

JULICE MEDEIROS COELHO

**O EFEITO DA SULFADIAZINA DE PRATA, EXTRATO DE IPÊ-ROXO
E EXTRATO DE BARBATIMÃO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS
CUTÂNEAS, EM RATOS.**

CAMPO GRANDE
2009

JULICE MEDEIROS COELHO

**O EFEITO DA SULFADIAZINA DE PRATA, EXTRATO DE IPÊ-ROXO
E EXTRATO DE BARBATIMÃO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS
CUTÂNEAS, EM RATOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Andréia Brochado
Antoniolli Silva

CAMPO GRANDE
2009

JULICE MEDEIROS COELHO

**O EFEITO DA SULFADIAZINA DE PRATA, EXTRATO DE IPÊ-ROXO
E EXTRATO DE BARBATIMÃO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS
CUTÂNEAS, EM RATOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Resultado_____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Andréia Brochado Antonioli Silva
Instituição: UFMS

Prof. Dr. Celso Massaschi Inouye
Instituição: UFMS

Prof^a. Dr^a. Magali da Silva Sanches Machado
Instituição: UFMS

Prof. Dr. Roberto Antonioli da Silva (suplente)
Instituição: UFMS

DEDICATÓRIA

Aos **meus pais**, por todo amor, dedicação e confiança que sempre depositaram em mim, sempre me incentivando, dando força e coragem para superar os obstáculos e alcançar todos os meus objetivos. Amo muito vocês.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À **Profª Drª. Andréia Conceição Milan Brochado Antonioli Silva**, professora do programa de Pós-Graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste, professora da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, minha orientadora, por toda dedicação e paciência, transmitindo seus ensinamentos sempre de forma tão delicada e gentil. Agradeço também por compartilhar comigo todas as angústias e ansiedades e de tornar possível a concretização de um sonho em realidade. Minha gratidão, sempre.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por tua constante presença ao meu lado, protegendo e guiando, sempre me dando força para vencer todos os desafios desta vida.

Ao **Programa de Pós-Graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste**, que através de toda dedicação de seus professores e funcionários possibilitou tornar este sonho realidade.

À **Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)**, por nos acolher e tornar possível a realização deste trabalho.

À **FUNDECT / CAPES**, pelo apoio financeiro cedido durante todo o meu estudo.

Ao **Prof Dr. Ricardo Dutra Aydos**, coordenador do programa de Pós-Graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste e professor da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelos ensinamentos, dedicação e organização do curso.

À **Profª Drª. Elenir Rose Jardim Cury Pontes**, professora Adjunta da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pela ajuda na realização da análise estatística deste trabalho.

Ao **Prof Dr. Alexandre Nakao Odashiro**, professor Adjunto da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pela ajuda na realização das lâminas e da análise histológica.

À **Cássia Cilene**, bióloga do Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Mato Grosso do Sul (LACEN) da cidade de Campo Grande, pela ajuda na obtenção dos extratos que foram utilizados na pesquisa.

Aos **funcionários do Biotério da UFMS**, em especial a Roseana Leite, por toda ajuda e dedicação, durante toda a minha pesquisa.

À **Vera Nascimento da Silva**, secretária do programa de Pós-graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste, por nos atender de forma tão atenciosa e sempre disposta a nos ajudar.

Aos **funcionários** do Programa de Pós-Graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste e funcionários da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul por toda dedicação e paciência com os alunos.

Aos meus **companheiros de turma**, em especial ao Rodrigo Poppi, Daniel Nunes e Renato Nasser, pela amizade e apoio durante esta jornada.

A toda **minha família**, pois sempre estiveram ao meu lado me dando força e apoio em todos os momentos da minha vida. Muito obrigada!

Aos **meus irmãos**, que são meus amigos e companheiros, pois sempre me apoiaram e acreditaram em mim.

Ao **Altino Coelho e Izenir Coelho**, por toda dedicação e preocupação, sempre nos ajudando de forma irrestrita.

Aos **meus amigos** e pessoas que ajudaram de forma direta ou indireta na realização deste trabalho, pelo apoio e pelas angústias compartilhadas, pois sem vocês seria impossível alcançar essas metas.

“Deus, nosso Pai, que sois todo Poder e Bondade, daí a força àquele que passa pela provação, daí a luz àquele que procura a verdade; ponde no coração do homem a compaixão e a caridade.” [...]

Prece de Cáritas

RESUMO

Coelho JM. O efeito da Sulfadiazina de prata, extrato de Ipê-roxo e extrato de Barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas, em ratos. Campo Grande; 2009. [Dissertação – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Objetivo: Estudar o efeito da Sulfadiazina de prata, extrato de Ipê-roxo e extrato de Barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas, em ratos. **Método:** Foram utilizados 96 ratos *Wistar*. Todos os animais foram submetidos à ligadura da veia femoral direita para produzir hipertensão venosa. Trinta dias após, foi confeccionada a ferida por meio da retirada de um fragmento cutâneo circular de 1,5 cm de diâmetro com auxílio de *punch* metálico. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos. Grupo S recebeu aplicação tópica de Sulfadiazina de prata; grupo IR de extrato de Ipê-roxo; grupo B de extrato de Barbatimão e grupo C de solução salina a 0,9%, diariamente, por um período de 7, 14 e 30 dias. Os parâmetros histológicos analisados foram: epitelização, proliferação vascular, neutrófilos, linfócitos, fibroblastos e fibras colágenas. **Resultados:** Os achados macroscópicos mostraram epitelização completa aos 14 dias em todos os animais dos grupos S, B e IR. Na análise histológica, os 14 dias de observação apenas o grupo C ainda apresentava epitelização incompleta em 6 animais. Neste mesmo período houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os demais grupos quanto ao processo inflamatório e neovascularização. Quanto à presença de fibroblastos e colágeno, houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os demais grupos aos 30 dias, pois neste período o grupo controle ainda apresentava fibroblastos e a presença de colágeno era menor quando comparada com os demais grupos. **Conclusão:** O grupo C apresentou processo inflamatório retardado quando comparados com os demais grupos de estudo.

Palavras-chave: Barbatimão, cicatrização, feridas, Ipê-roxo, Sulfadiazina de prata.

ABSTRACT

Coelho JM. Effects of silver sulfadiazine, *Tabebuia avellanedae* (Ipê Roxo) extract and *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) extract on cutaneous wound healing, in rats. Campo Grande; 2009. [Dissertação – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Purpose: Morphological study of effects of silver sulfadiazadine, *Tabeluia avellanedae* (Ipê roxo) extract and *Stryphnodendron adstringens* (*Barbatimão*) extract on cutaneous wound healing in rats. **Methods:** 96 *Wistar* rats were used. All animals underwent a femoral right vein ligation to induce a venous hypertension. 30 days later the cutaneous wound was done by removing a cutaneous circular fragment with 1,5 cm of diameter with the aid of a metal *punch*. The rats were randomly divided into groups of four animals. Group S received silver sulfadiazine topical application; Group IR received *Ipe-Roxo* extract; Group B received *Barbatimão* extract and Group C received physiological solution, every day for a period of 7, 14 and 30 days. The histological parameters were analyzed: epithelization, vascular proliferation, neutrophils, lymphocytes, fibroblasts and collagen fibers. **Results:** The macroscopic analysis showed complete epithelization at 14 days in group S, B and IR. The histological analysis at 14 days of observation only group C still showed incomplete epithelization in 6 animals. At the same period it was a statistically significant difference between the control group and the others groups as inflammation process and neovascularization. About the presence fibroblasts and collagen, it was statistically significant difference between the control group and the others groups at the 30 days because at this period the control group still showed fibroblasts and collagen was lowed when compared to the others groups. **Conclusion:** The group C showed delay inflammation process when compared to the others groups of the study.

Key Word: *Stryphnodendron adstringens*, healing, wound, *Tabeluia avellanedae*, silver sulfadiazadine.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Escores da presença de epitelização na cicatrização de ferida cutâneas, segundo a utilização de Sulfadiazina de Prata (S), Extrato de Barbatimão (B), Extrato de Ipê-roxo (IR) e grupo controle (C), durante o período de 7, 14 e 30 dias.....49
- Tabela 2 – Escores da presença de neutrófilos na cicatrização de feridas cutâneas, segundo a utilização de Sulfadiazina de Prata (S), Extrato de Barbatimão (B), Extrato de Ipê-roxo (IR) e grupo controle (C), durante o período de 7, 14 e 30 dias.....50
- Tabela 3 – Escores da presença de linfócitos na cicatrização de feridas cutâneas, segundo a utilização de Sulfadiazina de Prata (S), Extrato de Barbatimão (B), Extrato de Ipê-roxo (IR) e Grupo controle (C), durante o período de 7, 14 e 30 dias.....50
- Tabela 4 – Escores da presença de neovasos na cicatrização de feridas cutâneas, segundo a utilização de Sulfadiazina de Prata (S), Extrato de Barbatimão (B), Extrato de Ipê-roxo (IR) e grupo controle (C), durante o período de 7, 14 e 30 dias.....51
- Tabela 5 – Escores da presença de fibroblastos ativados na cicatrização de feridas cutâneas, segundo a utilização de Sulfadiazina de Prata (S), Extrato de Barbatimão (B), Extrato de Ipê-roxo (IR) e grupo controle (C), durante o período de 7, 14 e 30 dias.....51
- Tabela 6 – Escores da presença de colágeno na cicatrização de feridas cutâneas, segundo a utilização de Sulfadiazina de Prata (S), Extrato de Barbatimão (B) e Extrato de Ipê-roxo (IR), durante o período de 7, 14 e 30 dias.....52

LISTA DE FIGURAS

Figura 4 – Fotografia da árvore de Ipê-roxo.....	30
Figura 5 – Fotografia do tronco e cascas de Ipê-roxo.....	31
Figura 3 – Fotografia da árvore de Barbatimão.....	35
Figura 4 – Fotografia do tronco e cascas de Barbatimão.....	36
Figura 5 – Fluxograma da distribuição dos animais em diferentes grupos do experimento.....	41
Figura 6 – Fotografia do extrato de Barbatimão e extrato de Ipê-roxo.....	42
Figura 7 – Fotografia mostrando a perimetria da região crural realizada antes e após a ligadura da veia femoral.....	43
Figura 8 – Fotografia ilustrando a dupla ligadura realizada na veia femoral.....	44
Figura 9 – Fotografia ilustrando a secção da veia femoral após a realização da dupla ligadura.....	44
Figura 10 – Fotografia do <i>punch</i> metálico utilizado para excisão do fragmento cutâneo.....	45
Figura 11 – Fotografia da ferida cutânea confeccionada com <i>punch</i> metálico.....	46
Figura 12 – Fotografia da câmara de gás conectada ao cilindro de CO ₂	47
Figura 13 – Fotomicrografia dos animais dos grupos S, B IR e C no 7º dia de avaliação, mostrando o predomínio de células inflamatórias (setas vermelhas) e neovascularização (setas amarelas). Aumento 20x, M.O, coração H.E.....	53
Figura 14 – Fotomicrografia do 14º dia de avaliação, mostrando fibroblastos (seta vermelha) e colágeno (seta azul), nos animais dos grupos S, B, IR e C. No grupo C presença de neovasos (seta amarela) e neutrófilos (seta verde). Aumento 20x, M.O, coloração H.E.....	54
Figura 15 – Fotomicrografia do 30º dia de avaliação mostrando o predomínio de fibras colágenas (seta azul) nos grupos S, B e IR. No grupo C, presença de fibroblastos (seta vermelha) e fibras colágenas (seta azul). Aumento 20x, M.O, coloração H.E.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABFH	Associação Brasileira de Farmacêuticos Homeopatas
DNA	Ácido Desboxirribonucleico
DM	Diabetes Mellitus
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HE	Hematoxilina – Eosina
IVC	Insuficiência Venosa Crônica
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Mato Grosso do Sul
LVF	Ligadura da Veia Femoral
MMII	Membros Inferiores
MS	Mato Grosso do Sul
OMS	Organização Mundial de Saúde
PMN	Polimorfonucleares
SVP	Sistema Venoso Profundo
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
UP	Úlcera por Pressão

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	centímetro
cm ²	centímetro quadrado
CO ₂	dióxido de carbono
°C	graus Celsius
g	grama
m	metro
mg	miligrama
mg/ Kg	miligrama por quilograma de peso
mm	milímetro
ml	mililitro
%	porcentagem
US\$	dólar (Unidade de moeda dos Estados Unidos da América)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Úlcera de estase venosa.....	19
2.2 Pé diabético.....	20
2.3 Úlcera por pressão.....	21
2.4 Cicatrização.....	22
2.4.1 Fase inflamatória.....	23
2.4.2 Fase proliferativa.....	24
2.4.3 Fase de remodelação.....	25
2.5 Métodos de terapia tópica.....	25
2.5.1 Sulfadiazina de prata 1%.....	25
2.5.2 Plantas medicinais.....	27
2.5.3 <u>Tabebuia avellanedae (Ipê-roxo)</u>.....	29
2.5.4 <u>Stryphnodendron adstringens (Barbatimão)</u>.....	34
3 OBJETIVOS.....	39
4 METODOLOGIA.....	40
4.1 Amostra.....	40
4.2 Procedimentos.....	41
4.2.1 <u>Obtenção do extrato bruto da casca de Ipê-roxo e de Barbatimão</u>.....	41
4.2.2 <u>Ato operatório</u>.....	42
4.2.3 <u>Análise histológica</u>.....	48
4.2.4 <u>Análise macroscópica</u>.....	48
4.2.4 <u>Análise estatística</u>.....	48
5 RESULTADOS.....	49
6 DISCUSSÃO.....	56
7 CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS.....	68
ANEXOS.....	85

1 INTRODUÇÃO

Uma ferida é representada pela interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou em menor extensão, causada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica, que aciona as frentes de defesa orgânicas (CESARETTI, 1998).

Quando tecidos moles são dilacerados e o tecido conjuntivo é exposto, a seqüência específica dos processos que se seguem tem como único objetivo o reparo (SOARES, 2005).

Os processos de cicatrização e reparo tecidual ocorrem após trauma ou doença. O reparo das feridas e sua reestruturação constituem mecanismo complexo, em que vários fatores contribuem para o desenvolvimento de diversos tipos de cicatrização, como hipertrófica, atrófica ou eutrófica. Esses processos compreendem três fases: inflamação, granulação e formação de matriz extracelular. Normalmente no processo de cicatrização de feridas, após o início do estágio de granulação, há sutil predominância de macrófagos e aumento do número de fibroblastos com síntese de nova matriz extracelular, ocorrendo a remodelação desses tecidos com a contração do tecido de granulação. Na fase de formação da matriz, os fibroblastos produzem quantidades abundantes de matriz extracelular. Na medida em que o colágeno vai sendo produzido, ocorre a oclusão da ferida, os capilares se organizam, os fibroblastos diminuem em número e observa-se queda da produção de substância fundamental (CLARK RAF, 1985; SCHARFFETTER *et al.*, 1989; SHAL, 1994).

No entanto, tais fases da cicatrização não constituem processos isolados, mas apresentam dinamismo visível, que, com freqüência, sobrepõe-se uns aos outros, de tal sorte que, numa mesma fase, podem-se encontrar os elementos que compõem as subseqüentes (FÉLIX; YOGI, 1990).

Nas feridas abertas a contração da ferida ocorre de forma centrípeta (MONTADON *et al.*, 1977). Experimentos em animais demonstraram que a ferida

contraí aproximadamente 0,60 a 0,75mm por dia, independente do seu tamanho (PEACOCK & VAN WINKLE, 1976).

Nas cicatrizes cutâneas, a coloração passa gradualmente do rosado ao esbranquiçado devido à redução do número de vasos no tecido e pela não regeneração dos elementos melânicos (MODOLIN & BEVILACQUA, 1992). A pele torna-se também mais densa, como resultado da perda de líquido e de volume (KOOPMANN, 1995).

Alguns fatores podem afetar o processo de reparação tissular, são chamados de sistêmicos e locais. Entre os fatores sistêmicos destacam-se: a idade, a imobilidade, o estado nutricional, doenças associadas como as neuropatias diabéticas periféricas, doença vascular periférica, linfedema, artrite reumatóide, osteomielite crônica, anemia falciforme, vasculites, tumores cutâneos, doenças infecciosas crônicas, assim como o uso de medicamentos contínuos, principalmente as drogas imunossupressoras. Esses fatores muitas vezes não podem ser eliminados, mas devem ser controlados (BAKER *et al.*, 1991; SCRIVEN *et al.*, 1997; VALENCIA *et al.*, 2001; MANI *et al.*, 1999). Os fatores locais são: a localização anatômica da ferida, a presença de infecção, tecido desvitalizado entre outros, e são fundamentais na escolha do tratamento local (BRYANT *et al.*, 1992; SANTOS, 2000).

Os diversos processos de doenças, incluindo desordens e deficiências metabólicas, podem resultar na formação de uma úlcera na perna ou no pé. Esse agravo esta, frequentemente, associado à dor e à diminuição da qualidade de vida (ABBADE; LASTORIA, 2006).

Úlceras crônicas de perna, de acordo com a doença de base, podem ser classificadas em vasculares, metabólicas, infecciosas, neoplásicas, traumáticas, decorrentes de doença hematológica e outras causas, sendo que a principal etiologia das úlceras de perna é a doença vascular periférica de membros inferiores, principalmente a insuficiência venosa (BROWSE *et al.*, 2001; ABBADE; LASTORIA, 2006; BORGES *et al.*, 2007).

A insuficiência venosa das extremidades inferiores é definida como a inversão do fluxo sanguíneo desde o sistema venoso profundo ao superficial, o que implica a insuficiência valvular das veias comunicantes. O transtorno fisiopatológico determina a hipertensão venosa, edema, varizes secundárias e alterações tróficas,

cuja expressão máxima é a úlcera (JOHNSON; PAUSTRIAN, 2005; DOUGHTY *et al.*, 2000).

Clinicamente estes processos levam a lipodermatosclerose, atrofia e na forma mais grave, a ulcerações onde os mecanismos compensatórios não são suficientemente capazes de reparar a lesão (BARROS JR, 2003).

Embora a reparação tecidual seja um processo sistêmico, é necessário favorecer as condições locais por meio de terapia tópica adequada para viabilizar o processo fisiológico (DEALEY, 1996); essa assertiva é fundamentada em estudos científicos sobre a fisiologia de reparação tecidual, e norteado pelos seguintes princípios: remover tecidos necróticos e corpos estranhos do leito da ferida, identificar e eliminar processos infecciosos, obliterar espaços mortos, absorver o excesso de exsudato, manter o leito da ferida úmido, promover isolamento térmico e proteger a ferida de traumas e invasão bacteriana (DOUGHTY *et al.*, 1992; YAMADA, 1999, BORGES *et al.*, 2001).

Dentre o arsenal disponível para o tratamento tópico, a Sulfadiazina de prata a 1 % é largamente utilizada por possuir efeitos antimicrobianos, estimulatórios na fase de granulação e de epitelização cutâneas (BISHOP *et al.*, 1992). Entretanto, seu uso principalmente no tratamento de úlceras venosas de membros inferiores encontra alguma resistência, tanto pelo tempo necessário à reparação cutânea, que pode ocorrer em meses ou anos, na dependência das dimensões da lesão original, como da alta possibilidade de recidiva da ulceração (ABDALLA; DADALTI, 2003; WARD; SAFFLE, 1995).

Por esta razão tem-se intensificado a pesquisa de produtos naturais para auxiliar a cicatrização, tais como o óleo de copaíba (CORRÊA, 1984; EURIDES; MAZZANTI, 1988), papaína (MASINI; CALAMO, 1986; SANCHEZ NETO *et al.*, 1993), colágeno (ABRAMO, 1990; BAILEY, 2000), vitamina A (BONDI, 1989), entre outros.

Na medicina popular são usados muitos extratos de plantas para o tratamento de diversos tipos de doenças. Entre as milhares de plantas medicinais brasileiras, os Ipês, também chamados de pau d'arco, ocupam lugar de destaque. Conhecidos nos países de língua espanhola por *lapacho*, os Ipês são também denominados pelos nomes *taheebo*, e *tabebuia*. A espécie proveniente da América do Sul conhecida por ipê-roxo (*Tabebuia avellanae*), cuja floração tem coloração rosa-púrpura, é a mais utilizada na medicina popular (LORENZI, 1992).

No Brasil, encontra-se desde o Amazonas até o Rio Grande do Sul. É particularmente freqüente nos estados de Mato Grosso do Sul, São Paulo até o Rio Grande do Sul, na floresta estacional semidecidual da bacia do Paraná (PANIZZA, 1997).

O Ipê-Roxo é utilizado para auxiliar no combate a determinados tipos de tumores cancerígenos, como analgésico e no tratamento de doenças estomacais e da pele. Como princípios ativos destacam-se as quinonas, naftoquinona, taninos e flavonóides, com reconhecida ação antiinflamatória, analgésica, antibiótica e antineoplásica (SILVA, 2006).

Outra planta medicinal de uso terapêutico que se destaca é o Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), uma leguminosa, do cerrado brasileiro considerada como planta medicinal, sendo encontrada no Brasil nos estados do Pará até São Paulo, passando por Mato Grosso e sul de Minas Gerais (CORRÊA, 1984). As cascas são espessas e apresentam efeito adstringente que contêm como princípios ativos os taninos, flobafenos e um glicídio solúvel. A sua ação farmacológica como cicatrizante de feridas e úlceras se deve a riqueza de taninos (PANIZZA *et al.*, 1988; ARDISSON *et al.*, 2002). As propriedades adstringentes do Barbatimão permitem que as proteínas das células superficiais da mucosa e dos tecidos lesados desprotegidos se precipitem, formando um revestimento protetor contra a multiplicação bacteriana, promovendo uma ação anti-séptica (NETO *et al.*, 1996; COSTA, 1986).

Devido à grande procura por terapias alternativas, nos dias de hoje, nota-se um retorno do interesse pelas plantas medicinais. Segundo alguns autores, isto se deve principalmente à ineficácia de alguns produtos sintéticos, ao alto custo dos medicamentos alopáticos e à busca da população por tratamentos menos agressivos ao organismo humano, principalmente no atendimento primário à saúde (RIBEIRO; LEITE; DANTAS-BARROS, 2005).

As feridas cutâneas em pessoas com alteração da circulação venosa têm difícil cicatrização, tornando-se necessário a utilização de substâncias que auxiliam no processo de reparação tecidual. O interesse pelo estudo dos extratos de Ipê-roxo e de Barbatimão é por serem plantas típicas da região Centro-Oeste, com propriedades cicatrizantes, utilizadas empiricamente pela população.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Úlcera de estase venosa

Cada vez mais a insuficiência venosa crônica (IVC) dos membros inferiores (MMII), além de ser causa de incapacidade e constrangimento do indivíduo acometido, representa importante problema de ordem socioeconômica na civilização contemporânea. Em suas formas mais graves, como na úlcera de estase venosa, última expressão desta enfermidade, pode conduzir à invalidez e ser motivo de elevados custos aos cofres públicos (BELCZAK *et al.*, 2007).

A insuficiência venosa crônica dos membros inferiores é a incapacidade de manutenção do equilíbrio entre o fluxo de sangue arterial que chega ao membro inferior e o fluxo de sangue venoso que retorna ao átrio direito, decorrente da incompetência do sistema venoso superficial e/ou profundo. Esta incapacidade acarreta um regime de hipertensão venosa que crônica e tardiamente leva às alterações de pele e subcutâneo, características da IVC (BARROS JR, 2003).

As doenças venosas apresentam características peculiares, pois algumas delas, com alterações superficiais, podem ser percebidas pelos próprios pacientes; entretanto, outras alterações envolvendo sistema venoso profundo (SVP) em estágios iniciais freqüentemente não provocam sintomas ou sinais que revelem sua existência (MAFFEI, 2002).

A avaliação clínica dos indivíduos com insuficiência venosa dos membros inferiores, apesar de ser importante, por si só não identifica os sistemas envolvidos ou os níveis anatômicos (DARKE; ANDRESS, 1985; MCENROE *et al.*, 1998). As úlceras provocadas pela IVC podem resultar de obstrução ou refluxo no SVP, de refluxo nas veias do sistema superficial e nas veias perfurantes ou da combinação desses (SALIBA JR *et al.*, 2007).

Úlceras venosas são relativamente comuns na população adulta, e sua prevalência varia muito, dependendo dos diferentes métodos empregados nos estudos, idades das populações estudadas e definições de úlcera venosa. Alguns trabalhos incluem em seus resultados todas as úlceras crônicas de membros

inferiores e não se restringem às úlceras venosas. A maioria dos estudos mostram prevalência de úlcera venosa ativa (não cicatrizada) de aproximadamente 0,3%, enquanto história de úlcera ativa ou cicatrizada ocorre em aproximadamente 1% da população adulta (BERGQVIST *et al.*, 1999; MAFFEI, 2002). A prevalência aumenta com a idade, sendo superior a 4% em pessoas acima dos 65 anos (CALLAM *et al.*, 1985).

As úlceras venosas causam significativo impacto social e econômico devido à natureza recorrente e ao longo tempo decorrido entre sua abertura e cicatrização. Quando não manejadas adequadamente, cerca de 30% das úlceras venosas cicatrizadas recorrem no primeiro ano, e essa taxa sobe para 78% após dois anos (MAYER *et al.*, 1994). Dessa forma, devido à necessidade de terapêuticas prolongadas, o paciente portador de úlcera venosa precisa com freqüência de cuidados médicos e de outros profissionais da saúde, além de se afastar do trabalho inúmeras vezes e com freqüência se aposentam precocemente (ABADDE; LASTORIA, 2006).

Um estudo anterior em pacientes com úlcera venosa com idade média de 57 anos, constatou que, 35% deles estavam aposentados, 16,1% afastados do trabalho devido à úlcera, 2,5% recebendo auxílio-doença, e 4,2% desempregados (ABADDE *et al.*, 2005). Todos esses fatores causam importante ônus aos sistemas de saúde e previdenciário além de interferir na qualidade de vida do paciente, seja pelos altos custos com tratamento ou pela possibilidade de ausências ao trabalho e demissão do emprego, além de diminuição do prazer nas atividades cotidianas (ABADDE; LASTORIA, 2006; ABADDE *et al.*, 2005).

2.2 Pé diabético

Denomina-se pé diabético um estado fisiopatológico multifacetado, caracterizado por lesões que surgem nos pés da pessoa com diabetes e ocorrem como consequência de neuropatia em 90% dos casos, de doença vascular periférica e de deformidades (CAPUTO *et al.*, 1994; PEDROSA *et al.*, 1998). As lesões geralmente decorrem de trauma e frequentemente se complicam com necrose e gangrena, ocasionadas por falhas no processo de cicatrização (BILD *et al.*, 1989; LEVIN, 1996), as quais podem resultar em amputação quando não se institui tratamento precoce e adequado (OCHOA-VIGO; PACE, 2005).

Anualmente, de 2% a 3% das pessoas com diabetes podem desenvolver úlceras nos membros inferiores, e esse percentual se eleva a 15% no transcurso de toda a sua vida. Pessoas com úlcera e/ou amputação prévia possuem importantes fatores de risco para recidivas (OCHOA-VIGO *et al.*, 2006; AMERICAN, 2003), essas são responsáveis por grande percentual de morbimortalidade e hospitalização entre pessoas com diabetes (LEVIN, 1996), ocasionando um período de internação 59% mais prolongado do que em pacientes sem processos ulcerativos (REIBER, 2001).

O pé diabético representa uma das mais incapacitantes complicações crônicas advindas do mau controle da doença, com impacto social e econômico para as famílias, o sistema de saúde e a sociedade, tanto em países desenvolvidos como emergentes (ROCHA *et al.*, 2009; SECRETARIA de ESTADO de SAÚDE, 2001).

Os agravos nos membros inferiores, neuropatia diabética, doença arterial periférica, ulceração ou amputação, afetam a população diabética duas vezes mais do que a não-diabética, atingindo 30% em indivíduos com 40 anos ou mais de idade (PEDROSA *et al.*, 1998; GREGG *et al.*, 2004).

Estima-se que, pelo menos 15% dos diabéticos desenvolverão uma lesão no pé ao longo da vida (REIBER, 1996; RAMSEY *et al.*, 1999). Um estudo mostrou que 28% dos pacientes em seguimento em um serviço de saúde desenvolveram lesões nos pés em um período de 30 meses (VEVES *et al.*, 1992; HARRINGTON *et al.*, 2000).

No Brasil, o DM é causa importante de amputações de membros inferiores, sendo um considerável fator de incapacidade, invalidez, aposentadoria precoce e mortes evitáveis (GAMBA, 1998; MILMAN *et al.*, 2001). Além destes graves problemas, devem-se levar em consideração os gastos e as internações prolongadas que causam grande prejuízo ao sistema público de saúde (SPICHLER *et al.*, 1999; ALCÁNTARA *et al.*, 1999).

2.3 Úlceras por pressão

A úlcera por pressão (UP) é definida como qualquer lesão causada por uma pressão não aliviada, cisalhamento ou fricção que podem resultar em morte tecidual, sendo freqüentemente localizada na região das proeminências ósseas (CARDOSO *et al.*, 2004), que além de ocasionar dano tissular, pode provocar inúmeras

complicações e agravar o estado clínico de pacientes com restrição na mobilização do corpo (MEDEIROS; LOPES, 2009).

A UP é causada por fatores intrínsecos e extrínsecos ao paciente. Dentre os fatores extrínsecos, a pressão é considerada o principal fator, sendo que o efeito patológico no tecido pode ser atribuído à intensidade da pressão, duração da mesma e tolerância tecidual (BRYANT *et al.*, 1992).

A pressão contínua sobre a pele leva a fenômenos isquêmicos associado à deficiência de nutrientes e conseqüentemente necrose tecidual. As úlceras podem se desenvolver em áreas onde existe pressão sobre proeminências ósseas, tais como o sacro, ísquio, trocânter, ou menos freqüentemente o calcâneo, região occipital, o dorso do pé, o maléolo e a patela (COSTA *et al.*, 2005; CARDOSO *et al.*, 2004).

Dentre os fatores intrínsecos, destacam-se a idade, o estado nutricional, a perfusão tecidual, o uso de medicamentos e as doenças crônicas como o DM e doenças cardiovasculares (BERGSTROM *et al.*, 1996).

A UP prolonga a hospitalização, dificultando a recuperação do doente e aumentando o risco para o desenvolvimento de outras complicações como infecção ou osteomielite. Em pacientes com doenças vasculares e naqueles submetidos a cirurgias prolongadas, nas quais a posição supina é requerida, esse risco é maior porque a perfusão tecidual fica comprometida pelo processo primário da doença, desenvolvendo-se mais facilmente UP principalmente sacras, coccígeas e calcâneas (ROGENSKI; SANTOS, 2005).

A "*National Pressure Ulcer Advisory Panel*" estima que, nos Estados Unidos, mais de 1 milhão de pessoas hospitalizadas desenvolvem UP por ano. Aproximadamente 60.000 pessoas morrem anualmente por complicações decorrentes dessas úlceras (BRYANT *et al.*, 1992; ISIK *et al.*, 1997), mas é também, por representarem um acréscimo no sofrimento físico e emocional desses pacientes, reduzindo a sua independência e funcionalidade na realização das atividades de vida diária, que as UP merecem por parte da equipe multiprofissional toda a atenção, no sentido de prevenir o seu aparecimento ou favorecer o seu tratamento (BLANES *et al.*, 2004; COSTA *et al.*, 2005).

2.4 Cicatrização

Após um ferimento, inicia-se uma sequência de eventos biológicos, dinâmicos e complexos, que visam promover o reparo da lesão. A perda tecidual desencadeia o processo de cicatrização, a partir do qual o fisiologismo volta-se completamente para o reparo de um evento danoso ao organismo (CASTELO BRANCO NETO *et al.*, 2006).

A perda tecidual pode atingir a derme completa ou incompletamente, ou mesmo atingir todo o órgão, chegando ao tecido celular subcutâneo, o que define o tipo de ferida (MANDELBAUM *et al.*, 2003).

Nas feridas de espessura parcial (derme incompleta): a reparação faz-se pela reepitelização dos anexos epiteliais ou epitélio derivado da pele adjacente não acometida. Como resultado final tem-se uma cicatriz praticamente imperceptível.

Já as feridas de espessura total (derme completa ou estendida ao tecido celular subcutâneo) necessitam da formação de um novo tecido: o tecido de granulação. Nesse caso, a cicatriz é perceptível e, muitas vezes, pronunciada (FAZIO *et al.*, 2000).

Segundo Félix e Yogi (1990), a cicatrização é dividida em três fases fundamentais: inflamatória (três a quatro dias), proliferativa (três a quatro semanas) e maturação ou remodelação (a partir de então).

Em um determinado período de tempo as fases coincidem e acontecem simultaneamente, permitindo assim o sucesso da cicatrização.

2.4.1 Fase inflamatória

O processo de coagulação ocorre após o surgimento da ferida. Depende da atividade plaquetária e da cascata de coagulação. Ocorre uma complexa liberação de produtos, substâncias vasoativas, proteínas adesivas, fatores de crescimento e proteases são liberadas e ditam o desencadeamento de outras fases (TERKELTAUB *et al.*, 1998).

A formação do coágulo serve não apenas para coaptar as bordas das feridas, mas também para cruzar a fibronectina, oferecendo uma matriz provisória, em que os fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos possam ingressar na ferida (CLARK RAF, 1985).

Intimamente ligada ao processo de coagulação, a inflamação depende, além de inúmeros mediadores químicos, das células inflamatórias, como os leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos. Os PMN chegam no momento da

injúria tissular e ficam por período que varia de três a cinco dias, sendo responsáveis pela fagocitose das bactérias (CLARK RAF, 1985).

O macrófago é a célula inflamatória mais importante dessa fase. Permanece do terceiro ao décimo dia. Fagocita bactérias, desbrida corpos estranhos e direciona o desenvolvimento de tecido de granulação. Alta atividade fagocitária dos macrófagos é observada após trauma (PETROVA, 1992).

Os linfócitos aparecem na ferida em aproximadamente uma semana. Sabe-se que as linfocinas têm importante influência sobre os macrófagos (PETROVA, 1992).

Além das células inflamatórias e dos mediadores químicos, a fase inflamatória conta com o importante papel da fibronectina (CLARK RAF, 1998). Sintetizada por uma variedade de células como fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais, ela adere, simultaneamente à fibrina, ao colágeno e a outros tipos de células, funcionando assim como cola para consolidar o coágulo de fibrina, as células e os componentes de matriz. Além de formar essa base para a matriz extracelular, tem propriedades quimiotáticas e promove fagocitose de corpos estranhos e bactérias (MOSHER *et al.*, 1981).

2.4.2 Fase proliferativa

A fase proliferativa é dividida em três subfases. A primeira das fases é a reepitelização, onde ocorre a migração de queratinócitos não danificados das bordas da ferida e dos anexos epiteliais, quando a ferida é de espessura parcial, e apenas das margens nas de espessura total. Fatores de crescimento são os prováveis responsáveis pelos aumentos das mitoses e hiperplasia do epitélio. Sabe-se que o plano de movimento dos queratinócitos migrantes é determinado também pelo conteúdo de água no leito da ferida (GENTILHOMME *et al.*, 1999).

A segunda fase inclui a fibroplasia e formação da matriz, extremamente importante na formação do tecido de granulação (coleção de elementos celulares, incluindo fibroblastos, células inflamatórias, componentes neovasculares e da matriz, como a fibronectina, as glicosaminoglicanas e o colágeno). A formação do tecido de granulação depende do fibroblasto, célula crítica na formação da matriz. Longe de ser apenas produtor de colágeno, o fibroblasto produz elastina, fibronectina, glicosaminoglicana e proteases, estas responsáveis pelo desbridamento e remodelamento fisiológico (STADELMANN *et al.*, 1998).

A última fase é a angiogênese, essencial para o suprimento de oxigênio e nutrientes para a cicatrização. Inicialmente as células endoteliais migram para a área da ferida, a seguir ocorre proliferação das células endoteliais, acesso para as células responsáveis pelas próximas fases (STADELMANN *et al.*, 1998; ADZICK, 1999).

2.4.3 Fase de remodelação

A contração da ferida é o movimento centrípeto das bordas, quando essa tem espessura total. As feridas de espessura parcial não contam com essa fase. Uma ferida de espessura total tem contração mesmo quando há enxertos, que diminuem em 20% o tamanho da ferida (STEGMAN *et al.*, 1982). Em cicatrizes por segunda intenção a contração pode reduzir 62% da área de superfície do defeito cutâneo (LAWRENCE *et al.*, 1986).

A fase de remodelação é a última das fases; ocorre no colágeno e na matriz; dura meses e é responsável pelo aumento da força de tensão e pela diminuição do tamanho da cicatriz e do eritema. Reformulações dos colágenos, melhoria nos componentes das fibras colágenas, reabsorção de água são eventos que permitem uma conexão que aumenta a força da cicatriz e diminui sua espessura. Ocorre a diminuição da neovasculatura e tardiamente a cicatriz é considerada avascular (DOILLON *et al.*, 1985; LAPIÈRE, 2003).

Apesar do processo de cicatrização ser um fenômeno local que participam elementos comuns a vários setores do organismo, é fácil imaginar que fatores ambientais e fisiológicos exerçam grande impacto na sua evolução, podendo exercer influência na qualidade da cicatriz, no tempo de cicatrização e na presença ou não de complicações (BIONDO-SIMÕES *et al.*, 2006). Dos fatores gerais e locais que interferem no processo de cicatrização e podem influenciar positiva ou negativamente, destacam-se: a idade, localização anatômica, tipo da pele, raça e técnica utilizada (MANDELBAUM *et al.*, 2003).

2.5 Métodos de terapia tópica

2.5.1 Sulfadiazina de prata 1%

Atualmente há diversos métodos terapêuticos utilizados no tratamento de feridas, entre eles estão: pomadas à base de zinco e nitrofurasona (LEE *et al.*,

1986), açúcar (HADDAD *et al.*, 2000), mel (RAHAL *et al.*, 2003) curativos biológicos (VAZ, 1994), monômero de cianoacrilato em feridas que tenham pele para aproximação das bordas e métodos cirúrgicos para reconstrução com enxertos de pele (COELHO *et al.*, 1998).

A Sulfadiazina de prata 1% é um antimicrobiano tópico da classe das sulfanilamidas encontrado na forma de um creme branco, inodoro e hidrossolúvel. Foi desenvolvida por Charles L. Fox Jr., da Universidade de Columbia, Estados Unidos, por meio da associação de dois agentes antibacterianos já conhecidos e utilizados no tratamento de queimaduras e feridas, o nitrato de prata e sulfadiazina criando, assim, um composto extremamente efetivo contra infecções, reconhecido pelo *Food and Drug Administration* (FDA), em 1973 (FOX, 1975). A partir de sua aprovação, rapidamente tornou-se a droga de escolha no tratamento de feridas e queimaduras devido ao largo espectro de ação antimicrobiana e pela aplicação indolor. É efetiva contra vários microorganismos, particularmente, bactérias gram-negativas (por exemplo: *E coli*, *Enterobacter*, *Klebsiela* sp, *P. aeruginosa*), mas também inclui gram-positivas (*S. aureus* e *Candida albicans*) (FOX, 1975; WARD; SAFFLE, 1995).

A Sulfadiazina de prata 1% é utilizada em serviços de queimados e cirurgia vascular em hospitais brasileiros. Resultados bastante animadores têm sido conseguidos com o uso de correta terapêutica tópica de úlceras venosas de estase e lesões crônicas que ocorrem nas extremidades dos membros, que podem resultar em uma ferida de difícil cicatrização (BROWN *et al.*, 1991; BISHOP *et al.*, 1992). Estudos demonstram que a Sulfadiazina de prata 1% é um dos raros agentes antimicrobianos que, quando usados topicamente, não impedem a proliferação de queratinócitos, enquanto que a maioria dos agentes atrapalham o processo cicatricial por esta via (RIBEIRO; SCHIMIDT, 2000).

A atividade antimicrobiana da Sulfadiazina de prata 1% é mediada pela ação na membrana e na parede celular, promovendo o enfraquecimento dessas, com consequente rompimento da célula. Como é relativamente insolúvel, ela reage lentamente com cloreto e com os componentes protéicos dos tecidos, formando cloreto de prata, complexos protéicos de prata e sulfadiazina de sódio. O mecanismo de liberação do íon da prata é complexo e lento, mas exerce efeito bacteriostático (pela reação com o DNA bacteriano). Essa liberação lenta de prata não causa rápida

depleção de íon cloreto como ocorre no uso de nitrato de prata, portanto, distúrbios eletrolíticos são minimizados (CARROUGHER, 1998; WARD; SAFFLE , 1995).

Segundo Menezes e Silva (2000), relatam que a Sulfadiazina de prata 1% pode ser aplicada na área basicamente de duas maneiras: método aberto ou método fechado, ambos de forma asséptica e após a ferida ser limpa, desbridada e inspecionada.

2.5.2 Plantas medicinais

Desde os tempos mais remotos a planta é utilizada pelo homem como alimento e no tratamento de doenças. Desta forma, a origem do conhecimento do homem sobre as propriedades terapêuticas das plantas se confundem com a própria história da humanidade (GRAÇA; AIRES, 1994).

A utilização de fármacos originários de plantas data de vários séculos, já sendo descrito por Shen-Nung (2838-2698 a.C.), considerado o pai da tradicional medicina chinesa. Utilizava curativos de plantas e escreveu o *Pen Tsan* (O Herbário), um tratado onde menciona o uso de plantas como: papola cânhamo, cinamomo e mandrágora. Os antigos babilônicos, egípcios e tantos outros povos no passado, faziam uso de minerais e plantas medicinais (LIMA, 1994).

No século XIX o empirismo da alquimia foi suplantado pela química experimental que permitiu a síntese laboratorial de novas substâncias orgânicas, um dos fatores determinantes da revolução industrial e tecnológica que desencadeou a produção acelerada de novos medicamentos e à medida que derivados mais puros e concentrados de plantas se tornaram disponíveis os médicos priorizaram as drogas sintéticas e passaram a desconsiderar o papel importante da fitoterapia (VALE, 2002).

Os produtos naturais como plantas e minerais continuam sendo a maior fonte para obtenção de medicamentos para os mais diversos fins. Alguns agentes medicinais comumente usados para o tratamento de várias condições patológicas têm sua origem na medicina popular (NOORMOHAMED *et al.* 1994). A humanidade depende, diretamente, da biodiversidade para extrair ou produzir alimentos, cosméticos, novos materiais e processos (JOHN, 2002).

A fitoterapia é uma terapêutica popular milenar, teve o reconhecimento pela Organização Mundial de Saúde (OMS), na Conferência de Alma Ata em 1978, o

aproveitamento das plantas medicinais foi ressaltado como parte do Programa Saúde Para Todos no Ano 2000 recomendando-se inclusive a realização de mais estudos e a propagação do uso das plantas medicinais regionais como uma maneira de diminuir custos dos programas de saúde pública (YAMADA, 1999).

Atualmente, a Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece que 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais nos cuidados básicos de saúde. Deste universo, 85% utilizam plantas ou preparados, porém, deste total, pelo menos 30% apenas dar-se por indicação médica (BRASIL, 2006).

A utilização de plantas medicinais nos programas de atenção primária à saúde pode se constituir numa alternativa terapêutica muito útil devido a sua eficácia aliada a um baixo custo operacional, a relativa facilidade para aquisição das plantas e a compatibilidade cultural do programa com a população atendida (MATOS, 1994).

Uma diversidade de atividades biológicas apresentadas por plantas usadas na medicina caseira e de substâncias delas extraídas e purificadas são demonstradas por meio de modelos experimentais *in vivo* e *in vitro* e o espectro dessas ações amplifica na mesma proporção que metodologias mais específicas vão se consolidando cientificamente (FUNKE; MELZIG, 2006; LEITÃO *et al.*, 2006; BARBOSA-FILHO *et al.*, 2006).

Estudos sobre a medicina popular merecem atenção cada vez maior devido ao contingente de informações e esclarecimentos oferecido à Ciência. Esse fenômeno tem propiciado o uso de chás, decoctos, tisanas e tinturas, fazendo com que na maioria dos países ocidentais, os medicamentos de origem vegetal sejam retomados de maneira sistemática e crescente na profilaxia e tratamento das doenças, ao lado da terapêutica convencional (VALE, 2002).

Percebe-se, na atualidade, o interesse governamental e profissional em associar o avanço tecnológico ao conhecimento popular e ao desenvolvimento sustentável visando a uma política de assistência em saúde eficaz, abrangente, humanizada e independente da tecnologia sintética. Nesse sentido, o Estado brasileiro instituiu a Portaria nº22/1967 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária e a Resolução-RDC nº17/2000 que classifica os fitoterápicos como medicamentos (MINISTÉRIO da SAÚDE, 2000).

O Brasil detém a maior diversidade biológica do mundo, com uma rica flora, a qual desperta interesses de comunidades científicas internacionais para o estudo,

conservação e utilização racional destes recursos (MENDONÇA *et al.*, 1998). O bioma cerrado contém mais de 6.000 plantas vasculares, muitas delas com valor alimentício e medicinal. No setor da medicina, as plantas tropicais fornecem materiais para a produção de analgésicos, tranqüilizantes, diuréticos, laxativos, antibióticos entre outros. A comercialização mundial dos produtos secundários soma, em média, 200 milhões de dólares por ano (ALMEIDA *et al.*, 1998; MEYERS, 1983).

A “medicina tradicional” (prática baseada em crença, sendo parte da tradição de cada país, que passa de uma geração a outra) está incluída e reconhecida no sistema primário de saúde em países em desenvolvimento. Essa prática tem sido reconhecida como um pilar essencial nos cuidados primários de saúde, sendo que sua principal contribuição é com referência à descoberta de plantas medicinais. (AKERELE, 1998; BODEKER, 1994; CUNNINGHAM, 1993; BALICK *et al.*, 2000). A OMS acredita que cerca de 80% da população mundial depende de plantas para o cuidado com a saúde, relatam ainda, que 85% da “medicina tradicional” envolvem o uso de plantas medicinais, seus extratos vegetais e seus princípios ativos (IUCN, 1993). Estima-se que o mercado atual de medicina tradicional movimentava 60 milhões de dólares nos EUA (OMS, 2002).

No Brasil há crescente interesse e busca pela medicina tradicional e pela fitoterapia (ALMEIDA, 2003) que ocorre devido a vigente carência de recursos dos órgãos públicos de saúde e incessantes aumentos de preços nos medicamentos alopáticos, bem como dos efeitos colaterais apresentados por alguns destes medicamentos (PARENTE; ROSA, 2001). É notório o interesse por tais plantas, tanto em âmbito nacional quanto internacional, pois estas apresentam um potencial terapêutico e econômico, visado especialmente pela indústria farmacêutica que realiza a prospecção de novos produtos (CAMARRA, 1995; SIMÕES *et al.*, 1998; TRAFFIC, 2001).

2.5.3 *Tabebuia avellanedae* (Ipê-roxo)

Tabebuia avellanedae Lor. ex Griseb., espécie vegetal da família *Bignoniaceae* (LÜBECK, 2001; LORENZI; MATOS, 2002) que engloba aproximadamente 120 gêneros e 800 espécies, possui representantes nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo, especialmente na América do Sul e África

(figura 1). As espécies desta família pertencentes ao gênero *Tabebuia*, encontradas nas Américas do Sul e Central, são conhecidas popularmente como "Ipês" e apresentam uma grande diversidade de constituintes químicos, notadamente naftoquinonas e seus derivados, além de iridóides e antraquinonas (PANIZZA, 1997).

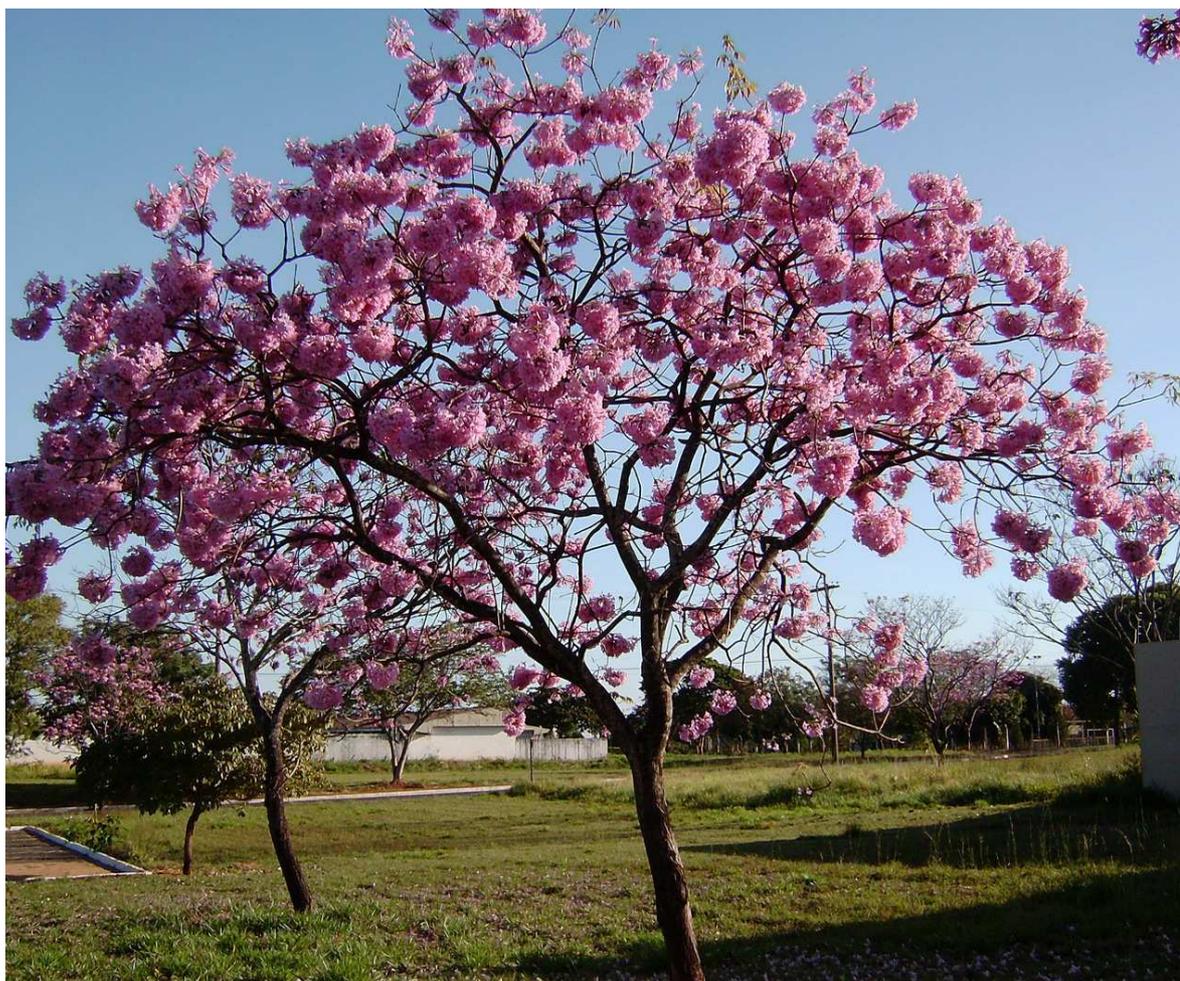


Figura 1- Fotografia da árvore de Ipê-roxo

Fonte: www.plantarum.com.br. Acesso em: 15/11/2008

Árvore de porte mediano com 20 a 35 m de altura, tronco grosso de 30 a 60 cm de diâmetro. Folhas compostas digitadas de 5 a 7 folículos, medindo 5 a 15 cm de comprimento por 3 a 4 cm de largura. Flores vermelho-arroxeadas cobrindo quase toda a planta que fica completamente sem folhas durante a floração (figura 2). É nativa da América, ocorrendo em todo Brasil desde o Amazonas até o Rio Grande do Sul e ao norte da Argentina (LORENZI, 1992).

É conhecida por Ipê-roxo, dentre outras denominações populares. Possui madeira resistente e durável, própria para obras externas, sendo também utilizada para fins paisagísticos em função de suas flores de coloração roxa (LORENZI; MATOS, 2002; GARCEZ *et al.*, 2007).



Figura 2 - Fotografia do tronco e cascas de Ipê-roxo

Fonte: WWW.plantarum.com.br. Acesso em:15/11/2008

Os índios brasileiros a utilizavam para preparo de bodoques e arcos, devido à sua resistência e durabilidade, o que originou a denominação que é conhecida entre os índios: pau d'arco, em Tupi; *rorot*. Na cultura indígena seus efeitos já eram conhecidos e seu uso consagrado para diversas doenças. Para os Incas era “planta mestra”, servindo ao tratamento quer pelo uso tópico, quer em uso oral para inflamações e dores (LORENZI; MATOS, 2002; GRAÇA, AIRES, 1994).

Na medicina caseira foi utilizada, inicialmente pela tribo dos *Callawaya*, descendentes dos Incas (PANIZZA, 1997), para curar doenças, no que foram seguidos por outras tribos, originando o uso de decocções e infusões das cascas secas para tratamento local de impetigo e eczemas, em tratamento oral para uso de inflamações, dores de dente, dores articulares, como antimicrobiano, antitumoral e no herpes (LÜBECK, 2001; ALMEIDA, 2003).

Segundo Silva (2006), na segunda metade do século XIX, o médico e botânico, Von Martius relata em seu livro o uso do Ipê-roxo contra sarna, inflamações artríticas, leucorréia, catarro na uretra e blenorragia ocular. Coube a

Von Martius a correção da classificação da espécie em estudo e sua denominação científica atual.

Na metade do século passado, as naftoquinonas do Ipê-roxo foram estudadas pioneiramente pelo Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco com destaque para o *lapachol*, atualmente comercializado como medicamento e para β -*lapachona*. Estudos *in vitro* desta época, com as quinonas do Ipê-roxo, evidenciaram atividade antibacteriana, antifúngica, antiviral e antitumoral (ALMEIDA *et al.*, 1990; SANTOS *et al.*, 2000; FELICIO *et al.*, 2002; LIMA *et al.*, 2002),

A atividade do *lapachol* é bacteriostática e seu mecanismo de ação deve-se, provavelmente, ao efeito citotóxico oxidativo do *lapachol* que desencadeia a produção de radicais livres de oxigênio, inclusive peróxido de hidrogênio e superóxido, sob influência da enzima P450 redutase (KUMAGAI *et al.*, 1997; RIFFEL *et al.*, 2002; GOULART *et al.*, 2003). Estes radicais promovem peroxidação de lipídios, degradam proteínas e desintegram o DNA celular. Estas ações explicam, além da sua atividade antimicrobiana, as atividades molusquicida, tripanossomicida, antimalárica, embriotóxica e, provavelmente, antineoplásica (KUMAGAI *et al.*, 1997; GOULART *et al.*, 2003).

Se por um lado, o *lapachol* extraído do Ipê-roxo apresenta efeito oxidativo e citotóxico, por outro lado, o extrato de Ipê-roxo tem mostrado atividade antioxidante, inibindo os efeitos deletéricos dos radicais livres (superóxido) e comparados com o alfa-tocoferol apresentam efeitos mais potentes; esta atividade deve-se à presença de componentes voláteis, inclusive metoxibenzoaldeídos (vanilina) e eugenol (PARK *et al.*, 2003).

Outro constituinte do Ipê-roxo é o flavonóide (quercetina). Ele possui uma série de propriedades farmacológicas benéficas para os sistemas biológicos. Destacam-se, dentre outras propriedades, as seguintes: capacidade antioxidativa; atividade antiinflamatória; ação antiedematosa; ação antialérgica; atividade antitumoral; antiulcerogênica; atividade antiplaquetária; bem como atividades antimicrobianas e antivirais (BRUNETON, 1991; LOPES *et al.*, 2003).

A maior ação dos flavonóides é como antioxidante (BRUNETON, 1991; HENDLER, 1994; LOPES *et al.*, 2003), capturando radicais livres de oxigênio originados durante o processo inflamatório e hipoxia. Os radicais livres de oxigênio ocasionam peroxidação dos fosfolípidos das membranas celulares, lesando-as

(BRUNETON, 1991). A quercitina auxilia a atividade antioxidante da vitamina C, e esta em troca protege a quercitina da oxidação. Provavelmente, isto explica em parte a atividade antiviral da quercitina, contra alguns vírus causadores de gripe, como vírus respiratório sincicial, parainfluenza vírus e rinovírus; e contra outros vírus, como herpes vírus simples 1 (HENDLER, 1994).

Outro papel interessante da quercitina verificado "*in vitro*" é a inibição da liberação de histamina e outros mediadores envolvidos na resposta inflamatória, por parte de mastócitos e basófilos, demonstrando uma atividade antialérgica. Além de inibir a agregação plaquetária e reduzir a fragilidade capilar a quercitina aumenta a oxigenação dos tecidos (BRUNETON, 1991; HENDLER, 1994). Dessa forma, os flavonóides têm sido indicados nas manifestações de fragilidade capilar enfermidades venosas; transtornos tróficos venosos (úlceras); em proctologia; metrorragias e retinopatias ligadas à circulação (BRUNETON, 1991).

Desde os primeiros trabalhos de Lima e D'albuquerque (1962), que a atividade antibiótica do extrato de Ipê-roxo é estudada, sendo, contudo verificada uma predominância de atividade contra certos microrganismos Gram-positivos e ácidos resistentes, porém uma baixa atuação contra Gram-negativos, exceto contra o gênero *Brucella* (FONSECA *et al.*, 2003).

Em 1970, uma ação antiinflamatória e cicatrizante do extrato hidroalcoólico de Ipê-roxo, utilizando tampões vaginais foi observada por Wanick *et al.* (1970), empregando 20 pacientes portadoras de cervites e cérvico-vaginites crônicas. Os resultados observados foram satisfatórios, com regressão de estado patológico entre 19 e 29 dias de tratamento, dependendo da gravidade das manifestações clínicas. Posteriormente, Lopes *et al.* (1978), durante o X Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, realizaram ensaios preliminares em pacientes portadores de bursites em fase aguda, tendinite, além de empregá-lo sob a forma de gotas, em pacientes portadores de sinusites agudas e crônicas e de otites agudas e crônicas. Em todos os casos os pacientes apresentaram respostas clínicas satisfatória, com erradicação da doença em torno de 92-100% dos casos.

Almeida *et al.*(1988) também avaliaram a atividade antiinflamatória do *lapachol* em ratos, apresentando significativa ação antiinflamatória do *lapachol* na dose de 150mg/Kg, por via oral, comparada com a fenilbutazona.

Guiraud *et al.* (1994), propôs comparar a atividade bactericida e fungicida tanto do *lapachol* como da β -*lapachona* e determinar a sua concentração inibitória

mínima. Os resultados confirmaram que a *β-lapachona* tem uma maior eficiência antimicrobiana do que o *lapachol*, como reportado primeiramente por Lima et al. (1962). Os fungos foram consideravelmente mais sensíveis do que bactérias, particularmente para a *β-lapachona*. No total tanto o *lapachol* quanto a *β-lapachona* foram mais ativos que o cetoconazol.

Sester (1996) pôde constatar que formulações tópicas do *lapachol* mantêm suas propriedades antiinflamatórias e analgésicas, após testes clássicos de indução de edema em ratos e analgesia.

Em estudos farmacológicos as quinonas mostram variadas biodinamicidades, destacando-se, dentre muitas, as propriedades microbicidas, tripanossomicidas, viruscidas, antitumorais (MIRANDA, 2001; SILVA *et al.*, 2003).

Atualmente, há um grande interesse pelo conhecimento da farmacologia e do modo de atuação destas substâncias, como pode ser demonstrado pelo número crescente de publicações sobre o mecanismo de atuação da *β-lapachona* (MONTANARI; BOLZANI, 2001). O progresso quanto aos conhecimentos da atividade enzimática, além dos recentes avanços da química computacional, em muito pode contribuir para o esclarecimento em maior profundidade dos mecanismos de atividade de fármacos e em consequência para o planejamento de novos medicamentos comerciais (SILVA *et al.*, 2003; FERRARI, 2005).

Silva (2006) avaliou a atividade analgésica e antiinflamatória da casca, flores e folhas do Ipê-roxo, os resultados mostraram que não só a casca, mas que as flores e folhas também apresentaram efeitos antiinflamatórios e analgésicos.

Um estudo realizado por Silva (2006) utilizando o Ipê-roxo na cicatrização de feridas cutâneas, mostrou um efeito positivo, pois as feridas tratadas apresentaram um fechamento mais rápido, com menor formação de crostas e menor quantidade de secreção. O uso do Ipê-roxo apresentou um efeito antiinflamatório e estimulou a profileração do tecido de granulação, evidenciado histologicamente pelo aumento da fibroplasia, neovascularização e deposição de fibras colágenas, bem como acelerou a epitelização das feridas.

2.5.4 *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão)

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville (Leguminosae), conhecida como Barbatimão, é uma árvore de Cerrado do Pará, Distrito Federal, Minas Gerais,

São Paulo e Mato Grosso do Sul (LORENZI, 1992; FELFILI; SILVA JÚNIOR, 1993; FELFILI et al., 1999). É encontrada, com mais freqüência, em fitofisionomias de cerrado típico, campo-sujo e cerradão .

Esta espécie tem como sinônimas científicas *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, *Mimosa Vell. barbadetiman* Vell e *Stryphnodendron ovobatum* Menth. O Barbatimão atinge no máximo 30 cm de diâmetro e 5 m de altura, ocorre com altas densidades em várias localidades do Brasil central (FELFILI; SILVA JÚNIOR, 1993). Apresenta folhas compostas bipinadas, com cinco a oito jugas, com seis a oito pares de folíolos por pina (figuras 3 e 4). O fruto é um legume séssil, grosso e carnoso, linear-oblongo com cerca de 10 cm de comprimento (CORRÊA, 1984; LORENZI, 1992).



Figura 3 - Fotografia da árvore de Barbatimão

Fonte: www.plantarum.com.br. Acesso em: 15/11/2008

A espécie apresenta a casca rica em taninos que tem ação antiinflamatória e cicatrizante, sendo utilizada triturada em aplicações na forma de emplastro, em

solução de cozimento da casca para banhos e lavagens no combate de hemorragias uterinas e afecções vaginais (LORENZI, 1992;).



Figura 4 - Fotografia do tronco e cascas de Barbatimão

Fonte: www.plantarum.com.br. Acesso em: 15/11/2008

O Barbatimão tem como constituintes químicos estudados até o momento: taninos, alcalóides, flavanóides, terpenos, estilbenos, esteróides e inibidores de tripsina e proteases. É descrito na Farmacopéia Brasileira, contendo no mínimo de 20% de tanino na casca (PANIZZA *et al.*, 1988).

Taninos podem ser definidos como compostos fenólicos solúveis em água, com peso molecular entre 500 e 3000 e habilidade para precipitar proteína. Mais especificamente os taninos são compostos de alto peso molecular, que contêm suficientes grupos hidroxila fenólica, para permitir a formação de ligações cruzadas estáveis com proteínas (DESHPANDE *et al.*, 1986).

Os taninos são substâncias polifenólicas de sabor adstringente, encontrados no interior dos vacúolos vegetais e tradicionalmente empregados na medicina, devido a sua ação cicatrizante (HASLAM, 1996; LIMA *et al.*, 1998). Segundo Santos & Melo (2000) derivam-se de um intermediário biossintético comum, a fenilalanina, ou de seu precursor, o ácido chiquímico, sintetizados através da Rota do Chiquimato. Do ponto de vista fisiológico, são consideradas substâncias originadas do metabolismo do carbono (KORICHEVA *et al.*, 1998).

Eles são classificados em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Os taninos hidrolisáveis são facilmente hidrolisados por ácidos ou enzimas, liberando o açúcar e ácido carboxílico fenólico correspondente. Dependendo da natureza do ácido carboxílico fenólico, os taninos hidrolisáveis são divididos em galotaninos e elagetaninos. Os taninos condensados são polifenóis com peso molecular variado, consistindo de unidades flavonóidicas com vários graus de condensação, e estão associados aos seus precursores naturais (flavan-3-ol e flavan-3,4-diol). Na sua estrutura encontramos também outros flavonóides análogos, bem como carboidratos e traços de aminoácidos (MORI *et al.*, 2001).

As atividades farmacológicas do Barbatimão estão diretamente relacionadas aos teores de taninos condensados. O decocto e o infuso preparados a partir da casca têm sido utilizados na medicina popular para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, cicatrização de feridas, como antiinflamatório, antimicrobiano e antioxidante (GUARIM NETO, 1987; LOPES *et al.*, 2005; PANIZZA *et al.*, 1988).

Em decorrência desses altos teores, o Barbatimão também tem sido empregado na indústria de couro e fabricação de tintas, demonstrando sua importância não só no campo da fitoterapia, mas também como fonte de taninos para abastecimento de curtumes e matéria-prima para indústrias de tintas (RIZZINI; MORS, 1976).

No processo de cura de feridas, queimaduras e inflamações os taninos formam uma camada protetora sobre a mucosa ou tecido lesado, através do complexo tanino-proteína e/ou polissacarídeos. Na úlcera gástrica, provavelmente ocorre um processo similar, onde a camada protege a mucosa gástrica. Existem três propriedades gerais dos taninos que são responsáveis pela maior parte das atividades farmacológicas destas substâncias: a formação de complexos com íons metálicos (ferro, alumínio, cálcio, cobre, entre outros), a atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e a habilidade de formar complexos com outras moléculas tais como proteínas e polissacarídeos (HASLAM, 1996).

Um estudo feito na Universidade Federal de Pernambuco demonstrou que o Barbatimão pode reparar o tecido danificado de ratos. Essa propriedade se deve aos taninos presente na casca. Por serem adstringentes, eles eliminam a água de dentro das células, provocando uma contração das fibras, isso facilita a cicatrização e diminui as hemorragias (LIMA *et al.*, 1998).

Mello *et al.* (1999) comprovaram, em ratos, os efeitos do Barbatimão propagados popularmente. Ele comparou os efeitos do Barbatimão com o do Nebacetim, em cicatrização de feridas. Durante 21 dias, o autor mediu o diâmetro da ferida, analisou a formação de uma nova pele, novos capilares sanguíneos e o número de células de defesa. O autor concluiu que o Barbatimão foi mais eficiente que o Nebacetim®* em todos os aspectos analisados.

Martins e Alves (2003) estudaram os aspectos macroscópicos e histopatológicos da cicatrização de feridas frente à utilização de fitoterápicos. Neste estudo ele utilizou o Barbatimão, a Calêndula e o Confrey. Ao final da pesquisa, concluiu que o Barbatimão apresenta efeito benéfico no processo de fibroplasia, reparação e retração da ferida, apresentou ação antibacteriana e mostrou-se superior a todos os demais grupos de tratamento na comparação dos fitoterápicos.

Segundo Coutinho *et al.* (2004), o Barbatimão é uma planta promissora, uma vez que apresenta atividade cicatrizante, antiinflamatória, hemostática, anti-séptica, anti-diarreica e anti-edematogênica e tem sido bastante utilizado no tratamento de úlceras e hemorragias.

Também foi estudada a atividade antinociceptiva do extrato bruto de Barbatimão, os resultados sugerem que o extrato de Barbatimão apresenta efeito antinociceptivo por mecanismos periféricos (MELO *et al.*, 2007). Também encontra-se descrito na literatura outras atividades para esta espécie como tripanocida (HERZOG-SOARES *et al.*, 2002) e antiinflamatória (FALCÃO *et al.*, 2005).

Souza *et al.* (2007) avaliaram a atividade anti-séptica e antimicrobiana do extrato seco do Barbatimão, frente a duas bactérias gram-positivas e uma gram-negativa. Os resultados foram positivos para *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*, assim como a atividade anti-séptica.

A atividade antibacteriana do Barbatimão também foi estudada para verificar seu potencial na prevenção de cárie dentária. Diante dos resultados obtidos, o autor acredita que o potencial antibacteriano do extrato de Barbatimão pode ser usado para prevenção de cárie dentária, necessitando de mais estudos na área (SOARES, 2008).

* Nebacetin® - Nycomed Pharma.

3 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Estudar o efeito da Sulfadiazina de prata, extrato de Ipê-roxo e extrato de Barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas, em ratos.

Objetivo Específico

Estudo morfológico comparativo do efeito da Sulfadiazina de prata, extrato de Ipê-roxo e extrato de Barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas confeccionadas sob hipertensão venosa.

4 METODOLOGIA

4.1 Amostra

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) da cidade de Campo Grande-MS, protocolo nº 142/2007.

Foram utilizados noventa e seis ratos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem *Wistar*, machos, adultos, com peso variando entre 250 e 300 gramas, provenientes do Biotério da UFMS. Esses animais passaram por um período de adaptação de sete dias no Laboratório de Cirurgia Experimental da UFMS, quando foram submetidos ao experimento.

Os ratos foram alojados em grupo de 4 animais por gaiola de plástico e receberam ração própria para a espécie com água à vontade. Permaneceram à luz natural e temperatura sempre estável mantida por ar condicionado.

Todos os animais foram submetidos à ligadura da veia femoral direita. Após 30 dias foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos e três subgrupos (figura 5).

- Grupo S - aplicação tópica da pomada de Sulfadiazina de prata a 1% durante todo o experimento, a partir da confecção da ferida.
- Grupo B - aplicação tópica da pomada de Barbatimão a 10% durante todo o experimento, a partir da confecção da ferida.
- Grupo IR - aplicação tópica da pomada de Ipê-roxo a 10% durante todo o experimento, a partir da confecção da ferida.
- Grupo C - aplicação tópica de solução salina a 0,9% durante todo o experimento, a partir da confecção da ferida.

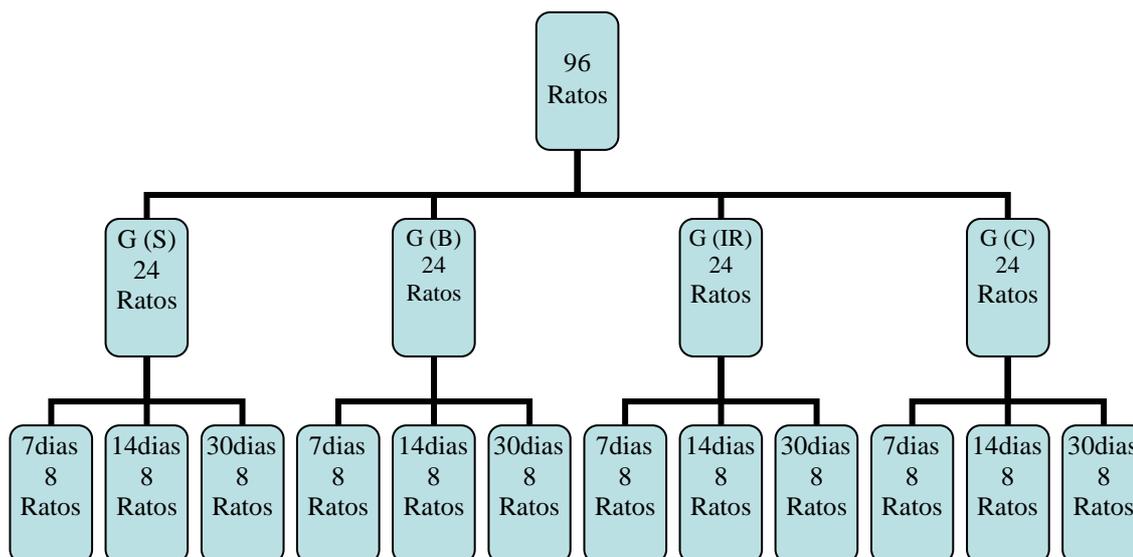


Figura 5 - Fluxograma da distribuição dos animais em diferentes grupos do experimento.

4.2. Procedimentos

4.2.1. Obtenção do extrato bruto da casca de Ipê-roxo e de Barbatimão

Foi realizada a coleta de fragmentos da casca do Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) e de Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), no município de Três Lagoas – MS, segundo os seguintes critérios: os fragmentos de casca foram em número de dois, por exemplar vegetal, com 10 x 30 cm cada com profundidade suficiente para atingir o lenho.

Todo o processo para obtenção dos extratos foi realizado no Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Mato Grosso do Sul (LACEN) da cidade de Campo Grande, divisão de Bromatologia e Química, setor de Toxicologia.

O material foi submetido à secagem em estufa de ar circulante, à temperatura de 60°C sendo em seguida pulverizado em moinho de facas.

A solução aquosa de Ipê-roxo e de Barbatimão foi extraída a quente. A solução foi preparada utilizando-se um recipiente com 20 gramas de casca e 150ml de água filtrada permanecendo em ebulição por 50 minutos (QUER, 1976)(figura 6).



Figura 6 - Fotografia do extrato de Barbatimão (A) e extrato de Ipê-roxo (B).

Após a obtenção dos extratos, foi confeccionada uma pomada de cada um dos extratos. Todo processo para manipulação das pomadas foi realizado na farmácia de manipulação*, Campo Grande – MS.

A pomada de Barbatimão a 10% foi preparada pela mistura de 60g de pomada base (Vaselina sólida) e 6ml de extrato de Barbatimão e a pomada de Ipê-roxo a 10% foi preparada pela mistura de 60g de pomada base (Vaselina sólida) e 6mL de extrato de Ipê-roxo, e conservadas à temperatura ambiente de 22°C (SILVA, 2006).

A pomada de Sulfadiazina de prata a 1%** utilizada contém em cada 1g: 10 mg de Sulfadiazina de prata micronizada e excipientes (Álcool cetosteárico, estearil éter, álcool oleílico etoxilado, metilparabeno, propilparabeno, vaselina, propilenoglicol, água deionizada). Foi conservada em temperatura ambiente de 22°C.

4.2.2 Ato operatório

Ligadura da veia femoral

* VITAE FARMA – Farmácia de Manipulação, Campo Grande – MS.

** Dermazine® – Silvestre Labs Química e Farmacêutica Ltda.

No momento do experimento os animais foram pesados e em seguida anestesiados com ketamina* na dose de 50 mg/Kg e xilazina** na dose de 50 mg/Kg, via intramuscular, para realização de uma ligadura da veia femoral direita de todos os ratos.

Após anestesiados, foi realizada a perimetria crural direita e esquerda imediatamente antes do procedimento operatório. O ponto de medida foi a 1 cm da borda superior da patela. Os valores obtidos foram anotados em protocolo de pesquisa (figura 7). Os animais foram submetidos à epilação da região inguinal direita e a anti-sepsia da região com solução de álcool iodado a 2%***.

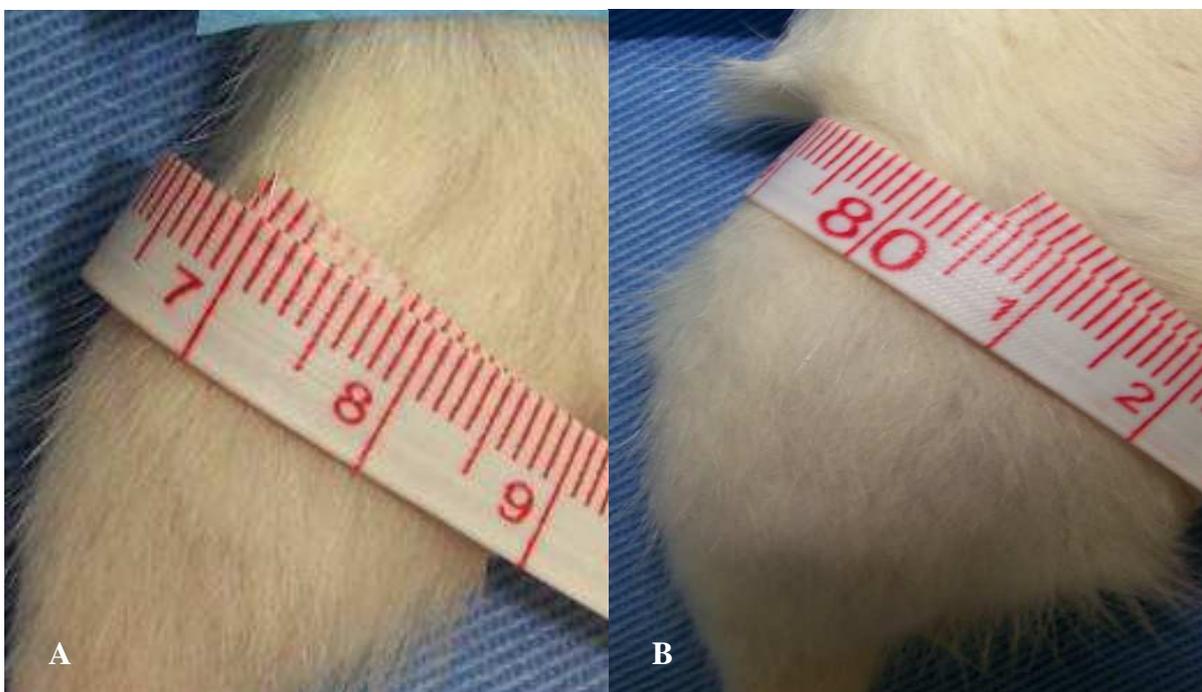


Figura 7 - Fotografia mostrando a perimetria da região crural realizada antes (A) e após (B) a ligadura da veia femoral.

A cirurgia para acesso ao tronco da veia femoral foi realizada por meio de incisão transversa da pele, de 2 cm de comprimento com lâmina nº 15 de bisturi frio, na região inguinal e abertura por planos até a localização da veia. A veia foi isolada e realizada dupla ligadura com secção entre elas, utilizando fio de poliamida 4-0 (figuras 8 e 9). Ao final do procedimento, foi feita síntese por planos com fio de poliamida 4-0. Em seguida os animais foram recolocados em suas gaiolas.

* Ketamina® - Holiday.

** Xylazina® - Rompun, Bayer.

*** Álcool Iodado solução 2% - Haloquímica - Indústria e Comércio de Produtos Químicos.

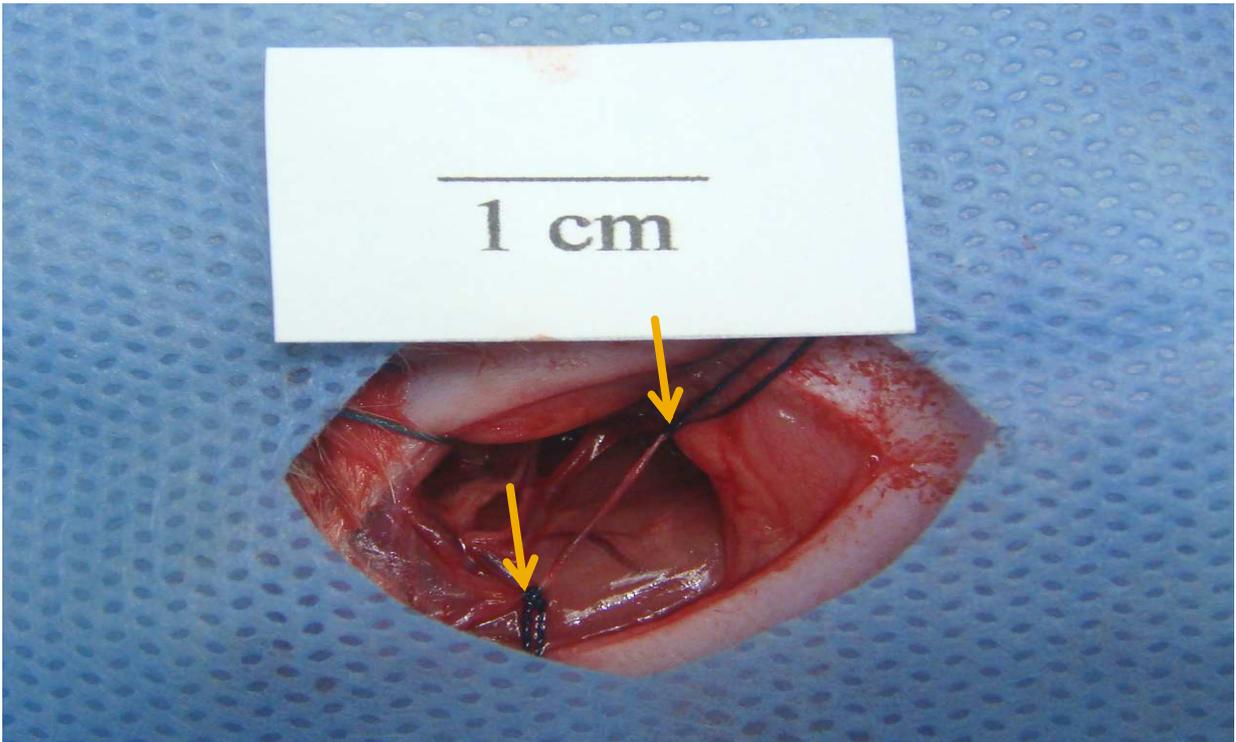


Figura 8 - Fotografia ilustrando a dupla ligadura realizada na veia femoral.

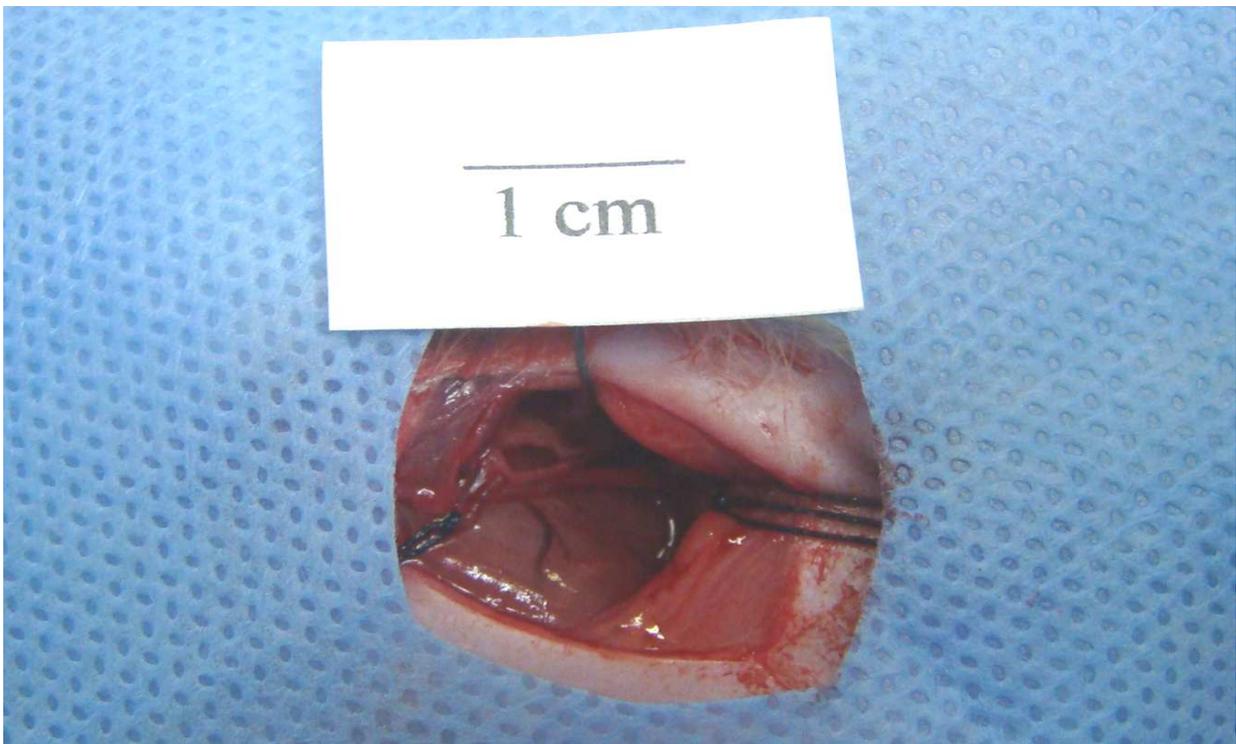


Figura 9 - Fotografia ilustrando a secção da veia femoral após a realização da dupla ligadura.

Confecção da ferida cutânea

Após trinta dias, foi realizada nova perimetria respeitando os parâmetros estabelecidos anteriormente (figura 7), os dados foram anotados e criou-se uma tabela (Anexo A) onde se confirmou o aumento significativo de volume entre o membro direito e esquerdo, após a ligadura da veia femoral, segundo modelo descrito por Bergan *et al.* (2008).

Os animais foram novamente pesados e sorteados para determinar a que grupo cada animal pertenceria, recebendo identificações individuais.

Os ratos foram anestesiados, seguindo o procedimento anestésico descrito anteriormente. Após anestesiados, os animais foram posicionados em decúbito dorsal e foram imobilizados em prancha de madeira, com contenção dos membros por tensores elásticos e submetidos a epilação da face medial do membro posterior direito. Foi feita a anti-sepsia da região com solução de álcool iodado a 2%.

Para a confecção da ferida, utilizou-se um *punch* metálico (figura 11). Com este instrumento, foi excisado fragmento cutâneo de 1,5 cm de diâmetro, no centro da área epilada, na face medial do membro posterior direito até a exposição da fáscia muscular (figura 12). A hemostasia foi realizada por compressão digital, por dois minutos, utilizando gaze esterilizada.

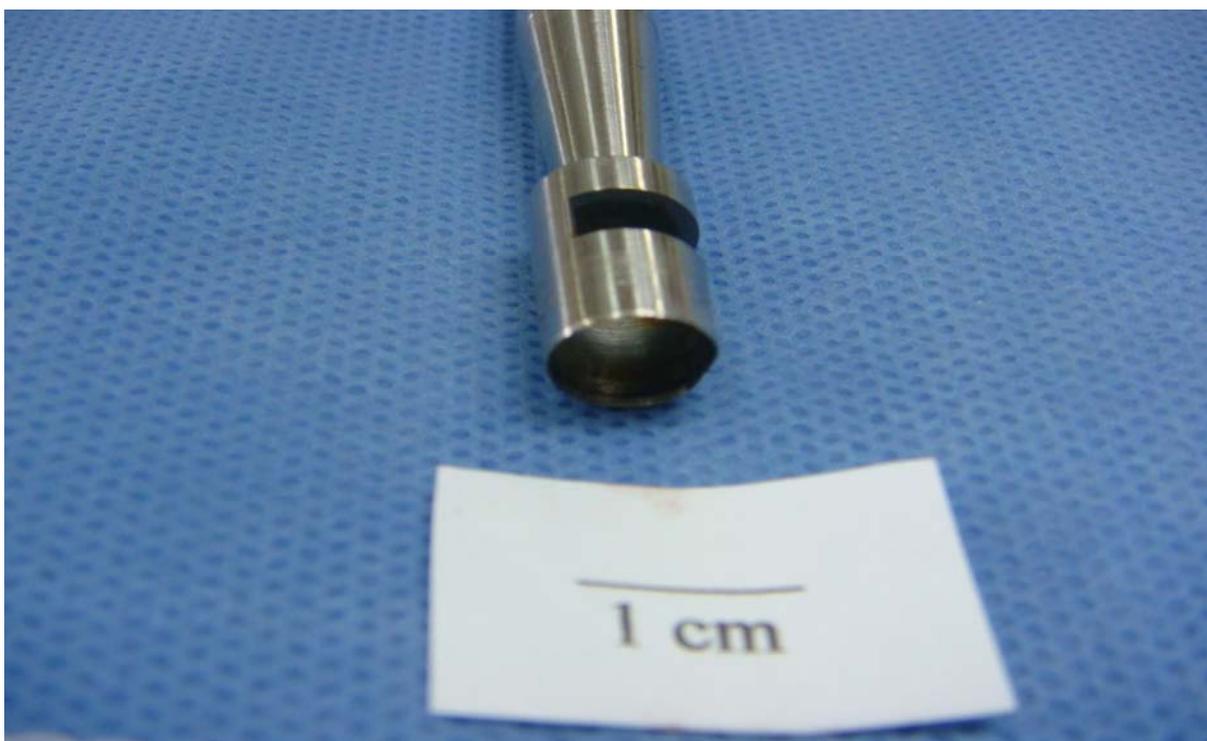


Figura 10- Fotografia do *punch* metálico utilizado para excisão do fragmento cutâneo.



Figura 11 - Fotografia da ferida cutânea confeccionada com punch metálico.

Após o ato operatório, todos os animais receberam aplicação tópica sobre a ferida como descrito a seguir:

- Grupo S – limpeza mecânica com 1ml de solução salina a 0,9% e aplicação manual da pomada de Sulfadiazina de prata a 1%, com o auxílio de espátula descartável, o suficiente para cobrir totalmente a ferida, diariamente, durante sete, quatorze e trinta dias.
- Grupo B – limpeza mecânica com 1ml de solução salina a 0,9% e aplicação manual da pomada de Barbatimão a 10%, com o auxílio de espátula descartável, o suficiente para cobrir totalmente a ferida, diariamente, durante sete, quatorze e trinta dias.
- Grupo IR – limpeza mecânica com 1ml de solução salina a 0,9% e aplicação manual da pomada de Ipê-roxo a 10%, com o auxílio de espátula descartável, o suficiente para cobrir totalmente a ferida, diariamente, durante sete, quatorze e trinta dias.
- Grupo C – limpeza mecânica com 1ml de solução salina a 0,9%, na ferida, diariamente, durante sete, quatorze e trinta dias.

Os animais foram recondicionados nas gaiolas e identificados com o número do animal e do grupo que pertenciam.

Os animais apresentaram as feridas limpas sem alterações evidentes e não ocorreu nenhum óbito. Não foram observados sinais de auto-agressão ou de mordedura de outros animais sobre a área da lesão. A manipulação dos animais foi a mesma em todos os grupos e não produziu estresse que interferisse no processo de cicatrização.

As feridas foram observadas diariamente. Durante o estudo, não ocorreu nenhum episódio de hemorragia, apenas sangramentos inerentes aos procedimentos cirúrgicos, controlados somente por compressão com gazes.

Dado os períodos de avaliação, foi realizada a eutanásia. Para eutanásia, os animais foram anestesiados, segundo os critérios já estabelecidos e depois colocados em uma câmara de gás conectada a fonte de dióxido de carbono (CO₂). A câmara recebeu pré-carga de gás por 30 segundos, logo após colocou-se o animal e permaneceu com a válvula do cilindro de CO₂ aberta por 60 segundos, esperou de 3 a 5 minutos, até a ausência dos sinais vitais (figura 13).



Figura 12 - Fotografia da câmara de gás conectada ao cilindro de CO₂.

4.2.3 Análise macroscópica

Na análise macroscópica das feridas operatórias, foram verificadas a ocorrência de hemorragia (sim ou não), presença de secreção (sim ou não) e epitelização (completa, parcial ou ausente).

4.2.4 Análise histológica

Logo após a eutanásia, a peça cirúrgica foi retirada utilizando bisturi com lâmina nº 15 e encaminhada para processamento histológico. Constituiu-se de cicatriz ou lesão cutânea, com margem de 1 cm de pele em torno da lesão, com profundidade até a musculatura do animal. Cada peça foi identificada, fixada em isopor e colocada em solução de formalina a 10%. Foram incluídas em parafina, submetidas a cortes transversais e coradas pelo método de hematoxilina-eosina.

Nas observações de microscopia óptica, foram avaliados os seguintes parâmetros: proliferação vascular, células inflamatórias (neutrófilos e linfócitos), fibroblastos, fibras colágenas e epitelização. Para tal foram atribuídas três graduações pelo método de cruces: 0 ausente, + moderada e ++ acentuada. Para a epitelização: 0 ausente, + parcial e ++ completa, seguindo as instruções de SANTOS *et al.* (2002) e SILVA (2006), e depois representados por escore 0, 1, 2, respectivamente. Foram realizadas microfotografias usando-se câmera digital acoplada (Evolution LC, Media Cybernetics, USA).

4.2.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados utilizando o programa BioEstat versão 5.0. Para verificar se havia diferença da perimetria das coxas direita e esquerda antes e após 30 dias do procedimento cirúrgico foi utilizado o Teste *t* para amostras pareadas. Para comparação dos resultados entre os grupos - Sulfadiazina de Prata (S), Extrato aquoso de Barbatimão (B), Extrato hidroalcoólico do Ipê-roxo (IR) e grupo controle (C), e entre os períodos decorridos da cirurgia - 7, 14 e 30 dias em cada grupo, foi utilizado o teste Kruskal Wallis, e a posteriori quando necessário, o teste de Student Newman Keuls. O nível de significância adotado foi de 5%.

5 RESULTADOS

Análise macroscópica

Os achados macroscópicos mostraram epitelização completa aos 14 dias em todos os animais dos grupos S, IR e B, enquanto neste período, apenas 6 animais do grupo controle apresentavam as feridas parcialmente epitelizadas, no 30º dia de avaliação o grupo controle apresentava 2 animais com epitelização completa e 6 com as feridas parcialmente epitelizadas. Não foi observada hemorragias nem presença de secreções purulentas nos grupos de estudo.

Análise histológica

Tabela 1 – Escores da presença de epitelização na cicatrização de ferida cutâneas, nos grupos em estudo, durante o período de 7, 14 e 30 dias.

Escore	7 dias				14 dias				30 dias			
	S7	B7	IR7	C7	S14	B14	IR14	C14	S30	B30	IR30	C30
0 (0 = ausente)	6	5	3	6	0	0	0	2	0	0	0	0
+ (1 = parcial)	2	3	5	2	0	0	0	6	0	0	0	6
++ (2 = completa)	0	0	0	0	8	8	8	0	8	8	8	2
Total de animais	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Média dos escores	0,3	0,4	0,6	0,3	^a 2,0	^a 2,0	^a 2,0	^b 0,8	^a 2,0	^a 2,0	^a 2,0	^b 1,3
p	0,512				<0,001				<0,001			

Nota: Teste de Kruskal Wallis seguido de Student-Newman-Keuls. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa : ^{a, b} comparação entre grupos (S, B, IR e C); ^{c, d, f} comparação entre os períodos (7, 14 e 30 dias).

^cS7 x ^dS14 x ^eS30: p-valor = <0,001

^cB7 x ^dB14 x ^eB30: p-valor = <0,001

^cIR7 x ^dIR14 x ^eIR30: p-valor = <0,001

^cC7 x ^dC14 x ^fC30: p-valor = 0,002

Tabela 2 – Escores da presença de neutrófilos na cicatrização de feridas cutâneas, nos grupos em estudo, durante o período de 7, 14 e 30 dias.

Escore	7 dias				14 dias				30 dias			
	S7	B7	IR7	C7	S14	B14	IR14	C14	S30	B30	IR30	C30
0 (0 = ausente)	0	0	0	0	6	5	8	0	8	8	8	0
+ (1 = moderada)	0	0	1	0	2	3	0	3	0	0	0	6
++(2 = acentuada)	8	8	7	8	0	0	0	5	0	0	0	2
Total de animais	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Média dos escores	2,0	2,0	1,9	2,0	^a 0,3	^a 0,4	^a 0,0	^b 1,6	^a 0,0	^a 0,0	^a 0,0	^b 1,3
p	0,392				0,001				<0,001			

Nota: Teste de Kruskal Wallis seguido de Student-Newman-Keuls. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa : ^{a, b} comparação entre grupos (S, B, IR e C); ^{c, d} comparação entre os períodos (7, 14 e 30 dias).

^cS7 x ^dS14 x ^dS30: p-valor = <0,001

^cB7 x ^dB14 x ^dB30: p-valor = <0,001

^cIR7 x ^dIR14 x ^dIR30: p-valor = <0,001

^cC7 x ^dC14 x ^dC30: p-valor = 0,010

Tabela 3 – Escores da presença de linfócitos na cicatrização de feridas cutâneas, nos grupos em estudo, durante o período de 7, 14 e 30 dias.

Escore	7 dias				14 dias				30 dias			
	S7	B7	IR7	C7	S14	B14	IR14	C14	S30	B30	IR30	C30
0 (0 = ausente)	0	0	0	0	3	0	0	0	8	8	8	1
+ (1 = moderada)	8	7	8	7	5	7	7	3	0	0	0	5
++(2 = acentuada)	0	1	0	1	0	1	1	5	0	0	0	2
Total de animais	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Média dos escores	1,0	1,1	1,0	1,1	^a 0,6	1,1	1,1	^b 1,6	^a 0,0	^a 0,0	^a 0,0	^b 1,1
p	0,559				0,005				0,004			

Nota: Teste de Kruskal Wallis seguido de Student-Newman-Keuls. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa : ^{a, b} comparação entre grupos (S, B, IR e C); ^{c, d, e} comparação entre os períodos (7, 14 e 30 dias).

^cS7 x ^dS14 x ^eS30: p-valor = <0,001

^cB7 x ^cB14 x ^dB30: p-valor = <0,001

^cIR7 x ^cIR14 x ^dIR30: p-valor = <0,001

C7 x C14 x C30: p-valor = 0,103

Tabela 4 – Escores da presença de neovasos na cicatrização de feridas cutâneas, nos grupos em estudo, durante o período de 7, 14 e 30 dias.

Escore	7 dias				14 dias				30 dias			
	S7	B7	IR7	C7	S14	B14	IR14	C14	S30	B30	IR30	C30
0 (0 = ausente)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	7	0	4
+(1= moderada)	0	0	1	7	8	8	7	5	7	1	8	4
++(2=acentuada)	8	8	7	1	0	0	0	3	0	0	0	0
Total de animais	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Média dos escores	^a 2,0	^a 2,0	^a 1,9	^b 1,1	1,0	1,0	^a 0,9	^b 1,4	^a 0,9	^b 0,1	^a 1,0	^c 0,5
p	<0,001				0,023				<0,001			

Nota: Teste de Kruskal Wallis seguido de Student-Newman-Keuls. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa : ^{a, b, c} comparação entre grupos (S, B, IR e C); ^{d, e, f} comparação entre os períodos (7, 14 e 30 dias).

^dS7 x ^eS14 x ^eS30: *p*-valor = <0,001

^dB7 x ^eB14 x ^fB30: *p*-valor = <0,001

^dIR7 x ^eIR14 x ^eIR30: *p*-valor = <0,001

^dC7 x ^dC14 x ^eC30: *p*-valor = 0,010

Tabela 5 – Escores da presença de fibroblastos na cicatrização de feridas cutâneas, nos grupos em estudo, durante o período de 7, 14 e 30 dias.

Escore	7 dias				14 dias				30 dias			
	S7	B7	IR7	C7	S14	B14	IR14	C14	S30	B30	IR30	C30
0 (0 = ausente)	0	0	0	0	2	0	0	0	7	5	6	2
+(1= moderada)	0	0	0	7	6	8	8	5	1	3	2	3
++(2=acentuada)	8	8	8	1	0	0	0	3	0	0	0	3
Total de animais	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Média dos escores	^a 2,0	^a 2,0	^a 2,0	^b 1,1	0,8	1,0	1,0	0,6	^a 0,1	^a 0,4	^a 0,3	^b 1,1
p	<0,001				0,105				0,007			

Nota: Teste de Kruskal Wallis seguido de Student-Newman-Keuls. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa : ^{a, b} comparação entre grupos (S, B, IR e C); ^{c, d, e} comparação entre os períodos (7, 14 e 30 dias).

^cS7 x ^dS14 x ^eS30: *p*-valor = <0,001

^cB7 x ^dB14 x ^eB30: *p*-valor = <0,001

^cIR7 x ^dIR14 x ^eIR30: *p*-valor = <0,001

C7 x C14 x C30: *p*-valor = 0,185

Tabela 6 – Escores da presença de colágeno na cicatrização de feridas cutâneas, nos grupos em estudo, durante o período de 7, 14 e 30 dias.

Escore	7 dias				14 dias				30 dias			
	S7	B7	IR7	C7	S14	B14	IR14	C14	S30	B30	IR30	C30
0 (0 = ausente)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
+ (1 = moderada)	8	7	8	8	3	1	1	5	0	0	0	5
++ (2 = acentuada)	0	0	0	0	5	7	7	3	8	8	8	3
Total de animais	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Média dos escores	1,0	0,9	1,0	1,0	1,6	1,9	1,9	1,4	^a 2,0	^a 2,0	^a 2,0	^b 1,4
p	0,392				0,102				<0,001			

Nota: Teste de Kruskal Wallis seguido de Student-Newman-Keuls. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa : ^{a, b} comparação entre grupos (S, B, IR e C); ^{c, d} comparação entre os períodos (7, 14 e 30 dias).

^cS7 x ^dS14 x ^dS30: p-valor = <0,001

^cB7 x ^dB14 x ^dB30: p-valor = <0,001

^cIR7 x ^dIR14 x ^dIR30: p-valor = <0,001

C7 x C14 x C30: p-valor = 0,141

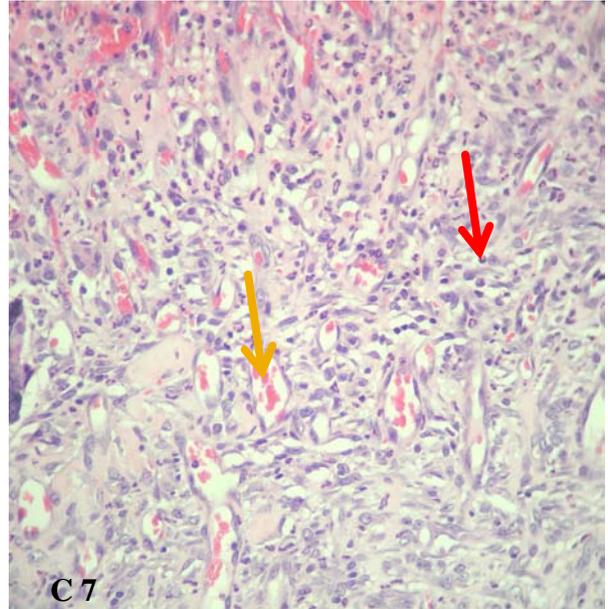
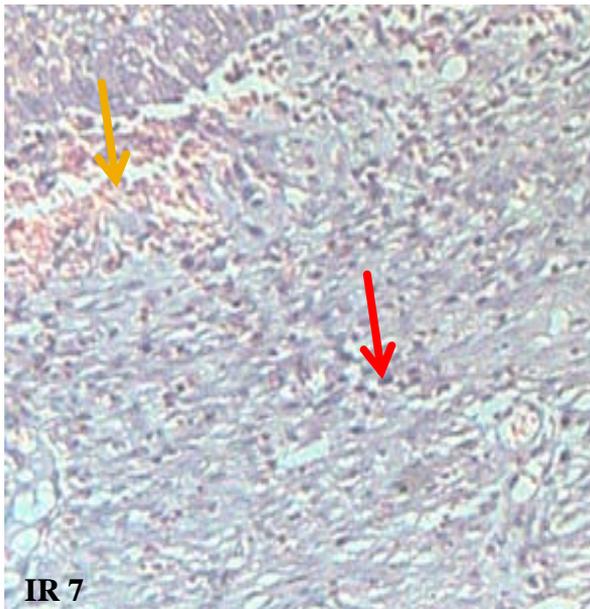
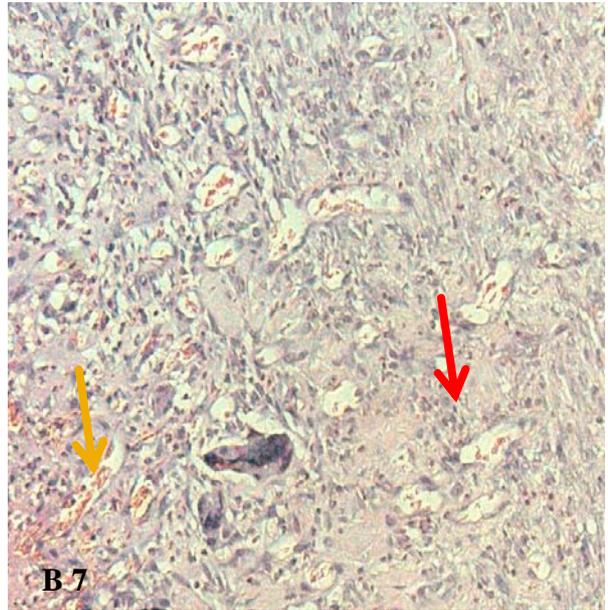
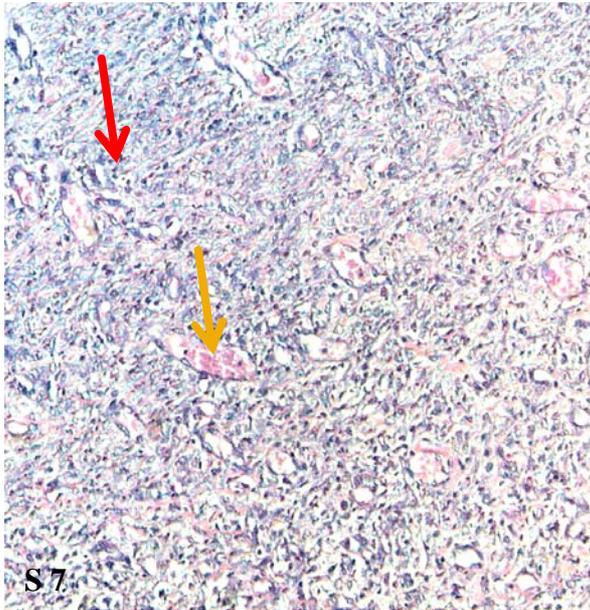


Figura 13 - Fotomicrografia dos animais dos grupos S, B IR e C no 7º dia de avaliação, mostrando o predomínio de células inflamatórias (setas vermelhas) e neovascularização (setas amarelas). Aumento 20x, M.O, coração H.E.

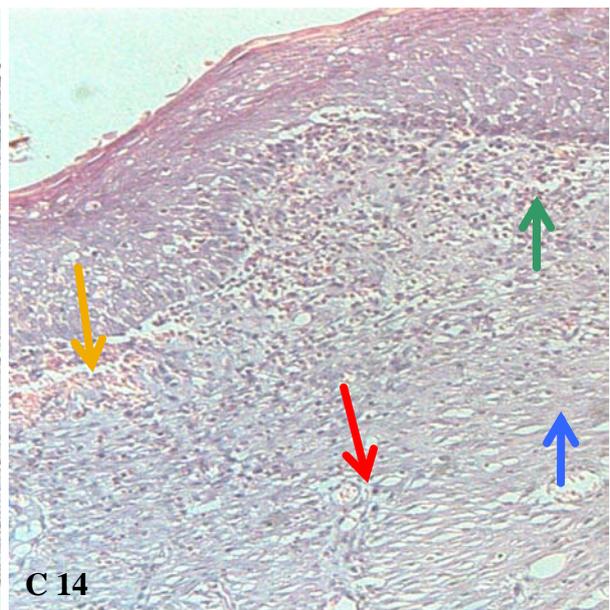
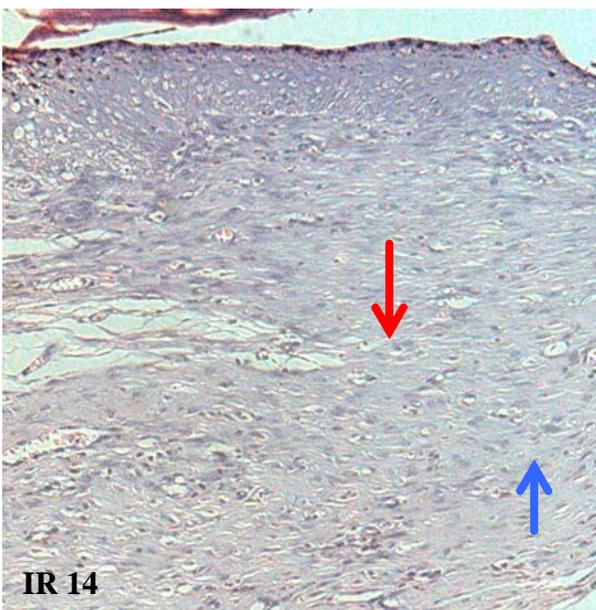
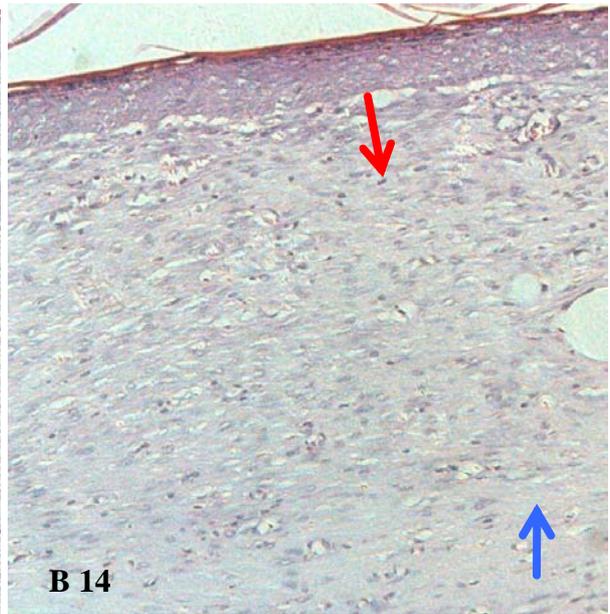
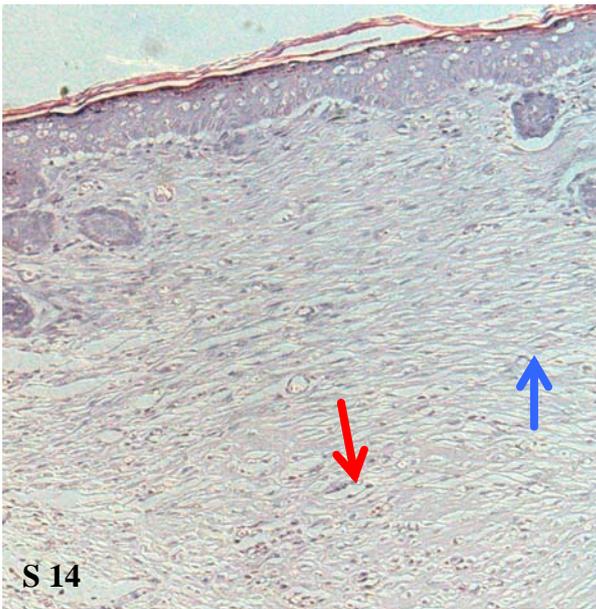


Figura 14 - Fotomicrografia do 14º dia de avaliação, mostrando fibroblastos (seta vermelha) e colágeno (seta azul), nos animais dos grupos S, B, IR e C. No grupo C presença de neovasos (seta amarela) e neutrófilos (seta verde). Aumento 20x, M.O, coloração H.E.

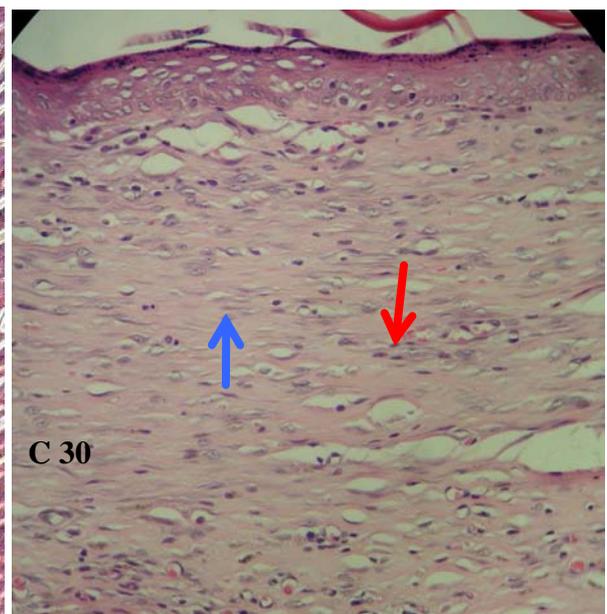
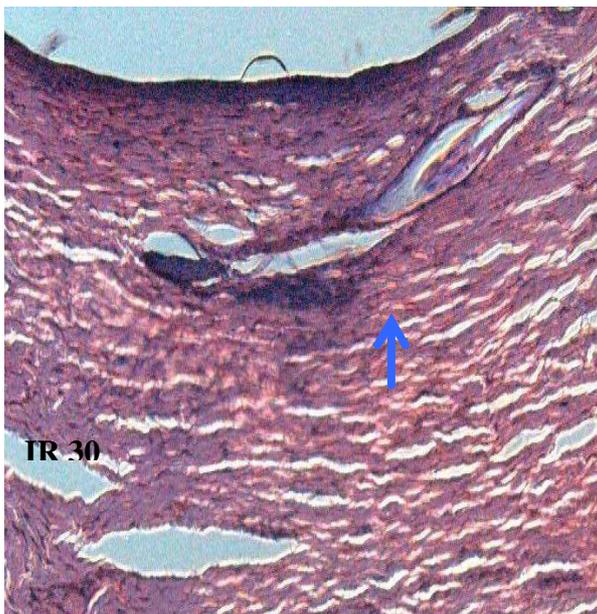
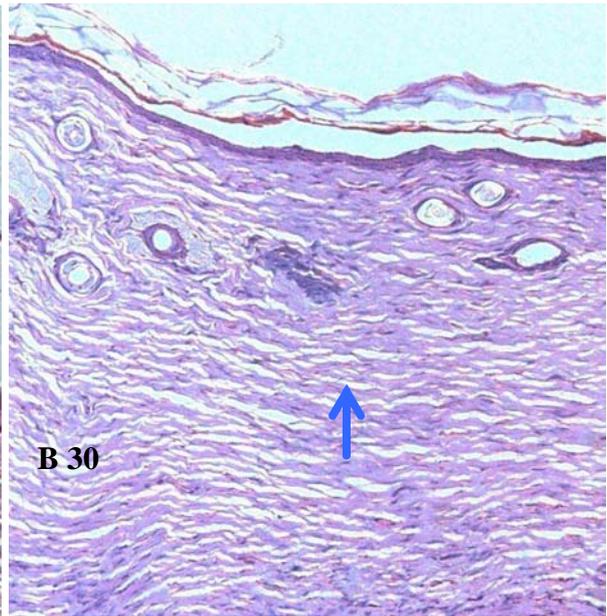


Figura 15 - Fotomicrografia do 30º dia de avaliação mostrando o predomínio de fibras colágenas (seta azul) nos grupos S, B e IR. No grupo C, presença de fibroblastos (seta vermelha) e fibras colágenas (seta azul). Aumento 20x, M.O, coloração H.E.

6 DISCUSSÃO

O rato foi o animal escolhido para este estudo por ser utilizado rotineiramente como modelo experimental do estudo da cicatrização e teste de drogas na pele em muitas pesquisas (ALVARES, 1972; MARCHINI, 1994; EURIDES *et al.* 1998; OLIVEIRA *et al.* 2000; SANTOS *et al.*, 2006; GARROS, 2006).

Foi escolhido o *Wistar* por ser de pequeno porte, de fácil aquisição e padronização no que diz respeito à idade, peso, sexo, alojamento, alimentação, cuidados de limpeza e manipulação experimental. Ele ainda apresenta boa resistência à manipulação e agressão cirúrgica, às infecções e tem possibilidade de anestesia por via inalatória, intraperitonal, intramuscular ou intravenosa. Neste trabalho foram utilizados todos machos e adultos, para evitar a interferência das variações estrais de fêmeas que poderiam interferir no mecanismo de reparação tecidual (SANTOS *et al.*, 2002)

O procedimento anestésico foi feito por meio da combinação de quetamina e xilazina, por via intramuscular. Esta combinação é uma das mais utilizadas em animais de pequeno porte porque mantém o animal em plano anestésico de 40 a 60 minutos, com possibilidade de reforço da dose, caso prolongue o tempo cirúrgico (MASSONE, 1988; OLIVEIRA *et al.*, 2000).

A ligadura da veia femoral foi realizada seguindo o método descrito por Bergan *et al.* (2008). Este modelo animal também foi descrito por outros autores que utilizaram a ligadura de grandes veias para confeccionar um modelo que contribuísse para estudos que necessitavam de alteração da circulação (BERGULA *et al.*, 1999; HAHN *et al.*, 1999; HAFNER, 1997; MACK *et al.*, 1998; HAHN *et al.*, 2000). Esta alteração foi confirmada neste experimento por meio da perimetria crural realizada antes e depois da ligadura da veia femoral.

A diferença significativa observada na perimetria crural dos membros posteriores demonstrou que houve aumento de volume no membro submetido à LVF e que segundo Depalma e Bergan (1995) o edema é primeiro sinal de hipertensão venosa, confirmando assim o modelo descrito por Bergan *et al.* (2008) e outros autores.

Neste estudo, a lesão cutânea padronizada foi confeccionada utilizando “*punch*” metálico circular que permite a extração de fragmento tecidual cutâneo

mantendo a integridade da camada muscular subjacente e a hemostasia por compressão digital com gazes esterilizadas. Estes procedimentos também foram utilizados e considerados eficazes por Amorim *et al.* (2006) e Garros *et al.* (2006).

A eutanásia foi realizada pela câmara de gás conectada a uma fonte de CO₂, sob anestesia, pois pode ser aplicada a um grande número de animais e é relativamente inócuo quando liberado no meio ambiente, é barato, não é inflamável, não é explosivo e quando bem manuseado não constitui risco para o operador e observadores. A inalação do mesmo produz narcose sem recuperação da consciência (OLIVEIRA, 2002).

Para análise dos dados utilizou-se estudo histológico, que constou de lâminas coradas por hematoxilina-eosina, nas quais pôde-se avaliar a epitelização, processo inflamatório, neovascularização, fibroblastos e colágeno, como descrito por Silva (2006), Garros *et al.* (2006) e Amorim *et al.* (2006).

A Sulfadiazina de prata a 1% é um medicamento convencional utilizado para o tratamento de úlceras cutâneas, tendo sua eficácia bem estabelecida na literatura, e na prática clínica atual (RAGONHA *et al.*, 2005; FERREIRA *et al.*, 2003; ABDALA; DADALTI, 2003). Após a verificação de trabalhos onde a Sulfadiazina de prata apresenta resultados superiores aos dos grupos onde não se realizavam nenhum tratamento tópico sobre as feridas, foi estabelecido que neste estudo a análise dos efeitos dos extratos de Barbatimão e de Ipê-roxo seriam comparados com os da Sulfadiazina de prata.

Diversos estudos demonstraram os benefícios da Sulfadiazina de prata na terapia tópica de feridas de diversas etiologias, desde as úlceras venosas, até as úlceras de decúbito, passando por penfigóide bolhoso e infecções do cordão umbilical, além de leitos doadores de enxertia (BISHOP *et al.*, 1992; HINDRYCKX *et al.*, 1990; KUCAN *et al.*, 1981; WARD; SAFFLE, 1995; MENEZES; SILVA, 2000; STRITZINGER, 2000). Nas queimaduras, esta droga é utilizada há mais de trinta anos (CARROUGHER, 1998; MENEZES; SILVA, 2000).

Os mecanismos de ação relacionados ao sucesso terapêutico da Sulfadiazina de prata estão muito além dos seus efeitos antimicrobianos, como atividade antiinflamatória e aceleração da epitelização (MELOTTE *et al.*, 1985; NÉIZEM *et al.*, 1991). A atividade bacteriostática desta substância tem sido amplamente investigada, devendo-se ressaltar a sua ação contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, além de outras bactérias.

Em 1992, Bishop *et al*, realizaram um estudo prospectivo duplo-cego em pacientes com úlceras venosas com níveis bacterianos comparáveis e demonstraram que a Sulfadiazina de prata a 1 % reduziu de forma estatisticamente significativa o tamanho das úlceras. Tais autores associaram a eficácia desta droga a um favorecimento da replicação de queratinócitos e a propriedades antiinflamatórias da substância.

Em estudo anterior, Geronemus *et al.* (1979) já haviam descrito um efeito da Sulfadiazina de Prata a 1% em aumentar a taxa de epitelização de feridas limpas em 28%. Kjolseth *et al.* (1994) compararam os efeitos in vivo de seis agentes tópicos frequentemente utilizados em úlceras (Bacitracina, Hipoclorito de sódio, Nitrato de prata, Sulfadiazina de prata, Acetato de mafenide, e Povidona-iodo) e demonstraram que a Sulfadiazina de prata foi a responsável pela mais rápida taxa de epitelização, além de ter sido um dos principais agentes promotores de neovascularização.

Os extratos de Barbatimão e Ipê-roxo já foram utilizados em estudos experimentais de cicatrização de feridas cutâneas, onde comprovaram seus efeitos como antiinflamatório e antimicrobiano (SILVA, 2006; ORLANDO, 2005), no entanto, não foram encontrados trabalhos testando estes ativos em modelo de hipertensão venosa.

O Barbatimão apresenta efeito adstringente que contém como princípios ativos o tanino, os flobafenos e um glicídio solúvel, sendo que a sua ação farmacológica como cicatrizante de feridas e de úlceras se deve, principalmente, à riqueza de taninos (ARDISSON *et al.*, 2002). As propriedades adstringentes do Barbatimão permitem que as proteínas das células superficiais da mucosa e dos tecidos lesados desprotegidos se precipitem, formando um revestimento protetor contra a multiplicação bacteriana, promovendo uma ação antisséptica (COSTA, 1986; MELLO, 1998).

Martins e Alves (2003) realizaram um estudo comparando os efeitos do Barbatimão com outros fitoterápicos, a Calêndula (*Calendula officinalis*) e Confrey (*Symphytum officinale*). Foi analisado o processo inflamatório, fibroplasia, reparação e retração da ferida. Após os resultados concluíram que o Barbatimão apresenta efeito benéfico no processo de fibroplasia, reparação e retração da ferida, que tanto o Barbatimão como a Calêndula favorecem a epitelização, porém, o primeiro com vantagens sobre o segundo, quando considerado o tecido de granulação subjacente ao epitélio, com redução da vascularização e ausência de edema,

presente nos demais grupos. O Barbatimão e a Calêndula demonstram ação antibacteriana, porém o Barbatimão demonstrou-se superior ao demais grupos de tratamento na comparação dos fitoterápicos, em todos aspectos analisados.

O Ipê-roxo possui propriedade adstringente, antibacteriana, antimicótica, antiviral, antiparasitária, antioxidante, antialérgica, antiinflamatória, analgésica e cicatrizante (PANIZZA, 1997; LORENZI e MATOS, 2002; CARVALHO; ALMANÇA, 2003).

Miranda *et al.* (2001) demonstraram que o extrato aquoso do Ipê-roxo apresenta ação antinociceptiva e antiedematogênica. Observaram que o efeito foi dose-dependente; onde o extrato administrado via oral, na dose de 200 mg/Kg inibiu o edema da pata de rato induzida por carragenina, de modo semelhante a indometacina. Porém, quando usado na dose de 400mg/Kg não foi eficaz. Os efeitos antiedematogênico e antinociceptivo devem-se, provavelmente, a sua ação inibidora sobre os mediadores da inflamação, como bradicinina e prostaglandinas. De acordo com estes autores, nas doses utilizadas a planta demonstrou baixo perfil de toxicidade. Estes resultados validam o uso popular do Ipê-roxo como analgésico e antiinflamatório. Quanto à atividade antimicrobiana, os estudos revelam o efeito de extratos de Ipê-roxo na inibição do crescimento de muitas bactérias gram-positivas e algumas bactérias gram-negativas (ANESINI e PEREZ, 1993; MACHADO *et al.*, 2003).

Utilizou-se a pomada a 10%, preparada a partir do extrato de Barbatimão e de Ipê-roxo, conforme a orientação da Associação Brasileira de Farmacêuticos Homeopatas -ABFH- (1995) que em suas normas técnicas para preparação de medicamentos, recomendam para formas farmacêuticas de uso externo a preparação a 10%, seja para creme, gel e pomada.

De acordo com Gabbiani *et al.* (1972), o processo de cicatrização das feridas abertas é diferente das fechadas, pois nas feridas abertas há perda excessiva de tecido e a cicatrização depende da granulação e contração da ferida para a aproximação das bordas, já as feridas fechadas são aquelas em que houve perda mínima de tecido e aproximação de suas bordas. Embora as reações após as lesões serem idênticas para os dois tipos, ocorrendo exsudação inflamatória, neoformação vascular, proliferação celular, migração celular e epitelização a partir das bordas.

Não foram realizados curativos permanecendo as feridas sem proteção, uma vez que o uso de curativos na superfície cutânea de ratos é de difícil adaptação e manutenção, além de provocar traumas pelo seu contato com a ferida, estimulando uma reação inflamatória adicional principalmente no grupo que não se coloca a pomada. Rahal *et al.* (2001) realizaram um estudo experimental em ratos, tratados com pomada e solução salina usando curativos, e verificaram que durante a troca dos curativos os animais necessitavam ser anestesiados e as feridas irrigadas para minimizar o trauma na remoção das gazes, pois as mesmas apresentavam-se aderidas à ferida, o que provocou o retardo na cicatrização.

A região crural foi escolhida para confecção da lesão, para que a área exposta estivesse no membro posterior onde foi realizada a ligadura da veia femoral. Quanto ao tamanho das lesões, foi utilizada medida constante, o que permitiu melhor acompanhamento da cicatrização, conforme já utilizada por outros autores, como Marchini *et al.* (1994) e Sanches Neto (1993).

Na literatura, encontram-se trabalhos em que os períodos de análise de cicatrização variaram de três a 21 dias (BRITO, 1996; MIRANDA, 2001). Aqui foram escolhidos os períodos de 7, 14 e 30 dias para analisar a cicatrização em ratos com alteração do sistema venoso, como foi realizado em nosso experimento, verificando assim a cicatrização em fase mais tardia.

A avaliação macroscópica visou observar, principalmente, presença de secreções, hemorragias e epitelização. Durante o estudo, não ocorreu nenhum episódio de hemorragia, apenas sangramentos inerentes aos procedimentos cirúrgicos, controlados somente por compressão com gazes, assim como referido por outros autores (WITTE, 1997; BRITO, 1996; MIRANDA, 2001; FACURY NETO, 2001), também não foi observada presença de secreções purulentas nos grupos do estudo.

Os achados macroscópicos mostraram epitelização completa aos 14 dias em todos os animais dos grupos S, B e IR, enquanto neste período, apenas 6 animais do grupo controle apresentavam as feridas parcialmente epitelizadas, achados semelhantes foram encontrados em estudos de diferentes fitoterápicos que favoreceram a epitelização (MARCHINI, 1994; SANCHES-NETO, 1993; MARTINS, 2003). Já no 30º dia de avaliação o grupo controle apresentava 2 animais com epitelização completa e 6 com as feridas parcialmente epitelizadas, mostrando assim um atraso na reepitezação das feridas deste grupo.

O processo de reparação tecidual apresenta várias fases com características próprias que se desenvolvem ao mesmo tempo (ROBSON; HEGGERS, 1970; SILVER, 1982; DEODHAR; RANA, 1997; RINGLER, 2000).

A retirada de fragmento de pele induz a formação de solução de continuidade que é preenchida por fibrina, coágulo e exsudado inflamatório, formando a crosta que recobre a ferida (MARCHINI, 1994; BEVILACQUA *et al.*, 1981).

Na avaliação histológica, ao analisar a epitelização entre os grupos verificou-se que no 14º e 30º dia de avaliação houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os demais, pois no 14º dia as feridas do grupo S, grupo B e grupo IR já estavam totalmente epitelizadas, enquanto o grupo controle demonstrou um atraso na epitelização. Esses achados também foram encontrados em outras publicações como por Kjolseth *et al.* (1994), onde o grupo tratado com Sulfadiazina de prata apresentou a maior taxa de epitelização e Lansdown *et al.* (1997), que evidenciaram cicatrização mais rápida em animais em que foi utilizada a Sulfadiazina de prata. Neste estudo os autores também observaram aceleração na eliminação de crostas e debris e correlacionam seus achados à redução das fases inflamatória e de formação de tecido de granulação, além de aceleração na velocidade de reparação epidérmica.

O favorecimento da epitelização nas feridas tratadas com Barbatimão foi descrito por Eurides *et al.* (1988), Martins e Alves (2003) e Mendonça *et al.* (2008), onde o Barbatimão mostrou-se mais eficaz no processo de reparação tecidual e aceleração da epitelização, quando comparado a outros fitoterápicos ou grupos que não tinham as feridas tratadas. Este efeito, possivelmente, deve-se pela ação adstringente do barbatimão. Este fenômeno de contração por substâncias adstringentes e seus efeitos positivos sobre a cicatrização, estão de acordo com Panizza *et al.* (1988) que descrevem o favorecimento da cicatrização de tecidos lesados com substâncias ricas em taninos, os quais precipitam proteínas e formam um revestimento protetor que favorece a regeneração.

Assim como a Sulfadiazina de prata e o Barbatimão, o Ipê-roxo também mostrou favorecer a epitelização, coincidindo com os achados de Silva (2006), que atribui este favorecimento à ação antioxidante do Ipê-roxo, que inibem a ação deletérica dos radicais livres evitando dano tecidual. A ação antioxidante do Ipê-roxo foi demonstrada por Park *et al.* (2003). Neste aspecto, cabe ressaltar o trabalho

de Awale *et al.* (2005) que demonstraram o efeito inibitório dos componentes do Ipê-roxo sobre a produção de óxido nítrico. Segundo os autores, a inibição da síntese de óxido nítrico é benéfica na medida em que reduz os danos teciduais provocados por esta substância, quando produzida excessivamente. Some-se a isto, a afirmativa de Weller (1997) e Atuesta (2001) de que a integridade imunológica da pele é mantida pela produção constante de óxido nítrico em baixos níveis, e que esta substância estimula a proliferação celular e a epitelização. Porém, inibe esta proliferação quando em concentração elevada. Portanto, é possível, que inibição na produção de óxido nítrico tenha contribuído para esse resultado.

Na análise da presença de neutrófilos na cicatrização das feridas nos períodos de 7, 14 e 30 dias, pode-se observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos S, B, e IR em nenhum dos períodos. Os valores observados aos 14 e 30 dias de pós-operatório foram significativamente menores que aos sete dias. Estes achados estão de acordo com os dizeres de Singer e Clark (1999) que os neutrófilos são os primeiros tipos celulares encontrados na fase aguda da inflamação, cuja principal função é a destruição bacteriana para a prevenção de infecção pós-operatória na ferida, que têm vida curta e sua degeneração ocorre de 24 a 48 horas após sua chegada no local da lesão. Já o grupo C apresentou diferença estatisticamente significativa dos demais grupos no 14º e 30º dia de avaliação, podendo observar a presença de neutrófilos em fase mais tardia da cicatrização.

Mais tardiamente, os linfócitos infiltram-se na ferida, eles provavelmente, auxiliam a cicatrização, ao secretarem citocinas que são mitógenas e quimiotáticas para fibroblastos; e ao removerem neutrófilos degenerados (STADELMANN *et al.*, 1998). Os linfócitos B não têm participação na cicatrização, entretanto os linfócitos T infiltram-se na ferida em torno do quinto dia. Sua participação no processo de reparo é mediada, em parte, pela liberação de linfocinas. As linfocinas são capazes de modularem a proliferação e migração de fibroblastos, bem como a síntese de colágeno.

Ao analisar a quantidade de linfócitos presente na cicatrização das feridas, pode-se observar que no 7º dia de avaliação a presença foi moderada em todos os grupos, coincidindo com os achados de Garros *et al.* (2006), Castelo Branco Neto *et al.* (2006), Amorim *et al.* (2006). No 14º dia o grupo S e o grupo C apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si, o Grupo S apresentava uma redução

da quantidade, enquanto o grupo C apresentava grande quantidade de linfócitos. Os grupos B e IR apresentavam quantidade moderada. No 30º dia ainda pode-se observar a presença de linfócitos nas feridas do grupo C, apresentando diferença estatisticamente significativa, em relação aos demais grupos do estudo.

A presença de neutrófilos e linfócitos encontrados em fase mais tardia nas feridas do grupo controle, sugerem um atraso na debridação, comprometimento da evolução do processo cicatricial e da epitelização (SILVER, 1982; ORGILL e DEMLING, 1988), podendo justificar a vantagem dos demais grupos sobre o grupo controle.

Alguns trabalhos têm mostrado que o tratamento tópico pode retardar ou dificultar o processo de cicatrização, como no trabalho realizado por Castelo Branco Neto *et al.* (2006), que estudaram o uso do extrato de Aroeira na cicatrização de feridas cutâneas, nesse, os autores sugerem que o extrato de Aroeira prolongou o processo inflamatório, retardando o processo de cicatrização, esses achados também foram encontrados por Araújo *et al.* (1994) e Carvalho (2009).

Araújo *et al.* (1994) realizaram um estudo comparativo entre o Agarol® e Trigliceril® na cicatrização de feridas cutâneas, os autores relataram que o grupo tratado com Trigliceril®, apresentou processo inflamatório mais acentuado aos 7 dias e de caráter agudo-crônico em fase mais tardia quando comparados tanto com o grupo tratado com Agarol® como o controle. Nestes trabalhos, os autores sugerem que os agentes tópicos utilizados podem ter prolongando o processo inflamatório e retardado o processo de cicatrização, o que pode interferir na qualidade da cicatriz.

Carvalho (2009) estudou a cicatrização de defeito cutâneo em membro submetido à ligadura da veia femoral. O autor comparou o grupo tratado com Anidro Carbônico com o grupo tratado com Sulfadiazina de prata e o grupo controle. Nesse estudo, o autor também encontrou processo inflamatório prolongado no grupo controle, diferente dos trabalhos de Castelo Branco Neto *et al.* (2006) e Araújo *et al.* (1994), onde os agentes tópicos podem ter interferido no processo inflamatório, Carvalho (2009) sugere que o processo inflamatório encontrado no grupo controle em fase mais tardia pode ter sido ocasionado pela hipertensão venosa provocada pela LVF, coincidindo com os resultados encontrados no presente estudo.

No tecido de granulação, a formação de neovasos ocorre simultaneamente com a fibroplasia, sendo essencial para a cicatrização, uma vez que o crescimento de novos vasos tem que acompanhar o avanço dos fibroblastos na ferida para provê-los das necessidades metabólicas. Se existir falhas na angiogênese, a migração de fibroblastos e cicatrização da ferida é prejudicada (STADELMANN *et al.*, 1998; ADZICK, 1999).

A proliferação endotelial, processo fundamental no mecanismo de cicatrização, depende da presença de macrófagos, que promovem a neoangiogênese devido às suas interações com prostaglandinas e tromboxanes. Em contiguidade aos capilares rompidos, originam-se brotos endoteliais que proliferam rapidamente, formando cordões, entremeando-se com os fibroblastos, que se canalizam permitindo o fluxo sanguíneo. O tecido conjuntivo recém formado, intensamente vascularizado, constitui o tecido de granulação (GARROS *et al.*, 2006). A intensa proliferação vascular nesta fase foi compatível com o encontrado neste trabalho.

Em relação à proliferação vascular, observou-se que os valores maiores foram encontrados no 7º dia, com diminuição progressiva no 14º e 30º dia. Apenas no grupo C que no 14º dia a proliferação ainda apresentava-se intensa, com diminuição acentuada quando comparada ao 30º dia. As avaliações semelhantes foram citadas por Brito (1996) e Miranda (2001) que observaram, dentro da massa de tecido de granulação, vasos sanguíneos dispostos perpendicularmente ao epitélio e que, com o evoluir do processo de reparação, iam se dispondo paralelamente e diminuía de quantidade.

O fibroblasto é célula reguladora por apresentar a dupla função de síntese e reabsorção de colágeno, procurando manter o equilíbrio quantitativo e qualitativo desta proteína (SIMÕES *et al.*, 1998).

Os fibroblastos surgem na ferida entre o segundo e terceiro dia de cicatrização (STADELMANN *et al.*, 1998). Eles são o principal componente do tecido de granulação, sendo células fibrilares alongadas contendo núcleos hiper cromáticos roliços e ovóides, que frequentemente formam feixes (RINGLER, 2000).

Ao analisar os fibroblastos verificou-se que o grupo C apresentou diferença estatisticamente significativa aos demais grupos no período de 7 e 30 dias. No 7º dia todos os animais dos grupos S, IR e B apresentavam quantidades acentuadas

de fibroblastos, enquanto no grupo C apenas um animal. A presença mais acentuada no 7º dia encontrada nos grupos S, B e IR coincide com os resultados obtidos por Santos (2006) e segundo Araújo *et al.* (1994), o prolongamento da fase inflamatória da cicatrização influencia a fase de fibroplasia, ou seja, quanto mais prolongada a fase inflamatória, mais tarde começa a deposição dos fibroblastos na região, coincidindo com os resultados encontrados no grupo C.

A densidade dos fibroblastos alcançam o máximo entre sete e 14 dias após a injúria, sob a influência de potentes fatores de crescimento da ferida. Neste trabalho os valores obtidos na contagem de fibroblastos no 14º dia de pós-operatório mostraram, tanto para o grupo Controle como para os demais grupos de tratamento, que os valores começaram a decrescer, em consonância com os resultados obtidos por Martins e Alves (2003), Soares (2005) e Garros *et al.* (2006).

Durante a fibroplasia, em torno do 5º e 7º dia, quantidades crescentes de colágeno começam a ser sintetizadas pelos fibroblastos. O colágeno é o responsável pela estrutura principal do tecido conjuntivo, correspondendo a aproximadamente 30% de toda a proteína corporal, e mais de 50% de proteína da pele. Além da importância como proteína estrutural, que proporciona ao tecido, resistência mecânica e flexibilidade, o colágeno participa da coagulação sangüínea e da cicatrização de feridas (FRIESS, 1998). O colágeno proporciona um apoio distinto e específico na maioria dos tipos de células que controlam a migração, multiplicação e apoptose; executando estas funções através do seu reconhecimento por integrinas específicas e transferência de sinais mecânicos (LAPIÈRE, 2003).

Entre o 7º e 14º dia, a síntese de colágeno alcança sua taxa máxima; e fibras de colágeno imaturas tornam-se histologicamente aparentes na ferida (STADELMANN *et al.*, 1998). As fibrilas de colágeno apenas são visíveis à microscopia eletrônica, enquanto que as fibras são visíveis por meio de microscopia óptica (FRIESS, 1998).

Em relação ao colágeno, os valores foram significativamente maiores aos 14 e 30 dias de pós-operatório quando comparados com o 7º dia, em todos os grupos, coincidindo com os resultados encontrados por Garros *et al.* (2006).

Alvares (1972) observou fibras colágenas dispostas paralelamente à superfície da lesão em torno do 14º dia de evolução, coincidindo com a epitelização

da lesão. Encontrou-se aqui situação semelhante nos grupos S, B e IR, indicando um processo de reparação mais adiantado nestes grupos em relação ao C. Aos 30 dias, os grupos S, B e IR apresentavam o tecido conjuntivo mais organizado e os feixes de fibras colágenas mais espessos quando comparados ao grupo C achados também encontrados por Soares (2005), Garros *et al.* (2006) e Santos (2006).

A análise todos os resultados permite inferir que a Sulfadiazina de prata, o extrato de Barbatimão e extrato de Ipê-roxo favoreceram o processo de cicatrização cutânea quando comparados com controle onde foi utilizado solução salina a 0,9% e que o modelo adotado nesse estudo pode ter influenciado no processo de reparação, pois a hipertensão venosa pode ter prolongado o processo inflamatório e retardado o processo de cicatrização, como foi evidenciado no grupo controle.

A terapêutica para feridas cutâneas constitui ainda um desafio para os profissionais de saúde envolvidos no tratamento da mesma. Isso tem instigado os pesquisadores buscarem métodos alternativos que possam se não sanar o problema, que funcionem como coadjuvantes dos tratamentos já existentes.

O emprego destes extratos no processo de cicatrização de feridas cutâneas em seres humanos permanece ainda campo aberto a estudos, no entanto é importante que se amplie o estudo experimental em animais com diferentes dosagens, maior número de dias de experimentação, além do isolamento do componente ou componentes do extrato, responsáveis pela influência positiva no processo de reparação de tecidos, pois podem se tornar uma alternativa para o tratamento de feridas, principalmente no atendimento primário à saúde, uma vez que são plantas da nossa flora, são de fácil aquisição e de baixo custo.

CONCLUSÃO

A análise dos resultados permite inferir que o grupo controle apresentou processo inflamatório retardado quando comparado aos demais grupos de estudo.

REFERÊNCIAS

Abbade LP, Lastoria S. Abordagem de pacientes com úlcera da perna de etiologia venosa. *An Bras Dermatol.* Rio de Janeiro, v. 81, n. 6, Dec. 2006.

Abbade LP, Lastoria S, Rollo H de Almeida, Stolf HO. A sociodemographic, clinical study of patients with venous ulcer. *Int J Dermatol.* 2005;44:989-92.

Abdalla S, Dadalti P. Uso da sulfadiazina de prata associada ao nitrato de cério em úlceras venosas: relato de dois casos. *An Bras Dermatol.* 2003; 78(2): 227-233.

Abramo AC. Análise biológica da atuação da lâmina esponjosa de colágeno heterólogo sobre o tecido de granulação [Tese-Doutorado]. São Paulo. Disciplina de Cirurgia Plástica, Escola Paulista de Medicina, 1990.

Adzick NS. Cicatrização da ferida: características biológicas e clínicas. In: Sabiston JR, David C, Lyerly HK. *Tratado de cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna.* 15ªed. vol.1. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.194-206.

Akerele O. Medicinal plants and primary health care: an agenda for action. *Fitoterapia* 59. 1998. 355-363.

Alcántara W, Flores R, Garmendia F. Prevalencia y riesgo de amputación en pacientes con pie diabético. *An Fac Med (Perú)* 1999;60:159-64.

Almeida ER, Mello AC, Santana CF, Silva Filho AA, Santos ER. The action of 2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)1,4-naphtoquinone (Lapachol) in pregnant rats. *Rev Port Farm.* 1988. 38, Nº 3, 21-23.

Almeida ER, Silva-Filho AA, Santos ER, Lopes CAC. Antiinflammatory actin of lapachol. *J. Ethnopharmacol.* 1990; v.29, p.239-241.

Almeida MZ. *Plantas medicinais.* 2ª ed. Salvador, EDUFBA. 2003.

Almeida SP, Proença CEB, Sano SM & Ribeiro JF. *Cerrado: Espécies vegetais úteis.* Planaltina, EMBRAPA-CPAC. 1998.

Alvares S. Contribuição para o estudo histométrico e histoquímico do processo de reparação de lesões obtidas experimentalmente na pele de ratos albinos. [Tese-Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo;1972.

American Diabetes Association. *Clinical Practice Recommendations.* *Diabetes Care.* 2003; 26(Suppl 1):1-156.

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,* São Paulo; 2006, vol.21, suppl.2, p.67-76.

Anesini C, Perez C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* 1993; v.39, p.119-128.

Araújo CFR, Souza Filho ZA, Greca FH, Guerreiro MHCPM, Leite AL, Mansur AEContin et al . Efeitos do Agarol® e do Trigliceril® sobre a cicatrização de pele: estudo experimental em ratos. *Acta Cir. Bras.* 1994; 13(4): 231-236.

Ardisson L, Godoy JS, Ferreira LAM, Stehmann JR, Brandão, MGL. Preparação e caracterização de extratos glicólicos enriquecidos em taninos a partir das cascas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão). *Rev Bras Farmacol.* 2002, v.12, n.1, p.27-34.

Atuesta JJ. Oxido nítrico y biología cutánea. *Acta Méd. Colomb.* 2001, v.26, n.4, p.202-204.

Awale S, Kawakami T, Tezuka Y, Ueda J, Tanaka, Kadota S. nitric oxide (NO) production inhibitory constituents of *Tabebuia avellanedae* from Brazil *Chem Pharmacol Bull.* 2005, v.53, n.6, p.710-713.

Bailey AJ. The fate of collagen implants in tissue defects. *Wound Repair and Regeneration.* 2000 vol. 8, n. 1, p.5-12.

Baker SR, Stacey MC, Jopp-McKay AG, Hoskin SE, Thompson PJ. Epidemiology of chronic venous ulcers. *Br J Surg.* 1991;78:864-7.

Balick MJ, Kronenberg F, Ososki AL, Reiff M, Fugh-Berman A, O'Connor B, Roble M, Lohr P & Atha D. Medicinal plants used by Latino healers for women's health Conditions. New York City. *Economic Botany.* 2000, 54(3): 344-357.

Barbosa-Filho JM, Martins VKM, Rabelo LA, Moura MD, Silva MS, Cunha EVL, Souza MFV, Almeida RN, Medeiros IA. Natural products inhibitors of the angiotensin converting enzyme (ACE). A review between 1980-2000. *Rev Bras Farmacog.* 2006, 16: 421-446.

Barros Jr N. Insuficiência venosa crônica. In. Pitta GBB, Castro AA, Burihan E, editores. *Angiologia e Cirurgia Vascular: guia ilustrado.* Maceió: UNCISAL/ECMAL & LAVA; 2003. Disponível em: URL: <http://www.lava.med.br/livro>

Belczak CEQ, Cavalheri Jr. G, Godoy JMP, Caffaro RA, Belczak SQ. Relação entre a mobilidade da articulação talocrural e a úlcera venosa. *J. Vasc. Bras.* 2007.

Bergan JJ, Pascarella L, Schmid-Schonbein GW. Pathogenesis of primary chronic venous disease: Insights from animal models of venous hypertension. *J Vasc Surg.* 2008, 47(1): 183-92.

Bergstrom N, Braden BJ, Kemp M, Champagne M, Ruby E. Multi-site of incidence of pressure ulcers and the relationship between risk level, demographic characteristics, diagnoses, and prescription of preventive interventions. *J Am Geriatr Soc.* 1996; 44:22-30.

Bergula AP, Huang W, Frangos JA. Femoral vein ligation increases bone mass in the hindlimb suspended rat. *Bone.*1999, 24(3): 171-7.

Bergqvist D, Lindholm C, Nelzen O. Chronic leg ulcers: the impact of venous disease. *J Vasc Surg.* 1999;29:752-5.

Bevilacqua RG, Modolin MLA, Almeida CG, Chapchap P. Cicatrização. In: Goldenberg S, Bevilacqua RG. *Bases da Cirurgia.* São Paulo: EPM/ Springer; 1981. P. 99-116.

Bild DE, Selby JV, Sinnock P, Browner WS, Braveman P, Showstack JA. Lower-extremity amputation in people with diabetes epidemiology and prevention. *Diabetes Care* 1989; 12(1):24-31.

Biondo-Simões MLP, Alcantara EM, Dallagnol JC, Yoshizumi KO, Torres LFB, Borsato KS. Cicatrização de feridas: estudo comparativo em ratos hipertensos não tratados e tratados com inibidor da enzima conversora da angiotensina. *Rev Col Brás Cir.* 2006 ; 33(2): 74-78.

Bishop JB e cols. A prospective randomized evaluator-blinded trial of two potential wound healing agents for the treatment of venous stasis ulcers. *J Vasc Surg.* 1992;(16):251-7.

Blanes L et al. Avaliação clínica e epidemiológica das úlceras por pressão em pacientes internados no Hospital São Paulo. *Rev Assoc Med Bras.* 2004, vol.50, no.2, p.182-187.

Bodeker GC. Global health traditions. In: M.S. Micozzi. *Fundamentals of complementary and alternative medicine.* New York.1994, pp. 279-290.

Bondi FE. Topical tretinoin therapy. *Am Fam Physician.* 1989, v. 39, n. 1, p. 269-272.

Borges EL, Saar SRC, Lima VLAN, Gomes FSL, Magalhães MBB. Feridas: como tratar. Belo Horizonte: Coopmed; 2001. p.97-120.

Borges EL, Caliri MHL, Haas VJ. Revisão sistemática do tratamento tópico da úlcera venosa. *Rev. Latino-Am. Enfermagem.* Ribeirão Preto: 2007, v. 15, n. 6.

Brasil. Ministério da saúde. ANVISA. www.portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/saude_brasil_junho_2006.pdf . Acesso em: 21/02/2009.

Brito NMB. Aspectos morfológicos e morfométricos da cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos tratados com óleo de copaíba. [Dissertação – Mestrado]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1996.

Brown GL et al. Stimulation of healing of chronic wounds. *Plastic and reconstructive Surgery.* Philadelphia. 1991; v.88, n.2, p.189-194.

Browse NL, Burnand KG, Irvine AT, Wilson NM. Úlcera venosa: diagnóstico. In: Browse NL, Burnand KG, Irvine AT, Wilson NM, editors. *Doenças venosas.* Rio de Janeiro: Di-livros; 2001. p. 485-520.

Bruneton J. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Zaragoza: Acribia, 1991. p.159-172.

Bryant RA, Shannon ML, Pieper B, Braden BJ, Morris DJ. Pressure ulcers. In: Bryant RA. Acute and chronic wounds - nursing management. Missouri: Mosby; 1992. p.105-63.

Callam MJ, Ruckley CV, Harper DR, Dale JJ. Chronic ulceration of the leg: extent of the problem and provision of care. Br Med J (Clin Res Ed). 1985; 290:1855-6.

Camarra D. O pensamento médico popular. Ribro Soft, Ed. e Informática Ltda. RJ-Brasil. 1995.

Caputo GM, Cavanagh PR, Ulbrecht JS, Gibbons GW, Karchmer AW. Assessment and management of foot disease in patients with diabetes. New Eng J Med. 1994; 331(13): 856-9.

Cardoso MCS, Caliri MHL, Hass VJ. Prevalência de úlceras de pressão em pacientes críticos internados em um hospital universitário. REME Rev Min Enferm. 2004;8(2):316-20.

Carrougher GJ. Burn wound assessment and topical treatment. In: Carrougher GJ. Burn care and therapy. St. Louis (MO): Mosby; 1998. p. 133-65.

Carvalho JCT, Almança CCJ. Formulário de prescrição fitoterápica. São Paulo: Atheneu, 2003. p.100-101.

Carvalho TMMB. Estudo do Anidro Carbônico na cicatrização de defeito cutâneo confeccionado em membro posterior submetido à ligadura da veia femoral, em ratos. [Tese – Doutorado] Campo grande. Universidade Federal de Mato Grosso do sul. 2009.

Castelo Branco Neto ML et al. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. Acta Cir Bras, São Paulo, 2006; vol.21, s.2, p.17-22.

Cesaretti IUR. Processo fisiológico de cicatrização da ferida. Pelle Sana. 1998;2: 10-2.

Clark RAF. Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. J Am Acad Dermatol. 1985;13:701-25.

Clark RAF. Potential roles of fibronectin in cutaneous wound repair. Arch Dermatol 1998; 124:201.

Coelho MCO et al. Biopolímero de cana-de-açúcar para cicatrização cutânea. In: III Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária (1998, Belo Horizonte-MG) Anais... Belo Horizonte, 1998. 161 p.p. 159.

Corrêa MP. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional.1984; v. 3, p. 267-269.

Costa AF. Farmacognosia. 3.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 1986. 1031p.

Costa MP et al. Epidemiologia e tratamento das úlceras de pressão: experiência de 77 casos. Acta Orto Bras. 2005, vol.13, no.3, p.124-133.

Coutinho H, Pinto DS, Ribeiro JE, Friedman H. Ação antiedematosa do Stryphnodendron barbadetiman (Barbatimão) a 1% em comparação a clorexidina a 0,12%. Rev odonto cienc. 2004;19:201-6.

Cunningham AB. Ethics, etnobiological research, and biodiversity. WWF International publications. B. Lindsay (ed.). Gland, Switzerland. 1993.

Darke SG, Andress MR. The value of venography in the management of chronic venous disorders of the lower limb. In: Greenhalgh RM, editor. Diagnostic techniques and assessment procedures in vascular surgery. London: Grune & Stratton; 1985. p.421-46.

Dealey C. Cuidando de feridas: um guia para enfermeiras. São Paulo: Atheneu; 1996. p.1-21.

Deodhar AK, Rana RE. Surgical physiology of wound healing. J Pos Grad Med. 1997; v .43, n.2, p.52-56.

DePalma RG, Bergan JJ. Chronic venous insufficiency. In:Dean RH, Yao JST, Brewster D. Current Diagnosis & Treatment in Vascular Surgery. 1st ed. Norwalk, CT: Appleton & Lange; 1995. p. 365-374.

Deshpande SS, Cheryan M, Salunkhe DK. Tannin analysis of food products. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Boca Raton. 1986; v.24, n.4, p.401-449.

Doillon CJ, Dunn MG, Bender E et al. Collagen fiber formation in repair tissue. Development of strength and toughness. Collagen Rel Res 1985;(5):481.

Doughty DB. Principles of wound healing and wound management. Cap 2. In: Bryant RA. Acute and chronic wounds: nursing management. St Louis: Mosby; 1992.p.31-68.

Doughty DB, Waldrop J, Ramundo J. Lower-extremity ulcers of vascular etiology. In: Bryant RA. Acute & chronic wounds: nursing management. 2ed. St. Louis: Mosby; 2000. p.265-300.

Eurides D, Mazzanti A, Gonçalves GF, Belleti ME, Silva LAF, Fioravante, MCS, Chaves NST, et al. Aspectos morfológicos, morfométricos e histológicos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de copaíba (*Copaífera langesdorfii*). Vet. Notícias. 1988; v.4, n.1, p.77-82.

Facury Neto MA. Uso sistêmico da arnica (*Solidago microglossa* DC) em cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos. [Tese - Doutorado]. São Paulo:

Programa de Pós-graduação em Técnica Operatória e Cirurgia Experimental. Escola Paulista de Medicina, Universidade de São Paulo; 2001.

Falcão HS, Lima IO, Santos VL, Dantas HF, Diniz MFFM, Barbosa-Filho JM, Batista LM. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Rev Bras Farmacogn.* 2005;15: 381-391.

Fazio MJ, Zitelli JA, Goslen JB. Cicatrização de feridas. In: Coleman III WP, Hanke CW, Alt TH, Asken S. *Cirurgia Cosmética - Princípios e Técnicas.* 2.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2000:18-23.

Felfili JM, Silva Júnior MC. A comparative study of cerrado (sensu stricto) vegetation in central Brazil. *Journal of Tropical Ecology, Cambridge.* 1993; v. 9, n.3, p.277-289.

Felfili JM, Silva Júnior MC, Dias BJ, Rezende AV. Estudo fenológico de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville no cerrado sensu stricto da Fazenda Água Limpa no Distrito Federal, Brasil. *Revista Brasileira Botânica, São Paulo.* 1999; v.22, n.1, p.83-90.

Felício AC, Changa CV, Brandão MA, Peters VM, Guerra MO. Fetal growth in rats treated with lapachol. *Contracept.* 2002; v.66, p.289-293.

Félix VN, Yogi I. O organismo, a ferida e o processo de cicatrização. *Rev Bras Med.* 1990;47:355-60.

Ferrari MD. Avaliação das atividades tripanocidas e leishmanicidas dos extratos hidroalcoólicos brutos da casca, folhas e flores de *Tabebuia Avellanadae* (Ipê-Roxo). [Dissertação- Mestrado] UNIFRAN. Franca, 2005.

Ferreira E et al. Curativo do paciente queimado: uma revisão de literatura. *Rev. esc. enferm. USP,* Mar 2003, vol.37, no.1, p.44-51.

Fonseca, S.G.C, Braga, R.M.C & Santana, D.P. Lapachol química, farmacologia e métodos de dosagem. *Rev Bras Farm.* 2003; 84(1): 9-16.

Fox CL Jr. Silver sulfadiazina for control of burn wound infections. *Int Surg* 1975; 60 (5):275-7.

Friess W. Collagen biomaterial for drug delivery. *Eur. J. Pharmacol. Biopharmacol.* 1998; v.45, n.2. p.113-136.

Funke I, Melzig MF. Traditionally used plants in diabetes therapy - phytotherapeutics as inhibitors of α -amylase activity. *Rev Bras Farmacogn.* 2006; 16: 1-5.

Gabbiani G, Majno G. Dupuytren's contracture: fibroblast contraction ? A ultrastructural study. *Am J Pathol.* 1972; 66: 131-8.

Gamba MA. Amputações por diabetes mellitus: uma prática prevenível. *Acta Paul Enf* 1998;11:92-100.

Garcez FR et al. Novos constituintes químicos das cascas do caule de *Tabebuia heptaphylla*. Quím Nova. São Paulo, 2007; v. 30, n. 8.

Garros IC et al. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. Acta Cir Bras. São Paulo, 2006; vol.21, s.3, p.55-65.

Gentilhomme E, Neveux Y, Lebeau J, Desmouliere A, Bergier J, Schmitt D, Haftek M. Modulation of a fibrotic process induced by transforming growth factor beta-1 in dermal equivalents. Cell Biol Toxicol. 1999;15(4):229-38.

Geronemus RG, Mertz PM et Eagstein WH: Wound Healing - The effects of topical antimicrobial agents. Arch Dermatol 1979;(115):1.311-1.314.

Goulart MOF, Falkowski P, Ossowski T, Liwo A. Eletrochemical study of oxygen interaction with lapachol and its radical anions. Bioeletrochem. 2003; v. 59, p.85-87.

Graça JB, Aires LF. Segredos e virtudes das plantas medicinais. Lisboa: Seleções Reader's Digest, 1994.

Gregg EW, Sorlie P, Paulose-Ram R, Gu Q, Eberhardt MS, Wolz M, Burt V, Curtin L, Engelgau M, Geiss L; 1999-2000 national health and nutrition examination survey. Prevalence of lower-extremity disease in the US adult population 40 years of age with and without diabetes: 1999-2000 national health and nutrition examination survey. Diabetes Care. 2004; 27(7):1591-7.

Guarim Neto, G. Plantas utilizadas na medicina popular do Estado de Mato Grosso. Brasília: CNPq/UFMT, 1987. 58p.

Guiraud P, Steiman R, Campos-Takaki G-M, Seigle-Murandi F, Buochberg MS. Comparison of antibacterial and antifungal activities of Lapachol and b-Lapachone. Planta Medica. 1994; 60: 373-374.

Haddad MCI, Bruschi LC, Martins EAP. Influência do açúcar no processo de cicatrização de incisões cirúrgicas infectadas. Rev. Latino-Am. Enfermagem [periódico en la Internet]. 2000; 8(1): 57-65.

Hafner, L. Efeito de glicosaminoglicanos na prevenção de trombose em enxertos veno-venosos microcirúrgicos no rato/ Glycosaminoglicans in the prevention of thrombosis in veno-venous microsurgical grafts in the rat. [Tese – Doutorado]. Botucatu, 1997.

Hahn TL, Unthank JL, Lalka SG. Increased hindlimb leukocyte concentration in chronic rodent model of venous hypertension. J Surg Res. 1999; 81(1): 38-41.

Hahn TL, Whitfield R, Salter J, Granger DN, Unthank JL, Lalka SG. Evaluation of the role of intercellular adhesion molecule 1 in a rodent model of chronic venous hypertension. J Surg Res. 2000; 88(2): 150-4.

Harrington C, Zagari MJ, Corea J, Klitenic J. A cost analysis of diabetic lower-extremity ulcers. Diabetes Care. 2000; 23(9):1333-8.

Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs and medicines: possible modes of action. *J Nat Prod.* 1996;59:205-15

Hendler SS. *A enciclopédia de vitaminas e minerais.* Rio de Janeiro: Campus.1994. p 364-369.

Herzog-Soares JD, Alves RK, Isac E, Bezerra JCB, Gomes MH, Santos SC, Ferri PH. Atividade tripanocida in vivo de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão verdadeiro) e *Caryocar brasiliensis* (pequi). *Rev Bras Farmacogn.* 2002; 12(Supl. 1): 1-2.

Hindryckx PH, Cuyper C, Hendrickx B, Mullie A: The treatment of infected decubitus ulcers with 1% silver sulfadiazine cream. *Curr Ther Res* 1990;(48)3:535-9.

Isik FF, Engrav LH, Rand RP, Kierney P, Cardenas DD. Reducing the period of immobilization following pressure sore surgery: a prospective, randomized trial. *Plast Reconstr Surg.* 1997; 100:350-4.

Iucn. Guidelines on the conservation of medicinal plants. Iucn, Who and wwf, Gland, Switzerland.1993.

John L. ONU alerta para destruição da biodiversidade. O Estado de São Paulo, 05 de agosto de 2002. Disponível em: <http://www.estadao.com.br/ciencia/noticias/2002/ago/05/22.htm>., Acesso em janeiro de 2004.

Johnson JJ, Paustrian C. Guideline for management of wounds in patients with lower-extremity venous disease. Glenview: Wound Ostomy and Continence Nurses Society - WOCN; 2005.

Kjolseth D, Frank JM, Barker JH et al: Comparison of the effects of commonly used wound agents on epithelialization and neovascularization. *Am Coll Surg* 1994;(179):305-312.

Koricheva J, Larsson S, Haukioja E, Keinänen M. Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. *Oikos, Copenhagen.* 1998; v. 83, n.2, p. 212-226.

Koopmann C. Cutaneous wound healing. *Otolaryngologic Clin North Am.* 1995; v. 28, n. 5, p. 835-845.

Kucan JO, Robson MC, Heggors JP, Ko F: Comparison of silver sulfadiazine, povidone-iodine and physiologic saline in the treatment of chronic pressure ulcers. *J. Am. Ger. Soc.* 1981;(29)5:232-5.

Kumagai Y, Tsurutami Y, Shinyahiki M, Homma-Takeda S, Nakai Y, Yoshikawa T, Shimojo N. Bioactivation of lapachol responsible for DNA scission by NADPH-cytochrome P450 reductase. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 1997; v.3, p.245-250.

Landsdown ABG, Sampson B, Laupattarakasem P, Vuttivirojana A: Silver aids healing in the sterile skin wound: experimental studies in the laboratory rat. *Br J Dermatol.* 1997; (137):728-35.

Lapière, CM. Collagenase and impaired wound healing. *J Invest Dermatol.* 2003; v.120, n.1, p.12-13.

Lawrence WT, Norton JA, Sporn MB, Gorschboth C, Grotendorst GR. The reversal of na Adriamycin induced healing impairment with chemoattractants and growth factors. *Ann Surg.* 1986; 203:142-7.

Lee AH. et al. The effects of Petrolatum, Polyethylene Glycol, Nitrofurazone and Hydroactive dressing on open wound healing. *Journal Am. Animal Hospital Association.* 1986; v. 22, p. 433-451.

Leitão SG, Castro O, Fonseca EM, Julião LS, Tavares ES, Leo RRT, Vieira RC, Oliveira DR, Leitão GG, Martino V, Sulsen V, Barbosa YAG, Pinheiro DPG, Silva PEA, Teixeira DF, Lourenço MCS. Screening of Central and South American plant extracts for antimycobacterial activity by the Alamar Blue test. *Rev Bras Farmacogn.* 2006;16: 6-11.

Levin ME. Foot lesions in patients with diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1996; 25(2): 447-62.

Lima, AK, Amorim ELC, Dimech GS. Isolamento e Características Físico-Químicas dos Constituintes *Stryphnodendron barbatiman* Mart. In: 50^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Matal,1998.

Lima DR. Medicamentos: passado, presente e futuro. In: Lima DR, editor. *Manual de Farmacologia Clínica, Terapêutica e Toxicologia.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994. p. 13.

Lima JCS, Martins DTO, Souza Júnior PT. Experimental evaluation of stem bark *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville for antiinflammatory activity. *Phytotherapy Research.* 1998; v. 12, p. 218-220.

Lima NMF, Santos AF, Porfírio Z, Goulart MOF, Sant'ana AEG. Toxicity of lapachol and isolapachol and their potassium salts against *Biomphalaria glabra*, *S. mansoni cercariae*, *Artemia salina* and *Tilapia nilotica*. *Acta Tropic.* 2002; v.83, p.43-47.

Lima OG, D'Albuquerque IL, Lima CG, Maia MHD. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XX. Atividade antimicrobiana de alguns derivados do Lapachol em comparação com a xiloidona, nova ortonaftoquinona natural isolada de extratos do cerne do "Pau d'arco" rôxo, *Tabebuia avellaneda* Lor . Ex Griseb. *Revista do Instituto de Antibióticos.* 1962; 4, N^o 1/2, 3-17.

Lopes GC, Sanches ACC, Nakamura CV, Dias-Filho BP, Hernandez L, Mello JCP. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. And *Stryphnodendron obovatum* Benth, on the cicatrisation of cutaneous wounds in rats. *J. Ethnopharmacol.* 2005; v.99, p.265-272.

Lopes, J.N.; Cruz, F .S.; Docampo, R; Vasconcelos, M.E.; Sampaio, M.C.R.;Pinto, A.V.; Gilbert, B. In vitro and in vivo evaluation of the toxicity of 1,4-naphtoquinone and 1,2-naphtoquinone derivatives against Trypanosoma cruzi. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1978; 72, Nº 6, 523-53.

Lopes RM, Oliveira TT, Nagem EJ, Pinto AS. Flavonóides. *Biotechnol. Ci. Desenv.* 2003; v.3, n.17, p.18-22.

Lorenzi H. Árvores brasileiras manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas no Brasil. Nova Odessa. Plantarum, 1992.

Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum; 2002. p.93-94.

Lübeck W. O poder terapêutico do ipê-roxo. São Paulo: Madras, 2001.124p.

Machado TB, Pinto AV, Pinto MCFR, Leal ICR. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant. *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents*. 2003, v .21, p.279-284.

Mack CA, Magovern CJ, Budenbender KT, Patel SR, Schwarz EA, Zanzonico P, Ferris B, Sanborn T, Isom P, Ferris B, Sanborn T, Isom OW, Crystal RG, Rosengart TK. Salvage angiogenesis induced by adenovirus-mediated gene transfer of vascular endothelial growth factor protects against ischemic vascular occlusion. *J Vasc Surg*. 1998; 27(4): 699-709.

Maffei FHA. Insuficiência venosa crônica: conceito, prevalência, etiopatogenia e fisiopatologia. In: Maffei FHA, Lastória S, Yoshida WB, Rollo HA, organizadores. *Doenças vasculares periféricas*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2002. p.1581-90.

Mandelbaum SH, Di Santis EP, Mandelbaum MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *An. Bras. Dermatol*. 2003; 78(4): 393-408.

Mani R, Falanga V, Shearman C, Sandeman D. Clinical aspects of lower limb ulceration. *Chronic Wound Healing*. London: WB Saunders; 1999. p. 4-25.

Marchini FB. Estudo Morfológico e morfonético da Cicatrização de Feridas cutâneas abertas em ratos albinos com e sem tratamento com óleo de Rosa Mosqueta. [Dissertação – Mestrado]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina;1994.

Martins PS, Alves ALG. Comparação entre fitoterápicos de uso tópico na cicatrização e pele em eqüinos. *Archives of Veterinary Science*. 2003; v. 8, n. 2, p. 1-7.

Masini E, Calamo MA. Uma forma de tratamento de lesões cutâneas com papaína e sacarose. *Rev Bras Clin Terap*. 1986;(15): 245-8.

Massone F. Anestesiologia veterinária: farmacologia e técnicas. Rio de Janeiro: Editora Guanabara; 1988. p.102-107.

Matos FJ. Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 2ed. Fortaleza: EUFC. 1994.

Mayer W, Jochmann W, Partsch H. Ulcus cruris: Abheilung unter konservativer Therapie. Eine prospektive Studie. Wien Med Wochenschr. 1994;144:250-2.

McEnroe CS, O'Donnell TF, Mackey WC. Correlation of clinical finding with venous hemodynamics in 386 patients with chronic venous insufficiency. Am J Surg. 1998;156(2):148-52.

Medeiros ABF, Lopes CHAF. Análise da prevenção e tratamento das úlceras por pressão propostos por enfermeiros. Rev. esc. enferm. USP, Mar 2009, vol.43, no.1, p.223-228.

Mello JC. Plantas em Destaque: Barbatimão (Córtex). Rev. Racine. 1998;46:42

Mello JCP, Petereit F, Nahrstedt A. A dimeric proanthocyanidin from *Stryphnodendron adstringens* Phytochemistry. 1999. v. 5, p.1105-1107.

Melo JO et al. Effect of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) bark on animal models of nociception. Rev Bras Cienc Farm. São Paulo. 2007; v. 43, n. 3.

Melotte P, Hendrickx B, Melin P, et al: Efficacy of 1% silver-sulfadiazine cream in treating the bacteriological infection of leg ulcers. Curr Ther Rés 1985; (37):197-202.

Mendonça GBN, Morais JM, et al. Laser As-Ga-Al de baixa potência associado com solução aquosa de barbatimão (*stryphnodendron barbatiman martius*) na reparação tecidual de ferida cutânea séptica de ovino. Universidade Federal de Goiás; 2008. [Acesso em 06 de abril de 2009]. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R1190-3.pdf>

Mendonça R, Felfili JM, Walter BMT, Silva Júnior MC, Rezende AV, Filgueiras TS & Nogueira PEN. Flora vascular do Cerrado. Pp. 287-556. In: S. Sano & S. Almeida (eds.). Cerrado: ambiente e flora. Planaltina, EMBRAPA-CPAC. 1998.

Menezes ELM, Silva MJ. Grande queimado. In: Cintra EA, Nishide VM, Nunes WA. Assistência de Enfermagem ao paciente crítico. Rio de Janeiro (RJ): Atheneu; 2000. p. 561-73.

Meyers N. Tropical moist forests; over-exploited and under-utilized? Forest Ecology and Management. 1983; 6: 59-79.

Milman MHSA et al. Pé diabético: avaliação da evolução e custo hospitalar de pacientes internados no conjunto hospitalar de Sorocaba. Arq Bras Endocrinol Metab, Out 2001, vol.45, no.5, p.447-451.

Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17 de 24 de fevereiro de 2000. Aprova o Regulamento técnico visando normatizar o registro de medicamentos fitoterápicos junto ao sistema de vigilância sanitária. Diário Oficial da União 25 Fev 2000; Seção 1: 25.

Miranda LTGS. Uso da tintura de Arnica em feridas cutâneas abertas em ratos. [Dissertação – Mestrado] São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina; 2001.

Miranda FGG, VILAR JC, ALVES IAN, CAVALCANTI SCH, ANTONIOLLI AR. Antinociceptive and antiedematogenic properties and acute toxicity of *Tabebuia avellanedae* bark aqueous extract. B.M.C. Pharmacol., v.1, n.1, p.6-15, 2001.

Modolin M, Bevilacqua R. Cicatrização das feridas. In: Raia A, Zerbini E. Clínica Cirúrgica Alípio Corrêa Neto. 4ª ed. São Paulo: Sarvier, 1992. p. 133-138.

Montanari CA, Bolzani VS. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. Química. Nova. 2001; V.24, n.1, p.105-111.

Montandon D, D'andiran G, Gabbiani G. The mechanism of wound contraction and epithelialisation. Clin Plast Surg. 1977; v.4, p.325-346.

Mori FA, Vital BR, Pimenta AS, Ferraz VP. Estudo de taninos da casca de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake para produção de adesivos. Revista Árvore, V. 25, n. 2, p. 257-263, 2001.

Mosher DF, Furcht LT. Fibronectin: review of its structure and possible functions. J Invest Dermatol 1981; (77):175.

Néizem O, Bergqvist D, Lindhagen A, Halboök T: Chronic leg ulcers: an underestimated problem in primary health care among elderly patients. J Epidemiol Community Health. 1991;45:184-187.

Neto JJ, Fracasso JF, Neves MCLC, Santos LE, Banuth VL. Tratamento de úlcera varicosa e lesões de pele com *Calendula officinalis* e/ou com *Stryphnodendron barbatiman* (vellozo) *martius*. Revista de Ciências Farmacêuticas, São Paulo. 1996; v. 17, p. 181-186.

Noormohaned SE, Kumar V, Min DI. Evaluation of traditional african medicine, "compound R" for the treatment of thermal burn wounds in fuzzy rats. Journal of Burn Care & Rehabilitation, 1994; v.15. n.6, p. 519- 522.

Ochoa-Vigo K et al. Caracterização de pessoas com diabetes em unidades de atenção primária e secundária em relação a fatores desencadeantes do pé diabético. Acta paul. enferm., Set 2006, vol.19, no.3, p.296-303.

Ochoa-Vigo K and Pace AE. Pé diabético: estratégias para prevenção. Acta paul enferm. Mar 2005, vol.18, no.1, p.100-109.

Oliveira HP - Resumo das apresentações junto ao Comitê de Ética em 2002 – Disponível em: http://www.humberto.vet.ufmg.br/Arquivos/Eutanasia_em_Medicina_Veterinaria_.pdf. Acesso em 03/05/2009

Oliveira ST, Leme MC, Pippi NL, Raiser AG, Manfron MP. Formulações de confrei (*Symphytum officinale*) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. R Fac Zootec Vet Agro. Uruguaiana. 2000; v.7, n.1, p.61-65.

Organização Mundial de Saúde (OMS). 2002. Estratégia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005.

Orgill D, Demling RH. Current concepts and approaches to wound healing. *Critical Care Medicine*, Baltimore. 1988; v.16, n.9, p.899-908.

Orlando SC. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico bruto da casca do *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville (Barbatimão). [Dissertação-Mestrado] Promoção em Saúde. Universidade de Franca. 2005.

Panizza S. Plantas que curam. 24ªed. São Paulo: IBRASA; 1997. p.126-127.

Panizza S, Rocha AB, Gecchi R, Souza E, Silva RAP. *Stryphnodendron barbadetiman* (vellozo) *martius*: teor em tanino na casca e sua propriedade cicatrizante. *Revista de Ciências Farmacêuticas*, São Paulo, v. 10, p. 101-106, 1988.

Parente CET, Rosa MMT. Plantas comercializadas como medicinal no Município de Barra do Piraí, RJ. *Rodriguésia*. 2001, 52(80): 47-59.

Park BS, Lee KG, Shibamoto T, Lee SE, Takeoka GR. Antioxidant activity and characterization of volatile constituents of Taheebo (*Tabebuia impetiginosa*). *J. Agri. Food Chem.*, v.51, p.295-300, 2003.

Peacock EE, Van Winkle W. Wound repair. Philadelphia: W.B. Saunders, 1976.

Pedrosa HC, Nery ES, Sena FV, Novaes C, Feldkircher TC, Dias MSO et al. O desafio do projeto salvando o pé diabético. *Terapia em Diabetes* 1998; 4(19): 1-10.

Petrova MB. Morfofunktional'nye osobennosti zzhivleniia kozhnoi rany u krys pri vozdeistvii nizkointensivnogo lazernogo izlucheniia. *Morfologiya*, 1992;102(6):112-21.

Quer PF. *Medicamenta*. Barcelona: Labor, 1976.1736p.

Ragonha ACO, Ferreira E, Andrade D, Rossi LA. Avaliação microbiológica de coberturas com sulfadiazina de prata a 1%, utilizadas em queimaduras. *Rev Latino-Am Enfermagem*. 2005 ; 13(4): 514-521.

Rahal SC et al. Utilização de própolis ou mel no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. *Arquivos of Veterinary Science*. 2003; v.8, n.1, p. 61-67.

Rahal SC, Rocha NS, Blessa EP, Iwabe S, Crocci AJ. Pomada orgânica natural ou solução salina isotônica no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. *Ci. Rural*. 2001; v.31, n.6, p.1007-1011.

Ramsey SD, Newton K, Blough D, McCulloch DK, Sandhu N, Reiber GE, Wagner EH. Incidence, outcomes, and cost of foot ulcers in patients with diabetes. *Diabetes Care*. 1999; 22(3):382-7.

Reiber GE. Epidemiologia das úlceras e amputações do Pé Diabético. In: Bowker JO, Pfeifer MA, Levin e O'Neal o Pé Diabético. 6a ed. Rio de Janeiro: Di Livros; 2001. cap. 2. p. 13-33.

Reiber GE. The epidemiology of diabetic foot problems. *Diabet Med.* 1996;13 Suppl 1:S6-11. Review.

Ribeiro AQ, Leite, JPV, Dantas-Barros AM. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob influência da legislação nacional. *Rev. Bras. Farmacognosia.* São Paulo. 2005; v.15, n.1.

Ribeiro MG, Schmidt EMS. Relato do uso de cicatrizante à base de sulfadiazina de prata 1% micronizada em equino. *Arq Cien Vet Zool. UNIPAR.* 2000; 3(2): p. 179-184.

Riffel A, Medina LF, Stefani V, Santos RC, Biazini D, Brandelli A. In vitro antimicrobial activity of a new series of 1,4 - naphthoquinones. *Braz. J. Méd Bras Res.* 2002; v.35, n.7, p.811-818.

Ringler DJ. Inflamação e reparo. In: Jones TC, Hunt RD, King NM. *Patologia veterinária.* 6ªed. São Paulo: Monole; 2000. p.157-165.

Rizzini CT, Mors W.B. *Botânica econômica brasileira.* São Paulo: EDUSP, 1976. 227p.

Rocha RM, Zanetti ML, Santos MA. Comportamento e conhecimento: fundamentos para prevenção do pé diabético. *Acta paul enferm.* São Paulo. 2009; v. 22, n. 1.

Robson MC, Hegggers JP: Delayed wound closers based on bacterial counts. *J Surg Oncol* 1970; (2):379.

Rogenski NMB, Santos VLCG. Estudo sobre a incidência de úlceras por pressão em um hospital universitário. *Rev Latino-Am Enfermagem.* Ribeirão Preto. 2005; v. 13, n. 4.

Saliba Jr. Orlando Adas, Giannini Mariangela, Rollo Hamilton Almeida. Métodos de diagnóstico não-invasivos para avaliação da insuficiência venosa dos membros inferiores. *J. vasc. bras.* 2007 6(3): 266-275.

Sanchez- Neto R. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. *Acta Cir Bras.* 1993; 8: 18-23.

Santos AF, Ferraz PAL. Pinto AV, Pinto FR, Goulart MOF, Sant'ana AEG. Molluscicidal activity of 2-hydroxy-3-alkyl-1,4-naphthoquinones and derivatides. *Int. J. Parasitol.* 2002; v.30 , p.1199-1202.

Santos LOM, Sim'es MLPB, Machado APB, Matisoski filho GR, Endo PC, Gruen GR, Cipriani VR, Mesquita LD. Efeito da somatotropina sobre a cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Acta Cir Bras.* 2002; v.17, n.4, p.220-224.

Santos MFS et al . Avaliação do uso do extrato bruto de *Jatropha gossypifolia* L. na

cicatrização de feridas cutâneas em ratos. Acta Cir Bras. 2006; São Paulo, vol.21, p. 2-7.

Santos SC, Mello JCP. Taninos. In: Simões CMO. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2. ed. rev. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.517-544.

Santos VLCG. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. In: Duarte YAO, Diogo MJD. Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico. São Paulo: Atheneu; 2000. p.265-306.

Scharffetter K, Kulozik M, Stolz W, Lankat-Buttgereit B, Hatamochi A, Sohnchen R, et al. Localization of collagen alpha-1 (I) gene expression during wound healing by in situ hybridization. J Invest Dermatol. 1989;93:405-12.

Scriven JM, Hartshorne T, Bell PR, Naylor AR, London NJ. Single-visit venous ulcer assessment clinic: the first year. Br J Surg. 1997;84:334-6.

Secretaria de Estado de Saúde. Grupo de Trabalho Internacional sobre Pé Diabético. Consenso internacional sobre pé diabético. Brasília: Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal; 2001.

Sester , E.A. Avaliação Biofarmacêutica do Lapachol Tópico: ensaios in vitro e in vivo. [Dissertação-mestrado] Ciências farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da UFPE-Recife, Brasil, p-gs 30-50,1996.

Shal WJ, Clever H. Cutaneous Scars: Part I. Int J Dermatol. 1994;33:681-91.

Silva DT. O uso do Ipê-Roxo (*Tabebuia vellanedae*)na cicatrização de feridas catâneas em ratos. [Dissertação-Mestrado]. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.

Silva IEF. Obtenção e avaliação da atividade analgésica e antiinflamatória de extratos hidroalcoólicos de casca, folhas e flores de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC) Ipê-Roxo. [Dissertação-Mestrado]. UNIFRAN, Franca, 2006.

Silva MN, Ferreira VF, Souza MCBV. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na beta-lapachona e derivados. Quím. Nova, São Paulo. 2003; v. 26, n. 3.

Silver IA. The mechanics of wound healing. Equine Veterinary Journal, London. 1982; v.11, p.93-96.

Simões CMO, Mentz LE, Schenkel EP, Irgang BE & Stehmann JR. Plantas medicinais populares no Rio Grande do Sul. 3. ed. Porto Alegre, Ed. Univers. 1998.

Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. N Engl J Med.1999; v .341, n.10, p.738-746.

Soares FRL. Reparação de feridas cutâneas tratadas com vitamina c, laser e a associação de vitamina c e laser: Estudo histológico em ratos [Dissertação-Mestrado] Universidade de Marília (UNIMAR), 2005.

Soares SP. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. Rev. odonto ciênc. 2008;23(2):141-144.

Souza TM et al. Avaliação da atividade anti-séptica de extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e de preparação cosmética contendo este extrato. Rev bras farmacogn. João Pessoa. 2007; v. 17, n. 1.

Spichler D, Spichler ERS, Forti AC, Lessa I, Franco LJ. Amputações de membros inferiores - Rio de Janeiro, RJ, 1994-1996. Arq Bras Endocrinol Metab. 1999;43:s262.

Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. Am J Surg. 1998; v. 176, n.2 suppl 1, p.26-38.

Stegman SJ, Tromovitch TA, Glogau RG. Grafts. In: Basics of Dermatological Surgery. St Louis: Mosby, 1982.

Stritzinger J, Marvin JA, Gorden MD, Martinez A, Venzke L, Heggens JP. Shelf life of topical dressings prepared at the bedside. In: 5th International Congress of Nursing, Psychosocial and Rehabilitative Care of the Burned Patient; 2000. May. Rotterdam, The Netherlands. Rotterdam: ISBI; 2000. p. 44.

Terkeltaub RA, Ginsberg MH. Platelets and response to injury. In: Clark RAF, Henson PM, editors: The molecular and cellular biology of wound repair. New York: Plenum Press, 1998.

Traffic. Plantas medicinais do Brasil: aspectos gerais sobre a legislação e Comércio. WWF/IBAMA. 2001.

Vale NB. A farmacobotânica, ainda tem lugar na moderna anestesiologia? Rev Bras Anesthesiol. 2002; 52(3): 368-80.

Valencia IC, Falabella A, Kirsner RS, Eaglstein WH. Chronic venous insufficiency and venous leg ulceration. J Am Acad Dermatol. 2001;44:401-21; quiz 422-4.

Vaz BU. Uso de curativo biológico em lesões cutâneas induzidas experimentalmente na espécie equina. . In: I Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária (1994, Curitiba - Pr) Anais... Curitiba, 1994. 222 p. p. 122.

Veves A, Murray HJ, Young MJ, Boulton AJ. The risk of foot ulceration in diabetic patients with high foot pressure: a prospective study. Diabetologia. 1992;35(7):660-3.

Wanick MC, Bandeira JÁ, Fernandes RV. Ação antiinflamatória e cicatrizante do extrato hidroalcoólico do líber do pau d'arco roxo (*Tabebuia avellanedae*), em pacientes portadoras de cervicites e cervico-vaginites. Revista do Instituto de Antibióticos. 1970; 10, nº 1/2, 41-45.

Ward RS, Saffle JR. Topical agents in burn and wound care. Phys Ther 1995 Jun; 75(6):526-38.

Weller R. Nitric oxide: a newly discovered chemical transmitter in human skin. Br. J. Dermatol. 1997; v.137, n.5, p.665-672.

Witte MB, Barbul A. Princípios gerais da cicatrização das feridas. Clin Cir Am N. 1997; 77:509-27.

www.plantarum.com.br . Acesso em 15/11/2008.

Yamada BFA. Terapia tópica de feridas: limpeza e desbridamento. Rev Esc Enf USP. 1999;33:133-40.

ANEXOS

Perimetria

Tabela 1 – Média e desvio padrão (DP) dos valores (cm) da perimetria da coxa direita e esquerda de todos os ratos, antes da ligadura da veia femoral e após 30 dias, imediatamente antes da confecção da ferida cutânea.

Período	Coxa				<i>p</i> (direita x esquerda)
	Direita		Esquerda		
	Média	DP	Média	DP	
Antes	7,02	0,13	7,01	0,12	0,088
Após 30 dias	8,27	0,19	7,29	0,12	<0,001
<i>p</i> (antes x após 30 dias)	<0,001		<0,001		-

Nota: Teste *t* para amostras pareadas. Coxa direita: antes < após. Coxa esquerda: antes < após. Antes: coxa direita = esquerda. Após: coxa direita > esquerda.