

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DO EXTRATO ALCOÓLICO DA CASCA E
DA SEMENTE DA *Dipteryx alata* Vogel NA
CICATRIZAÇÃO DA PELE DE CAMUNDONGOS
(LINHAGEM C57BL6)**

**Marcelo Candido Portilho Gouveia
Médico Veterinário**

2020

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DO EXTRATO ALCOÓLICO DA CASCA E
DA SEMENTE DA *Dipteryx alata* Vogel NA
CICATRIZAÇÃO DA PELE DE CAMUNDONGOS
(LINHAGEM C57BL6)**

**Discente: Marcelo Candido Portilho Gouveia
Orientador: Prof. Associado Bruno Watanabe Minto
Coorientadora: Profa. Dra. Josiane Moraes Pazzini**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária

2020

G719a

Gouveia, Marcelo Candido Portilho

Avaliação do extrato alcoólico da casca e da semente da *Dipteryx alata* Vogel na cicatrização da pele de camundongos (linhagem C57BL6) / Marcelo Candido Portilho Gouveia. -- Jaboticabal, 2020
49 p.

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Bruno Watanabe Minto
Coorientadora: Josiane Moraes Pazzini

1. Cicatrização. 2. Plantas medicinais. 3. Extratos vegetais. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DO EXTRATO ALCOÓLICO DA CASCA E DA SEMENTE DA *Dipteryx alata* VOGEL NA CICATRIZAÇÃO DA PELE DE CAMUNDONGOS (LINHAGEM C57BL6)

AUTOR: MARCELO CÂNDIDO PORTILHO GOUVEIA

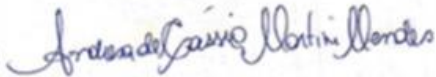
ORIENTADOR: BRUNO WATANABE MINTO

COORIENTADORA: JOSIANE MORAIS PAZZINI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. BRUNO WATANABE MINTO 
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. ANDRESA DE CÁSSIA MARTINI
Centro Universitário de Mineiros-UNIFIMES / Mineiros/GO



Dr. PEDRO CARVALHO CASSINO

Universidade Católica Domo Bosco - UCDB / Campo Grande/MS



Jaboticabal, 26 de junho de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Marcelo Candido Portilho Gouveia, nascido em 6 de outubro de 1992, no município de Piranhas, estado de Goiás. Ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), câmpus de Cuiabá, em agosto de 2011. No mesmo câmpus, participou da diretoria e atividades do Centro Acadêmico, além da participação como estagiário no setor de cirurgia de pequenos animais por 3 anos. Em outubro de 2016 obteve o título de Médico Veterinário com 4800 horas de atividades extracurriculares documentadas. Iniciou o Programa de Aprimoramento Profissional em Medicina Veterinária e Saúde Pública com ênfase em cirurgia de pequenos animais na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, câmpus de Jaboticabal, em setembro de 2017, concluindo-o em fevereiro de 2019. Iniciou o mestrado em Cirurgia Veterinária em março de 2019 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, câmpus de Jaboticabal, que está em curso.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu avô de coração
Valdivino Bispo da Conceição.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que me deu força, saúde e paz para conduzir este trabalho.

Agradeço ao meu amigo e orientador Prof. Bruno Watanabe Minto por todos os ensinamentos, paciência, companheirismo e carinho.

Aos meus pais Leopoldino Gouveia Neto e Elizene Candido Faustino Gouveia, a minha irmã Luciana Candido Portilho Gouveia e a minha eterna “baba” e segunda mãe Vanda Maria da Conceição.

Aos meus queridos amigos e mentores Andresa Martini, Erika Rondon, Thiago Rocha, Tiago Prada e Dimitri Bassalo.

Ao Prof. Marcos de Almeida Souza que me alertou do potencial deste trabalho.

A Universidade Federal de Mato Grosso, ao programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da Unesp câmpus de Jaboticabal e a FAPESP que me deu a oportunidade de desenvolver um trabalho com a interação de diferentes disciplinas contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional (processo nº 2018/25061-6, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP).

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação de mestrado faz parte das obrigações para obtenção do título em mestre em Cirurgia Veterinária pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp – câmpus de Jaboticabal – SP. Ele está dividido em capítulos para melhor compreensão e apresentação dos resultados. No capítulo 1 (um) estão presentes as considerações gerais, contendo introdução, revisão de literatura, e objetivos; o capítulo 2 (dois) consiste no artigo científico; e o capítulo 3 (três) corresponde às considerações finais.

SUMÁRIO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA).....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
Introdução.....	1
Revisão de literatura.....	3
Objetivos.....	6
Referências.....	6
CAPÍTULO 2 – Avaliação do extrato alcoólico da casca e semente da <i>Dipteryx alata</i> Vogel (Leguminosae) na cicatrização da pele em camundongos (linhagem C57BL6).....	12
Resumo.....	12
Abstract.....	13
Introdução.....	13
Material e métodos.....	15
Matéria vegetal.....	15
Preparação do extrato de sementes e cascas da <i>Dipteryx alata</i> Vogel.....	15
Confecção da ferida cutânea.....	16
Ensaio in vivo.....	17
Análise macroscópica, microscópica e histoquímica.....	18
Análise estatística.....	21
Resultados e discussão.....	22
Conclusão.....	30
Referências.....	31
CAPÍTULO 3 - Considerações finais.....	37
ANEXO 1 – Certificado de análise do creme base.....	38



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo Nº 23108.143811/2016-77, sobre "Análise morfológica e morfométrica da reparação tecidual de feridas cutâneas em camundongos tratadas com extrato de *Dipteryx alata*", sob a responsabilidade de Prof. Dr. ROBERTO LOPES DE SOUZA/Marcelo Candido Portilho Gouveia & Col., está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)-UFMT em reunião ordinária de 19/05/2016.

CERTIFICATE

We certify that the protocol Nº 23108.143811/2016-77, entitled "Morphological and morphometric analysis of cutaneous wounds repair in mice treated with extract of *Dipteryx alata*", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in the Use of Animals (Federal University of Mato Grosso – UFMT) on May 19, 2016.

Cuiabá-MT, 19 de maio de 2016.

Prof. Dr. Roberto Vilela Veloso
Presidente

Prof. Dr. Daniel Moura de Aguiar
Vice-Presidente

Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT
Cidade Universitária – Av. Fernando Corrêa da Costa, 2.357
Barro Boa Esperança – CEP 75060-900 – CUIABÁ-MT, Brasil.

Telefone: (65) 3615-8029
Fax: (65) 3615-0258
E-mail: ceua@ufmt.br

Avaliação do extrato alcoólico da casca e da semente da *Dipteryx alata* Vogel na cicatrização da pele de camundongos (linhagem C57BL6)

RESUMO - A *Dipteryx alata* Vogel (Baru) é uma das espécies nativas do cerrado brasileiro que apresenta grande potencial nutricional e farmacológico. Desta forma, o objetivo desse estudo foi avaliar por meio de análises histológicas e imuno-histoquímicas o potencial terapêutico do Baru no processo de cicatrização de feridas dérmicas em camundongos da linhagem C57BL6. Os animais foram submetidos à confecção de defeito cutâneo com punch 9 mm na região dorsal do tórax, e distribuídos em 6 grupos, sendo: Grupo 01 (n= 9 machos) e 02 (n= 9 fêmeas) nos quais os animais receberam somente o creme base (veículo), compondo os grupos controle; grupo 03 (n= 9 machos) e 04 (n= 9 fêmeas) os quais receberam extrato da casca a 10%; e animais do grupo 05 (n= 9 machos) e 06 (n= 9 fêmeas) os quais receberam extrato da semente a 10 %. Todos foram tratados duas vezes ao dia por via tópica até a total cicatrização, tendo como períodos de avaliações 7, 14 e 21 dias. Não houve diferença estatística nos grupos analisados pelos marcadores CD31 e picrosirius tipo III. E pouca diferença na velocidade de fechamento das feridas, qualidade da reepitelização, neovascularização e colagenização, observados respectivamente pela macroscopia e H&E. Adicionalmente, não observou-se inflamação exacerbada, retração tecidual, perda de epitélio piloso ou infecção. A *Dipteryx alata* se mostrou viável, apesar de não ter sido demonstrado favorecimento significativo para o processo de cicatrização.

Palavras-chave: Baru, camundongos, cicatrização, *Dipteryx alata* Vogel, ferida

Evaluation of the alcoholic extract of the bark and almond from *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae) in the wound healing in mice (lineage C57BL6)

ABSTRACT - *Dipteryx alata* Vogel (Baru) is one of the native species of the Brazilian cerrado with potential nutritional and pharmacological features. Our study aimed to evaluate the effect of the Baru on wound healing in mice of the C57BL6 lineage, through histological and immunohistochemical analyzes. A 9 mm skin defect was created in the dorsal region of the chest. The animals were divided into 6 groups: Group 01 (n= 9 males) and 02 (n= 9 females) in which the animals received only base cream (vehicle); group 03 (n= 9 males) and 04 (n= 9 females) which received bark extract in 10%; and animals from group 05 (n= 9 males) and 06 (n= 9 females) which received 10% seed extract. All wounds were treated topically twice a day until complete healing, and evaluated at 7, 14 and 21 days postoperatively. There was no statistical difference between groups considering CD31 and picrosirius type III markers. Subtle differences were noted on wound closure velocity, quality of re-epithelialization, neovascularization and collagenization, according to macroscopy and H&E. Additionally, exacerbated inflammation, tissue retraction, loss of hair epithelium or infection were not observed. *Dipteryx alata* proved to be viable, although no significant favoring for wound healing process has been demonstrated.

Keywords: Baru, mice, healing, *Dipteryx alata* Vogel, wound

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

Introdução

Desde os primórdios da humanidade, o homem, ao procurar nas plantas uma fonte de alimento, observou que algumas delas promoviam efeitos terapêuticos (Oliveira et al., 2018). Muitas plantas, ditas medicinais, não possuem respaldo científico, especialmente pelo fato de terem sido objeto de experimentação. Uma das plantas medicinais que ainda é utilizada nos dias de hoje é a *Dipteryx alata* Vogel, pertence à família Leguminosae. Representa uma espécie nativa do cerrado brasileiro, encontrada principalmente dos estados de Minas Gerais, Goiás, Distrito Federal e Mato Grosso (Esteves-Pedro et al., 2012; Neto et al., 2016).

Esta espécie é conhecida popularmente como "baru" em Minas Gerais, "cumbaru" em Mato Grosso, e "cumaru" em outros estados. A planta tem grande potencial econômico devido ao seu uso múltiplo. A fruta, rica em proteínas, fibras e ácidos graxos insaturados, é usada como alimento humano ou animal, e também em formulações cosméticas (Takemoto et al., 2001; Fernandes et al., 2010; Sacher, 2014).

Tradicionalmente, os habitantes locais usam o baru para combater a bronquite, diarreia, dores, gripe, picadas de cobra, tosse e como cicatrizante (Bieski et al., 2012; Santos et al., 2017). Entretanto, apenas a atividade contra a picada de cobra foi cientificamente comprovada (Puebla et al., 2010).

Nas investigações fitoquímicas sobre *Dipteryx alata* foram encontrados ácidos graxos insaturados (80%), sendo o componente principal o ácido oleico (ômega 9) (44,53%) seguido do linoleico (ômega 6) (31,7%), palmítico (7,16%), esteárico (5,33%) e outros, além da vitamina E (13,62 mg/100 g), nas suas sementes (Togashi; Sgarbieri, 1994). Na casca foram encontrados flavonoides, polifenóis (Esteves-Pedro et al., 2012), triterpenois, isoflavonas e os ácidos fenólicos (Puebla et al., 2010; Santos et al., 2017). Assim sendo, há evidências do seu poder de cicatrização. Entretanto, não há relatos sobre o uso em processos de cicatrização.

O uso de produtos naturais tem sido empregado nas feridas cutâneas com o intuito de auxiliar o complexo processo cicatricial, em que há contribuição de vários fatores (Estevão et al., 2013). 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; Bezerra, 2016).

Verifica-se intensificação da pesquisa de produtos naturais como auxiliares no processo de cicatrização. Alguns exemplos são o óleo de copaíba, a papaína, a vitamina A (Leite et al., 2012; Estevão et al., 2013); o extrato aquoso de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, conhecido como Barbatimão verdadeiro, o qual atualmente e já é utilizado como base para a produção de um fitoterápico vendido nas farmácias brasileiras (Minatel et al., 2010); os extratos das plantas *Calendula officinalis* L., *Coronopus didymus* (L.) Smith e *Aloe Vera* (L.) Burm. f., (Nitz et al., 2006; Faleiro et al., 2009); a emulsão contendo o polissacarídeo da planta *Anacardium occidentale* L. (Schirato et al., 2006); e o extrato das folhas da planta Crajiru (*Arrabidaea chica* Verlot.), (Brasil, 2009).

Na medicina popular muitos extratos de plantas são utilizados para o tratamento de diversos tipos de doenças. Devido à grande procura por terapias alternativas, nos dias de hoje, nota-se o retorno do interesse pelas plantas medicinais. 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 et al., 2005; Hasenclever et al., 2017; Macedo et al., 2017).

Porém, para uma planta ser considerada alvo de estudo é preciso que tenha efeito terapêutico e não apresente toxicidade, como no presente caso (Esteves-Pedro et al., 2012).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é avaliar o potencial terapêutico no processo de cicatrização da planta *Dipteryx alata* utilizada na medicina tradicional, contribuindo para sua preservação e comprovar os efeitos da terapia alternativa.

Revisão de Literatura

Desde os tempos antigos, o homem busca manter sua integridade física e mental e o tratamento de feridas é um exemplo disso (Piriz et al., 2014). A terapêutica de feridas é, provavelmente, uma das áreas mais antigas da Medicina, com descrições desde a antiguidade, onde relatos egípcios indicam o uso de técnicas menos sofisticadas, mas com princípios que são usados até os dias atuais (Abranches, 2015).

Internações prolongadas, uso de antibióticos onerosos, trocas de curativos frequentes e cuidados de profissionais especializados tem atraído a atenção de médicos e enfermeiros, e também de administradores da área da saúde preocupados com o impacto financeiro dos tratamentos de feridas complexas no ambiente hospitalar (Coltro et al., 2011).

As feridas são definidas como “quebras da solução de continuidade das estruturas do corpo” ou como “ruptura das estruturas e funções normais dos tecidos”, ou seja, perda da cobertura cutânea e em alguns casos a perda também dos tecidos subcutâneos, músculos e ossos. Atualmente o trauma é a principal causa de feridas, podendo ter origem interna ou externa ao tecido afetado e variando desde uma lesão aguda e controlada até uma agressão generalizada de tratamento complicado e prolongado (Panobianco et al., 2012; Bezerra, 2016).

Feridas complexas são aquelas de difícil resolução a que estejam associadas à perda cutânea extensa, infecções agressivas, perda de viabilidade dos tecidos por isquemia e/ou necrose e associação com doenças sistêmicas que prejudiquem os processos normais de cicatrização (diabetes, vasculopatias, vasculites) (Coltro et al., 2011; Lima et al., 2017; Milcheski et al., 2017).

Uma classificação para as feridas complexas, segundo sua etiologia, foi criada, dividindo-as em feridas traumáticas (incluindo as queimaduras), feridas cirúrgicas complicadas, feridas necrotizantes, úlceras por pressão, úlceras venosas, feridas por diabetes, feridas por vasculite e feridas pós-irradiação (Ferreira et al., 2006; Milcheski et al., 2017).

Independentemente do tipo ou classificação o resultado esperado do tratamento é a cicatrização com retorno pleno à função, sem ocorrência de

sequelas. A Cicatrização é o processo pelo qual o tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado (Panobianco et al., 2012; Korelo et al., 2017), tendo como finalidade restabelecer a homeostasia tecidual (Cavalcante et al., 2012; Korelo et al., 2017). Deste modo, destaca-se a importância do conhecimento deste processo, assim, facilitando a escolha do tratamento e fazendo com que a cicatrização seja acelerada.

O tratamento de feridas complexas pode ser realizado por meio de técnicas cirúrgicas ou conservadoras. A conduta cirúrgica é indicada para as feridas extensas e/ou profundas, com exposição de tecidos nobres, relacionadas às superfícies ósseas de apoio, associadas à graves doenças sistêmicas ou infecções, e nos casos de amputações digitais. Os procedimentos cirúrgicos são agrupados em desbridamentos cirúrgico e enxertos de pele, isolados ou associados à terapia por pressão negativa (sistema a vácuo), retalhos pediculados ou retalhos microcirúrgicos, e reimplantes digitais (Coltro et al., 2011; Lima et al., 2017; Milcheski et al., 2017)

Já a conduta conservadora ou não cirúrgica é adotada em pacientes sem condições clínicas para serem submetidos ao tratamento cirúrgico. Também se opta por este tratamento em feridas pequenas e superficiais, ou naquelas em estágios iniciais de desenvolvimento. A terapia conservadora compreende o uso de curativos (carvão ativado, hidrocoloide, sulfadiazina de prata), de desbridantes tópicos (papaína, colagenase, alginato de cálcio, hidrogel), e / ou de emolientes e de medidas sócio-educativas (limpeza local da ferida e mudança dos hábitos de vida) (Coltro et al., 2011; Bezerra, 2016).

Embora a reparação tecidual seja um processo sistêmico, é necessário favorecer as condições locais através de terapia tópica adequada para viabilizar o processo fisiológico, como por exemplo, o uso de pomadas (Macedo et al., 2017).

As chamadas “terapias alternativas” são caracterizadas pela utilização de métodos não convencionais na Medicina, e tem sido outra forma de busca pela cura (Macedo et al., 2017). Pesquisas que avaliam métodos alternativos para o tratamento de feridas, como de fitoterápicos tem se mostrado muito relevantes, pois visam meios de acelerar o processo de cicatrização, minimizando desconforto ao paciente, facilitando a prestação dos cuidados de enfermagem e

de toda a equipe envolvida, buscando diminuir o tempo de internação e os custos hospitalares e ambulatoriais (Cassiano, 2017).

O uso de plantas medicinais pode ser entendido como uma prática que atravessa milênios, estando historicamente presente, articulando cultura e saúde (Estevão et al., 2013). O uso de fitoterápico na promoção da saúde tem sido, há séculos, uma importante ferramenta nas ciências médicas. O baixo custo de aquisição, e a fácil disponibilidade tornam-se importantes alternativas no tratamento de doenças (Baracho et al., 2016).

Ao longo dos séculos, produtos de origem vegetal vêm sendo usados como base para o tratamento de diversas doenças, fato que se deve a evolução do homem no conhecimento sobre as propriedades de determinadas plantas (Vieira, 2018). O emprego de plantas medicinais na recuperação de feridas tem evoluído ao longo dos tempos desde as formas mais simples de tratamento local, provavelmente utilizada pelo homem das cavernas, até as formas tecnologicamente sofisticadas da fabricação industrial, utilizadas pelo homem moderno (Baracho et al., 2016).

Hipócrates (460 – 377 a.C.) sugeriu que feridas contundentes deveriam ser tratadas com pomadas para promover a supuração, remover material necrótico e reduzir a inflamação. O mel e o azeite, assim como o vinho, estavam entre as pomadas mais usadas. Ambroise Pare, Século XVI, introduziu a necessidade de desbridamento, aproximação das bordas e uso de curativos. Lister, no Século XIX, desenvolveu o conceito da antisepsia da pele e do material cirúrgico, colaborando para a resolução das feridas (Abranches et al., 2015).

Dessa forma, entende-se a medicina que conhecemos hoje, graças ao resgate e evolução dos métodos de cura e conhecimentos empíricos utilizados há milhares de anos (Vieira, 2018). Assim, atualmente, existem diversos recursos disponíveis para auxiliar no processo de cicatrização, também para sua aplicação na realização de curativos e técnicas para o tratamento de feridas. Contudo, se faz cada vez mais necessário que haja estudos embasados sobre o tema, a fim de extrair ainda mais conhecimento sobre a utilização dessas terapias (Cassiano, 2017).

Parente (2009) mostrou por meio de estudos em animais de laboratório, atividades cicatrizantes e antibacterianas da *C. officinalis*, conhecida também por

Calêncula, comprovando a eficácia de seu uso na aceleração do processo de cicatrização em tratamento pós-operatório ou pós-traumático. Ferreira (2013) avaliou o desempenho de caprinos castrados, submetidos ao tratamento alternativo da ferida cirúrgica com pomada contendo extrato de *Calêndula officinalis* que, comprovando a eficácia do medicamento à base do fitoterápico, podendo ser usado no tratamento de ferimentos de animais sem efeitos negativos.

Moreira (2018) em um estudo com 15 bezerros submetidos à procedimento de descorna, comprovou a eficácia no tratamento das feridas utilizando pomada à base de própolis, mostrando-se como um potencial alternativo no tratamento de feridas cirúrgicas em animais de produção. Baracho (2016) avaliou o efeito do uso tópico do extrato hidroalcoólico de própolis a 30 % na cicatrização de feridas cirúrgicas em ratos diabéticos tipo I, e demonstrou que esse produto pode interferir de forma benéfica quando comparado a um grupo controle.

Objetivos

Objetivou-se com este estudo avaliar a cicatrização tecidual de feridas cutâneas em camundongos (linhagem C57BL6) tratadas com extrato alcoólico de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae). Além disso, avaliar o potencial terapêutico no processo de cicatrização e comprovar a eficácia dessa terapia alternativa.

Referências

ABRANCHES, M. V. **Plantas Medicinais e Fitoterápicos: Abordagem teórica com ênfase em nutrição**. Viçosa: A.S Sistemas, 2015.

BARACHO N.C., OLIVEIRA H. C., MAGALHÃES I. N., GIL B. L., IRULEGUI R. S. C. Extrato Hidroalcoólico de própolis e cicatrização de feridas no diabetes tipo I: Estudo experimental. **Revista Científica Universitas**, ed.2, vol.2, p.96, 2016.

BEZERRA S. M. G. (2016) **Feridas: efeito da intervenção educativa em relação ao conhecimento dos enfermeiros sobre avaliação, tratamento e custo**. 186 f. Tese (Doutorado em Enfermagem), UFPI, Teresina.

BIESKI I. G. C. SANTOS F. R., OLIVEIRA R. M., ESPINOSA M. M., MACEDO M., ALBUQUERQUE U. P., MARTINS D.T. de O. Ethnopharmacology of Medicinal Plants of the Pantanal Region (Brazil). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. Mato Grosso, ed1, v.1, p.36, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **RENISUS - Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

CASSIANO N. **Cromatografia líquida: novas tendências e aplicações**. Elsevier Brasil, 2017.

CAVALCANTE L.C., MOREIRA M.C., MOTA O.M.L., TURATTI E., VIANA F.A.C., PEREIRA S.L.S. Efeito da pedra umes no processo de cicatrização tecidual. Estudo histológico em dorso de ratos. **Brazillian Journal of Periodontology**, ed.22, v.1, p.69-73, 2012.

COLTRO P.S., FERREIRA M.C., BATISTA B.P.S.N., NAKAMOTO H.A., MILCHESKI D.A., TUMA JÚNIOR P. Atuação da Cirurgia Plástica no tratamento de feridas complexas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. ed. 38, v.6, p.381-6. 2011.

DEALEY C. **Cuidando de feridas: um guia para enfermeiras**. São Paulo, p.2–21, 1996.

ESTEVIÃO L. R. M., MEDEIROS J. P., BARATELLA-EVÊNCIO L., SIMOES R.S., MENDONÇA F.D.S., EVÊNCIO-NETO J. "Effects of the topical administration of

copaiba oil ointment (*Copaifera langsdorffii*) in skin flaps viability of rats,” **Acta Cirurgica Brasileira**, vol.28, n.12, p.863–869, 2013.

ESTEVEES-PEDRO N.M., BORIM T., NAZATO V.S., SILVA M.G., LOPES P.S., DOS SANTOS M.G., DAL BELO C.A., CARDOSO C.R.P., VARANDA E.A., GROppo F.C. In vitro and in vivo safety evaluation of *Dipteryx alata* Vogel extract. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, ed.12, p.9, 2012.

FALEIRO C. C., ELIAS S. T. H., CAVALCANTI L. C., CAVALCANTI A. S. S. O extrato das folhas de babosa, *Aloe vera* na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos, num ensaio controlado por placebo. **Natureza on line**, v.7, n.2, p.56-60, 2009.

FERNANDES D. C., FREITAS J. B., CZEDER L. P., NAVES M. M. V. Nutritional composition and protein value of the baru (*Dipteryx alata* Vog.) almond from the Brazilian Savanna. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, ed.90, p.1650-1655, 2010.

FERREIRA M.C., TUMA P. JR., CARVALHO V.F., KAMAMOTO F. Complex wounds. **Clinics**. ed.61, v.6, p.571-8, 2006.

FERREIRA S. F., OLIVEIRA E.B.F.R.B.M., FONSECA C. E. M., FERREIRA M. I. C., MORENZ M.J.F. Desempenho De Cabritos Castrados Tratados Com Calêndula E Associações. **Ciências Animais Brasileiras**, Goiânia, v.14, n.3, p. 272-278, 2013.

HASENCLEVER L., PARANHOS J., COSTA C. R., CUNHA G., VIEIRA D. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v.22, n.8, 2017.

KORELO R. I. G., FERNANDES L. C. Ultrassom terapêutico para cicatrização de feridas: revisão sistemática. **ConScientiae Saúde**, v.15, n.3, p.518-529, 2017.

LEITE A.P., OLIVEIRA B.G.R.B., SOARES M.F., BARROCAS D.L.R. Uso e efetividade da papaína no processo de cicatrização de feridas: uma revisão sistemática. **Revista Gaúcha de Enfermagem**. ed.33, v.3, p.198-207, 2012.

LIMA R. V. K. S., COLTRO P. S., JÚNIOR J. A. F. Terapia por pressão negativa no tratamento de feridas complexas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v.44, n.1, p. 81-93, 2017.

MACEDO J.L., OLIVEIRA A.S.S.S., MAGALHÃES M.J.S. Eficácia da fitoterapia no processo de cicatrização tecidual de pacientes com diagnóstico de diabetes mellitus. **Revista Ciência & Saberes-Facema**, v.3, n.1, p.396-400, 2017.

MILCHESKI D.A., MENDES R.R.D.S., FREITAS F.R., ZANINETTI G., MONEIRO JÚNIOR A.A., GEMPERLI R. Brief hospitalization protocol for pressure ulcer surgical treatment: outpatient care and one-stage reconstruction. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v.44, n.6, p. 574-581, 2017.

MINATEL D. G., PEREIRA A. M. S., CHIARATTI T. M., PASQUALIN L., OLIVEIRA J. C. N., COUTO L. B., LIA R. C. C., CINTRA J. M., BEZZON M. F. A., FRANCA S. C. Estudo clínico para validação da eficácia de pomada contendo barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) na cicatrização de úlceras de decúbito. **Revista Brasileira de Medicina**, v.67, n.7, p.250-256, 2010.

MOREIRA R.T., OLIVEIRA B.S., ROCHA A.A. Própolis: Uma Alternativa No Tratamento De Feridas Cirúrgicas Em Bovinos. **Revista Eixo**, Brasília-DF, v. 7, n. 1, p. 37, 2018.

NETO L.T., QUARESMA J.S., MACHADO F.R., MARCHEZAN T., GOÉS A.R., BOEIRA S.P. (2016) Caracterização da toxicidade do óleo de Baru (*Dipteryx Alata*) em camundongos Swiss machos. In: **Anais do 8º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**. Itaqui: Universidade Federal do Pampa, v.8, n.2.

NITZ A.C., ELY J. B., ACAMPORA A. J., TAMES D. R., CORRÊA B. P. Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: *Coronopu didymus* e *Calendula officinali*. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v.35, n.4, p.74-79, 2006.

OLIVEIRA T.L., NERI G.F., SANTOS V.J., BRITO N.M. Utilização de plantas medicinais por idosos em três bairros do município de Conceição do Almeida – BA. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v.14, n.2, p. 138-151, 2018.

PANOBIANCO M. S., SAMPAIO B. A. L, CAETANO E. A., INOCENTI A., GOZZO T. O. Comparação da cicatrização pós-mastectomia entre mulheres portadoras e não-portadoras de diabetes mellitus. **Revista Rene** ed.11, p.15-22, 2012.

PARENTE L.M.L., SILVA M.S.B., BRITO L.A.B., LINO JÚNIOR R.S., TREVENZOL L.M.F., ZATTA D.T., PAULO N.M. Efeito Cicatrizante e Atividade Antibacteriana da *Calêndula Oficinalis* L. Cultivada no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu. ed.11, vol.4, p.383, 2009.

PIRIZ M. A., LIMA C. A. B., JARDIM V. M. R., MESQUITA M. K., SOUZA A. D. Z., HECK R. M. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.3, p.628-636, 2014.

PUEBLA P., OSHIMA-FRANCO Y., FRANCO L. M., SANTOS M. G., da SILVA R. V., RUBEM-MAURO L., FELICIANO A. S. "Chemical constituents of the bark of *Dipteryx alata* Vogel, an active species against *Bothrops jararacussu* venom," **Molecules**, v.15, n.11, p.8193–8204, 2010.

RIBEIRO A. Q., LEITE J. P. V., DANTAS-BARROS A. M. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob influência da legislação nacional. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, ed.15, v.1, p.26-28, 2005.

SANCHEZ, R.M. (2014) **Estudo fitoquímico e Propriedades Biológicas da *Dipteryx alata Vogel* (baru)**. 98 f. Dissertação (Mestrado – Área de Ciência dos Materiais), UNESP, Ilha Solteira.

SANTOS F.B., RAMOS M.I.L., MIYAGUSKU L. Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from genipap, baru and taruma. **Ciência rural**, v.47, n.8, 2017.

SCHIRATO G. V., MONTEIRO F. M. F., SILVA F. O., LIMA FILHO J. L., LEÃO A. M. A. C., PORTO A. L. F. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.149-154, 2006.

TAKEMOTO E., OKADA I. A., GARBELOTTI M. L., TAVARES M., AUED-PIMENTEL S. Chemical composition of seeds and oil of baru (*Dipteryx alata* Vog.) native from Pirenópolis, State of Goiás, Brazil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, ed.60, p.113-117, 2001.

TOGASHI M., SGARBIERI V. C. Caracterização química parcial do fruto do baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v.14, n.1, p.85-95, 1994.

VIEIRA M.G.F. Aspectos Morfológicos e Morfométricos de Feridas Cutâneas em Ratos Tratadas com Extrato Hidroalcoólico de Ameixa-do-Mato (*Ximenia Americana*) a 10% **Programa De Pós-Graduação Em Biociência Animal - Universidade Federal Rural De Pernambuco**, 2018.

CAPÍTULO 2 – Avaliação do extrato alcoólico da casca e semente da *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae) na cicatrização de feridas cutâneas em camundongos (linhagem C57BL6)¹

RESUMO - A *Dipteryx alata* Vogel (Baru) é uma das espécies nativas do cerrado brasileiro que apresenta grande potencial nutricional e farmacológico. Desta forma, o objetivo desse estudo foi avaliar através de análises histológicas e imuno-histoquímicas o potencial terapêutico do Baru no processo de cicatrização de feridas dérmicas em camundongos da linhagem C57BL6. Os animais foram submetidos à confecção de defeito cutâneo através de punch de 9 mm na região dorsal do tórax, e distribuídos em 6 grupos, sendo: 01 (n = 9 machos) e 02 (n = 9 fêmeas) receberam somente o creme base (veículo), compondo os grupos controle; animais do grupo 03 (n = 9 machos) e 04 (n = 9 fêmeas) receberam extrato da casca da árvore a 10%; e animais do grupo 05 (n = 9 machos) e 06 (n = 9 fêmeas) receberam extrato da semente a 10 %. Todos foram tratados de 12 em 12 horas por via tópica até a total cicatrização, tendo como períodos de avaliações (sete, catorze e vinte e um dias). Não houve diferença estatística nos grupos analisados pelos marcadores CD31 e picrossirius tipo III. E pouca diferença na velocidade de fechamento das feridas, qualidade da reepitelização, neovascularização e colagenização, observados respectivamente pela macroscopia e H&E. Adicionalmente, não observou-se inflamação exacerbada, retração tecidual, perda de epitélio piloso ou infecção. A *Dipteryx alata* se mostrou viável, apesar de não ter sido demonstrado favorecimento significativo para o processo de cicatrização.

¹ Este capítulo corresponde ao artigo científico submetido à revista Ciência Rural e encontra-se em avaliação para publicação.

Normas: <http://coral.ufsm.br/ccrrevista/normas.htm>

Palavras-chave: Baru, camundongos, cicatrização, *Dipteryx alata* Vogel, ferida

ABSTRACT: *Dipteryx alata* Vogel (Baru) it is one of the native species of the Brazilian Cerrado that has great nutritional and pharmacological potential. Thus, the aim of this study was to evaluate the histological and immunohistochemical analysis or therapeutic potential of Baru in the healing process of dermoepidermal wounds in C57BL6 mice. The animals underwent a 9 mm cutaneous defect in the dorsal thorax and were divided into 6 groups: 01 (n = 9 males) and 02 (n = 9 dogs) using only the base cream (vehicle). composing the control groups; animals from group 03 (n = 9 males) and 04 (n = 9 females) receive bark extract in 10%; and animals from group 05 (n = 9 males) and 06 (n = 9 females) receive 10% seed extract. All were defined twice daily topically until total healing, with reduction estimates (seven, fourteen and twenty-one days). There was no statistical difference in the groups analyzed by the CD31 and picosirius type III markers. And little difference in the speed of wound closure, quality of reepithelialization, neovascularization and collagenization, observed respectively by macroscopy and H&E. Additionally, exacerbated inflammation, tissue retraction, loss of hair epithelium or infection were not observed. *Dipteryx alata* proved to be viable, although no significant favoring for wound healing process has been demonstrated.

Keywords: Baru, mice, healing, *Dipteryx alata* Vogel, wound.

1. Introdução

Dipteryx alata Vogel pertence à família Leguminosae, é uma árvore neotropical da Savana brasileira (TAMBARUSSI, 2017). Os frutos e sementes do *Dipteryx* são

conhecidos, em língua popular, como amêndoa do Baru (semente). Possui alta densidade de nutrientes e conteúdo de proteína de qualidade (FERNANDES, 2010). Na medicina popular o baru tem indicações de combate à: bronquite, disenteria, dor, gripe, acidente ofídico e a tosse (BIESKI, 2012). Além disso, apenas a atividade da casca da árvore *D. alata* contra a picada de cobra foi cientificamente comprovada (PUEBLA, 2010; NAZATO, 2010; FERRAZ, 2012; FERRAZ, 2014). Por outro lado, o estudo com a amêndoa baru mostrou potencial para atividade antimicrobiana contra microorganismos de *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*.

A amêndoa do baru possui compostos fenólicos e antioxidantes (LEMOS, 2012), casca e polpa contem altas proporções de fibra, conteúdo fenólico e capacidade antioxidante (SANTIAGO, 2018). Na casca da árvore foram encontrados flavonóides, polifenóis (ESTEVES-PEDRO, 2012), triterpenos, isoflavonas e ácidos fenólicos (PUEBLA, 2010; SANTOS, 2017). Os resultados dos estudos indicam que a amêndoa de Baru tem efeitos sobre a hiperlipidemia e o estresse oxidativo em ratos Wistar machos adultos jovens (FERNANDES, 2015). Estudos com animais mostraram que o óleo obtido a partir de amêndoas baru exibe alta atividade hepatoprotetora e antioxidante (REIS, 2018). No entanto, existem poucos estudos científicos que mostram o potencial de cicatrização de feridas usando sementes de casca e baru em humanos e animais.

O uso de produtos naturais tem sido utilizado em feridas cutâneas com o objetivo de auxiliar o complexo processo cicatricial, no qual existem contribuições de vários fatores (ESTEVÃO, 2013). Embora o reparo tecidual seja um processo sistêmico, é necessário favorecer as condições locais por meio de terapia tópica apropriada para viabilizar o processo fisiológico (DEALEY, 1996; BEZERRA, 2016).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o processo de cicatrização de feridas cutâneas em camundongos (linhagem C57BL6) tratados com extrato alcoólico da casca e sementes da planta *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae).

2. Materiais e Métodos

2.1 Matéria Vegetal

Amostras da planta de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae) utilizadas nesse experimento foram coletadas dentro do câmpus da Universidade Federal de Mato Grosso em Cuiabá, Brasil (15°36'38.9"S; 56° 03'50.5"W) em novembro de 2015. Uma amostra da espécie foi depositada no herbário desta mesma instituição sob número de registro 42852 e curador Germano Guarin Neto.

2.2 Preparação do extrato de Sementes e Casca da *Dipteryx alata* Vogel

Os extratos alcoólicos das sementes e casca foram obtidos através da técnica de rotaevaporação para obtenção do extrato alcoólico bruto de acordo com trabalho de ESTEVES-PEDRO, 2012. O produto final foi diluído em creme base (veículo) até a concentração de 10% para posterior uso terapêutico e administração tópica.

O extrato alcoólico foi preparado a partir de sementes encontradas dentro dos frutos secos coletados do chão e a amostra da casca foi coletada de uma única árvore localizada dentro do campus da UFMT em Cuiabá-MT. Após a coleta, foram colocadas em estufa para retirada da umidade em temperatura entre 45° e 50°C, por 24 horas. Em seguida, as amostras foram moídas. Ao pó foi adicionada solução hidroalcoólica a 70%

na proporção de 1:3. A mistura foi agitada manualmente a cada 12 horas. Após, a cada 5 dias a mistura foi filtrada em funil de vidro simples e algodão e completada com solução hidroalcoólica a 70% na proporção de 1:3, por três vezes consecutivas. O extrato bruto foi concentrado no laboratório de química orgânica da UFMT através de evaporador rotativo (Fisaton 802®, São Paulo - SP) em temperatura entre 50° e 55°C para a eliminação total do solvente. O material obtido depois da concentração apresentou-se em forma de pasta. Foi ela então diluída em creme base até a concentração de 5%, 10% e 15%. Sendo então elegida a concentração de 10% devido a sua melhor densidade, pois à 5% era muito fluida e à 15% muito densa dificultando a aplicação, e mantida em temperatura ambiente.

2.3 Confeção da ferida cutânea

Para a confecção da ferida os animais foram anestesiados por via intraperitoneal com cetamina (KetaminaAgener® 10%, 50mg/kg) e xilazina (Anasedan® 23%, 3mg/kg). Analgesia com morfina (1 mg/kg). Após tricotomia e antissepsia da área cirúrgica, foi realizada a ferida dérmica com auxílio de punch 9 mm na região dorsal do tórax, e o segmento circular de pele foi descartado, mantendo exposta as fáscias musculares. Após a hemostasia, por compressão local, os animais de cada grupo receberam a aplicação dos tratamentos com auxílio de gaze na quantidade de 1 ml, continuando a aplicação nos dias subsequentes a cada 12 horas.

2.4 Ensaio in vivo

Foram utilizados 27 camundongos fêmeas e 27 machos da linhagem C57BL6, ambos com seis semanas de idade, pesando aproximadamente 20g, para o presente estudo. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFMT), sob número de protocolo 23108.143811/2016-77. Os animais foram distribuídos em seis diferentes grupos de nove animais (quadro 1), cada grupo foi submetido ao tratamento de ferida com extrato de casca da árvore, extrato de semente e creme base veículo (controle).

Quadro 1. Grupos experimentais

Grupos experimentais	Números de animais (n)
01	9
02	9
03	9
04	9
05	9
06	9

Animais do grupo 01 (n = 9 machos) e 02 (n = 9 fêmeas) receberam somente a aplicação do creme base (veículo), sendo os mesmos utilizados como controle deste estudo; animais do grupo 03 (n = 9 machos) e 04 (n = 9 fêmeas) receberam extrato da

casca a 10%; e animais do grupo 05 (n = 9 machos) e 06 (n = 9 fêmeas) receberam extrato da semente a 10 %.

Durante todo o período experimental os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno com dimensões de 30x20x13 cm, alojados em sala com temperatura entre 21 e 28 °C, sem restrição de atividade, alimentados com ração comercial peletizada própria para a espécie autoclavada e água filtrada a vontade. A cama de maravalha também era autoclavada e trocada a cada três dias.

2.5 Análise macroscópica, microscópica e histoquímica

Os animais foram observados pelo período de 21 dias para a avaliação morfológica e morfométrica das feridas cutâneas nos períodos de 7, 14 e 21 dias de pós-operatório. Três animais de cada grupo foram submetidos à eutanásia nos respectivos dias. Em seguida realizou-se a colheita de material (biópsia excisional) para avaliação microscópica. A eutanásia foi realizada, conforme resolução normativa de métodos de eutanásia do CFMV 714/2002.

Para análise macroscópica foram utilizados os seguintes critérios: ocorrência de hemorragia (ausente/presente), presença de secreção (ausente/presente), e epitelização (completa, parcial ou ausente). Os detalhes macroscópicos foram capturados com câmera digital Canon® DS 126491.

Em seguida, as feridas foram excisadas incluindo uma borda de 5 mm de pele saudável. Cada fragmento foi fixado em cartolina, colocado em frascos de vidro e identificados individualmente. Foi utilizada solução formalina tamponada 10%. Após 48 horas a solução foi substituída por álcool à 70%, e na sequência as amostras foram

processadas conforme a rotina convencional de processamento histológico, inclusão em blocos de parafina, e realização dos cortes histológicos. Estes foram cortados em micrótomo, com espessura de 2 μ m. Na sequência, ficaram em estufa overnight à 37° C. Após, foi realizada hidratação em diluições crescentes de álcoois e diafanização em xilol, e procederam as colorações específicas.

Utilizou-se Hematoxilina e Eosina, para avaliação de epiderme, e derme quanto à presença de necrose, células mononucleadas, polimorfonucleadas, proliferação de fibroblastos e hemorragia; proliferação vascular; Picrosirius (Easy Path – PicrosiriusRedStaining) para avaliação de colagenização.

A análise dos cortes histológicos foi realizada pelo mesmo patologista, sem o conhecimento prévio da identificação dos grupos. A avaliação histológica das lâminas foi realizada em microscópio óptico no aumento de 400x. As fotomicrografias foram realizadas no programa NIS – Nikon Imaging Software Elements version 4.30.

Para o estudo imuno-histoquímico de CD 31 (índice angiogênico) e A1/A2 (reepitelização), os cortes foram submetidos aos anticorpos específicos (Quadro 2). O sistema de detecção utilizado foi de acordo com as instruções dos fabricantes. Os dados da imunomarcção de Ae1/Ae3 foram avaliados por meio de fotomicrografias, obtidas pelo microscópio óptico, no aumento de 400x, realizadas no programa NIS – Nikon Imaging Software Elements version 4.30. Posteriormente, as imagens foram analisadas com auxílio do software Image J®, com o plug-in ThresholdColour, obtendo-se o percentual da área total de reepitelização da ferida por meio da análise de partículas automatizadas de acordo com seleção e medida das áreas com base na cor (GOBI, 2013). O índice angiogênico para CD31 foi determinado pela técnica de contagem microvascular (MVC) segundo Maeda et al. (1995), as áreas com maior número de vasos na profundidade da lesão são analisadas. Qualquer célula ou grupo celular endotelial, corado

positivamente separado dos microvasos adjacentes, e de outros elementos do tecido conjuntivo, foi considerado como vaso unitário, assim como, também, os vasos contendo lúmen. A contagem dos vasos foi em cinco campos, selecionados previamente com elevada densidade vascular, no aumento de 400X, utilizando microscópio óptico de luz. A MVC foi determinada duas vezes por um único avaliador, em dois momentos diferentes e expresso como número médio de vasos em cada caso estudado.

Quadro 2. Anticorpos que foram utilizados nas reações imunohistoquímicas em amostras de pele de ratos com diferentes tratamentos.

Anticorpo	Clone	Empresa	Diluição	Recuperação antigênica	Período de incubação	Sistema de detecção
CD31	Monoclonal	Dako, JC70A	1:50	Pepsina Porcine Gastric Mucosa – Sigma Life Science- United Kingdom.	120 minutos	Novolink tm Polymer Detection Systems - Leica Biosystems New Castle Ltd- United Kingdom.
Ae1/Ae3	Policlonal	ImPath, Cytokeratincoc kail	1:400	Novocastrat tm Epitope Retrieval Solutions pH9 – Leica Biosystems New Castle Ltd- United Kingdom., Banho- maria	120 minutos	Novolink tm Polymer Detection Systems - Leica Biosystems New Castle Ltd- United Kingdom.

2.6 Análise Estatística

A comparação entre os grupos estudados em relação às variáveis categóricas (hemorragia, presença de secreção, epitelização, proliferação vascular, células mononucleares, células polimorfonucleares, proliferação de fibroblasto, hemorragia e necrose) foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis, com posterior utilização do teste de comparação múltipla de Dunn, para os casos em que houve diferença significativa entre as medianas dos grupos. Em todos os testes, valores de p iguais ou inferiores a 0,05 ($p < 0,05$) foram considerados significativos. Para as análises foi utilizado o procedimento `npair1way` do programa computacional SAS (SAS 9.1, SAS Institute, Cary. NC, USA) e o programa Graph PadPrism, Version 4.00.

Os dados de reepitelização, e colagenização dos diferentes tipos de fibras colágenas, segundo o grau de diferenciação foram comparados por análise de variância (teste F) para um delineamento inteiramente ao acaso, com 8 grupos e 10 repetições por grupo, considerando valores de p iguais ou inferiores a 0,05 ($p < 0,05$) significativos.

Os dados da avaliação de imuno-histoquímica utilizando CD31 foram submetidos à análise de variância, com 3 grupos e 5 repetições (médias) por grupo e nível de significância de 5%. Em ambos os casos, havendo diferença significativa entre médias ($p < 0,05$), estas foram comparadas entre si pelo teste de Tukey no mesmo nível de significância (5%). Para essas análises foi utilizado o procedimento General Linear Models (GLM) do programa computacional SAS (SAS 9.1, SAS Institute, Cary. NC, USA).

3. Resultados e Discussão

Apesar de inúmeros métodos distintos que possuem potencial de promover o incremento no processo de cicatrização de feridas cutâneas (PAZZINI, 2016), a utilização da flora nativa local de distintas regiões mundiais para confecção de novos produtos é extremamente relevante na atualidade.

Muitas preparações de plantas medicinais tradicionais são frequentemente utilizadas para fins de cicatrização de feridas, abrangendo ampla gama de doenças. Em muitas situações, o uso é meramente baseado em questões folclóricas, sem qualquer evidência científica de eficácia, fazendo de muitos compostos, potencialmente eficazes, ainda.

Os extratos de ervas contêm, muitas vezes, moléculas importantes e que podem atuar como sinalizadores, promover lubrificação, ajudar no processo proliferativo, favorecer a contração da ferida, disponibilizar cofatores, eliminar radicais livres, possuir ação anti-infecciosa e fornecer nutrientes ao leito (RAINA, 2008).

PATEL et al. (2014), estudando algumas das plantas regionais que possuem uso caseiro para tratamentos de feridas por queimadura e cicatrização de feridas aponta que existem mais relatos sobre a família *Asteraceae sp.* (10% dos casos estudados), sendo também observado pelo autor que possuem maiores estudos sobre ervas (56,36%) e o uso do princípio ativo das folhas das plantas (47,27%) e que a maioria dos métodos de propagação das plantas é por semente (72,72%), achados que apoiam o presente estudo, uma vez que objetivamos o uso de sementes e cascas da *Dipteryx alata*, na capacidade de cicatrização de feridas.

SAINI et al. (2016), ao realizar uma revisão sobre as principais plantas medicinais usadas na Índia com potencial de ação em cicatrização de feridas apontam que o sistema de saúde local não atende à demanda de tratamento a população sendo o conhecimento médico tradicional e cultural tem um efeito catalisador no atendimento às demandas de cuidados de saúde. Na revisão realizada o número de plantas que foram relatadas (ao todo 35 plantas) para a sua atividade de cicatrização de feridas devido à presença de fitoconstituintes valiosos. A maioria desses estudos (35 ensaios) envolve triagem aleatória de plantas ou extratos para a atividade de cicatrização de feridas. Uma vez que em experimentos e uso reais, todos os produtos vegetais citados na revisão do trabalho mostraram resultados eficazes, porém os autores ressaltam a necessidade aumentada de isolar e investigar cada ingrediente ativo que tenha um papel positivo no processo de cicatrização.

Nos parâmetros mesurados por macroscopia realizados pelo software ImageJ (programa) e pela medida da imagem em arquivo jpeg (manual), obtiveram valores que nos grupos compostos por animais machos no grupo 01 analisados pelo método manual no período T7 em relação ao T21 ($p < 0.05$) significância estatística, não sendo observada nos períodos T7 e T14 e T14 com T21. Quando avaliado o grupo 01 pelo programa não foi evidenciado significância estatística ($p < 0.08$). No grupo 03 Manual, o tempo influenciou em T7 e T21 ($p < 0.01$) e em T14 e T21 ($p < 0.05$), não ocorrem em T7 com T14, no mesmo grupo porém em análise pelo Programa, os períodos T7 e T14, T7 e T21 e o T14 em relação ao T21, apresentaram significância com valores de p maiores que 0.05, 0.01 e 0.05, respectivamente, não diferindo de outros itens analisados.

Conforme descrito por MARTIN (1997); GOTTRUP et al. (2000); HOUGHTON et al. (2005), as diferentes fases do processo de cicatrização de feridas se sobrepõem e, idealmente, pelo menos dois processos diferentes devem ser afetados por

um fármaco terapêutico à base de plantas antes de afirmar que o mesmo possui propriedades curativas, fato que no presente trabalho ficou evidente, uma vez que apenas o processo de proliferação celular (período que de acordo com a literatura corresponde ao período do dia 03 aos 20 dias) foi avaliado e não foi verificada eficácia do princípio ativo.

Diversas plantas tem sido foco de estudo nos últimos anos, como nos ensaios realizados por SEBOLD (2003). Ao realizar um levantamento etnobotânico de plantas medicinais (*Brugmansia suaveolens* Brech, *Eupatorium laevigatum*, *Galinsoga parviflora*, *Kalanchoë tubiflora*, e *Piper regnelli*), constatou-se que estas plantas possuem efeitos na cicatrização de feridas, tais como ação anti-inflamatória, anti-infecciosa e antibacteriana, fato que não podemos corroborar, uma vez que não foi verificada ação que represente significância no presente estudo.

Nos indivíduos do grupo 01 avaliado pelo método manual, apenas no T7 e T21 evidenciou-se correlação ($p < 0.05$), e em avaliação pelo programa T7 e T21 obtiveram $p < 0.05$. Sem valores significantes em outras variáveis.

Analisando os itens, porém em grupos compostos por indivíduos fêmeas, no grupo 02, não há distinção entre os períodos observados, o mesmo se aplica ao grupo 04, e ao grupo 06, os tempos de observação diferem em T7 e T14 ($p < 0.01$) e entre T7 e T21 ($p < 0.01$), não sendo significativo em T14 e T21.

Os mesmos grupos em avaliação pelo Programa, no grupo 01 no tempo de T7 e T14 ($p < 0.05$) e em T7 e T21 ($p < 0.05$), apresentaram valores relevantes, não sendo identificada relevância em outros itens.

Pela variável sexo entre os grupos em relação aos períodos de observação houve correlação apenas entre o grupo 03 e o 04 no período T14 na avaliação Manual ($p < 0.04$), não sendo notada esta alteração em T14 pelo Programa ($p < 0.09$). Não havendo significância estatística nos outros grupos avaliados.

SCHMIDT et al. (2009), realizaram um estudo em que objetivava a análise das principais plantas descritas na comunidade científica com propriedades em cicatrização de feridas, onde realizou ensaios com *Xanthium cavanillesii*, *Brugmansia suaveolens* Brech., *Eupatorium laevigatum*, *Galinsoga parviflora*, *Kalanchoë tubiflora*, *Piper regnelli*, *Waltheria douradinha* st., *Sedum dendroideum*, *Schinus mole*, *Pluchea sagittalis*, *Petiveria alliacea*, *Iresine herbstii*, concluiu que todas as plantas possuem certa ação na cicatrização de feridas, porém com resultados mais evidentes em extratos alcoólicos de *Galinsoga parviflora*, *Schinus mole*, *Petiveria alliacea*, *Waltheria douradinha* st. e *Xanthium cavanillesii* podem ser descritas com resultados promissores, o extrato utilizado no presente estudo, ainda que não possua significância, não pode ser desconsiderado seu uso e ensaios mais específicos podem ser realizados com o intuito de verificar diferentes concentrações e métodos de preparo.

Na análise da avaliação por hematoxilina-eosina (HE) do grupo 02, verificando a vascularização, a diferença se mostrou significativa entre os tempos de observação, tendo que esta variável apresentou correlação entre T7 e T14 ($p < 0.01$) e T7 e T21 ($p < 0.05$) não havendo entre T14 e T21. No grupo 04, o tempo não influencia na formação vascular e no grupo 06, apenas no período T7 e T21 ocorre relação entre o tempo e neovascularização ($p < 0.05$). Na correlação entre os grupos, não ocorre significância estatística em T7 ($p < 0.26$) em T14 ($p < 0.22$) e no T21 ($p < 0.16$).

Dos itens analisados pela HE (vascularização, presença de células mononucleares, células polimorfonucleares, fibroblastos, repitelização, colágeno e hemorragia). A vascularização do grupo 02, a diferença se mostrou significativa entre os tempos de observação, tendo que esta variável apresentou correlação entre T7 e T14 ($p < 0.01$) e T7 e T21 ($p < 0.05$) não havendo entre T14 e T21. No grupo 04, o tempo não influencia na formação vascular e no grupo 06, apenas no período T7 e T21 ocorre relação entre o

tempo e neovascularização ($p < 0.05$). Na correlação entre os grupos, não ocorre significância estatística em T7 ($p < 0.26$) em T14 ($p < 0.22$) e no T21 ($p < 0.16$).

MARUME et al. (2017), estudando os efeitos *Cissus quadrangulares*, *Erythrina abyssinica*, *Adenium multiflorum*, plantas da fauna africana contra parafina e pomada de oxitetraciclina 3% em feridas (10x6mm) de 36 camundongos BALB/C fêmeas albinas, analisadas por 15 dias. Concluindo que *Cissus quadrangulares* e *Adenium multiflorum* foram superiores ao controle e a *Erythrina abyssinica* obteve resultados menos evidentes. O uso de fêmeas e em número reduzido corrobora com o presente relato, porém os resultados das plantas adotadas pelo presente autor se mostraram superiores ao do Baru.

E analisando os itens avaliados pela hematoxilina-eosina nos grupos compostos por indivíduos machos, houve significância entre os períodos T7 e T14 em relação à presença de células mononucleares ($p < 0.05$), células polimorfonucleares ($p < 0.01$) também no período entre T7 e T21 ($p < 0.01$), fibroblastos ($p < 0.01$) e entre o T7 e o T21 ($p < 0.01$), repitelização ocorre significância entre o tempo T7 e T14 ($p < 0.01$) e entre T7 e T21 ($p < 0.01$), colágeno em T7 e T14 ($p < 0.01$) e T7 entre T21 ($p < 0.01$) e hemorragia avaliada pela HE o grupo 01 tem significância entre T7 e T14 ($p < 0.01$) e entre T21 ($p < 0.01$), não se relacionando entre T14 e T21.

Dados estes que diferem do trabalho de RAJASEKARAN e equipe (2011), onde avaliando a influência da *Ammannia bacífera* e da *Blepharis maderaspatensis* em cicatrização de feridas cutâneas em ratos, observou que no grupo controle a epitelização e menor formação de colágeno são indicativos de retardo cicatricial. AGRA e colaboradores (2013), avaliando os efeitos antimicrobianos e cicatriciais da *Bowdichia virgiloides* em camundongos, concluiu que os animais do grupo controle tiveram menor formação de epitélio e deposição de tecido conectivo quando comparados com os animais

tratados, também podendo sugerir certa familiaridade nos resultados desta pesquisa com o presente estudo.

NILUGAL et al. (2014) verificando os efeitos da administração tópica de *Piper betle* (pimenteira) dois grupos na concentração de 10%, sendo um tratado com o extrato da folha seca e outro com a natural macerada, tendo dois outros grupos, um controle negativo e outro positivo (10% iodo povidine), obteve que aos 21 dias de observação o resultado que o grupo onde se fez uso do extrato macerado houve incremento da taxa cicatricial e fechamento da lesão, quando comparado com os outros grupos, fato que não podemos espelhar com o presente estudo, uma vez que não houve diferenças estatísticas que corroborem com tais dados.

A administração tópica de extrato alcoólico de *Butea monosperma* em defeitos cutâneos de ratos (4 cm²) foi relatado por SUMITRA et al. (2005), sendo avaliados por 4, 8, 12 e 16 dias, onde observou que a velocidade de contração da ferida no grupo tratado foi superior ao controle (intervalo de 4 e 12 dias), obtendo ainda maior número de queratinócitos, tecido de granulação, colágeno e repitelização, tendo o uso da *B. monosperma*, potencial de promover incremento na cicatrização, fato que não foi observado no presente estudo, uma vez que as taxas de colágeno e repitelização não diferem estatisticamente, podendo então ser um sinal que as fases cicatriciais dos diversos grupos se assemelham.

Quanto aos grupos tratados nos itens presença de células polimorfonucleadas o grupo 05, houve relação entre o tempo T7 e T14 ($p < 0.01$), T7 e T21 ($p < 0.01$), não sendo observado em T14 e T21. E aplicando a análise de fibroblastos T7 e o T14 ($p < 0.02$) e entre T7 e T21 ($p < 0.02$), repitelização, tem-se que o T7 em relação ao T14 ($p < 0.01$) e entre T7 e T21 ($p < 0.01$), colágeno o período de observação T7 mostrasse como resultados mais promissores quando comparado com T14 ($p < 0.01$) e com T21 ($p < 0.01$) e na

presença de hemorragia, tanto T7 entre T14, quanto T7 e T14 e T14 com T21, apresentam significância tendo o valor de $p < 0.01$ em todos os períodos.

No grupo 03 quanto à presença de hemorragia o tempo influência entre T7 e T14 ($p < 0.01$) e entre T7 e T21 ($p < 0.01$) não sendo observada significância entre T14 e T21. O mesmo se aplica a repitelização T7 e T14 ($p < 0.05$) e T7 e T21 ($p < 0.01$), colágeno onde, T7 com T14 ($p < 0.01$) e T21 ($p < 0.01$), hemorragia T7 e T14 ($p < 0.01$) e com T21 ($p < 0.01$).

BOAKYE e equipe (2018) ao avaliar os efeitos do extrato aquoso *Phyllanthus muellerianus*, observou que, nos dias avaliados (1, 3, 5, 7, 9, 11 e 13 dias) por histopatologia e imagens fotográficas, o grupo tratado apresentou maior número de fibroblastos e aumentos dos níveis de colágeno, e segundo o autor pode ter efeito na redução do tempo cicatricial. Sendo estes valores também observados por NILUGAL e equipe (2014), AGRA et al. (2013) e RAJASEKARAN e colaboradores (2011), onde suas pesquisas indicam que a *Piper betle*, *Bowdichia virgilioides* e *Ammannia bacifera*, *Blefaris maderaspatensis*.

RAWAT et al. (2012), revisando a literatura de 110 trabalhos com 100 plantas que potencialmente apresentam efeitos na cicatrização de feridas, conclui que o processo de cicatrização pode ser monitorado fisicamente, avaliando-se a taxa de contração da ferida, período de epitelização, resistência à tração, histopatologia e peso do granuloma em diferentes modelos de ferida, fato que corrobora o nosso trabalho uma vez que os métodos de análise foram adotados, com exceção do peso de tecido de granulação e resistência a tração, uma vez que as análises histoquímicas ficariam comprometidas.

Ao realizar a avaliação por meio de imuno-histoquímica de Ae1/Ae3, foi notado apenas correlação dos indivíduos machos do grupo 01, entre T7 e T14 e entre T7 e T21, com valores de $p < 0.01$, respectivamente para ambos, não foi observado interação entre T14 e T21. No grupo 03 não se observou correlação ($p < 0.57$). Já no grupo 05 não há

significância entre T7 e T14, porém ocorre em T7 e T21 e em T14 em relação ao T14 e T21 ($p < 0.01$ para ambos), estes dados indicam que o uso da Ae1/Ae2 (cicatrização tecidual), não houve diferença entre os grupos, mas ocorre cicatrização semelhante, sendo indicativo que independentemente do grupo a ser observado a fase cicatricial era a mesma, deferindo apenas nos períodos de análise, o que é esperado, devido a fase mais adiantada do processo de reparo.

NAYAK & PINTO PEREIRA (2006), realizaram com extrato alcoólico da flor da *Catharanthus roseus* em feridas cutâneas (300 cm^2) de ratos Sprague Dawley, onde obteve como resultado que o extrato promoveu incremento da força de quebra, repitelização, taxa de contração, peso de tecido de granulação úmido e seco. E ainda obteve que a *C. roseus* age contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Fato que mesmo que ínfimo o Baru promoveu incremento em períodos mais tardios quando comparado ao controle (21 dias), porém quanto o controle microbiano, seu uso não trouxe sinais compatíveis com infecção, cabendo ressaltar que não foram realizados testes específicos.

Pela análise do CD31 e na análise do Picrosirius do tipo III, não ocorre significância estatística em nenhum dos critérios avaliados, porém ao se analisar o Picrosirius do tipo I, a variável sexo nos períodos de avaliação onde os indivíduos machos do grupo 01 obtiveram valores significativos quando comparados ao grupo 02 em T7 ($p < 0.05$), não diferindo em T14 ($p < 0.12$) e T21 ($p < 0.66$). Nos animais do grupo 03 os valores de p foram 0.05 em todos os tempos observação quando comparados ao grupo 04 apresentando significância estatística. E no grupo 05 apenas o T7 ($p < 0.05$), mostrou relevância em comparação ao grupo 06, não tendo relação em T14 ($p < 0.21$) e T21 ($p < 0.51$).

RIZZI e colaboradores (2017) avaliando o potencial do *Sebastiania hispida* em defeitos cutâneos de ratos, comparando-os com os efeitos do laser e um grupo controle, nos dias 3, 7, 14 e 21, obteve pela análise de picosirius tipo I, que o uso do extrato, independentemente do veículo, foi superior tanto ao controle, quanto ao laser, indicando que a *Sebastiania hispida* promove incremento nas taxas cicatriciais do estudo.

Trabalho de REBOLLA et al. (2013) onde estudou os efeitos da *Brassica oleracea*, comparado a um grupo controle, em períodos de observação de 7 e 16 dias, teve como conclusão a *Brassica oleracea* acelera o processo cicatricial promovendo um aumento dos níveis de picosirius tipo I e maturação dos tecidos neoformados, quando comparados ao controle, sendo então apontado pelo autor, que o material estudado possui efeito cicatricial em ratos.

O fato da avaliação do colágeno (picosirius tipo I e III), ser indicativo de desenvolvimento cicatricial e provável melhora da taxa de cicatrização, o presente estudo não obteve dados que possam corroborar com tais afirmações, cabendo assim, outros ensaios com o princípio ativo, afim de esclarecer se o extrato, seja de semente ou casca, pode promover incremento dos índices cicatriciais em ratos.

4. Conclusão

Concluimos que por não observarmos inflamação exacerbada, retração tecidual, perda de epitélio piloso ou infecção, a *Dipteryx alata* se mostrou viável, apesar de não ter sido demonstrado favorecimento significativo para o processo de cicatrização.

Desta forma, encorajamos a realização de novos trabalhos com grupos maiores e com um modelo experimental que possibilite a realização de uma ferida com maior diâmetro a fim de prover um maior poder estatístico aos resultados e desvendarmos os potenciais efeitos positivos desta planta.

Agradecimentos:

Os autores agradecem a FCAV/ UNESP câmpus de Jaboticabal-SP, a Universidade Federal de Mato Grosso, campus de Cuiabá-MT pelo uso das instalações e equipamentos e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (processo n° 2018/25061-6), pelo apoio financeiro.

Declaração de conflitos de interesse:

O autor declara não possuir conflitos de interesse.

Contribuições dos Autores:

Todos os autores contribuíram igualmente para a concepção e redação do manuscrito.

Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

5. Referências

AGRA, I.K.R. et al. Evaluation of Wound Healing and antimicrobial properties of aqueous extract from *Bowdichia virgilioides* stem barks in mice, **An. Acad. Bras. Cienc.** 85, pp. 1-10, 2015.

BEZERRA, S.M.G. Feridas: efeito da intervenção educativa em relação ao conhecimento dos enfermeiros sobre avaliação, tratamento e custo. Ph.D. Thesis in Nursing. Instituto de Enfermagem, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil, 2016.

BIESKI, I.G.C., et al. Ethnopharmacology of Medicinal Plants of the Pantanal Region (Brazil). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2012, pp. 1-36.

BOAKYE, Y.D. et al. Assessment of Wound-Healing properties of medical plants: The case of *Phyllanthus muellerianus*. **Frontiers in Pharmacology**. 9, pp. 1-12, 2018.

DEALEY, C. Cuidando de feridas: um guia para enfermeiras. São Paulo, Brasil, 1996.

ESTEVIÃO, L.R.M. et al. Effects of the topical administration of copaiba oil ointment (*Copaifera langsdorffii*) in skin flaps viability of rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**. 28, pp. 863–869, 2013.

ESTEVES-PEDRO, N.M. et al. In vitro and in vivo safety evaluation of *Dipteryx alata* Vogel extract. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. 12, pp. 1-9, 2012.

FERNANDES, D.C. et al. Effects of baru almond and Brazil nut against hyperlipidemia and oxidative stress in vivo. **Journal of Food Research**. 4, pp. 38-46, 2015.

FERNANDES, D.C. et al. Nutritional composition and protein value of the baru (*Dipteryx alata* Vogel.) almond from the Brazilian Savanna. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 90, pp. 1650–1655, 2010.

FERRAZ, M.C. et al. The effect of lupane triterpenoids (*Dipteryx alata* Vogel) in the in vitro neuromuscular blockade and myotoxicity of two snake venoms. **Current Organic Chemistry**, 16, pp.2717–2723, 2012.

FERRAZ, M.C. et al. An Isoflavone from *Dipteryx alata* Vogel is Active against the in Vitro Neuromuscular Paralysis of *Bothrops jararacussu* Snake Venom and *Bothropstoxin I*, and Prevents Venom-Induced Myonecrosis. **Molecules**. 19, pp. 5790-5805, 2014.

GOBI, G.L.M. Análise cicatricial de úlceras por pressão utilizando o óleo de coco ozinizado. 99f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Camilo Castelo Branco, São José dos Campos, São Paulo, SP. 2013.

GOTTRUP, F. et al. Models for use in wound healing research: a survey focusing on in vitro and in vivo adult soft tissue. **Wound Repair and Regeneration**. 8, pp. 83–96, 2000.

HOUGHTON, P.J. et al. In vitro tests and ethnopharmacological investigations: wound healing as an example. **Journal of Ethnopharmacology**. 100, pp. 100–107, 2005.

LEMOS, M.R.B. et al. The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts (*Dipteryx alata* Vogel). **Food Research International**. 48, pp. 592-597, 2012.

MAEDA, K. et al. Tumor angiogenesis and tumour cell proliferation as prognostic indicator in gastric carcinoma. **Brit. J. Cancer** 72(2):319-323, 1995.

MARTIN P. Wound healing—aiming for perfect skin regeneration. **Science**. 276, pp. 75–81, 1997.

MARUME, A. et al. Wound Healing Properties of Selected Plants Used in Ethnoveterinary Medicine. **Frontiers in Pharmacology**. 8, pp. 1-10, 2017.

NAYAK, B.; PINTO-PEREIRA, L.M. *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. 6, pp. 1-6, 2006.

NAZATO, V.S. et al. In vitro antiophidian properties of *Dipteryx alata* Vogel bark extracts. **Molecules**. 15, pp. 5956-5970, 2010.

NIGULAI, K. et al. Evaluation of Wound Healing of *Piper betle* leaves and steam extract in experimental Wistar rats. **American Journal of Pharmtech Research**. 4, pp. 1-11, 2014.

PATEL, D.K. Some Traditional Medicinal Plants Useful for Boil, Burn and for Wounds Healing. **Journal of Biodiversity & Endangered Species**. 2, pp. 1-4, 2014.

PAZZINI, J.M. et al. Utilização de plasma rico em plaquetas para estimulação da angiogênese em flape de padrão axial toracodorsal em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 36, pp. 108-118, 2016.

PUEBLA, P. et al. Chemical constituents of the bark of *Dipteryx alata* Vogel, an active species against *Bothrops jararacussu* venom. **Molecules**. 15, pp. 8193–8204, 2010.

RAINA, R. et al. Medicinal plants and their role in wound healing. **Vetscan**. 3, pp. 1–6, 2008.

RAJASEKARAN, A. et al. Evaluation of wound healing activity of *Ammannia bacifera* and *Blepharis maderaspatensis* leaf extracts on rats. **Rev. Bras. Farmacogn.** 22, pp. 1–10, 2011.

RAWAT, S. et al. Wound healing Agents from Medicinal Plants: A Review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. 2, pp. 1910–1917, 2012.

REBOLLA, A. et al. Effect of *Brassica oleracea* in rats skin wound healing. **Acta Cirúrgica Brasileira**. 28, pp. 1–6, 2013.

REIS, M.A. et al. Hepatoprotective and Antioxidant Activities of Oil from Baru Almonds (*Dipteryx alata* Vogel) in a Preclinical Model of Lipotoxicity and Dyslipidemia. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2018, pp. 1–12, 2018.

RIZZI, E.S. et al. Wound Healing potential of *Sebastiania hispida* (Mart.) Pax (Euphorbiaceae) ointment compared to low power laser in rats. **Brazilian Journal of Biology**. 77, pp. 1–10, 2017.

SAINI, S. et al. Traditional Indian Medicinal Plants with Potential Wound Healing activity: A Review. **International Journal of Pharmaceutical Science and Research**.5, pp. 1809-1819, 2016.

SANTIAGO, G.L. et al. Peel and pulp of baru (*Dipteryx alata* Vogel) provide high fiber, phenolic content and antioxidant capacity. **Food Science and Technology**. 38, pp. 244-249, 2018.

SANTOS, F.B. et al. Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from genipap, baru and taruma. **Ciência rural**. 47, pp. 1-6, 2017.

SCHMIDT, C. et al. Biological studies on Brazilian plants used in wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**. 122, pp. 523-532, 2009.

SEBOLD, D.F. Levantamento etnobotânico de plantas de uso medicinal no município de Campo Bom, RS, Brasil. 2003. Dissertação [Mestrado em botânica]- Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

SUMITRA, M. et al. Efficacy of *Butea monosperma* on dermal wound healing in rats. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. 37, pp. 566–573, 2005.

TAMBARUSSI, E.V. et al. *Dipteryx alata* Vogel (Fabaceae) a neotropical tree with high level of selfing: implication for conservation and breeding programs. **Annals of Forest Research**. 60, pp. 243-261, 2017.



CAPÍTULO 4 - Considerações finais

Com o intuito de buscar a verdade a respeito do uso cultural dessa planta no processo de cicatrização, cada detalhe desse experimento inédito foi realizado com muito zelo e dedicação. Desde a separação de machos e fêmeas, autoclavagem de maravalha e ração, deposição de amostra da espécime com localização geográfica em herbário, confecção da ferida de forma padronizada, até a seleção das análises microscópicas com o melhor custo benefício envolveu muito estudo e fomos recompensados com resultados positivos.

Obtivemos como resposta que a inclusão de grupos de distintos sexos não houve influência do Baru. Bem como pouca diferença na velocidade de fechamento das feridas, qualidade da reepitelização, neovascularização, colagenização e nenhum aumento na inflamação, retração tecidual, perda de epitélio piloso e infecção. Desta forma concluímos que a *Dipterx alata* se mostrou viável para o processo de cicatrização.

Estudos clínicos são fundamentais para avaliar a eficácia e a resposta de diversos tratamentos para determinada afecção. Esse trabalho apresentou importantes resultados e não consideramos que houve limitações pois se tratou de um estudo inicial. Para desvendarmos os efeitos potenciais positivos do extrato alcoólico da casca e das sementes desta planta, grupos maiores e com um modelo experimental que possibilite a realização de uma ferida com maior diâmetro são importantes para promover maior poder estatístico aos resultados.

Anexo 1 – Certificado de análise do creme base

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Insumo:	Fabase Creme Nao Ionico	Data de Análise:	19-06-2018
Lote Interno:	18F16-B004-034370	Lote Fabricante:	9851
Data de Fabricação:	01-05-2018	Data de Validade:	01-05-2021
Origem:	Brasil	Procedência:	Brasil
Condições de Armazenamento:	Temperatura Ambiente	Ordem de Fracionamento:	034370

DCB:	-	DCI:	-
CAS:	-	Peso Molecular:	-
Fórmula Molecular:	-		


Testes	Especificações	Resultados	Unidade	Referências
Aspecto Físico	Creme	Conforme		Fabricante
Cor	Branco	Conforme		Fabricante
Odor	Característico	Conforme		Fabricante
pH	5,0 - 7,0 (direto)	6,69		Fabricante
Viscosidade	79.500 - 98.600	90.381	cP	Fabricante
Densidade	0,80 - 1,05	0,958	g/mL	Fabricante
Testes Microbiológicos				
Cont.total bactérias aeróbias	<= 1000 (1g ou 1mL)	< 1,0 x 10 (est.)	UFC/mL	Fabricante
Bolores e Leveduras	<= 100 (1g ou 1mL)	< 1,0 x 10 (est.)	UFC/mL	Fabricante
Escherichia coli	Ausência em 1g ou 1mL	Ausente		Fabricante
Salmonella spp	Ausência em 10g ou 10mL	Ausente		Fabricante
Staphylococcus aureus	Ausência em 1g ou 1mL	Ausente		Fabricante
Pseudomonas aeruginosas	Ausência em 1g ou 1mL	Ausente		Fabricante

* Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA. E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.


Conclusão:

Aprovado (X)

Reprovado ()



Farmacêutico Responsável
João Paulo Sartin Mendes
CRF-GO: Nº 7.355
Fagron Services Brasil



Farmacêutico Responsável
Shirlei C. T. de Sales
CRF-SP: Nº 65.711
Fagron Brasil
SAC: (11) 4785-5600

Fim do Documento