

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o
texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir de
16/12/2024.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Maria Luiza Gioster Ramos

Avaliação do extrato amazônico de pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) puro e associado com hidróxido de cálcio como medicação intracanal

Araraquara

2022



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Maria Luiza Gioster Ramos

Avaliação do extrato amazônico de pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) puro e associado com hidróxido de cálcio como medicação intracanal

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Doutor em Ciências do Programa de Odontologia, na Área de Biociências aplicadas à Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Luis Geraldo Vaz

Coorientador: Prof. Dr. Roberto Messias Bezerra

Araraquara

2022

R175a

Ramos, Maria Luiza Gioster

Avaliação do extrato Amazônico de pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) associado com hidróxido de cálcio e puro atuando como medicação intracanal / Maria Luiza Gioster Ramos. -- Araraquara, 2022

49 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientador: Luis Geraldo Vaz

Coorientador: Roberto Messias Bezerra

1. Óleos Vegetais. 2. Endodontia. 3. Hidróxido de Cálcio. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Maria Luiza Gioster Ramos

Avaliação do extrato amazônico de pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) puro e associado com hidróxido de cálcio como medicação intracanal

Comissão julgadora

Defesa para obtenção de grau de Doutor em Odontologia

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Luis Geraldo Vaz

2º Examinador: Prof. Dr. Milton Carlos Kuga

3º Examinador: Prof^a. Dr^a. Flaviana Bombarda de Andrade

4º Examinador: Prof. Dr. Isamu Kanzaki

Araraquara, 16 de dezembro de 2022.

DADOS CURRICULARES

Maria Luiza Gioster Ramos

NASCIMENTO:

26 de outubro de 1989 – Itamaraju – Bahia

FILIAÇÃO:

Luiz Cláudio Fonseca Ramos e Elanie Maria Gioster Ramos

2010/ 2015 - Graduação em Odontologia pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM.

2015/2017 - Cursou especialização em endodontia no Instituto Baiano de Pesquisa em Odontologia - IBPO/FACSETE.

2017/2019 - Cursou especialização em Odontologia Legal na Faculdade de Medicina e Odontologia São Leopoldo Mandic.

2018/2020 - Cursou mestrado em Odontologia com área de concentração em Endodontia na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”(UNESP) com bolsa CAPES.

2020/2022 Atualmente está cursando Doutorado em Odontologia com área de concentração em biomateriais na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”(UNESP) com bolsa CNPq.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Luiz Cláudio Fonseca Ramos e Elanie Maria Gioster Ramos, que sempre me apoiaram em cada etapa de minha vida, sendo meu apoio e exemplo.

À minhas avós Maria da Conceição e Maria Hoffmann (*in memoriam*) por todo amor, a minha irmã Luane e meu tio Edmar (*in memoriam*) pela presença e fé.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luis Geraldo Vaz que mesmo em reta final da sua carreira acadêmica, me acolheu e me deu a oportunidade de crescer como profissional e aprender com seus ensinamentos. Ao meu Coorientador Prof. Dr. Roberto Messias Bezerra pela colaboração.

Aos meus amigos pelo apoio e incentivo, aos meus colegas de pós graduação e aos meus parceiros de experimentos, que sem eles eu não teria conseguido dar andamento ao meu projeto.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) (Processo nº: 141340/2020-7) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

“Respeite os problemas alheios, sem interferir neles, a menos que a sua cooperação seja solicitada. Não pronuncie palavras que ofendam e depreciem. Quando possível, dê sempre alguma frase de consolo e esperança a quem sofre. Não se faça estação de pessimismo ou desânimo. Esqueça o mal que receba e nunca faça a cobrança do bem que tenha podido distribuir. Não impulse para a frente qualquer questão desagradável. O trabalho no desempenho do seu dever é o capital que lhe valoriza as orações. Lembre-se da parcela de socorro que sempre devemos aos companheiros mais necessitados que nós mesmos. Quanto possível faça algo ou algo aprenda de útil para que seu dia de hoje seja melhor que o de ontem. Nunca se esqueça de que todas as vantagens ou benefícios que desfrutemos da vida são empréstimos de Deus.”

André Luiz*

□ André Luiz. Nosso lar: a vida no mundo espiritual. Psicografado por Francisco Cândido Xavier. Rio de Janeiro: FEB; 1944.

Ramos MLG. Avaliação do extrato amazônico de pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) puro e associado com hidróxido de cálcio como medicação intracanal [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

RESUMO

A *Pentaclethra macroloba*, da família Fabaceae, comumente conhecida como "pracaxi" é uma árvore nativa da Amazônia, e o seu extrato tem sido estudado quanto a suas inúmeras propriedades, tais como: anti-inflamatórias, cicatrizantes e antimicrobianas. O presente estudo tem como objetivo avaliar uma inovadora medicação intracanal contendo o extrato de pracaxi (*Pentaclethra macroloba*), puro ou associado ao hidróxido de cálcio. **Manuscrito 1:** 3 grupos foram determinados: ULT (hidróxido de cálcio com metilcelulose); HCP (hidróxido de cálcio associado com extrato de *Pentaclethra macroloba*); e EPM (extrato de *Pentaclethra macroloba* puro). Para avaliar sua atividade antimicrobiana, foi realizado o teste de macrodiluição e avaliação intratubular em Microscopia Confocal de Varredura a Laser (CLSM) com cepas padrão de *Enterococcus faecalis*. Para a análise dos resultados obtidos o teste de Shapiro-Wilk foi aplicado com o objetivo de averiguar se houve distribuição normal da amostra, e dependendo do tipo de distribuição os testes ANOVA e Tukey ou Kruskal Wallis e Dunn, com nível de significância de 5%. O extrato em associação com hidróxido de cálcio apresentou menor Concentração Bactericida Mínima. No CLSM todas as medicações testadas foram efetivas contra *E. faecalis* ($P > 0,05$). **Manuscrito 2:** 3 grupos foram determinados: extrato etanólico de *Pentaclethra macroloba* puro, associação de hidróxido de cálcio pa com o extrato e hidróxido de cálcio pa puro. Para avaliar a citotoxicidade foi escolhida cultura de células de fibroblastos L929 e osteoblasts Saos-2, onde foi observado a viabilidade/metabolismo celular por ensaio de MTT, proliferação celular com alamar blue e para se analisar se a medicação é bioativa, os testes de fosfatase alcalina (ALP) e vermelho de alizarina (ARS) foram utilizados. Para a análise dos resultados obtidos o teste ANOVA One-way /teste de Dunnett e ANOVA Two-way/ Tukey foram utilizados. Em Osteoblastos Saos-2, concentrações menores das medicações foram menos citotóxicas no ensaio de MTT. Houve proliferação celular no dia 3 e 5. E observou-se presença de nódulos de mineralização nos 3 grupos. Em Fibroblastos L929 as menores concentrações não se mostraram citotóxicas no ensaio de MTT, e houve proliferação celular nos dias 3, 5 e 7. **Conclusões:** A nova droga intracanal à base de extrato de *P. macroloba* tem efeito antimicrobiano contra *E. Faecalis* e é pouco citotóxica às células testadas, além de serem bioativas.

Palavras chave: Óleos Vegetais. Endodontia. Hidróxido de Cálcio.

Ramos MLG. Evaluation amazonian extract of pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) purê and associated with calcium hydroxide with intracanal medication [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

ABSTRACT

The *Pentaclethra macroloba*, from the Fabaceae family, commonly known as "pracaxi" is a tree native to the Amazon, and its extract has been studied for its numerous properties, such as: anti-inflammatory, healing and antimicrobial. The present study aims to evaluate an innovative intracanal medication containing pracaxi extract (*Pentaclethra macroloba*), pure or associated with calcium hydroxide. **Manuscript 1:** 3 groups were determined: ULT (calcium hydroxide with methylcellulose); HCP (calcium hydroxide associated with *Pentaclethra macroloba* extract); and EPM (pure *Pentaclethra macroloba* extract). To evaluate its antimicrobial activity, the macrodilution test and intratubular evaluation in Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) were performed for standard strains of *Enterococcus faecalis*. For the analysis of the results obtained, the Shapiro-Wilk test was applied to verify the normal distribution of the sample, and there was the type of distribution of the ANOVA and Tukey or Kruskal Wallis and Dunn tests, with a significance level of 5%. The extract in association with calcium oxide presented the lowest Minimum Bactericidal Concentration. In CLSM all tested medications were effective against faecalis ($P > 0.05$). **Manuscript 2:** 3 groups were determined: ethanolic extract of *Pentaclethra macroloba* pure, association of calcium hydroxide pa with the extract and calcium hydroxide pure pa. To evaluate the cytotoxicity, a culture of osteoclast cells Saos 2 was chosen, where the cell viability/metabolism was observed by MTT assay, cell proliferation with alamar blue and to analyze whether the medication is bioactive, the alkaline phosphatase (ALP) and alizarin red tests (ARS) were used. For the analysis of the results, the One-way ANOVA/Dunnett's test and Two-way ANOVA/Tukey were used ($P > 0.05$). In Osteoblasts Saos-2, lower concentrations of medications were less cytotoxic in the MTT assay. There was cell proliferation on days 3 and 5. And we observed the presence of mineralization nodules in the 3 groups. In L929 Fibroblasts the lowest concentrations were not cytotoxic in the MTT assay, and there was cell proliferation on days 3, 5 and 7. **Conclusions:** The new intracanal drug based on *P. macroloba* extract has an antimicrobial effect against *E. Faecalis* and is not very cytotoxic to the tested cells, in addition to being bioactive.

Keywords: Plant Oils. Endodontics. Calcium Hydroxide.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	09
2 PROPOSIÇÃO	11
3 MANUSCRITOS.....	12
3.1 Manuscrito 1	12
3.2 Manuscrito 2	25
4 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
APÊNDICE A	44

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico tem por finalidade a eliminação de micro-organismos, restos pulpare e necróticos presentes no sistema de canais radiculares (SCR), modelando-os¹ e assim favorecendo a ação da solução irrigadora² além de proporcionar um espaço adequado para o preenchimento com material obturador³. A limpeza e modelagem do SCR são fundamentais para o sucesso clínico⁴.

Durante o preparo ocorre a remoção mecânica da dentina infectada e alargamento das paredes do canal o que propicia a penetração de irrigantes através do canal principal, melhorando o processo de descontaminação⁵. No entanto, microrganismos e restos de tecido necrótico ou pulpar permanecem no SCR, presentes nas superfícies do canal radicular que permaneceram intocadas, independente dos instrumentos utilizados durante o preparo⁶. Diversos estudos relataram que o preparo químico-mecânico não elimina todas as bactérias do canal radicular⁷⁻⁹.

A presença de micro-organismos no SCR desencadeia a persistência ou reinfecção caso obtenham acesso aos tecidos perirradiculares após a obturação dos canais radiculares¹⁰, e é a principal causa de fracasso no tratamento endodôntico¹¹. Este infortúnio provoca uma intensa resposta inflamatória¹², que leva à destruição dos tecidos periapicais, conhecido como periodontite apical^{13,14}.

O *Enterococcus faecalis* é a espécie microbiana mais comumente encontrada em canais radiculares após falha do tratamento endodôntico¹⁵. A infecção endodôntica abriga uma microbiota polimicrobiana composta por microrganismos aeróbios, anaeróbios, gram-positivos e gram-negativos que se organizam sob a forma de biofilme¹⁶. Biofilmes são comunidades microbianas envoltas por matriz extracelular de polissacarídeo e proteínas na qual as células ficam aderidas¹⁷ e apresentam grande resistência à antissépticos e antibióticos¹⁸. A eliminação do biofilme e a destruição dos micro-organismos do sistema de canais radiculares são objetivos importantes na desinfecção endodôntica¹⁹.

Para efetivar a remoção de micro-organismos resistentes ao preparo químico-mecânico o uso da medicação intracanal, deve ser utilizado como forma complementar ao preparo na desinfecção do SCR²⁰. Um dos principais avanços nas medicações utilizadas foi o advento da pasta antibiótica tripla, contendo metronidazol,

ciprofloxacina e minociclina, que apesar de sua eficácia, apresenta a possibilidade de descoloração dos dentes devido à presença de minociclina^{21,22}. Outras alternativas foram surgindo, como o uso de medicamentos associados à combinação do hidróxido de cálcio e veículos bioativos²²⁻²⁵. Por outro lado, nenhuma medicação é capaz de eliminar todos os micro-organismos presentes no SCR.

A *Pentaclethra macroloba*, da família Fabaceae, é comumente conhecida como "árvore Gavil", "pracaxi" ou "pracachy" e é uma árvore nativa da Amazônia que vem ganhando atenção devido sua exploração eco-sustentável²⁶. Suas sementes contêm aproximadamente 30% de óleo de pracaxi²⁷. Este óleo é composto por ácidos graxos que se dividem em: ácido arelaúrico (0,4%), ácido mirístico (0,3%), ácido palmítico (2,9%), ácido palmioleoleico (0,1%), ácido esteárico (3,6%), ácido oleico (61,4%), ácido linoléico (16,5%), ácido linolênico (0,8%), ácido araquídico (1,2%), ácido beênico (8,4%) e ácido lignocérico (4,1%)²⁸. *Pentaclethra macroloba* possui efeito anti-hemorrágicos, antiproteolíticos²⁹, antibacteriano contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus spp.* e *Enterococcus spp.*) e Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* e *Klebsiella pneumoniae*)³⁰ e cicatrizante³¹. Sendo assim, o seu emprego como medicação intracanal pode ser um benéfico e promissor tratamento para auxiliar no combate da infecção endodôntica, devido às suas propriedades biológicas e microbianas.

A eliminação de micro-organismos resistentes ainda hoje é um grande desafio na terapia endodôntica e o uso de óleos essenciais como o ``pracaxi`` objetivando o desenvolvimento de uma nova medicação intracanal eficaz frente aos patógenos endodônticos torna-se necessário. O projeto visa trabalhar em parceria da UNESP (Faculdade de Odontologia-FOAr e Faculdade de Ciências Farmacêuticas-FCF) com as escolas agrícolas do Amapá (Universidade Federal do Amapá-UNIFAP), Laboratório de Bioprospecção e Absorção Atômica - LAAB) através do trabalho em conjunto com o Prof. Dr. Roberto Messias Bezerra no intuito de propagar o conhecimento do potencial emprego dos extratos naturais de ``pracaxi`` extraídos de forma sustentável do bioma Amazônico e sua aplicabilidade na Odontologia, agregando valor.

4 CONCLUSÃO

O extrato de *Pentaclethra macroloba* mostrou ser um medicamento endodôntico promissor, tanto puro como em associação com o hidróxido de cálcio. Tendo características primordiais para uma medicação intracanal, por apresentar efeito antimicrobiano para cepas de *Enterococcus faecalis*, comuns em casos de insucesso de tratamento endodôntico. Além de uma potencial bioatividade, ajudando na regeneração tecidual e por não ser citotóxico aos tecidos quando em menores concentrações.

REFERÊNCIAS*

1. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics: a review. *Int Endod J*. 2010; 43(1): 2-15.
2. Srikanth P, Krishna AG, Srinivas S, Reddy ES, Battu S, Aravelli S. Minimal apical enlargement for penetration of irrigants to the apical third of root canal system: a scanning electron microscope study. *J Int Oral Health*. 2015; 7(6): 92- 6.
3. Burklein S, Hinschitza K, Dammaschke T, Schäfer E. Shaping ability and cleaning effectiveness of two single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth: reciproc and waveOne versus mtwo and protaper. *Int End J*. 2012; 45(5): 449-61.
4. Siqueira Jr JF, Alves FR, Almeida BM, de Oliveira JC, Rôças IN. Ability of chemomechanical preparation with either rotary instruments or self-adjusting file to disinfect oval-shaped root canals. *J Endod*. 2010; 36(11): 1860-5.
5. Estrela C, Holland R, Estrela CR, Alencar AH, Sousa-Neto MD, Pecora JD. Characterization of successful root canal treatment. *Braz Dent J*. 2014; 25(1): 3-11.
6. Siqueira Jr JF, Rocas IDN, Marceliano-Alves MF, Perez AR, Ricucci D. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Braz Oral Res*. 2018; 32, e65.
7. Zandi H, Rodrigues RC, Kristoffersen AK, Enersen M, Mdala I, Ørstavik D et al. Antibacterial effectiveness of 2 root canal irrigants in root-filled teeth with infection: a randomized clinical trial. *J Endod*. 2016; 42(9): 1307-13.
8. Rodrigues RCV, Zandi H, Kristoffersen AK, Enersen M, Mdala I, Ørstavik D et al. Influence of the apical preparation size and the irrigant type on bacterial reduction in root canal-treated teeth with apical periodontitis. *J Endod*. 2017; 43(7): 1058-63.
9. Gazzaneo I, Vieira GCS, Perez AR, Alves FR, Gonçalves LS, Mdala I et al. Root canal disinfection by single and multiple instrument systems: effects of sodium hypochlorite volume, concentration, and retention time. *J Endod*. 2019; 45(6): 736-41.
10. Gomes BP, Martinho FC, Vianna ME. Comparison of 2.5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine gel on oral bacterial lipopolysaccharide reduction from primarily infected root canals. *J Endod*. 2009; 35(10): 1350-53.
11. Siqueira Jr JF. Microbial causes of endodontic flare-ups. *Int Endod J*. 2003; 36(7): 453-63.
12. Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand*. 2001; 59(3): 167–73.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

13. Martinho FC, Chiesa WM, Leite FR, Cirelli JA, Gomes BP. Antigenicity of primary endodontic infection against macrophages by the levels of PGE(2) production. J Endod. 2011; 37(5): 602–7.
14. Martinho FC, Chiesa WMM, Leite FRM, Cirelli JA., Gomes BPFA. Correlation between clinical/radiographic features and inflammatory cytokine networks produced by macrophages stimulated with endodontic content. J Endod. 2012; 38(6): 740-45.
15. Gulabivala K, Ng YL. Biofilm-associated infections in root canals: treatment and outcomes. In: de Paz LEC, Sedgley CM, Kishen A, editors. The root canal biofilm. Berlin Heidelberg: Springer; 2015. p. 191–258.
16. Ricucci D, Siqueira Jr JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. J Endod. 2010; 36(8): 1277-88.
17. Lee SH, Baek DH. Antibacterial and neutralizing effect of human beta- defensins on *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecalis* lipoteichoic acid. J Endod. 2012; 38(3): 351-6.
18. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. Periodontology 2000. 2002; 28(1): 12-55.
19. Wu D, Fan W, Kishen A, Gutmann JL, Fan B. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2014; 40(2): 285-90.
20. Paiva SSM, Siqueira Jr JF., Rôças IN, Carmo FL, Leite DCA., Ferreira DC et al. Clinical antimicrobial efficacy of NiTi rotary instrumentation with NaOCl irrigation, final rinse with chlorhexidine and interappointment medication: a molecular study. Int Endod J. 2013; 46(3): 225-33.
21. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. Int Endod J. 1996; 29(2): 125-30.
22. Nagata JY, Gomes BPFA, Rocha Lima TF, Murakami LS, de Faria D, Campos GR et al. Traumatized immature teeth treated with 2 protocols of pulp revascularization. J Endod. 2014; 40(5): 606-12.
23. Soares AJ, Lins FF, Nagata JY, Gomes BPFA, Zaia AA, Ferraz CC et al. Pulp revascularization after root canal decontamination with calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel. J Endod. 2013; 39(3): 417-20.
24. Nagata JY, Soares AJ, Souza-Filho FJ, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JFA et al. Microbial evaluation of traumatized teeth treated with triple antibiotic paste or calcium hydroxide with 2% chlorhexidine gel in pulp revascularization. J Endod. 2014; 40(6): 778-83.
25. Nagata JY, Rocha-Lima TF, Gomes BPFA, Ferraz CC, Zaia AA, Souza- Filho FJ et al. Pulp revascularization for immature replanted teeth: a case report. Aust Dent J. 2015; 60(3): 416-20.

26. Teixeira GL, Maciel LG, Mazzutti S, Gonçalves CB, Ferreira SRS, Block JM. Composition, thermal behavior and antioxidant activity of pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) seed oil obtained by supercritical CO₂. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020; 24: 101521.
27. Pesce C. Oleaginosas da Amazônia. 2. ed. rev. atual. Belém: MuseuParaense Emílio Goeldi: Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural; 2009.
28. Lima RP, da Luz PTS, Braga M, dos Santos Batista PR, da Costa CEF, Zamian JR et al. Murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.) butter and oils of buriti (*Mauritia flexuosa* Mart.) and pracaxi (*Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze) can be used for biodiesel production: physico-chemical properties and thermal and kinetic studies. *Industrial Crops and Products*. 2017; 97: 536-44.
29. da Silva JO, Fernandes RS, Ticli FK, Oliveira CZ, Mazzi MV, Franco JJ et al. Triterpenoid saponins, new metalloprotease snake venom inhibitors isolated from *Pentaclethra macroloba*. *Toxicon*. 2007; 50(2): 283-91.
30. Leal ICR, I Júnior I, Pereira EM, Laport MDS, Kuster RM, Santos KRND. *Pentaclethra macroloba* tannins fractions active against methicillin: resistant staphylococcal and Gram-negative strains showing selective toxicity. *Rev Bras Farm*. 2011; 21(6): 991-9.
31. Banov D, Banov F, Bassani AS. Case series: the effectiveness of fatty acids from pracaxi oil in a topical silicone base for scar and wound therapy. *Dermatol Ther*. 2014; 4(2): 259-69.