatrizante de feridas excisas infectadas em ratos, sendo estes dados promissores para a continuação de estudos com frações e subfrações do extrato, uma vez que, este patógeno é

responsável pela maioria das infecções do sistema tegumentar, e resistente a grande parte dos antimicrobianos utilizados na clínica<sup>(12)</sup>.

No experimento *in vivo*, a temperatura dos animais sofreu pouca alteração, não chegando a ultrapassar 38 °C. Mesmo com infecção local, comprovada por cultura das lesões, os animais não tiveram repercussões sistêmicas. A elevação observada se deve ao próprio mecanismo de cicatrização, que leva a um aumento da vascularização pela resposta inflamatória local, aumentando assim a temperatura corporal<sup>(16)</sup>.

A aferição do peso é um parâmetro nutricional importante em vários estudos experimentais, estando relacionado a alterações cicatriciais<sup>(17,19)</sup>. Nesta pesquisa, a oscilação de peso foi semelhante ao estudo do efeito do extrato do repolho na cicatrização de feridas em *Wistar*<sup>(14)</sup>. A diferença de peso pode estar diretamente relacionada à diminuição na ingestão diária de ração. Como também pela manipulação diária, com curativos e biopsias realizadas no 3º, 7º, 11º e 14º dias.

A associação da perda de peso ao próprio processo inflamatório foi descrito em estudo afirmando que a inflamação produz citocinas inflamatórias e Fator de Necrose Tumoral (FNT), que agem como mediadores da inflamação e da imunidade<sup>(7)</sup>. Com os níveis séricos de FNT elevados, há uma estimulação na produção de uma proteína chamada leptina, cuja elevação está relacionada com a sensação de saciedade. Níveis aumentados desta proteína induzem o organismo ao gasto energético e a uma diminuição no consumo de alimento, causando falta de apetite e conseqüentemente a perda de peso.

A coloração, como parâmetro de avaliação das condições das feridas, demonstrou que estas apresentaram evolução clínica dentro do previsto para cada etapa da cicatrização, porém, os grupos que receberam o extrato e o CP evoluíram mais rapidamente. Pois, houve o predomínio da coloração rósea, que é característica da

epitelização, sendo esta a fase final do reparo tecidual. Estes dados legitimaram os achados que utilizou o creme de barbatimão em feridas incisionais em coelhos<sup>(18)</sup> e diferiram do estudo com gel e o extrato glicólico da folha da goiabeira (*Psidium guajava* L.) que não conseguiu observar diferença significativa entre os grupos tratados e o que utilizou solução salina<sup>(17)</sup>.

O fechamento total das lesões não ocorreu, em todos os grupos, ao longo dos 14 dias de experimento. Porém, houve uma redução significativa do diâmetro, chegando quase ao fechamento total nos grupos tratados com o extrato da *Z. tuberculosa*, dado confirmado pela presença de reepitelização nos cortes histológicos. Essa redução da área também chamada de contração da ferida é esperada, sendo um processo que ocorre de forma centrípeta, a partir da periferia em direção ao centro da ferida. Nos seres humanos, é responsável pelo fechamento de 20 a 30% das feridas cutâneas e em animais de pele menos aderida aos planos profundos (como os ratos) pode chegar de 80 a 90%<sup>(19)</sup>. Outras espécies vegetais como *Morinda citrifolia*<sup>(20)</sup>, *Stryphnodendron adstringens* e *Tabebuia avellanedae*<sup>(21)</sup>, também apresentaram resultados semelhantes.

A análise histopatológica permite inferir que os grupos tratados com o extrato da *Z. tuberculosa* obtiveram os melhores resultados, quando comparados com os grupos controle positivo e negativo. Isto se deve a menor reação inflamatória dos grupos tratados com o extrato. Pois, certo grau de inflamação é necessário, contudo uma reação inflamatória elevada é prejudicial, pois pode haver comprometimento da microcirculação e ainda inibir a formação de fibroblastos<sup>(22)</sup>. A literatura também apresenta resultados semelhantes com a avaliação dos efeitos do tratamento tópico do creme à base de óleo de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm)<sup>(23)</sup> e com óleos essenciais de algumas espécies de *Juniperus*, planta tradicional na medicina popular da Turquia<sup>(24)</sup>.

Os valores bioquímicos de animais em experimentação podem sofrer alterações, devido as condições ambientais e o estresse induzido pelo próprio procedimento<sup>(25)</sup>. Os resultados de triglicérido, colesterol e glicose dos animais tiveram resultados semelhantes dos apresentados na literatura.

### **Conclusão**

O extrato etanólico bruto da *Z. tuberculosa* possui ação antimicrobiana *in vitro* para *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*. Os grupos tratados com o extrato tiveram uma resposta semelhante ao controle positivo no processo de cicatrização. Histologicamente, os animais tratados por via tópica tiveram uma quantidade maior de células para o fechamento das lesões. Esta pesquisa valida estudos anteriores com a *Z. tuberculosa* e estimula a continuação de estudos, para o fracionamento e a purificação, visando identificar os princípios ativos responsáveis pela atividade farmacológica e seu mecanismo de ação para cicatrização de feridas.

### **Referências**

1. Mendonça RJ, Coutinho-Netto J. Cellular aspects of wound healing. An Bras Dermatol. 2009;84(3):257–62.
2. Alvim NAT, Ferreira MA, Cabral IE A-F. The use of medicinal plants as a therapeutical resource: from the influences of the professional formation to the ethical and legal implications of its applicability as an extension of nursing care practice. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 2006;14(3):316–23.
3. Ministério da Saúde. Portaria nº 97/GM de 3 de maio de 2006. Divulga a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS/PNPIC. Brasília: 2006.

4. Pagano MC SM. Effect of Phosphorus Fertilization on Arbuscular Mycorrhizal Colonization of *Zeyheria tuberculosa* a Native Species in Brazil's Forest. Middle-East J. Sci Res. 2010;6(6):604–11.
5. Rahmatullah M, Rahman MA, Haque MZ, Mollik AH, Miajee EU, Begum R et al. A survey of medicinal plants used by folk medicinal practitioners of station purbo para village of Jamalpur Sadar Upazila in Jamalpur district, Bangladesh. Am. Eurasian J. Sustain. Agric. 2010;4:122–35.
6. Bastos MLA, Lima MRF, Conserva LM, Andrade VS, Rocha EMM LR. Studies on the antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae) extracts and their main constituents. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2009;8:1–16.
7. Vieira APV, Santos NR, Borges JHS, Vicenzi MPA S. Flavonoid action in second intention healing in surgically-induced clean wounds in Wistar rats. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde. 2008;29(1):65–74.
8. Carnio EC. Basic sciences and nursing. Rev. Latino-Am. Enfermagem [online]. 2011;19(5):1061–2.
9. Ayres MCC, Brandão MS, Vieira-Junior GM, Menor JCAS, Silva HB, Soares MJS CM. Antibacterial activity of useful plants and chemical constituents of the roots of *Copernicia prunifera*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2008;18(1):90–7.
10. Medeiros AC, Ramos AMO, Dantas Filho AM, Azevedo RCF AF. Topic treatment of rat burns with hyaluronic acid. Acta Cirurgica Brasileira. 1999;14(4).
11. Vitorino Filho RNL, Batista MCS, Verçosa BLA, Silva SMMS MA, Bonfim JM et al. Avaliação do uso de pomada à base de sementes de jaqueira (*Artocarpus*

- heterophyllus Lam) na terapêutica tópica de feridas. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. 2007;28(3):279–86.
12. Moura JP, Pimenta FC, Hayashida M, Cruz EDA, Canini SRMS GE. Colonization of Nursing Professionals by Staphylococcus aureus. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 2011;19(2).
  13. Lima ACB, Guerra, DM. Avaliação do custo do tratamento de úlceras por pressão em pacientes hospitalizados usando curativos industrializados. Ciência & Saúde Coletiva. 2011;16(1):267–77.
  14. Sarandy MM. Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (*Brassica oleracea* VAR. capitata) em ratos wistar. Universidade Federal de Viçosa; 2007.
  15. Majewska I, Gendaszewska-Darmach E. Proangiogenic activity of plant extracts in accelerating wound healing — a new face of old phytomedicines. Acta Biochim Pol. 2011;58.
  16. Carvalho Júnior LH, Santos RL, Mendonça CJA, Campos CT AM. Evaluation of skin temperature, reactive c protein, and hemosedimentation speed variation in uncomplicated primary knee total arthroplasty. acta ortop bras. 2006;14(3).
  17. Okamoto MKH. Estudo das atividades cicatrizante e antimicrobiana do extrato glicólico e gel de Psidium guajava L. e estudo da estabiidade do gel. Universidade de São Paulo; 2010.
  18. Lima CRO. Reparação de feridas cutâneas incisionais em coelhos após tratamento com babatimão e quitosana. Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás; 2010.
  19. Ono MCC. Influência de dieta imunomoduladora na cicatrização cutânea em ratos. Universidade federal do Paraná; 2009.

20. Nayak BS, Sandiford S MA. Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. leaf. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2007;6(3):351–6.
21. Coelho JM, Antonioli AB, Silva DN, Carvalho TMMB, Pontes ERJC OA. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Rev. Col. Bras. Cir.* 2010;37(1):45–51.
22. Lucena PLH, Ribas-Filho JM, Mazza M C, NG, Dietz UA, Correa Neto MA et al. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. *Acta Cir Bras.* 2006;21(2):46–51.
23. Batista JS, Silva AE, Rodrigues CMF, Costa KMFM, Oliveira AF, Paiva ES et al. Avaliação da atividade cicatrizante do óleo de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm) em feridas cutâneas produzidas experimentalmente em ratos. *Arq. Inst. Biol.* 2010;77(3):441–7.
24. Tumem I, Sutar I, Keles H AE. A therapeutic approach for wound healing by using essential oils of *Cupressus* and *Juniperus* species growing in turkey. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012;2012:1–7.
25. Dantas JA, Ambiel CR, Cuman RKN, Baroni S B-AC. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Sci. Health Sci.* 2006;28(2):165–70.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados do presente estudo evidenciaram que o extrato etanólico bruto do caule da espécie vegetal *Zeyheria tuberculosa* possui ação *in vitro* para *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*, sendo que para este último, a concentração inibitória mínima foi 62,5 µg/mL. Nos testes *in vivo* para observação da atividade cicatrizante, os animais que receberam o extrato quer seja por via tópica e/ou por via oral obtiveram melhor resposta no processo de cicatrização, comparando-os aos controles positivo e negativo.

A análise histológica, dos tecidos dos animais que receberam o extrato por via tópica, apresentou diminuição da resposta inflamatória inicial. Não houve hepatotoxicidade. Portanto, a utilização do extrato da *Zeyheria tuberculosa* mostra-se promissor para o desenvolvimento de um produto que possa ser utilizado de forma alternativa no reparo de feridas cutâneas. Vale ressaltar a importância de futuros estudos com diferentes dosagens, além do isolamento e testagem de componentes do extrato, responsáveis pela influência positiva no processo de cicatrização.

**5 REFERÊNCIAS**

AMORIM, E.; et al. Efeito do uso tópico do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização de feridas cutâneas: estudo controlado em ratos. *Acta Cir. Bras.*, v.21, n.2, p.67-76, 2006.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. v.41, n.1, 2005.

BASTOS, M. L. A. et al. Flavanóides e atividade antimicrobiana do caule da *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur.(Bignoniaceae). Sociedade Brasileira de Química. UFAL, 2008.

BASTOS, M. L. A. Avaliação da atividade antimicrobiana “*in vitro* e *in vivo*” e estudo químico monitorado de *Piper hayneanum* C.D.C. (Piperaceae) e *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae). Maceió. Tese [Doutorado em Química e Biotecnologia] – Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, 2008.

BRASIL, RENISUS. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Disponível em: [portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf). 2009.

Ministério da Saúde, BRASIL. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

CORRÊA, M. P. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas, *Brasil: Imprensa Nacional*, Ministério da Agricultura, v. IV, IBDF, Rio de Janeiro, RJ. 1984.

DEALEY, C. *Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras*. São Paulo: Atheneu, 255p., 2006.

DUARTE-WEINBERG, L. M.; GOTTLIEB, O. R.; OLIVEIRA, G. G. Chemistry of Brazilian Bignoniaceae. Part 2. Naphthoquinones from *Zeyhera tuberculosa*. *Phytochemistry*, v.15, p.570, 1976.

EYONG, K. O. et al. Newbouldiaquinone A: a naphthoquinone-anthraquinone ether coupled pigment, as a potential antimicrobial and antimalarial agent from *Newbouldia laevis*. *Phytochemistry*, 67, p.605-609, 2006.

FAN, K.; TANG, J.; ESCANDON, J.; KIRSNER, R. T. S. State of the Art in Topical Wound-Healing Products. *Plast. Reconstr. Surg.*, v.127, n.44S, 2011.

FERREIRA, A. A. et al. Atividades biológicas das partes aéreas de *Ipomoea cairica* (Convolvulaceae). *Rev. Bras. Pl. Med.*, v.8, p.14-18, 2006.

FERREIRA, A. M. et al. Atividade antibacteriana in vitro de géis com diferentes concentrações de papaína. *Rev. Eletr. Enf.* v.10, n.4, p. 1035-40, 2008. Disponível em: <http://www.fen.ufg.br/revista/v10/n4/v10n4a15.htm>.

- FRANCO, D.; GONÇALVES, L. F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. *Rev. Col. Bras. Cir.*, v.35, n.3, pp. 203-206, 2008.
- GONÇALVES, R. V.; SOUSA, N. T. A.; SILVA, P. H.; BARBOSA, F. S.; NEVES, C. A. Influência do laser arseneto de gálio-alumínio em feridas cutâneas de ratos. *Fisioter. mov.* v.23, n.3, p.381-88, 2010.
- GONZALES, J. L. S.; VALERI, S. V. Prueba de la conductividad eléctrica en la evaluación fisiológica de la calidad de semillas en *Zeyheria tuberculosa*. *Bosque (Valdivia)*, v. 32, n. 2, p. 197-202, 2011.
- HAYOUNIA, E. A. et al. Hydroalcoholic extract based-ointment from *Punica granatum* L. peels with enhanced in vivo healing potential on dermal wounds. *Phytomedicine*. v 18, n. 11, p. 976–984, 2011.
- HASHEM, F. A.; EL-SAWI, S. A.; SLEEM, A. Phenolic compounds and bioactivity of leaves of *Mayodendron igneum* Kurz. *African J. Trad. Compl. Alter.Medicines*, v.4, n. 3, p.306-312, 2007.
- HOUGHTON, P. J. The sausage tree (*Kigelia pinnata*): Ethnobotany and recent scientific work. *African Journal of Botany*, v.68, p.14-20, 2002.
- ISAAC, C.; LADEIRA, P. R. S.; REGO, F. M. P; ALDUNATE, J. C. B.; FERREIRA, M. C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. *Rev Med (São Paulo)*. v. 89, n. 4, p. 125-31, 2010.
- JÁCOME, R. L. R. P.; OLIVEIRA, A. B.; RASLAN, D.S.; MULLER, A.; WAGNER, H. Análise da naftoquinonas em extratos brutos de raízes de *Zeyheria montana* M. (bolsa-de-pastor). *Quím. Nova*, v. 22, p.175-177, 1999.
- LIMA, C. S. A. et al. Antimicrobial activity of a mixture of two isomeric phenylpropanoid glycosides from *Arrabidaea harleyi* A.H. Gentry (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 39, p.77-81, 2003.
- LIMA, C. R. O. Reparação de feridas cutâneas incisionais em coelhos após tratamento com babatimão e quitosana. Goiania. Dissertação [Mestrado em ciência animal] Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, 2010.
- LIMA, A. C. B.; GUERRA, D. M. Avaliação do custo do tratamento de úlceras por pressão em pacientes hospitalizados usando curativos industrializados. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 16, p. 267-277, 2011.
- LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcóolico de folhas de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). *Ciência Rural*, v. 35, p. 371-376, 2005.
- LOPES, G. C. et al. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wounds in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 99, p. 265-272, 2005.

LORENZI, H. *Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 4. ed. São Paulo: Ed. Plantarum - Nova Odessa, 352p, 2002.

LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. *J Ethnopharmacol*, v. 97, p.199-206, 2005.

LUZ, H.F.; FERREIRA, M. Ipê felpudo (*Zeyhera tuberculosa* (Vell) Bur.): essência nativa pioneira com grande potencial Silvicultural IPFE, v. 31, p.13-2,1985.

MAJEWSKA, I.; GENDASZEWSKA-DARMACH, E. Proangiogenic activity of plant extracts in accelerating wound healing - a new face of old phytomedicines. *Acta Biochim Pol.*, v. 58, n. 4, p.449-60, 2011.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v.78, p.393-408, 2003.

MARTINS, N. L. P. et al. Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu): Estudo controlado em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 21, p.66-75, 2006.

MENDONCA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrizacao. *An Bras Dermatol.*, v. 84, n. 3, p.257-62.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). Portaria nº 97/GM de 3 de maio de 2006. Divulga a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS/PNPIC. Diário Oficial da União, Brasília, 04 maio de 2006. Seção 1, p. 20.

MORAIS, G. F. C.; OLIVEIRA, S. H. S.; SOARES, M. J. G. O. Avaliação de feridas pelos enfermeiros de instituições hospitalares da rede pública. *Texto contexto - enferm.* v.17, n.1, p. 98-105, 2008.

MOURA, S. A. L.; FERREIRA, M. A. N. D.; ANDRADE, S.P.; REIS, M. L. C.; NOVIELLO, M. L.; CARA, D. C. Brazilian Green Propolis Inhibits Inflammatory Angiogenesis in a Murine Sponge Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. v. 2011, id. 182703, p. 1-7, 2011.

MUÑOZ-MINGARRO, D.; ACERO, N.; LINHARES, F.; POZUELO, J.M.; GALÁN, A. M.; VICENTEN, J.A.; MORALES, L.; ALGUACIL, R. F.; PÉREZ, C. Biological activity of extratcts from *Catalpa bignonioids* Walt. (Bignoniaceae). *J. Ethnopharmacol*, v. 2, n. 3, p.163-67,2003.

NAYAK, B. S.; SANDIFORD, S.; MAXWELL, A. Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. leaf, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 6, n. 3, p.351–356, 2007.

ORTOLANI, F.M. Morfo-anatomia, citogenética e palinologia em espécies de ipês (bignoniaceae). Tese de doutorado, UNESP – Jaboticabal, SP. 106p. 2007.

PAGANO, M. C.; SCOTTI, M. R. Effect of Phosphorus Fertilization on Arbuscular Mycorrhizal Colonization of *Zeyheria tuberculosa* a Native Species in Brazil's Forest. *Middle-East J. Sci Res.*, v. 6, p.604-6011, 2011.

PAGGIARO, A. O.; TEIXEIRA NETO, N.; FERREIRA, M. C. Princípios gerais do tratamento de feridas. *Rev Med.*, v. 89, n. 3, p. 132-6, 2010.

PAULETTI, P. M.; BOLZANI, V.S.; YOUNG, M. C. M. Constituintes químicos de *Arrabidaea samydoidea* (BIGNONIACEAE). *Quím. Nova*, v. 26, p.641-43, 2003.

PINHO, L. Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from rosemary, peppertree, barbatimão and erva baleeira leaves and from pequi peel meal. *Cienc. Rural*. v, 42, n. 2, p.326-331, 2012.

PIEPER, B.; CALIRI, M.H.L. Nontraditional wound care: a review of the evidence for the use of sugar, papaya/papain, and fatty acids. *Journal of WOCN.*, v. 30, p.175-183, 2003.

RAHMATULLAH, M. et al. A survey of medicinal plants used by folk medicinal practitioners of station purbo para village of Jamalpur Sadar Upazila in Jamalpur district, Bangladesh. *Am. Eurasian J. Sustain. Agric.*, v. 4, p.122-135, 2010.

SANTOS, A. C. G. et al . Uso de extrato de nim no controle de acaríase por *Myobia musculi* Schranck (Acari: Miobidae) e *Myocoptes musculus* Koch (Acari: Listrophoridae) em camundongos (*Mus musculus* var. *albina* L.). *Neotrop. Entomol.*, v. 35, n. 2, 2006.

SILVA, R. C. L.; FIGUEIREDO, N. M. A.; MEIRELES, I. B. Feridas: fundamentos e atualizações em enfermagem. São Caetano de Sul, São Paulo: Yendis, 2007.

SILVA, V. A. I; FREITAS, A. F. R.; PEREIRA, M. S.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. P.; PEREIRA, A. V.; HIGINO, J. S. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana do extrato da *Lippia sidoides* Cham. sobre isolados biológicos de *Staphylococcus aureus*. *Rev. bras. plantas med.*, v.12, n. 4, 2010.

SILVA, R. M. P. et al. The use of honey in wound care: a contribution to evidence based-practice. *Cadernos de estudos e pesquisas*. v.15, n. 33, p. 41-53, 2011.

SOUZA, M. K. B.; MATOS, I. A.T. Percepção do portador de ferida crônica sobre sua sexualidade. *Rev. Enferm.* v. 18, n. 1, p. 19-24, 2010.

THAKUR, R.; JAIN, N.; PATHAK, R.; SANDHU, S. S. Practices in Wound Healing Studies of Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v 2011, ID 438056, 17 pages doi:10.1155/2011/438056.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, v.42, n. 2, p.289-306, 2006.

VULCANO, I. R. C.; SILVEIRA, J. N.; ALVAREZ-LEITE, E.M. Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, v. 44, n.3, p. 425-431, 2008. doi:10.1590/S1516-93322008000300012.

WIDMAN, M. A. P.; ROCHA, S. C.; CORREA, J. L.; BRISCHILIARI, A.; MARCON, S. S. O cotidiano do indivíduo com ferida crônica e sua saúde Mental. *Texto Contexto Enferm*, v. 20, n. 4, p.691-99, 2011.

YATSUDA, R. et al. Effect of Mikania genus plant on growth and cell adherence of *mutans streptococci*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 97, p.183-189, 2005.



## PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA / CLÍNICA DAS LESÕES

Número do animal: \_\_\_\_\_

GRUPO: \_\_\_\_\_

Critérios		3°	7°	11°	14°
DPO					
1. Diâmetro da lesão					
2. Rubor perilesional	Sim (S)				
	Não (N)				
3. Tecido de granulação	Sim (S)				
	Não (N)				
4. Necrose	Sim (S)				
	Não (N)				
5. Inflamação	Sim (S)				
	Não (N)				
6. Cor da Lesão	Vermelho (V)				
	Rosa (R)				
	Marrom (M)				
	Amarelo (A)				

### CONTROLE TEMPERATURA

	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D1	D1	D1	D1	D1
DATA	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4
TEM															
P															

### OBSERVAÇÕES:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## APÊNDICE II

### PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA / HISTOPATOLÓGICA DAS LESÕES

Código do animal: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

#### 1. PRESENÇA DE Crosta / NECROSE

<input type="checkbox"/> AUSENTE	<input type="checkbox"/> PRESENTE
----------------------------------	-----------------------------------

#### 2. FASE INFLAMATÓRIA

2.1 Proliferação Vascular	<input type="checkbox"/> AUSENTE	<input type="checkbox"/> DISCRETA	<input type="checkbox"/> MODERADA	<input type="checkbox"/> INTENSA
2.2 Células mononucleares (monócitos)	<input type="checkbox"/> AUSENTE	<input type="checkbox"/> DISCRETA	<input type="checkbox"/> MODERADA	<input type="checkbox"/> INTENSA
2.3 Células polimorfonucleares (neutrófilos)	<input type="checkbox"/> AUSENTE	<input type="checkbox"/> DISCRETA	<input type="checkbox"/> MODERADA	<input type="checkbox"/> INTENSA

#### 3. FASE PROLIFERATIVA

3.1 Tecido de Granulação	<input type="checkbox"/> AUSENTE	<input type="checkbox"/> PRESENTE		
3.2 Proliferação Fibroblástica	<input type="checkbox"/> AUSENTE	<input type="checkbox"/> DISCRETA	<input type="checkbox"/> MODERADA	<input type="checkbox"/> INTENSA
3.3 Neovascularização	<input type="checkbox"/> AUSENTE	<input type="checkbox"/> DISCRETA	<input type="checkbox"/> MODERADA	<input type="checkbox"/> INTENSA
3.4 Colagenização	<input type="checkbox"/> AUSENTE	<input type="checkbox"/> DISCRETA	<input type="checkbox"/> MODERADA	<input type="checkbox"/> INTENSA
3.5 Reepitelização	<input type="checkbox"/> AUSENTE	<input type="checkbox"/> PARCIAL		<input type="checkbox"/> TOTAL

#### 4. FASE DE REMODELAMENTO

4.1 Fibras de colágeno	<input type="checkbox"/> AUSENTE	<input type="checkbox"/> PRESENTE
------------------------	----------------------------------	-----------------------------------

## **APENDICE III**

### **CRITÉRIOS PARA AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA**

#### **FASE INFLAMATÓRIA**

**PROLIFERAÇÃO VASCULAR**– foi considerada ausente, quando não se evidenciava vasos no corte histológico; discreta, quando eram visibilizados poucos vasos esparsamente situados, de forma isolada no contexto; moderada, quando apareciam com maior freqüência e dispersos no campo óptico e acentuada, quando evidenciados com grande freqüência, dispostos em todo o contexto.

**CÉLULAS MONONUCLEARES**– foram classificadas em ausente, quando estas células não eram visualizadas no campo óptico; discreta, quando evidenciadas de forma isolada, possibilitando distinguir áreas livres de infiltrado; moderada quando apareciam com maior freqüência, constituindo agregados densos, mas possibilitando visualizar áreas livres de infiltrado; e acentuada, quando as células foram evidenciadas com grande freqüência, constituindo agregados densos e justapostos, sem áreas livres de infiltrados.

**CÉLULAS POLIMORFONUCLEARES**– foram classificadas em ausentes, quando ainda não eram visibilizadas no campo óptico; discretas, quando eram visibilizadas esparsamente, de forma isolada, com muitas áreas livres de infiltrados; moderada, quando já eram visibilizadas formando agregados, porém com áreas adjacentes livres de infiltrados; acentuada, quando estas células apareciam com grande freqüência, formando agregados densos, sem áreas livres de infiltrados.

#### **FASE PROLIFERATIVA**

**PROLIFERAÇÃO FIBROBLÁSTICA** – foi classificada em ausente, quando não se evidenciava proliferação de fibroblastos; discreta, quando havia esparsos fibroblastos proliferados em meio a tecido conjuntivo frouxo; moderada, quando havia moderada quantidade de fibroblastos proliferados, constituindo pequenos feixes celulares multi-direcionalmente; e intensa, quando havia grande quantidade de fibroblastos proliferados constituindo agregados compactos de células arranjas multi-direcionalmente.

**COLAGENIZAÇÃO** – classificou-se como ausente, quando não havia fibras colágenas depositadas; discreta, quando a deposição de fibras colágenas era em pequena quantidade, caracterizadas por fibras depositadas em meio aos fibroblastos proliferados; moderada quando a deposição de colágeno formava feixes de fibras eosinofílicas, espessas, intercaladas com áreas de tecido conjuntivo frouxo e fibroblastos proliferados; e intensa, quando havia grande deposição de fibras colágenas, constituindo feixes de fibras eosinofílicas espessas, compactamente arranjas em meio a fibroblastos proliferados e sem áreas de tecido conjuntivo frouxo.

**REEPITELIZAÇÃO** – classificou-se como ausente, quando não havia epitélio visibilizado no campo óptico; discreto ou moderado, quando aparecia de forma incompleta ou parcial; acentuada, quando visibilizado de forma total ou completa sobre o tecido conjuntivo. Os dados coletados foram registrados em fichas individuais para cada animal.





UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Maceió - AL, 10/11/2009

Senhor (a) Pesquisador (a),  
Maria Lysete de Assis Bastos  
Lúcia Maria Conserva  
Eliana Maria Mauricio da Rocha

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), em 19/10/2009 e com base no parecer emitido pelo (a) relator (a) do processo nº 009880/2009-77 sob o título **Avaliação do potencial cicatrizante de extratos de zeyheria tuberculosa(vell.) Bur. (bignoniaceae): perspectiva na obtenção de um fitoterápico**, vem por meio deste instrumento comunicar a aprovação do processo supra citado, com base no item VIII.13, b, da Resolução nº 196/96.

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS 196/96, item V.4).

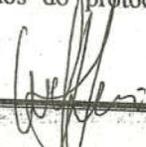
É papel do(a) pesquisador(a) assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA - junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e sua justificativa. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o(a) pesquisador(a) ou patrocinador(a) deve enviá-los à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem incluídas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item IV. 2.e).

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos no Cronograma do Protocolo e na Res. CNS, 196/96.

Na eventualidade de esclarecimentos adicionais, este Comitê coloca-se a disposição dos interessados para o acompanhamento da pesquisa em seus dilemas éticos e exigências contidas nas Resoluções supra - referidas.

Esta aprovação não é válida para subprojetos oriundos do protocolo de pesquisa acima referido. (\*) Áreas temáticas especiais

  
Prof. Dr. Walter Matias Lima  
Coordenador do Comitê de Ética  
em Pesquisa

