

Avaliação do extrato da *Zeyheria tuberculosa* na perspectiva de um produto para cicatrização de feridas¹

Patrícia de Albuquerque Sarmento²

Terezinha da Rocha Ataíde³

Ana Paula de Souza e Pinto⁴

João Xavier de Araújo-Júnior⁵

Ingrid Martins Leite Lúcio⁶

Maria Lysete de Assis Bastos⁶

Objetivos: avaliar as atividades antimicrobiana, citotóxica e cicatrizante do extrato etanólico do caule da *Z. tuberculosa* por via tópica e/ou ingestão oral. Método: ensaios antimicrobianos *in vitro* pelo método de difusão em disco, teste de toxicidade da *Artemia salina* e ensaios *in vivo* com ratos *Wistar*. Nesses foram coletados dados clínicos, histológicos e bioquímicos para avaliação do processo de cicatrização. Resultados: ensaios antimicrobianos *in vitro* mostraram atividade frente à *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, com halos de inibição de 18, 14 e 10mm, respectivamente. A melhor concentração inibitória mínima foi 62,5µg/mL para *S. aureus*, sendo essa bactéria escolhida para os ensaios *in vivo*. Animais tratados com as pomadas do extrato da *Z. tuberculosa* apresentaram melhores resultados na redução do diâmetro da ferida, dado confirmado pela presença de reepitelização nos cortes histológicos. Conclusão: o extrato mostrou-se promissor para a continuação de estudos que identifiquem os princípios ativos responsáveis pela atividade farmacológica e seu mecanismo de ação no processo de cicatrização de feridas, a fim de desenvolver um produto que possa ser utilizado de forma alternativa no reparo de feridas cutâneas infectadas.

Descritores: Cicatrização; Bioensaios; Extratos Vegetais; Testes de Sensibilidade Microbiana.

¹ Artigo extraído da dissertação de mestrado "Avaliação da Atividade Antimicrobiana e de Citotoxicidade *in vitro* e *in vivo* do extrato etanólico bruto do caule da *Zeyheria tuberculosa* (Vell) Bur. (Bignoniaceae): Perspectiva de um suplemento para Cicatrização de Feridas", apresentada à Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil. Apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo nº 474023/2010-9.

² Doutoranda, Rede do Nordeste de Biotecnologia, Carpina, PE, Brasil. Professor Assistente, Escola de Enfermagem e Farmácia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil.

³ PhD, Professor Associado, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil.

⁴ PhD, Professor Adjunto, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil.

⁵ PhD, Professor Associado, Escola de Enfermagem e Farmácia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil.

⁶ PhD, Professor Adjunto, Escola de Enfermagem e Farmácia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil.

Endereço para correspondência:

Patrícia de Albuquerque Sarmento
Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia
Rod. 104 Norte, Km 96
Bairro: Tabuleiro do Martins
CEP: 57072-970, Maceió, AL, Brasil
E-mail: enfpatricia@hotmail.com

Copyright © 2014 Revista Latino-Americana de Enfermagem

Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da Licença Creative Commons Atribuição-Não Comercial (CC BY-NC).

Esta licença permite que outros distribuam, editem, adaptem e criem obras não comerciais e, apesar de suas obras novas deverem créditos a você e ser não comerciais, não precisam ser licenciadas nos mesmos termos.

Introdução

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

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

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

A perspectiva de utilização do extrato de caule da *Z. tuberculosa* partiu de um estudo⁽⁵⁾ em que se comprovou a atividade antimicrobiana frente ao *Staphylococcus aureus* e à *Candida albicans*, em bioensaios *in vitro*. Nessa pesquisa, também foram isolados e identificados quatro flavonoides, dos quais três foram descritos pela primeira vez para esse gênero. Os flavonoides são compostos encontrados em alguns alimentos, cascas do caule de árvores, caule, raízes, talos e flores que possuem inúmeras atividades farmacológicas como antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatório, analgésico, vasodilatador, cicatrizante e regenerativa de cartilagens e ossos⁽⁵⁻⁶⁾. Com o objetivo de ampliar as possibilidades de recursos terapêuticos, para o tratamento de feridas cutâneas, a partir da pesquisa experimental, a proposta deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* e cicatrizante *in vivo* do

extrato etanólico bruto do caule da *Z. tuberculosa*, por via tópica e/ou por via oral.

Método

Planta e preparação dos extratos

A espécie vegetal *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae) foi coletada pelo grupo de pesquisa e identificada pelo Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas (IMA), onde a exsicata foi depositada sob número 23.819.

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

Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima

A atividade antimicrobiana do extrato do caule foi testada em triplicata, pelo método de difusão em disco⁽⁷⁾, utilizando-se cepas bacterianas e fúngicas padronizadas e distribuídas pelo *American Type Cell Collection* (ATCC). As cepas bacterianas testadas foram *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis* (ATCC 49565), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488) e *Escherichia coli* (ATCC 14942). Como cepa fúngica, testou-se a *Candida albicans* (ATCC 10231). Com a amostra que apresentou atividade e foi escolhida para continuação do estudo, determinou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM), a qual é definida a partir de diluições seriadas do extrato ativo. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Toxicidade frente à *Artemia salina* Leach

O bioensaio da *Artemia salina* foi realizado de acordo com a literatura⁽⁵⁾. A *Artemia salina* Leach (TAS) é um microcústáceo que pode ser utilizado laboratorialmente em bioensaios preliminares, para determinar a toxicidade de extratos e produtos de origem natural com potencial ativo biológico. O teste é realizado com larvas de segundo instar (náuplios), sendo considerado tóxico o extrato que induz a mortalidade maior ou igual a 30%.

Animais e grupos experimentais

Os ensaios *in vivo* foram realizados com 24 ratos (*Rattus norvegicus albinus* – linhagem Wistar), adultos, machos, respeitando-se os Princípios Éticos em Experimentação Animal. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas (nº009880/2009-77).

Os ratos foram pesados e separados pelo método probabilístico de escolhas aleatórias em seis grupos (n=4), identificados a partir da terapêutica: Controle Positivo (CP); Controle Negativo (CN); Extrato Tópico (ET); Extrato Tópico e Oral (ETO); Extrato Oral (EO) e Branco (B). Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, um animal em cada gaiola, forradas com serragem, em fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro, ruídos mínimos, temperatura ambiente $21\pm1^{\circ}\text{C}$, mantida por ar condicionado. A alimentação foi com ração comercial (Labina®, Purina, Brasil), com monitoramento da ingestão e água *ad libitum*.

Pomadas para uso tópico

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

iônica e para os grupos CN e EO foi utilizado apenas a base não iônica.

Extrato para uso oral

Com o extrato etanólico bruto do caule da *Z. tuberculosa* foi preparada uma tintura, na concentração de 1mg/mL, valor determinado a partir dos resultados da CIM e do TAS, para ser adicionada à dieta dos animais dos grupos ETO e EO que receberam o extrato por via oral.

A cada pélete de ração desses grupos foi acrescido 1mL de tintura e, após 24 horas de evaporação do etanol, em estufa à temperatura de 25°C , era oferecido aos animais diariamente, com monitoramento da ingestão.

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

Cada animal foi submetido à verificação do peso corpóreo para o monitoramento e cálculo da anestesia. Utilizou-se thiopental sódico, 40mg/kg de peso, via intraperitoneal. Em seguida, procedeu-se à verificação da temperatura por via retal, epilação do dorso, antisepsia da pele, com clorexidina degermante a 2%, e, com um *punch* metálico, foram realizadas quatro lesões excisivas paravertebrais de 12mm cada, a partir da linha mediana dorsal, até o nível do tecido aponeurótico, conforme Figura 1.

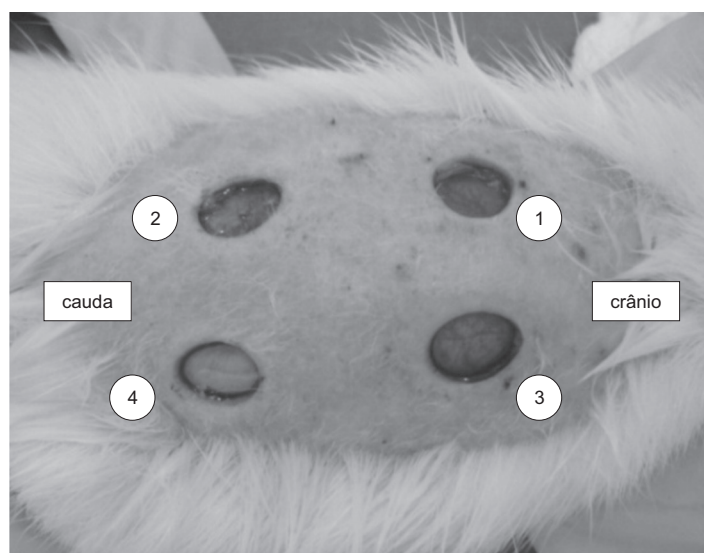


Figura 1 - Lesões no dorso do animal no dia da cirurgia (D_0)

Após a realização das excisões, cada lesão recebeu 0,25µL de uma suspensão contendo $1,5 \times 10^6$ UFC/mL de *S. aureus*, para infectar o tecido aponeurótico superficialmente. Em seguida, as lesões foram cobertas com gaze e ataduras estéreis, aguardando-se 24 horas

para realização de cultura com *swab*, das quatro lesões e início da terapêutica.

Os animais foram avaliados a cada 24 horas por 14 dias, para a observação clínica das lesões, quanto à presença de: efeitos adversos, irritação perilesional,

retração cicatricial e realização dos curativos, de acordo com tratamento do grupo. Todos os dados foram registrados em protocolos pré-estabelecidos.

Nos 3º, 7º, 11º e 14º Dias de Pós-Operatório (DPO), realizou-se a medição da área da lesão com paquímetro digital, retirando-se fragmento de uma das lesões para avaliação histopatológica. No último dia do experimento, realizou-se anestesia e eutanásia de todos os animais com toracotomia e punção cardíaca, retirando-se 4mL de sangue, para análise de glicose, colesterol e triglicerídeos, além do fígado para avaliação microscópica de hepatotoxicidade do extrato.

Análise histológica

Todo o material retirado para exame microscópico foi numerado, sem a identificação do grupo ao qual

pertencia, sendo fixados com solução de formol a 10%. As amostras foram desidratadas e diafanizadas em álcool e xilol, incluídas e emblocadas, em parafina aquecida. Após endurecimento, os blocos foram levados à microtomia, para obtenção das secções de 5µm, sendo coletadas em lâminas de vidro e coradas com corante Hematoxilina Eosina (HE).

A análise do material tomou como referência as fases inflamatória, proliferativa e de remodelação, as quais integram o processo de cicatrização. Para análise dos resultados, elaborou-se a Tabela 1 com escores baseados na literatura^(5,8). A intensidade das variáveis (1+ a 5+) foi multiplicada por fatores positivos ou negativos, baseados na sua importância para a cicatrização. A soma desses produtos correspondeu ao escore total para cada animal, o qual, posteriormente, foi multiplicado por 4 (n).

Tabela 1 - Escores utilizados para avaliação do exame histopatológico

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

Testes estatísticos

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

Resultados

Avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da CIM

O extrato bruto do caule da *Z. tuberculosa* não demonstrou atividade para o fungo testado, porém, foi ativo contra as bactérias *S. pyogenes*, *S. aureus* e *S. epidermidis*, conforme mostrado na Tabela 2. O *S. aureus* foi o microrganismo escolhido para continuação dos testes, por ser importante na ocorrência de infecção hospitalar, principalmente em infecções tegumentares, além de apresentar um halo de inibição com cerca de 50%

do tamanho do controle positivo⁽⁹⁻¹⁰⁾. A CIM do extrato para esse microrganismo foi de 62,5µg/mL.

Tabela 2 - Resultado das difusões em discos com o extrato bruto do caule da *Z. tuberculosa*, para cepas bacterianas e fúngica

Microrganismos	Produtos testados/tamanho do halo (mm)	
	Controle positivo	Extrato ETOH
<i>Streptococcus pyogenes</i>	35	18,6*
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30	-
<i>Escherichia coli</i>	32	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	32	10*
<i>Staphylococcus aureus</i>	30	14*
<i>Proteus mirabilis</i>	19	-
<i>Candida albicans</i>	11	-

(-) não apresentou halo de inibição de crescimento

*valor da média da triplicata

Toxicidade frente à *Artemia salina* (TAS)

Após a determinação da CIM procedeu-se o TAS. Segundo os critérios determinados nesta pesquisa, o

extrato mostrou-se atóxico nas concentrações entre 100 e 10µg/mL. Os valores expressos na CIM (62,5µg/mL) e no TAS deste estudo estão em consonância para utilização segura nos animais deste estudo, sendo legitimado pela ausência de mortalidade entre os animais durante o experimento.

Avaliação do processo de cicatrização *in vivo*

Durante o experimento, os animais foram monitorados quanto à temperatura, peso e observação macroscópica das lesões, incluindo a medição do diâmetro das lesões. Quanto à temperatura, no Dia da Cirurgia (D₀) todos os animais estavam com temperatura dentro da normalidade entre 36,2 e 37°C. Do 3º ao 7º DPO, somente os animais dos grupos ET e CN apresentaram aumento da temperatura. A média de temperatura dos animais variou entre 36,2 e 38°C, não mostrando diferença significativa entre os grupos ($p=0,1116$).

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

Observou-se que, no pré-operatório, os animais mantinham uma ingestão diária de ração de 24g/dia, em média. Porém, a partir da realização das lesões no dorso houve oscilação, ficando a média em 18,5g/dia por animal.

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

O estudo macroscópico permitiu observar diferenças entre os grupos, quanto à cor da lesão. O aspecto da lesão, em relação à cor, reflete clinicamente o desenvolvimento do processo de cicatrização. A coloração amarelada indica infecção. Esses dados atribuem que os grupos tratados com a *Z. tuberculosis* tiveram uma quantidade menor de animais com essa característica, mostrando a atividade antimicrobiana do extrato, quer seja por via tópica e/ou por via oral, sendo que os escores obtidos no estudo histológico corroboraram esses dados.

A partir do 11º dia foi observada coloração vermelha ou rosa em 100% dos animais dos grupos CP, ET, ETO, EO

e em 75% daqueles do grupo CN, indicando que iniciaram as fases de granulação e reepitelização. Nenhum animal apresentou coloração marrom que é indicio de morte celular e necrose.

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

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

Avaliação histopatológica das lesões

Os dados histológicos foram coletados de acordo com as fases de cicatrização e organizados de acordo com os escores para quantificação. Na Tabela 3 é possível observar que as maiores médias nos escores foram obtidas pelos grupos que receberam o extrato, quer por via tópica e/ou por via oral. Essa diferença mostrou-se estatisticamente significativa entre os grupos CN e ET.

Tabela 3 - Escores do estudo histopatológico das feridas infectadas pelo *S. aureus*

Dias de pós-operatório	Escore				
	Controle positivo	Controle negativo	Extrato tópico	Extrato tópico e oral	Extrato oral
3º	87	87	634	372	229
7º	493	293	300	272	842
11º	670	420	1231	1150	812
14º	704	634	1400	1004	1324
Média	488,5	358,5*	891,25*	699,5	801,8

* $p<0,05$

A análise das lesões dos grupos ET, ETO e EO, tratados com o extrato da *Z. tuberculosis*, evidenciaram achados importantes no processo de cicatrização visualizado na Figura 2. No 3º dia observou-se inflamação aguda com presença de macrófagos (2A); no 7º dia pôde-se identificar o tecido de granulação, com formação de neovascularização, fibras de colágeno e início de epitelização (2B); no 11º dia veem-se em destaque as fibras colágenas (2C).

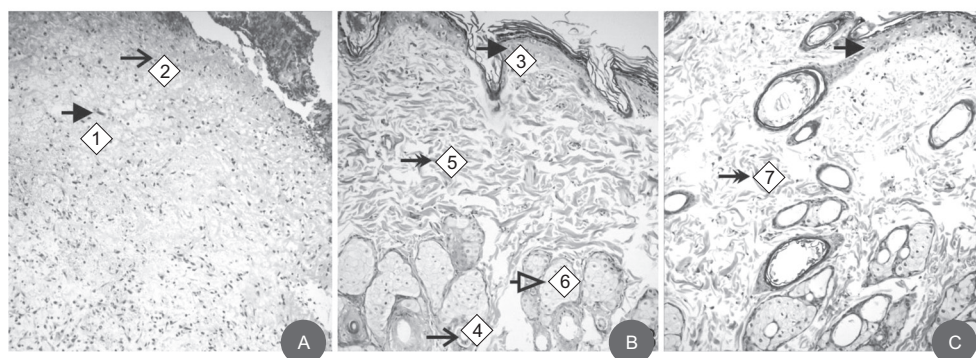


Figura 2 - (A) Fotomicrografia de ferida cutânea do extrato tópico, 3º dia pós-cirúrgico (¹ macrófago, ² inflamação aguda); (B) fotomicrografia de ferida cutânea do extrato tópico e oral, 7º dia pós-cirúrgico (³ epitelização, ⁴ neovascularização, ⁵ fibras de colágeno, ⁶ tecido de granulação) e (C) fotomicrografia de ferida cutânea do extrato oral 11º pós-cirúrgico (⁷ fibras de colágeno) (Aumento 10x, HE)

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

Discussão

A terapêutica de feridas deve ser uma constante preocupação para o enfermeiro, pois ainda é um desafio cuidar de lesões cutâneas com os recursos atuais existentes. Apesar dos avanços tecnológicos, poucos têm acesso, devido ao alto custo e à limitação aos grandes centros urbanos⁽¹¹⁾. Estudos mostram que a utilização de plantas torna-se uma necessidade para a ampliação do arsenal terapêutico nessa área e na redução dos recursos dispensados para o tratamento⁽¹²⁾. No presente estudo, o extrato etanólico bruto da *Z. tuberculosa* mostrou atividade antimicrobiana *in vitro* para *S. aureus*, atóxico pelo teste com a *Artemia salina* e *in vivo* atuou como cicatrizante de feridas excisas infectadas em ratos, sendo esses dados promissores para a continuação de estudos que possam elucidar o mecanismo de ação do extrato, uma vez que esse patógeno é responsável pela maioria das infecções do sistema tegumentar, e resistente a grande parte dos antimicrobianos utilizados na clínica⁽¹⁰⁾.

No experimento *in vivo*, a temperatura dos animais sofreu pouca alteração, não chegando a ultrapassar 38°C. Mesmo com infecção local, comprovada por cultura das lesões, os animais não tiveram repercussões sistêmicas. A elevação observada se deve ao próprio mecanismo de cicatrização, que leva ao aumento da vascularização

pela resposta inflamatória local, aumentando, assim, a temperatura corporal⁽¹³⁾.

A aferição do peso é um parâmetro nutricional importante em vários estudos experimentais, estando relacionado a alterações cicatriciais⁽¹⁴⁾. A diferença de peso pode estar diretamente relacionada à diminuição na ingestão diária de ração. Como também pela manipulação diária, com curativos e biopsias realizadas no 3º, 7º, 11º e 14º dias.

A associação da perda de peso ao próprio processo inflamatório foi descrito em estudo afirmando que a inflamação produz citocinas inflamatórias e Fator de Necrose Tumoral (FNT), que agem como mediadores da inflamação e da imunidade⁽⁶⁾. Com os níveis séricos de FNT elevados, há estimulação na produção de uma proteína chamada leptina, cuja elevação está relacionada com a sensação de saciedade. Níveis aumentados dessa proteína induzem o organismo ao gasto energético e à uma diminuição no consumo de alimento, causando falta de apetite e, consequentemente, perda de peso.

A coloração, como parâmetro de avaliação das condições das feridas, demonstrou que essas apresentaram evolução clínica dentro do previsto para cada etapa da cicatrização. Nos grupos tratados, houve predomínio da coloração rósea, que é característica da epitelização, sendo essa a fase final do reparo tecidual. Esses dados legitimaram os achados quando foram utilizados o creme de barbatimão e ipê-roxo em feridas em ratos⁽¹⁵⁾ e diferiram do estudo com gel e o extrato glicólico da folha da goiabeira (*Psidium guajava* L.) não se conseguindo observar diferença significativa entre os grupos tratados e o que utilizou solução salina⁽¹⁶⁾.

De forma macroscópica, o fechamento total das lesões não ocorreu, em todos os grupos, ao longo dos 14 dias de experimento. Porém, houve redução significativa

do diâmetro dos animais tratados, dado confirmado pela presença de reepitelização nos cortes histológicos. Em animais de pele menos aderida aos planos profundos (como os ratos), a contração pode chegar de 80 a 90% de fechamento das lesões cutâneas⁽¹⁴⁾.

A análise histopatológica permite inferir que os grupos tratados com o extrato da *Z. tuberculosa* obtiveram os melhores resultados, quando comparados com os grupos controle positivo e negativo. Isso se deve à menor reação inflamatória dos grupos tratados com o extrato. Certo grau de inflamação é necessário, contudo, uma reação inflamatória elevada é prejudicial, pois pode haver comprometimento da microcirculação e ainda inibir a formação de fibroblastos⁽¹⁷⁾. A literatura também apresenta resultados semelhantes com a avaliação dos efeitos do tratamento tópico do creme à base de óleo de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm)⁽¹⁸⁾ e com óleos essenciais de algumas espécies de *Juniperus*, planta tradicional na medicina popular da Turquia⁽¹⁹⁾.

Os valores bioquímicos de animais em experimentação podem sofrer alterações, devido às condições ambientais e ao estresse induzido pelo próprio procedimento⁽²⁰⁾. Os resultados de triglicerídeo, colesterol e glicose dos animais em estudo tiveram resultados semelhantes aos apresentados na literatura.

Conclusão

O extrato etanólico bruto da *Z. tuberculosa* possui ação antimicrobiana *in vitro* para *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*. Os grupos tratados com o extrato tiveram resposta semelhante ao controle positivo no processo de cicatrização. Histologicamente, os animais tratados por via tópica tiveram quantidade maior de células para o fechamento das lesões. Esta pesquisa valida estudos anteriores com esse extrato e avança por demonstrar a potencial atividade cicatrizante da *Z. tuberculosa*. Isso estimula a continuação de estudos, visando identificar os princípios ativos responsáveis pela atividade farmacológica e seu mecanismo de ação no processo de cicatrização de feridas. Apontando para o desenvolvimento de um produto que possa ser utilizado de forma alternativa no reparo de feridas cutâneas infectadas.

Referências

1. Mendonça RJ, Coutinho-Netto J. Cellular aspects of wound healing. *An Bras Dermatol*. 2009;84(3):257-62.
2. Alvim NAT, Ferreira MA, Cabral IE, Almeida AJ Filho. The use of medicinal plants as a therapeutical resource: from the influences of the professional formation to the ethical

and legal implications of its applicability as an extension of nursing care practice. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 2006;14(3):316-23.

3. Pagano MC, Maria SM. Effect of Phosphorus Fertilization on Arbuscular Mycorrhizal Colonization of *Zeyheria tuberculosa* a Native Species in Brazil's Forest. *Middle-East J Sci Res*. 2010;6(6):604-11.

4. Rahmatullah M, Rahman MA, Haque MZ, Mollik AH, Miajee EU, Begum R, et al. A survey of medicinal plants used by folk medicinal practitioners of station purbo para village of Jamalpur Sadar Upazila in Jamalpur district, Bangladesh. *Am-Eurasian J Sustain Agric*. 2010;4:122-35.

5. Bastos MLA, Lima MRF, Conserva LM, Andrade VS, Rocha EM, Lemos RP. Studies on the antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae) extracts and their main constituents. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2009;8:1-16.

6. Vieira AP, Santos NR, Borges JHS, Vicenzi MPA, Schmitz WO. Flavonoid action in second intention healing in surgically-induced clean wounds in Wistar rats. *Semina Cienc Biol Saude*. 2008;29(1):65-74.

7. Ayres MCC, Brandão MS, Vieira-Junior GM, Menor JCAS, Silva HB, Soares MJS, et al. Antibacterial activity of useful plants and chemical constituents of the roots of *Copernicia prunifera*. *Braz J Pharmacogn*. 2008;18(1):90-7.

8. Medeiros AC, Ramos AMO, Dantas Filho AM, Azevedo RCF, Araujo FLFB. Topic treatment of rat burns with hyaluronic acid. *Acta Cir Bras*. [Internet]. 1999 [acesso 8 jun 2012];14(4). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86501999000400010&lng=en&nrm=iso

09. Vitorino Filho RNL, Batista MCS, Verçosa BLA, Silva SMMS, Bonfim JM, Brandão AAC, et al. Avaliação do uso de pomada à base de sementes de jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam) na terapêutica tópica de feridas. *J Basic Appl Pharm Sci*. 2007;28(3):279-86.

10. Moura JP, Pimenta FC, Hayashida M, Cruz EDA, Canini SRMS, Gir E. Colonization of Nursing Professionals by *Staphylococcus aureus*. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 2011;19(2):325-31.

11. Lima ACB, Guerra DM. Avaliação do custo do tratamento de úlceras por pressão em pacientes hospitalizados usando curativos industrializados. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2011;16(1):267-77.

12. Majewska I, Gendaszewska-Darmach E. Proangiogenic activity of plant extracts in accelerating wound healing – a new face of old phytomedicines. *Acta Biochim Pol*. 2011;58(4):449-60.

13. Carvalho LH Júnior, Santos RL, Mendonça CJA, Campos CT, Andrade MAP. Evaluation of skin temperature, reactive c protein, and hemosedimentation speed variation in uncomplicated primary knee total arthroplasty. *Acta Ortop Bras.* 2006;14(3):161-4.
14. Ono MCC. Influência de dieta imunomoduladora na cicatrização cutânea em ratos [dissertação de mestrado]. Santa Catarina (PA): Universidade Federal do Paraná; 2009.
15. Coelho JM, Antonioli AB, Silva DN, Carvalho TMMB, Pontes ERJC, Odashiro AN. Effects of silver sulfadiazine, ipê roxo (*Tabebuia avellanedae*) extract and barbatimão (*stryphnodendron adstringens*) extract on cutaneous wound healing in rats. *Rev Col Bras Cir.* 2010;37(1):45-51.
16. Okamoto MKH. Estudo das atividades cicatrizante e antimicrobiana do extrato glicólico e gel de *Psidium guajava* L. e estudo da estabilidade do gel [tese de doutorado]. São Paulo (SP): Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo; 2010.
17. Lucena PLH, Ribas Filho JM, Mazza M, Czezko NG, Dietz UA, Correa Neto MA, et al. Evaluation of the aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) in the healing process of surgical incision in the bladder of rats. *Acta Cir Bras.* 2006;21(2):46-51.
18. Batista JS, Silva AE, Rodrigues CMF, Costa KMFM, Oliveira AF, Paiva ES, et al. Avaliação da atividade cicatrizante do óleo de pequi (*caryocar coriaceum wittm*) em feridas cutâneas produzidas experimentalmente em ratos. *Arq Inst Biol.* 2010;77(3):441-7.
19. Tumem I, Suntar I, Keles H, Küpeli AE. A therapeutic approach for wound healing by using essential oils of cupressus and juniperus species growing in Turkey. *Evid Based Complement Alternat Med.* [Internet]. 2012 [acesso 9 dez 2012]; 2012. Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/728281/abs/doi:10.1155/2012/728281>
20. Dantas JA, Ambiel CR, Cuman RKN, Baroni S, Amador CAB. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Sci Health Sci.* 2006;28(2):165-70.

Recebido: 14.2.2013

Aceito: 22.8.2013