

Evaluación del extracto de la *Zeyheria tuberculosa* en la perspectiva de un producto para cicatrización de heridas¹

Patrícia de Albuquerque Sarmiento²

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: evaluar las actividades antimicrobianas, citotóxicas y cicatrizantes del extracto etanólico del tallo de la *Z. tuberculosa* por vía tópica y/o ingestión oral. **Método:** ensayos antimicrobianos in vitro por el método de difusión en disco, prueba de toxicidad de la *Artemia salina* y ensayos in vivo con ratones *Wistar*. En estos fueron recolectados datos clínicos, histológicos y bioquímicos para evaluación del proceso de cicatrización. **Resultados:** los ensayos antimicrobianos in vitro mostraron actividad frente a la *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, con halos de inhibición de 18, 14 y 10 mm, respectivamente. La mejor concentración inhibitoria mínima fue 62,5 µg/mL para *S. aureus*, siendo esta bacteria escogida para los ensayos in vivo. Animales tratados con las pomadas del extracto de la *Z. tuberculosa* presentaron mejores resultados en la reducción del diámetro de la herida, dato confirmado por la presencia de reepitelización en los cortes histológicos. **Conclusión:** el extracto se mostró promisor para la continuación de estudios que identifiquen los principios activos responsables por la actividad farmacológica y su mecanismo de acción en el proceso de cicatrización de heridas, con la finalidad de desarrollar un producto que pueda ser utilizado de forma alternativa en la reparación de heridas cutáneas infectadas.

Descriptores: Cicatrización de Heridas; Bioensayo; Extractos de Plantas; Pruebas de Sensibilidad Microbiana.

¹ Artículo parte de la disertación de maestría "Evaluación de la actividad antimicrobiana y la citotoxicidad *in vitro* e *in vivo* del extracto de etanol en bruto del vástago *Zeyheria tuberculosa* (vell) Bur. (Bignoniaceae): perspectiva de un suplemento para la cicatrización de heridas", presentada a la Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil. Apoyo financiero del Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), proceso nº 474023/2010-9.

² Estudiante de doctorado, Rede do Nordeste de Biotecnologia, Carpina, PE, Brasil. Profesor Asistente, Escola de Enfermagem e Farmácia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil.

³ PhD, Profesor Asociado, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil.

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

⁵ PhD, Profesor Asociado, Escola de Enfermagem e Farmácia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil.

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

Correspondencia:

Patrícia de Albuquerque Sarmiento
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 es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Reconocimiento-No Comercial (CC BY-NC). Esta licencia permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de tu obra de modo no comercial, y a pesar de que sus nuevas obras deben siempre mencionarte y mantenerse sin fines comerciales, no están obligados a licenciar sus obras derivadas bajo las mismas condiciones.

Introducción

En el proceso de cicatrización de heridas participan una serie de eventos complejos, envolviendo las fases: inflamatoria, proliferación y de remodelación. Esas fases se superponen de forma continua y temporaria. El éxito del tratamiento está directamente relacionado a la elección de la sustancia correcta para actuar en cada una de esas etapas. Sin embargo, cuando existe infección en el lecho de la herida es necesario acabar con el proceso infeccioso para proseguir con la terapéutica⁽¹⁾.

A pesar de la hegemonía alopática y del predominio de sustancias sintéticas para uso local y sistémico en el tratamiento de heridas, se observa un creciente interés por alternativas naturalistas, que promuevan la cicatrización de las lesiones. Si bien antes el uso terapéutico de plantas medicinales en el cuidado, se situaba al margen de las instituciones de salud, hoy ultrapasa esas barreras para legitimarse en ese medio⁽²⁾.

El Brasil está entre los países que presentan la llamada mega diversidad, poseyendo aproximadamente, 120.000 especies vegetales. Sin embargo, solamente 10% de estas especies fueron estudiadas desde el punto de vista fitoquímico y biológico⁽³⁾. Las plantas de la familia Bignoniaceae, a la cual la especie *Zeyheria tuberculosa* (*Z. tuberculosa*) pertenece, son consideradas importantes por presentar en sus constituyentes principios bioactivos y diversas actividades farmacológicas, inclusive en la medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades como cáncer, picada de serpiente, enfermedades de la piel, disturbios gastrointestinales, disturbios del tracto respiratorio, enfermedades ginecológicas, disturbios hepáticos, epilepsia, cólera, dolor, problemas urinarios, malaria, problemas cardíacos y enfermedades sexualmente transmisibles⁽³⁻⁴⁾.

La perspectiva de utilización del extracto de tallo de la *Z. tuberculosa* partió de un estudio⁽⁵⁾ en que se comprobó la actividad antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus* y la *Candida albicans*, en bioensayos *in vitro*. En esta investigación, también fueron aislados e identificados cuatro flavonoides, de los cuales tres fueron descritos por primera vez para este género. Los flavonoides son compuestos encontrados en algunos alimentos, cascara del tallo de árboles, tallos de plantas, raíces, y flores que poseen numerosas actividades farmacológicas como antioxidantes, antimicrobiano, antiinflamatorio, analgésico, vasodilatador, cicatrizante y regenerativa de cartílagos y huesos⁽⁵⁻⁶⁾. Con el objetivo de ampliar las posibilidades de recursos terapéuticos, para el tratamiento de heridas cutáneas, a partir de la investigación experimental, este estudio se propone evaluar la actividad

antimicrobiana *in vitro* y cicatrizante *in vivo* del extracto etanólico bruto del tallo de la *Z. tuberculosa* por vía tópica y/o por vía oral.

Método

La planta y la preparación de los extractos

La especie vegetal *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae) fue recolectada por el grupo de investigación e identificada por el Instituto del Medio Ambiente del Estado de Alagoas (IMA), en donde la muestra fue depositada con el número 23.819.

Para la preparación del extracto el tallo fue secado en temperatura ambiente, triturado y colocado en etanol a 90%. Después de 15 días, el solvente fue evaporado en un evaporador rotatorio, al vacío, con una temperatura máxima de 45 °C, en volumen constante. Ese proceso de rotación-evaporación se realiza por tres series hasta la obtención de un residuo claro, el cual permanece expuesto en una campana de extracción hasta volatizar todo el solvente contenido y obtener el extracto bruto concentrado.

Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* y determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM)

La actividad antimicrobiana del extracto del tallo fue comprobada por triplicado, con el método de difusión en disco⁽⁷⁾, utilizándose cepas bacterianas y fúngicas estandarizadas y distribuidas por el *American Type Cell Collection* (ATCC). Las cepas bacterianas probadas fueron *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis* (ATCC 49565), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488) y *Escherichia coli* (ATCC 14942). Como cepa de hongos, se comprobó la *Candida albicans* (ATCC 10231). Con la muestra que presentó actividad y fue escogida para continuación del estudio se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM), la cual es definida a partir de diluciones seriadas del extracto activo. Los experimentos fueron realizados por triplicado.

Toxicidad frente a la *Artemia salina* Leach (TAS)

El bioensayo de la *Artemia salina* fue realizado de acuerdo con la literatura⁽⁵⁾. La *Artemia salina* L. es un microcrustáceo que puede ser utilizado en el laboratorio en bioensayos preliminares para determinar la toxicidad de extractos y productos de origen natural con potencial activo biológico. La prueba es realizada con larvas de

segundo instar (nauplios), siendo considerado tóxico el extracto que induce la mortalidad mayor o igual a 30%.

Animales y grupos experimentales

Los ensayos *in vivo* fueron realizados con 24 ratones (*Rattus norvegicus albinus* – linaje Wistar), adultos, machos, respetándose los Principios Éticos de Experimentación con Animales. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad Federal de Alagoas (Nº 009880/2009-77).

Los ratones fueron pesados y separados por el método probabilístico de elección aleatoria en seis grupos ($n = 4$), identificados a partir de la terapéutica: Control Positivo (CP); Control negativo (CN); Extracto tópico (ET); Extracto tópico y oral (ETO); Extracto oral (EO) y Blanco (B). Los animales fueron mantenidos en jaulas de polietileno, siendo un animal en cada jaula, forradas con aserrín, en fotoperíodo de 12 horas de claro y oscuro, ruidos mínimos, temperatura ambiente $21 \pm 1^\circ\text{C}$, mantenida por aire acondicionado. La alimentación fue con ración comercial (Labina®, Purina, Brasil), con monitorización de la ingestión y agua “*ad libitum*”.

Pomadas para uso tópico

Las pomadas utilizadas en este experimento fueron manipuladas por un farmacéutico y todas fueron provenientes de una base no-iónica sin conservantes. Para el CP se agregó gentamicina 0,1% a la referida base, quedando en la concentración estándar para uso en

humanos. En los grupos ET y ETO se acrecentó 5% del extracto a la base no-iónica y para los grupos CN y EO fue utilizado apenas la base no-iónica.

Extracto para uso oral

Con el extracto etanólico bruto del tallo de la *Z. tuberculosa* fue preparada una tintura, en la concentración de 1mg/mL, valor determinado a partir de los resultados de la CIM y del TAS, para ser adicionada a la dieta de los animales de los grupos ETO y EO que recibieron el extracto por vía oral.

A cada bolita de ración de esos grupos fue acrecido 1 mL de tintura y después de 24 horas de evaporación del etanol, en estufa a temperatura de 25°C , fue ofrecido a los animales diariamente con monitorización de la ingestión.

Ensayos biológicos para evaluación de la actividad cicatrizante y antimicrobiana *in vivo*

Cada animal fue sometido a la verificación del peso corpóreo para la monitorización y cálculo de la anestesia. Se utilizó tiopental sódico, 40 mg/Kg de peso, vía intraperitoneal. En seguida, se procedió a la verificación de la temperatura por vía rectal, depilación del dorso, antisepsia de la piel, con chlorhexidine desgerminante a 2%, y, con un punzón metálico, fueron realizadas cuatro lesiones incisivas para-vertebrales de 12 mm cada, a partir de la línea mediana dorsal, hasta el nivel del tejido aponeurótico conforme Figura 1.



Figura 1 - Lesiones en el dorso del animal en el D₀.

Después de la realización de las incisiones, cada lesión recibió 0,25 μL de una suspensión conteniendo $1,5 \times 10^6$ UFC/mL de *S. aureus*, para infectar el

tejido aponeurótico superficialmente. En seguida, las lesiones fueron cubiertas con gasa y ataduras estériles, aguardándose 24 horas para realización

de cultura con torunda, de las cuatro lesiones e inicio de la terapéutica.

Los animales fueron evaluados a cada 24 horas por 14 días, para la observación clínica de las lesiones, en lo que se refiere a la presencia de: efectos adversos, irritación perilesional, retracción cicatricial y realización de los curativos de acuerdo con tratamiento del grupo. Todos los datos fueron registrados en protocolos preestablecidos.

En los 3º, 7º, 11º y 14º días de posoperatorio (DPO) se realizó la medición del área de la lesión con calibrador digital, retirándose fragmento de una de las lesiones para evaluación histopatológica. En el último día del experimento, se realizó anestesia y eutanasia de todos los animales con toracotomía y punción cardíaca, retirándose 4 mL de sangre, para análisis de glucosa, colesterol y triglicéridos, además del hígado para evaluación microscópica de hepatotoxicidad del extracto.

Análisis histológico

Todo el material retirado para examen microscópico fue numerado, sin la identificación del grupo al cual pertenecía, siendo fijados con solución de formol a 10%. Las muestras fueron deshidratadas y diafanizadas en alcohol y xilol, incluidas en bloques en parafina caliente. Después del endurecimiento, los bloques fueron llevados a microtomía, para obtención de las secciones de 5 µm, siendo recolectadas en láminas de vidrio y coloridas con colorante Hematoxilina Eosina (HE).

El análisis del material tomó como referencia las fases inflamatoria, proliferación y de remodelación, las cuales integran el proceso de cicatrización. Para el análisis de los resultados, se elaboró la Tabla 1 con puntajes basados en la literatura^(5,8). La intensidad de las variables (1+ a 5+) fue multiplicada por factores positivos o negativos basados en su importancia para la cicatrización. La suma de estos productos correspondió al puntaje total para cada animal, el cual posteriormente fue multiplicado por 4 (n).

Tabla 1 - Puntajes utilizados para evaluación del examen histopatológico

Variables	Ausente	Presente	Discreto	Moderado	Intenso	Factor
Costra	+1	+2	-	-	-	-1
Inflamación aguda	-	-	+3	+4	+5	-4
Inflamación crónica	-	-	+3	+4	+5	+2
Tejido de granulación	-	-	+3	+4	+5	+5
Proliferación fibroblástica	-	-	+3	+4	+5	+5
Vasos nuevos	-	-	+3	+4	+5	+5
Reepitelización	-	-	+3	+4	+5	+5
Fibras de colágeno	+1	+2	-	-	-	+10

Pruebas estadísticas

Los datos fueron analizados en el programa GraphPad InStat®. Las variables numéricas fueron evaluadas con la prueba ANOVA con dos factores de interacción entre sí, con prueba post de Tukey para análisis del efecto entre los grupos. Para los datos no paramétricos se utilizó la prueba de Mann-Whitney. El nivel de significancia establecido fue de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

Evaluación de la actividad antimicrobiana y determinación de la CIM

El extracto bruto del tallo de la *Z. tuberculosa* no demostró actividad para el hongo probado, sin embargo fue activo contra las bacterias *S. pyogenes*, *S. aureus* y *S. epidermidis*, conforme la Tabla 2. El *S. aureus* fue el microorganismo escogido para continuación de las pruebas, por ser importante en la ocurrencia de infección

hospitalaria, principalmente en infecciones de tejidos, además de presentar un halo de inhibición con cerca de 50% del tamaño del control positivo⁽⁹⁻¹⁰⁾. La CIM del extracto para este microorganismo fue de 62,5 µg/mL.

Tabla 2 - Resultado de las difusiones en discos con el extracto bruto del tallo de la *Z. tuberculosa* para cepas bacterianas y fúngica

Microorganismos	Productos probados/tamaño del halo (mm)	
	Control positivo	Extracto 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	-

(-) No presentó halo de inhibición de crecimiento

*Valor del promedio del triplicado

Toxicidad frente a la *Artemia salina* (TAS)

Después de la determinación de la CIM se procedió el TAS. Según los criterios determinados en esta investigación, el extracto se mostró atóxico en las concentraciones entre 100 y 10 µg/mL. Los valores expresados en la CIM (62,5 µg/mL) y en el TAS de este estudio están en consonancia con una utilización segura en los animales de este estudio. Siendo legitimado por la ausencia de mortalidad entre los animales durante el experimento.

Evaluación del proceso de cicatrización *in vivo*

Durante el experimento, los animales fueron monitorizados en cuanto a la temperatura, peso y observación macroscópica de las lesiones, incluyendo la medición del diámetro de las lesiones. En cuanto a la temperatura, en el día de la cirugía (D₀) todos los animales estaban con temperatura dentro de la normalidad entre 36,2 a 37 °C. Del 3º al 7º DPO, solamente los animales de los grupos ET y CN presentaron aumento de la temperatura. El promedio de temperatura de los animales varió entre 36,2 y 38 °C, no mostrando diferencia significativa entre los grupos ($p = 0.1116$).

Los animales de todos los grupos presentaron oscilación de peso durante los 14 días del experimento. El promedio de peso máximo fue de 265,1 y el mínimo de 208,4 gramos. Esa diferencia se mostró significativa entre el grupo CN y ETO y el grupo CN y EO. Sin embargo, los grupos ETO, EO y CP presentaron un patrón semejante.

Se observó que en el preoperatorio, los animales mantenían una ingestión diaria de ración de 24 g/día en promedio. Sin embargo, a partir de la realización de las lesiones en el dorso hubo oscilación, quedando el promedio en 18,5 g/día por animal.

En la evaluación del diámetro de la lesión fue observada contracción de la herida a partir del 3º DPO, sin embargo los grupos CN y ET no tuvieron esa característica. A partir del 7º DPO se observó una disminución en el diámetro, que se acentuó en el 11º y 14º días. Los grupos ETO y EO tuvieron mejor respuesta en términos de contracción de la herida. El mayor promedio a lo largo del experimento fue observado en el grupo ET con 7,46 mm y la menor fue en el ETO con 5,21 mm. La prueba de Tukey mostró diferencia significativa entre CN y ETO, ET y ETO, así como entre los grupos ET y EO.

El estudio macroscópico permitió observar diferencias entre los grupos, en lo que se refiere al color de la lesión. El aspecto de la lesión, con relación al color, refleja clínicamente el desarrollo del proceso de cicatrización. La coloración amarillenta indica infección. Estos datos indican que los grupos tratados con la

Z. tuberculosa tuvieron una cantidad menor de animales con esa característica, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto, sea por vía tópica y/o por vía oral. Siendo los datos corroborados por los puntajes obtenidos en el estudio histológico.

A partir del 11º día fue observada, una coloración roja o rosácea en 100% de los animales de los grupos CP, ET, ETO, EO y en 75% de aquellos del grupo CN, indicando que iniciaron las fases de granulación y reepitelización. Ningún animal presentó coloración marrón que es indicio de muerte celular y necrosis.

Las señales flogísticas de inflamación como rubor perilesional o hiperemia, edema y presencia de exudado no fueron observados macroscópicamente en ninguno de los grupos. Evidenciando que el extracto utilizado en la investigación no provoca irritación en la piel perilesional, ni en la lesión cutánea. Esos datos, también, son corroborados por los puntajes obtenidos en el estudio histológico.

Además, macroscópicamente, en lo que se refiere a la ocurrencia de tejido de granulación, fue observado que en el 3º DPO los animales del grupo ET presentaron 100% de granulación, en aquellos de los grupos CP y ETO 75% y los del grupo EO 50%. Esos hallazgos confirman que el grupo ET fue el que obtuvo mejor respuesta, que también, fue legitimada por los puntajes del estudio histopatológico.

Evaluación histopatológica de las lesiones

Los datos histológicos fueron recolectados de acuerdo con las fases de cicatrización y organizados de acuerdo con los puntajes para cuantificación. En la Tabla 3 es posible observar que, los mayores promedios en los puntajes, fueron obtenidos por los grupos que recibieron el extracto, sea por vía tópica y/o por vía oral. Esa diferencia se mostró estadísticamente significativa entre los grupos CN y ET.

Tabla 3 - Puntajes del estudio histopatológico de las heridas infectadas por el *S. aureus*

Días de Posoperatorio	Puntajes				
	Control Positivo	Control negativo	Extracto tópico	Extracto tópico y oral	Extracto 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
Promedio	488,5	358,5*	891,25*	699,5	801,8

* $p < 0,05$

El análisis de las lesiones de los grupos ET, ETO y EO tratados con el extracto de la *Z. tuberculosa* evidenció

hallazgos importantes en el proceso de cicatrización visualizado en la Figura 2. En el 3º día se observa inflamación aguda con presencia de macrófagos (2A); en el 7º día se puede identificar el tejido de granulación,

con formación de neovascularización, fibras de colágeno e inicio de epitelización (2B); en el 11º día se observa en destaque las fibras de colágeno (2C).

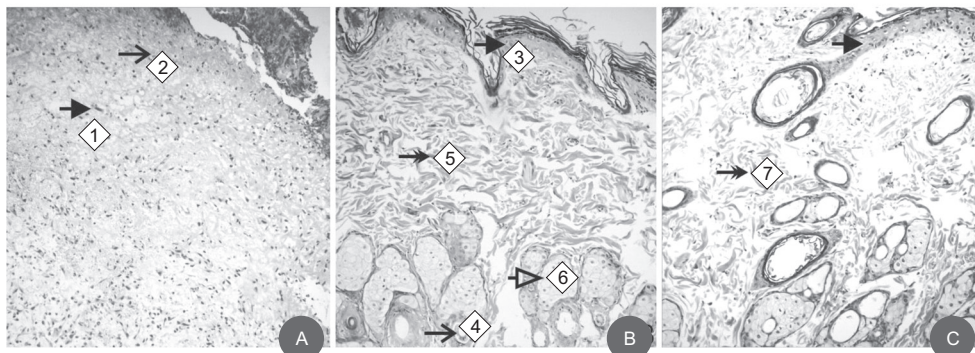


Figura 2 - (A) Fotomicrografía de herida cutánea del extracto tópico, 3º día postquirúrgico (¹ macrófago, ² inflamación aguda); (B) Fotomicrografía de herida cutánea del extracto tópico y oral, 7º día postquirúrgico (³ epitelización, ⁴ neovascularización, ⁵ fibras de colágeno, ⁶ tejido de granulación) y (C) Fotomicrografía de herida cutánea del extracto oral 11º postquirúrgico (⁷ fibras de colágeno) (Aumento 10x, HE)

El análisis histológico del hígado mostró ausencia de hepatotoxicidad en todos los grupos estudiados. En la evaluación bioquímica, los datos no fueron expuestos por presentar parámetros semejantes de colesterol, triglicérido y glucosa entre todos los animales del experimento, no siendo posible establecer correlación entre esos hallazgos y la utilización del extracto de la *Z. tuberculosa*.

Discusión

La terapéutica de heridas debe ser una constante preocupación para el enfermero, ya que todavía es un desafío cuidar de lesiones cutáneas con los recursos actuales existentes. A pesar de los avances tecnológicos, pocos tienen acceso, debido al alto costo y a la limitación en los grandes centros urbanos⁽¹¹⁾. Algunos estudios muestran que la utilización de plantas viene a ser una necesidad para la ampliación del arsenal terapéutico en esta área y en la reducción de los recursos disponibles para el tratamiento⁽¹²⁾. En el presente estudio el extracto etanólico bruto de la *Z. tuberculosa*, mostró actividad antimicrobiana *in vitro* para *S. aureus*, atóxico por el prueba con la *Artemia salina* e *in vivo* actuó como cicatrizante de heridas de escisión infectadas en ratones, siendo estos datos promisorios para la continuación de estudios que puedan elucidar el mecanismo de acción del extracto, una vez que, este patógeno es responsable por la mayoría de las infecciones del sistema tegumentario, y

resistente a gran parte de los antimicrobianos utilizados en la clínica⁽¹⁰⁾.

En el experimento *in vivo*, la temperatura de los animales sufrió poca alteración, no llegando a ultrapasar 38°C. Inclusive con infección local, comprobada por la cultura de las lesiones, los animales no tuvieron repercusiones sistémicas. La elevación observada se debe al propio mecanismo de cicatrización, que lleva a un aumento de la vascularización por la respuesta inflamatoria local, aumentando así la temperatura corporal⁽¹³⁾.

La medida del peso es un parámetro nutricional importante en varios estudios experimentales, estando relacionado a alteraciones cicatriciales⁽¹⁴⁾. La diferencia de peso puede estar directamente relacionada a la disminución en la ingestión diaria de ración. Como también por la manipulación diaria, con curativos y biopsias realizadas en el 3º, 7º, 11º y 14º días.

La asociación de la pérdida de peso al propio proceso inflamatorio fue descrito en un estudio afirmando que la inflamación produce citocinas inflamatorias y Factor de Necrosis Tumoral (FNT), que actúan como mediadores de la inflamación y de la inmunidad⁽⁶⁾. Con los niveles séricos de FNT elevados, existe una estimulación en la producción de una proteína llamada leptina, cuya elevación está relacionada con la sensación de saciedad. Niveles aumentados de esta proteína inducen el organismo al gasto energético y a una disminución en el consumo de alimento, causando falta de apetito y consecuentemente a pérdida de peso.

La coloración, como parámetro de evaluación de las condiciones de las heridas, demostró que estas presentaron evolución clínica dentro de lo previsto para cada etapa de la cicatrización. En los grupos tratados, hubo el predominio de la coloración rósea, que es característica de la epitelización, siendo esta la fase final de la reparación de tejidos. Estos datos legitimaron los hallazgos que utilizó la crema de *barbatimao* e *ipe-roxo* en heridas en ratones⁽¹⁵⁾ y difirieron del estudio con gel y el extracto glicólico de la hoja del guayabo (*Psidium guajava* L.) que no consiguió observar diferencia significativa entre los grupos tratados y el que utilizó la solución salina⁽¹⁶⁾.

De forma macroscópica el cierre total de las lesiones no ocurrió, en todos los grupos, a lo largo de los 14 días del experimento. Sin embargo, hubo una reducción significativa del diámetro de los animales tratados, dato confirmado por la presencia de reepitelización en los cortes histológicos. En animales de piel menos adherida a los planos profundos (como los ratones) la contracción puede llegar de 80 a 90 % de cierre de las lesiones cutáneas⁽¹⁴⁾.

El análisis histopatológica permite inferir que los grupos tratados con el extracto de la *Z. tuberculosa* obtuvieron los mejores resultados, cuando comparados con los grupos control positivo y negativo. Esto se debe a la menor reacción inflamatoria de los grupos tratados con el extracto. Cierta grado de inflamación es necesario, sin embargo una reacción inflamatoria elevada es perjudicial, ya que puede haber comprometimiento de la microcirculación y también inhibir la formación de fibroblastos⁽¹⁷⁾. La literatura también presenta resultados semejantes con la evaluación de los efectos del tratamiento tópico de la crema a la base de óleo de *pequi* (*Caryocar coriaceum* Wittm)⁽¹⁸⁾ y con óleos esenciales de algunas especies de *Juniperus*, planta tradicional en la medicina popular de Turquía⁽¹⁹⁾.

Los valores bioquímicos de animales en experimentación pueden sufrir alteraciones, debido a las condiciones ambientales y al estrés inducido por el propio procedimiento⁽²⁰⁾. Los resultados de triglicérido, colesterol y glucosa de los animales en estudio tuvieron resultados semejantes a los presentados en la literatura.

Conclusión

El extracto etanólico bruto de la *Z. tuberculosa* posee acción antimicrobiana *in vitro* para *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*. Los grupos tratados con el extracto tuvieron una respuesta semejante al control positivo en el proceso de cicatrización. Histológicamente, los animales tratados por

vía tópica tuvieron una cantidad mayor de células para el cierre de las lesiones. Esta investigación valida estudios anteriores con ese extracto y avanza por demostrar la potencial actividad cicatrizante de la *Z. tuberculosa*. Eso estimula la continuación de estudios, objetivando identificar los principios activos responsables por la actividad farmacológica y su mecanismo de acción en el proceso de cicatrización de heridas. Apuntando para el desarrollo de un producto que pueda ser utilizado de forma alternativa en la reparación de heridas cutáneas infectadas.

Referencias

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 aroreira (*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.

Recibido: 14.2.2013
Aceptado: 22.8.2013