



MESTRADO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E SAÚDE

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANGIOGÊNICA E CICATRICAL DO EXTRATO DE
Aloe vera (Aloe barbadensis)

PATRÍCIA LIMA MERCÊS

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis

Goiânia, 2015



MESTRADO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E SAÚDE

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANGIOGÊNICA E CICATRICIAL DO EXTRATO DE
Aloe vera (Aloe barbadensis)

PATRÍCIA LIMA MERCÊS

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis

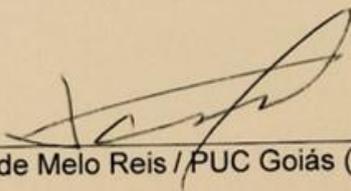
Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Saúde, da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Saúde.

Goiânia, 2015



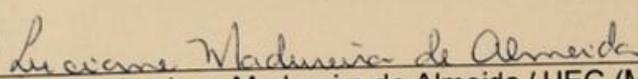
DISSERTAÇÃO DO MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE
DEFENDIDA EM 14 DE MAIO DE 2015 E CONSIDERADA
APROVADA PELA BANCA EXAMINADORA:

1)



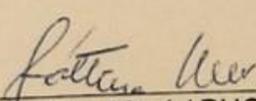
Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis / PUC Goiás (Presidente)

2)



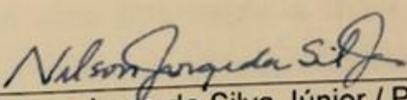
Profa. Dra. Luciane Madureira de Almeida / UEG (Membro Externo)

3)



Profa. Dra. Fátima Mrué / PUC Goiás (Membro)

4)



Prof. Dr. Nelson Jorge da Silva Júnior / PUC Goiás (Suplente)

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a todos os pacientes acompanhados pelo Serviço de Estomaterapia do Hospital Regional de Araguaína para que este trabalho venha a contribuir com a disponibilização de um produto de baixo custo, de fácil manuseio e eficaz na cicatrização de feridas

Aos discentes do Curso de Enfermagem do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos que sirva de estímulo para realizarem mais estudos nesta área.

A Liga de Estomaterapia do Tocantins para que sirva de fonte de estudo e aprendizado sobre a utilização de medicamentos fitoterápicos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à DEUS por permitir que eu conseguisse terminar mais esta etapa da minha vida acadêmica e por estar sempre do meu lado nos bons e maus momentos de minha jornada de vida.

A meus Pais Manoel Raimundo Mercês e em especial minha Mãe Maria Yolanda Mercês *“que quando uma vez falei que não ia fazer o vestibular pois era muito difícil e eu não ia passar ela me disse nunca desista antes de tentar”* e até hoje eu lembro dessas palavras toda vez que alguma dificuldade aparece em minha vida, obrigada Mãe, Pai, pois sem a ajuda e apoio de vocês eu não teria chegado até aqui. Amo vocês.

Ao Prof^o. Doutor e meu querido Orientador Paulo Roberto de Melo Reis pela paciência, compreensão, incentivo, ajuda e companheirismo durante toda a construção e execução dessa dissertação, sem sua ajuda nada seria possível muito obrigada.

Aos meus queridos alunos da Disciplina Fundamentação Básica de Enfermagem II pela compreensão e carinho e respeito que tiveram comigo durante o período de realização do mestrado.

A minha amiga, irmã, companheira, Zilene do Socorro Santa Brígida da Silva, pelo carinho e o apoio em todos os momentos deste mestrado.

A Suzy, Lílian e Dwight que me ajudaram na realização desta pesquisa.

A amiga que conquistei durante esta caminhada Luana Carvalho e a toda a sua família, pela acolhida em sua casa durante todo período da pesquisa de campo.

E finalmente a todos os meus Irmãos Alex, Allan, Perla e Sérgio, por compreenderem minhas ausências nos momentos importantes onde toda família estava reunida.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a influência do *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) na atividade angiogênica e cicatricial. **Métodos:** estudo experimental onde se utilizou 120 ovos férteis de galinha (*Gallus domesticus*) da linhagem Rhoss. Os ovos foram incubados e ao final do 13º, discos de papel de filtro, veiculando 3 µL da solução a ser testada (extrato glicólico de aloe vera a 10%), e os devidos controles, foram depositadas diretamente sobre a Membrana Corioalantóide-MCA de forma cuidadosa para avaliação da atividade angiogênica do *Aloe vera*. A atividade cicatricial foi avaliada utilizando 15 ratos saudáveis, da espécie *Rattus norvegicus* albinus, através da criação de uma lesão no dorsos de cada rato utilizando um molde do tamanho retangular 2,0x3,0cm, após a confecção da lesão eram aplicadas a solução a ser testada, *Aloe vera* e os controles positivo e negativo. **Resultados:** com relação a atividade angiogênica observou -se através das imagens que 80% das MCAs onde se utilizou o *Aloe vera* houve formação de vasos sanguíneos mais grossos e em maior quantidade, porém não apresentou diferenças significativas quando comparada ao controle positivo. Com relação a atividade cicatricial os resultados na avaliação macroscópica demonstraram que 100% dos ratos do grupo teste apresentaram um fechamento completo das lesões no 21º dia do experimento enquanto que apenas 40% do grupo controle apresentavam fechamento completo. Porém quando aplicado o teste de Tukey, ($p>0,05$), não houve diferença estatística. Demonstrando assim que a atividade cicatricial do *Aloe vera* é igual à do Regederm® que já possui comprovação científica na cicatrização de feridas. **Conclusão:** o *Aloe vera* apresentou atividade cicatrização igual ao controle positivo, na MCA apresentou atividade angiogênica igual ao controle positivo, com formação de novos vasos, foi de fácil aplicação e manuseio, Concluindo -se com isso que o extrato de *Aloe vera* ou componentes pró-angiogênicos isolados podem ter potencial para aplicações farmacêuticas para o tratamento de feridas.

Palavras-chave: Babosa, Biotecnologia, Fitoterapia

ABSTRACT

Objective: To evaluate the influence of Aloe vera (*Aloe barbadensis*) in angiogenesis and scar activity **Methods:** experimental study used 120 fertile eggs of chicken (*Gallus domesticus*) of Rhoss lineage. The eggs were incubated, and the end of the 13^o, filter paper discs, conveying 3 μ L of the solution to be tested (glycolic extract of aloe vera 10%) and the proper controls were deposited directly on the Chorioallantoic Membrane-MCA so carefully to evaluate the angiogenic activity of Aloe vera. The healing activity was evaluated using 15 healthy rats of the species *Rattus norvegicus albinus* by creating a lesion on the dorsum of each mouse using a rectangular size 2,0x3,0cm mold, after making the injuries were applied the solution to be tested, Aloe vera and the positive and negative controls **Results:** regarding angiogenic activity observed through the images that 80% of MCAs which was used Aloe vera was the formation of thicker blood vessels and in greater quantities, but there was no difference significant when compared to the positive control. Regarding scar activity results in macroscopic evaluation showed that 100% of the test group mice showed a complete closure of the lesions on the 21st day of the experiment while only 40% of the control group had complete closure. But when the Tukey test ($p > 0.05$), there was no statistical difference. Demonstrating how the scar activity of Aloe vera is the same as Regederm® you already have scientific evidence in wound healing. **Conclusion:** Aloe vera presented healing activity equal to the positive control, the MCA presented angiogenic activity equal to the positive control, with formation of new vessels, it was easy to apply and handling, conclusion themselves with what the Aloe vera extract or pro components -angiogênicos isolates may have potential pharmaceutical applications for wound treatment.

Keywords: Aloe, Biotechnology, Herbal Medicine

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	5
2.1. A Pele	5
2.2. Feridas Definição e Classificação	6
2.3. Processo de Cicatrização de Feridas.....	6
2.4. Coberturas	9
2.4.1. Classificação das Coberturas.....	10
2.4.2. Coberturas Fitoterápicas.....	10
3. OBJETIVOS	16
3.1. OBJETIVO GERAL	16
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1. Obtenção do gel de <i>Aloe vera</i> (<i>Aloe barbadensis</i>).....	17
4.2. Avaliação da Atividade Angiogênica na Membrana Corioalantóide- MCA	17
4.2.1. Ovos embrionados de galinha	17
4.2.2. Delineamento Experimental.....	17
4.2.3. Obtenção das Imagens.....	19
4.2.4. Análise Estatística	20
4.3. Avaliação da Atividade Cicatricial do <i>Aloe vera</i> em Feridas Limpas em Dorso de Ratos.....	20
4.3.1. Amostragem Experimental.....	20
4.3.2. Anestesia, Tricotomia e Excisão da Pele.....	21

4.3.3. Grupos Experimentais e Tratamento Tópico	22
4.3.4. Descrição da Realização dos Curativos	23
4.3.5. Avaliação da Evolução da Cicatrização	24
4.3.6. Análise Estatística	24
5. RESULTADOS	25
5.1. Avaliação da Atividade Angiogênica na CAM	25
5.2. Avaliação da Atividade de Cicatrização do <i>Aloe vera</i> em Feridas em Dorso de Ratos.....	27
6. DISCUSSÃO	32
7. CONCLUSÃO.....	35
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Abertura de 1,0 cm de diâmetro na casca do ovo.....	18
Figura 2. Rede vascular formada.	19
Figura 3. Ovo embrionado de galinha mostrando as camadas interna e externa da MCA.	20
Figura 4. Ferida induzida em dorso dos ratos.	22
Figura 5. Grupo R: A sem Regederm®. B com Regederm®.....	23
Figura 6. Formação da rede vascular na MCA.....	26
Figura 7. Imagem obtida em câmera digital mostrando a excisão da pele no dia zero de cada grupo do experimento. Observa-se a exposição da fáscia muscular dorsal.	27
Figura 8. Imagem dos ratos mostrando as lesões cutâneas com crosta necrótica no 7º dia do experimento.....	28
Figura 9. Fotos dos ratos dos grupos R, AV e SF após a retirada da crosta no sétimo dia do experimento.....	28
Figura 10. No 14º dia do experimento observa-se uma fina camada de fibrina, com presença de tecido de granulação nos ratos dos Grupos R, AV e uma crosta necrótica mais espessa no rato SF.....	29
Figura 11. Demonstração da velocidade de cicatrização da cada grupo.	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Percentagem de vascularização da membrana carionatatóide (MCA) do ovo embrionado de galinha após tratamento com Aloe vera e os diferentes controles.....	
.....	25
Tabela 2. Média e desvio padrão das áreas excisadas dos animais dos Grupos R, AV e SF nos dias 0, 7, 14 e 21 dias.	29
Tabela 3. Avaliação Macroscópica Diária das Lesões	31

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CEUA: Comissão de Ética de Uso de Animais

EGF: Fator de Crescimento Epidérmico

FGF: Fator de Crescimento Derivado de Fibroblastos

MCA: Membrana Corioalantoidea

MEC: Matrix Extra-Celular

OMS: Organização Mundial de Saúde

PDGF: Fator de Crescimento Derivados de Plaquetas

PNPIC: Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

SUS: Sistema Único de Saúde

TGF- β : Fator de Crescimento Transformador Beta

VEGF: Fator de Crescimento Vascular Endotelial

WHO: World Health Organization

1. INTRODUÇÃO

As plantas são utilizadas pelo homem desde o início de sua história para o tratamento de diversas doenças (CARNEIRO *et al.*, 2014). Atualmente a utilização de substâncias de origem vegetal ou animal para fins medicinais, continua sendo um hábito frequente nas culturas dos mais diferentes povos do planeta (NICOLETTI *et al.*, 2010).

Esta afirmação é comprovada quando observar –se várias pesquisas que relatam que apesar do desenvolvimento de fármacos sintéticos, as plantas medicinais continuam sendo uma alternativa no tratamento de diversas doenças em várias partes do mundo. Ressalta-se ainda que nas últimas décadas sua utilização vem sendo muito valorizada (BADKE *et al.*, 2012).

A Organização Mundial de Saúde estima que aproximadamente 80% da população de países em desenvolvimento utiliza plantas medicinais para o tratamento de algumas doenças (WHO, 1993). E explica que isso ocorre devido a dois motivos, a tradição e o difícil acesso aos serviços de saúde, e nos países mais ricos devido o modismo de consumir produtos naturais (BRASIL, 2012).

Devido o aumento do consumo desses produtos naturais nos países mais ricos. Os Estados Unidos e a Europa criaram um controle rigoroso na comercialização e registro de produtos de origem vegetal com normas para certificação destes produtos para garantir a qualidade das preparações a base de plantas (JÚNIOR *et al.*, 2005).

Mais mesmo tendo todas essas medidas rigorosas na comercialização de produtos de origem vegetal, vimos que na Alemanha a terapia alternativa com plantas medicinais é utilizada de forma preocupante pois, apesar dos médicos alemães prescreverem medicamentos fitoterápicos, a maioria da população utiliza as plantas medicinais através da automedicação, tornado seu consumo perigoso pois não se conhece os efeitos sinérgicos quanto utilizados com medicamentos alopáticos (JÚNIOR *et al.*, 2005).

No Brasil cerca de 82% da população utiliza produtos à base de plantas medicinais sendo que muitas delas, têm pouca ou nenhuma comprovação científica de suas propriedades farmacológicas e eficácia. O seu uso é devido ao conhecimento popular que é transmitido de geração a geração (RODRIGUES & DE SIMONI, 2010).

Diante disso o Brasil tem se preocupado em estabelecer diretrizes no intuito de assegurar que a utilização desses fitoterápicos seja realizado dentro das normas estabelecidas pela Política de Medicamentos (NICOLETTI *et al.*, 2010). E com a

aprovação em 2006 da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde-PNPICS, tornou-se possível incluir plantas medicinais no tratamento de algumas patologias pois a PNPIC, tendo como uma de suas diretrizes a elaboração da relação Nacional de Plantas Medicinais e de Fitoterápicos, assim como facilitar o acesso a plantas medicinais e fitoterápicos aos usuários do SUS (BRASIL, 2006).

Nas últimas décadas tivemos muitos avanços com a formulação e implementação de políticas públicas com objetivo de valorizar a utilização das plantas medicinais e derivados nos cuidados com a saúde e de sua inserção na rede de saúde. Porém diante do potencial que nosso país tem, devido sua biodiversidade, temos alguns desafios, dentre eles a ampliação do investimento em pesquisas. Para que os usuários desses produtos tenham acesso aos mesmo com qualidade, eficácia e segurança (BRASIL, 2012).

As plantas têm um grande potencial para tratar e cicatrizar feridas. Sendo utilizada em vários países para tratamento de lesões de várias etiologias (THAKUR *et al.*, 2011). Atualmente, estudos experimentais utilizando plantas medicinais e outros elementos que atuam na cicatrização estão sendo desenvolvidos, porém ainda existem poucos estudos clínicos realizados em humanos. Contudo já existem no mercado alguns produtos derivados de plantas para fins medicinais caso do Biocure® (VARGAS *et al.*, 2014).

Dentre essas plantas medicinais utilizadas na cicatrização de feridas foi escolhido para este estudo a *Aloe barbadensis*, conhecido popularmente no Brasil por babosa devido o mesmo já ser utilizado na cultura popular no tratamento de vários tipos de lesões cutâneas.

A *Aloe barbadensis* é uma planta de origem africana, pertencente à família das Liliáceas, parecida com um cacto, suculenta que cresce em climas tropicais. Há mais de 300 espécies de *Aloe* catalogadas, porém como a maioria é venenosa somente quatro espécies são seguras para serem usadas em seres humanos, merecendo destaque *Aloe arborescens* e *Aloe barbadensis*. Sendo este último de maior concentração de nutrientes na sua goma ou gel e devido a isso o mais utilizado na medicina curativa e comumente chamado no mundo de *Aloe vera* (DAT *et al.*, 2012; BOMTEMPO, 2012; BHAT *et al.*, 2011).

A Ação terapêutica da *Aloe vera*, é citada em vários trabalhos experimentais, e tem sido utilizada na medicina tradicional na cura de diversos males, dentre eles

lesões da pele como queimaduras, danos por irradiação, úlceras venosas e isquêmicas (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

A *Aloe vera* apresenta ação cicatrizante, anti-inflamatória, protetora da pele, sendo muito utilizada nas lesões de pele, devido, fundamentalmente, ao seu poder emoliente e suavizante. Além de conter as vitaminas C, E, do complexo B e ácido fólico, contém também minerais, aminoácidos essenciais e polissacarídeos que estimulam o crescimento dos tecidos e a regeneração celular (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

A pele é o maior órgão do corpo humano, representando 16% do seu peso, formada por uma camada de tecido responsável pelo revestimento e proteção de todas as estruturas internas fazendo assim a interação do nosso organismo com o meio externo (DOMANSKY & BORGES, 2012). Sendo assim, uma vez lesada a pele exigirá um complexo mecanismo de funções celulares que agem em sincronia para a reparação da lesão (GOGIA, 2003).

Vários relatos afirmam que *Aloe vera* tem uma influência benéfica na cicatrização de feridas em ratos normais e diabéticos. Devido exercer um efeito estimulante imunológico, ativando os macrófagos (KHAN *et al.*, 2013).

O processo de cicatrização ou reparação pode ser dividido em três estágios distintos mais sobrepostos. A fase inflamatória, que pode ser intensa ou duradora dependendo do grau de lesão tecidual, sendo que nesta fase ocorre o recrutamento e a proliferação dos fibroblastos. O segundo estágio, chamado de fase proliferativa caracteriza-se pela deposição do colágeno, da angiogênese, para formar o tecido cicatricial. O terceiro e último estágio, é a remodelação, no qual o colágeno extracelular é remodelado e dispostos em feixes paralelos sendo diferente dos produzidos na derme saudável pois a certos componentes da pele que depois de lesados não é possível sua recuperação como os folículos pilosos e as glândulas sudoríparas (GOGIA, 2003; KING, 2007).

O uso tópico da *Aloe vera* possui o papel de fornecer mais oxigênio, aumentando a vascularização e a quantidade de colágeno para que o processo de cicatrização aconteça. Com seu uso o tecido é desinflamado ocorrendo a multiplicação das células epiteliais (DE PAULA & PIMENTEL, 2011).

Um estudo de revisão publicado em 2012 sobre a utilização da *Aloe vera* no tratamento de feridas agudas e crônicas concluiu que apesar da existência de muitos ensaios clínicos que objetivam comprovar a eficácia da *Aloe vera* no tratamento de feridas agudas e crônicas os mesmos apresentam baixa qualidade. Esse mesmo

estudo destaca a necessidade de futuras pesquisas de alta qualidade em *Aloe vera* e seus efeitos sobre as feridas agudas e crônicas e sugere que deva se seguir uma metodologia experimental rigorosa (DAT *et al.*, 2012)

Baseado no exposto acima esta pesquisa tem como objetivos avaliar os efeitos da *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) em relação a sua atividade angiogênica, mediante realização de testes laboratoriais “*in vivo*”, utilizando como modelo experimental a membrana corioalantóidea do ovo embrionado de galinha. E a atividade cicatricial do *Aloe vera*, mediante a realização de experimentos “*in vivo*”, utilizando como modelo experimental lesões induzidas em dorso de ratos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. A Pele

A pele é formada por duas camadas, conhecidas como epiderme e a derme, ela constitui o maior e um dos mais ativos órgãos do corpo humano. Em sua estrutura a epiderme forma superfície mais externa do corpo, já a derme forma a camada mais profunda da pele (DEALEY, 2008).

A pele tem por função a proteção, atuando como barreira física contra microrganismos e minimizando a perda excessiva de líquidos; a sensibilidade, permitindo as sensações de dor, pressão, calor e frio através das terminações nervosas; a termo regulação mediante a sudorese, vasodilatação e vasoconstrição; a excreção de eletrólitos e água; o metabolismo, através da síntese de vitamina D, que ativa o metabolismo de cálcio e fosfato e a caracterização étnica, relacionada a diferenças quantitativas de melanina e melanóide (JORGE & DANTAS, 2007).

A espessura da pele varia de acordo com a idade, etnia, região anatômica e sexo. Os pelos são anexos do tegumento, possuem crescimento cíclico e existem em grande extensão na pele, exceto nas regiões palmar, plantar e parte dos genitais externos. Os demais anexos são glândulas sudoríparas, que colaboram na regulação térmica do corpo e as glândulas sebáceas, cujo produto de excreção impermeabiliza e protege a camada córnea e o óstio folicular. As unhas são formadas por células ceratinizadas e constituídas da mesma camada da epiderme exceto a granulosa (MALAGUTTI & KAKIHARA, 2011).

A Epiderme apresenta várias camadas sendo a mais profunda o estrato basal que é responsável pela produção de novas células por divisão celular. As três camadas superiores da epiderme são o estrato granulosos, o estrato lúcido e o estrato córneo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

A epiderme ainda possui células chamadas melanócitos que contem melanina que irá determinar a cor da pele de acordo com sua concentração (DEALEY, 2008).

A derme é formada por tecido conjuntivo, sua espessura apresenta-se variável de acordo com a região observada atingindo o máximo de 3mm da planta do pé.

Sendo constituída por duas camadas, a papilar que é mais superficial e a reticular mais profunda. O tecido conjuntivo é composto por inúmeras fibras colágenas e, em menor número, fibras elásticas e reticulares. Os feixes colágenos são compostos por fibras e entre eles encontramos fibroblastos. A derme oferece suporte, resistência, sangue e oxigênio à pele (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

2.2. Feridas Definição e Classificação

A ferida pode ser definida como uma ruptura na pele causada por agentes físicos, químicos ou biológicos (BORGES *et al.*, 2008).

Existem diversos parâmetros que podem ser abordados na classificação das feridas, os mesmos nos auxiliam na escolha do tratamento adequado para cada tipo de lesão (GIRARDI, 2005).

Quanto a evolução as feridas podem ser classificadas como agudas e crônicas (SCEMONS & ELSTON, 2011). As agudas são aquelas que respondem rapidamente ao tratamento e cicatrizam sem complicações, quanto que as crônicas apresentam uma longa duração e são de difícil cicatrização (DEALEY, 2008).

Quanto ao comprometimento tecidual, podem ser classificadas com superficial, quando somente a epiderme é lesada, parcial quando há envolvimento da epiderme e de parte da derme e total quando toda a epiderme e a derme são destruídas e tecidos mais profundos como músculos ou ossos podem estar envolvidos (MENEZHIN *et al.*, 2007).

Quanto ao agente causal, podem ser incisivas ou cirúrgicas, que são aquelas produzidas por instrumento cortante, contusas, lacerantes e perfurantes (TAZIMA *et al.*, 2008).

As feridas podem ser classificadas ainda como: limpas, limpas-contaminadas, contaminadas e infectadas (SCEMONS & ELSTON, 2011)

2.3. Processo de Cicatrização de Feridas

A restauração do sistema vascular da pele é uma complexa cascata de eventos celulares, bioquímicos, humorais e moleculares que interagem para que ocorra a reepitelização e a reconstrução do tecido. Este processo surge como uma resposta do tecido a lesões induzidas por traumatismo ou por procedimentos cirúrgicos (KAPOOR *et al.*, 2004; FALEIRO *et al.*, 2009; THAKUR *et al.*, 2011).

O fechamento de uma lesão cutânea pode ocorrer por dois processos o da regeneração ou da reparação. Na regeneração a lesão limita-se a epiderme ocorrendo a substituição específica do tecido lesado, sem perda de sua função enquanto que na reparação o fechamento da lesão ocorre com formação de cicatrizes e fibrose (BORGES *et al.*, 2008; REINKE & SORG, 2012).

Quando há alguma deficiência de algum dos componentes envolvidos no processo de cicatrização a mesma pode evoluir de forma demorada com o

aparecimento de fibroses, as úlceras por pressão e úlceras venosas estão entre os tipos mais frequentes de feridas denominadas crônicas por serem de difícil cicatrização (KAPOOR *et al.*, 2004).

O processo de cicatrização de feridas é caracterizado por três fases que se sobrepõem que são: fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelação. Apesar de alguns avanços recentes na compreensão destes processos básicos na cicatrização de feridas, distúrbios continuam a causar doenças e até mesmo a morte (CLARK, 1996).

A fase inflamatória inicia –se imediatamente após o aparecimento da lesão. Com a hemorragia, esse extravasamento sanguíneo preenche a área lesada com plasma e elementos celulares, principalmente plaquetas. Que geram um tampão no local da lesão formando um coágulo, rico em fibrina, promovendo a hemostasia e criando uma barreira contra a invasão de microrganismos (MENDONÇA *et al.*, 2010).

Na maioria das vezes a lesão expõe o colágeno da matrix extra-celular (MEC), permitindo assim a ativação das plaquetas que aderem e se agregam no leito da lesão secretando vários mediadores que facilitam a coagulação permitindo que a hemóstase aconteça (LAUREANO & RODRIGUES, 2011).

As plaquetas também são responsáveis pela liberação dos fatores de crescimento, como, Fator de Crescimento Transformador Beta-TGF- β , fator de Crescimento derivados de Plaquetas -PDGF, Fator de Crescimento derivado de Fibroblastos- FGF e Fator de Crescimento Epidérmico-EGF (REINKE & SORG, 2012).

O passo inicial na constituição de novos vasos é a união de fatores de crescimento para seus receptores nas células endoteliais dos vasos existentes, ativando assim cascatas de sinalização intracelular. As células ativadas segregam enzimas proteolíticas que se dissolvem na lâmina basal. Assim, às células endoteliais são agora capazes de proliferar e migrar para dentro da ferida (MENDONÇA *et al.*, 2010).

O coágulo formado por colágeno, plaquetas e trombina serve de reservatório proteico para síntese de citocinas e fatores de crescimento, ocasionando a vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular, facilitando a migração de neutrófilos para a ferida (CAMPOS *et al.*, 2007)

As primeiras células a alcançar o local da ferida são os neutrófilos, são atraídos por substâncias quimiotáticas liberadas pelas plaquetas e após a saída das mesmas de dentro do leito da lesão, os neutrófilos preenchem esse leito com o objetivo de

fagocitar bactérias, fragmentos celulares e corpos estranhos sendo substituídos após 24h pelos macrófagos (TAZIMA *et al.*, 2008).

Os macrófagos são as principais células a migrarem antes dos fibroblastos e iniciarem sua replicação, tem como uma das funções o termino da limpeza iniciada pelos neutrófilos e a mais importante de secretar citocinas e fatores de crescimento, além de contribuir na angiogênese, fibroplasia e síntese da matriz extracelular, fundamentais para transição para fase seguinte (BROUGHTON *et al.*, 2006).

A fase proliferativa é dividida em três subfases, sendo responsável pelo fechamento da lesão. Que são: a fase de reepitelização, angiogênese e fibroplasia o (LAUREANO & RODRIGUES, 2011).

Na reepitelização o foco principal é a migração de queratinócitos para as margens da ferida e dos anexos epiteliais, quando a ferida é de espessura parcial e apenas as margens se for de espessura total. Os fatores de crescimento são responsáveis pelo aumento da mitose e hiperplasia do epitélio. A proliferação dos queratinócitos inicia-se de 24 a 48 horas após a lesão e leva o suprimento necessário de células para migração e formação do novo epitélio, havendo a reestruturação da membrana basal, com a ligação das células ao substrato subjacente (MANDELBAUM *et al.*, 2003).

Na angiogênese acontece o crescimento de novos vasos a partir da proliferação dos vasos já existentes nas margens da ferida, com a proliferação das células endoteliais, formação da estrutura tubular dos novos vasos e reconstrução da membrana basal (LAUREANO & RODRIGUES, 2011). Os fatores de crescimento são muito importantes para o desenrolar desse processo, como VEGF, produzido por macrófagos que contribui para o aumento da expressão de receptores das integrinas, importante mitogênico para migração de células epiteliais (REINKE & SORG, 2012).

A fibroplasia ocorre quando após o trauma células mesenquimais são transformadas em fibroblastos e atraídas para o local da lesão onde se dividem e produzem os componentes da matriz extracelular. O aparecimento dos fibroblastos ocorre após 72h do aparecimento da lesão. Sua função é sintetizar colágeno ainda na fase inflamatória. A síntese do colágeno depende do nível de oxigenação celular e da hidroxilação da prolina e lisina, sendo necessário a presença de vitaminas, ferro, testosterona, tiroxina, proteínas e zinco para que essa reação aconteça (TAZIMA *et al.*, 2008).

Na fase de remodelamento inicia-se com a formação do tecido cicatricial e a medida que ele evolui a coloração rósea brilhante da lesão vai sendo substituída por um tom mais suave e esbranquiçado, esse processo pode ter a duração de um ano ou mais dependendo da profundidade da lesão (SILVA *et al.*, 2007).

A neovascularização diminui nesta fase e a cicatriz é considerada avascular, pode possuir até 80% da força tênsil da pele normal e se apresenta na maioria das vezes plana (MANDELBAUM *et al.*, 2003).

Existem vários fatores que influenciam no processo de cicatrização dentre eles os fatores locais, como isquemia e infecção e sistêmicos como, doenças crônicas, tabagismo, desnutrição, idade, utilização de corticoides, dentre outros (BORGES *et al.*, 2008).

2.4. Coberturas

A utilização de coberturas é fator importante na realização do curativo pois elas que iram auxiliar e/ou promover a cicatrização da lesão (DEALEY, 2008). Antes de se utilizar qualquer tipo de cobertura deve-se realizar a limpeza e o desbridamento da lesão se necessário (BLANES, 2004).

As coberturas também são denominadas de curativos, porém este termo não é o mais adequado, pois engloba a técnica de "curar", ou seja, os procedimentos que vão da remoção da cobertura anterior, limpeza, desbridamento e colocação da nova cobertura (SANTOS, 2000).

A existência de feridas de várias etiologias, levou a evolução de diversos tipos de curativos que desde de 1960 com Winter e depois em 1984 com Tuner obedecem alguns critérios no intuito de promover um ambiente propício para cicatrização das feridas (PURNA & BABU, 2000). Estes critérios são seguidos até hoje na elaboração de novas coberturas para tratamento de feridas que são:

- Manter o meio úmido;
- Permitir trocas gasosas;
- Remover o excesso de exsudato;
- Ser impermeável a bactérias;
- Manter isolamento térmico
- Ser isento de partículas ou tóxicos contaminantes
- Permitir a remoção sem causar traumas

Além destes, existem ainda disponibilidade, flexibilidade, facilidade de manuseio e custo-eficácia (DEALEY, 2008).

2.4.1. Classificação das Coberturas

As coberturas se dividem em primária e secundária, onde a cobertura primária é aquela aplicada diretamente sobre a ferida, e já a cobertura secundária é aplicada sobre a primária (DEALEY, 2008).

As coberturas se classificam de acordo com o seu desempenho como:

Passivas: Aquelas que protegem e recobrem a ferida; ex: Gazes.

Interativas: As que mantem a ferida úmida favorecendo a cicatrização, ex: hidrocoloídes e hidrogéis.

Bioativas: As que fornece elementos necessários a cicatrização estimulando o fechamento da lesão, ex: coberturas fitoterápicas e biológicas.

2.4.2. Coberturas Fitoterápicas

De acordo com o Ministério da Saúde, as coberturas que são classificadas como fitoterápicas são aquelas que utilizaram em sua composição, plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isolada, ainda que de origem vegetal (BRASIL, 2006).

A utilização da natureza para fins terapêuticos é utilizada desde do início da civilização humana, as plantas medicinais são importantes como fitoterápicos e na descoberta de novas drogas (BRASIL, 2012).

A OMS define planta medicinal como sendo todo vegetal que possui substâncias que podem ser utilizadas para fins terapêuticos (VEGA *et al.*, 2005).

As plantas medicinais são utilizadas desde da pré - história no tratamento de feridas em forma de cataplasma e unguentos auxiliando na cicatrização das lesões (PIRIZ *et al.*, 2014).

Em 1978 a organização mundial de saúde através da declaração de Alma-Ata começou a estimular a utilização de plantas medicinais de forma segura no tratamento de diversas doenças, pois foi constatado que 80% da população mundial já utilizava as plantas medicinais para tratamento e prevenção de doenças (VARGAS *et al.*, 2014; NICOLETTI *et al.*, 2010).

O Brasil é o país de maior biodiversidade do planeta que associado a sua diversidade cultural e étnica detém um valioso conhecimento tradicional relacionado ao uso das plantas medicinais (BRASIL, 2006).

Estima-se que existam em todo país mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e micro-organismos, apesar disso a utilização de plantas para a elaboração de novos fármacos pouco é explorada. Há relatos que apenas 0,4% da flora brasileira já foi pesquisada (BRASIL, 2012).

Em vista disto, apesar do amplo contingente de publicações em nível mundial, nota-se que o Brasil vem desenvolvendo pesquisas importantes para o aumento do conhecimento das propriedades medicinais das plantas usadas pela população. Uma verificação importante é que já existem programas e políticas que estimulam a inclusão deste tipo de terapia no SUS, o que evidencia a busca pela oferta de um atendimento humanizado e integral (VARGAS *et al.*, 2014).

Além da Política Nacional de Plantas Medicinais um dos progressos é a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares, trata-se da RDC nº 10, de 2010, que apresenta uma lista com 66 plantas medicinais que podem ser utilizadas e distribuídas pelos serviços de saúde, explicando aspectos como dose, preparação e contraindicações (BRASIL, 2012).

A seguir serão citadas algumas plantas que são utilizadas na cicatrização de feridas que se encontram em estudos pré-clínicos para comprovação de sua eficácia ou que já possuem comprovação para o uso no tratamento de feridas.

A) *Aloe bardensis*: a utilização desta planta é muito antiga e se encontra presente na literatura de diversas culturas, como nome de *Aloe vera*. Seu nome se origina da palavra árabe *alloe*, que significa substância amarga e brilhante o primeiro registro do uso da *Aloe vera* foi na Mesopotâmia no ano 2100 a.c. (FREITAS *et al.*, 2014).

No Brasil é muito utilizada para tratamento de queimaduras, feridas infectadas, constipação, calvície dentre outras. Tendo ainda propriedades bactericidas (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Atualmente a *Aloe vera* continua sendo utilizada para uma variedade de fins medicinais, inclusive no tratamento de feridas, sendo também muito utilizada na indústria cosmética (GUPTA & SEEMA, 2012).

A *Aloe vera* tem sua nomenclatura referenciada pela Organização Mundial de Saúde como *Aloe vera* (L.) Burm.f. pertencente à família Liliaceas, que inclui cerca de

15 gêneros e 800 espécies (FREITAS *et al.*, 2014). Sendo uma planta herbácea que não necessita de muita água, com folhas verdes, grossas e suculentas (BOMTEMPO, 2012).

A maioria dessas espécies são venenosas apenas 4 podem ser utilizadas pelo ser humano sem riscos para sua saúde que são: *Aloe barbadensis*, *Aloe perry*, *Aloe ferox* e *aloe arborescens* (BOMTEMPO, 2012). A *Aloe barbadensis* se destaca por ser a mais utilizada para cicatrização de feridas e é popularmente conhecida como *Aloe vera* (VEGA *et al.*, 2005).

O gel de *Aloe vera*, é de aspecto claro, transparente, produzido por células do parênquima localizadas na região central da folha, pode ser diluído e utilizado na forma de extrato. O gel é composto principalmente de água (99%) e mono e polissacáridos (NADA *et al.*, 2013). Além disso o *Aloe vera* contém 75 componentes potencialmente ativos que incluem vitaminas, enzimas, minerais, açúcares, lignina, saponinas, ácidos salicílicos e aminoácidos (GUPTA & SEEMA, 2012).

Muitas propriedades estão sendo atribuídas ao *Aloe.vera*, como ação antiviral, anti-bactericida, anti-inflamatória (VEGA *et al.*, 2005). Através de várias pesquisas vem se comprovando sua ação cicatrizante, devido o mesmo conter dentre outros compostos, glicoproteínas que estimulam a atividade celular (GUPTA & SEEMA, 2012).

Estudos histoquímicos revelaram que em animais tratados com *Aloe vera*, ocorre um aumento das células TFG β 1 e VEGF-positivos. Esse fato pode ocorrer devido a *Aloe vera* conter mais de 100 compostos pertencentes as glicoproteínas, sacarídeos, antraquinona e outras substâncias de baixo peso molecular dentre estas substâncias o β sitosterol que vem sendo identificado como um fator angiogênico benéfico para o processo de cicatrização de feridas por estimular a migração de células endoteliais para o leito da lesão (MOON *et al.*, 1999).

Supõem –se que a cicatrização de feridas através da utilização do *Aloe vera* se dá, devido o mesmo manter a ferida úmida o que proporciona o aumento da migração celular reduzindo a inflamação e induzindo a maturação em um espaço mais curto do colágeno (GUPTA & SEEMA, 2012).

Estudos feitos com animais, identificaram algumas substâncias como sendo responsáveis pela ação anti-inflamatória e cicatrizante do *A. vera*, um polissacarídeo denominado Acemanana é uma destas substancias pois o mesmo é capaz de estimular in vitro macrófagos a liberarem interleucina-6, fator de necrose tumoral α e

o óxido nítrico, e combinado com o interferon- γ potencializa esses efeitos (FREITAS *et al.*, 2014).

Um estudo de caso feito com pacientes diabéticos que apresentavam úlceras isquêmicas conclui que a utilização do *Aloe vera* combinado com o colágeno possibilitou a epitelização das lesões (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Em um outro estudo feitos com lactantes, foi utilizado o extrato de *Aloe vera* nas Dermatites Associadas a Incontinência- DAI e obteve-se resultados satisfatórios (PANAHI *et al.*, 2012).

O acemannam e a giberelina, são dois componentes do *Aloe vera* ricos em manose, que é um polissacarídeo que auxilia a interação do hormônio do crescimento com o receptor do fator de crescimento de fibroblastos, estimulando a sua atividade e proliferação, o que por sua vez aumenta a síntese de colágeno, quando feito a aplicação tópica e oral (GUPTA & SEEMA, 2012).

A *Aloe vera* aplicada nas feridas aumenta o fornecimento de sangue que por sua vez aumenta a oxigenação favorecendo a atividade dos fibroblastos e a proliferação do colágeno promovendo a cicatrização da ferida (GUPTA & SEMMA, 2012).

Podemos afirmar portanto que o gel de *Aloe vera* apresenta propriedades farmacológicas que se caracterizam pela sua grande capacidade de penetrar nos tecidos lesados, exercendo função cicatrizante, anestésica e anti-inflamatória (MENDONÇA *et al.*, 2009).

B) *Hevea brasilienses*: os estudos do látex natural de seringueira (LNS) no Brasil tiveram início na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pois foi lá que foi realizado o primeiro trabalho utilizando LNS, para confecção de próteses usadas na reconstrução de esôfagos de cães este trabalho demonstrou que as próteses influenciavam na neoformação tecidual (DE OLIVEIRA *et al.*, 2003, PAULA *et al.*, 2005).

O látex da *Hevea brasiliensis*, vem demonstrado em vários estudos sua eficácia na cicatrização de feridas devido estimula a angiogênese, além da formação da matriz extracelular (DE OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Com base em estudos realizados em animais e humanos, criou-se um curativo que já vem sendo comercializado no Brasil com a autorização da Anvisa (FERREIRA *et al.*, 2009)

Atualmente encontra-se no mercado outro produto à base de BN, denominado de Regederme®, que apresenta os mesmos efeitos benéficos que o Biocure® que foi o primeiro produto comercializado a base de LNS para tratamento de ferida (www.pelenova.com.br).

C) *Stryphnodendron barbadetiman* – planta cultivada principalmente no nordeste do Brasil conhecida como anti-inflamatório é usada para cicatrização de feridas (MALAGUTI e KAKIHARA, 2011). É uma planta rica em tanino que é um composto fenólico, que interage com as proteínas através de ligações químicas formando uma camada de proteção sobre a pele ou mucosa que foi lesionada, favorecendo que ocorra o processo natural de reparação e reduzindo a fase inflamatória (MINATEL *et al.*, 2010).

É muito utilizada no Brasil para o tratamento de úlceras por pressão, na apresentação de pomada comercializada com o nome de Fitoscar®, composta de 3% de fitocomplexo fenólico de barbatimão (MINATEL *et al.*, 2010).

D) *Carica papaya*: desta planta que é retirada a Papaína que é uma enzima proteolítica, que além de promover o desbridamento enzimático do tecido necrótico, tem ação bactericida, bacteriostática e anti-inflamatória. Podendo ser utilizada em várias concentrações para o tratamento da lesão em suas várias fases do processo cicatricial (POLETTI, 2000).

Existem inúmeros estudos que comprovam a eficácia da papaína em feridas de diferentes etiologias, pois promove o desbridamento seletivo, ou seja, facilita a remoção dos tecidos necróticos sem interferir nos tecidos viáveis da ferida. Esta ação favorece a regressão dos sinais inflamatórios e auxilia positivamente no processo de cicatrização (FERREIRA *et al.*, 2002).

No Brasil, Monetta foi a primeira a realizar vários estudos utilizando a papaína no tratamento de feridas, primeiramente foi utilizado por ela, a fruta in natura e, posteriormente, a solução de papaína. No entanto, a papaína já vem sendo estudada por pesquisadores de âmbito internacional desde a década de 50 (FERREIRA *et al.*, 2002).

A papaína é utilizada sob várias formas farmacêuticas, como pó, gel, creme e solução na concentração de 2 a 5% (MONETTA, 1998). Outras concentrações podem ser utilizadas como 10% para tecidos com necrose e de 4 a 1% para tecido fibrinoso ou de granulação. Ao contrário do que muitos pensam, a papaína pode ser utilizada

durante todas as fases da cicatrização, variando apenas sua concentração (MONETTA, 1987).

E) *Anacardium occidentale*: em 2004 Silva produziu uma membrana a partir da fermentação do sumo do caju a cajumembrana, membrana fitoterápica que contém em sua composição fitoquímica, fenóis taninos, flavonas, flavonóis e xantonas, em contato com a pele lesada a membrana propicia a liberação lenta e gradual dos seus componentes auxiliando no processo de cicatrização (MALAGUTTI & KAKIHARA, 2011).

É indicada para uso tópico no tratamento de úlceras venosas, lesões traumáticas, queimaduras e micoses (SANTOS & SILVA, 2014).

F) *Calendula officinalis*: esta planta possui propriedades antissépticas, cicatrizantes e emolientes (NETO *et al.*, 1996). Vários estudos realizados *in vitro* apontam a ação bactericida desta planta podendo estar relacionada a presença de flavonoides e saponinas em sua composição, além de ácido oleanóico que favorecem a regeneração dos tecidos lesados as mucilagens que juntamente com os flavonoides possuem ação cicatrizante (MALAGUTTI & KAKIHARA, 2011).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) na atividade angiogênica e cicatricial.

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.1.1. Avaliar a atividade angiogênica do *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) mediante realização de testes laboratoriais “*in vivo*”, utilizando como modelo experimental a membrana corioalantóide do ovo embrionado de galinha.

3.1.2. Avaliar a influência do *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) na cicatrização de lesões de pele induzidas em dorso de ratos, avaliando o tempo de reparo da lesão.

3.1.3. Comparar a estética da pele do rato após a finalização da cicatrização em relação ao grupo controle.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Laboratório de Estudos Experimentais Biotecnológicos da Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC, em Goiânia, após a aprovação pela Comissão de Ética de Uso de Animais CEUA da Instituição SOB o Protocolo N°0007-1. Neste local tanto os ovos embrionados como os animais foram mantidos do início ao fim da pesquisa, para coleta de dados e avaliação clínica sendo obedecidos os princípios éticos em experimentação animal preconizados pela CEUA.

4.1. Obtenção do gel de *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*)

O Extrato Glicólico de *Aloe vera* foi adquirido da empresa farmacêutica de manipulação Vitória Régia CNPJ N°: localizada em Araguaína –TO manipulada pelo Farmacêutico Lucas Corrêa Mendes CRF –TO 1512. Foi utilizado *Aloe vera* a 10% em gel. Fabricado em 28/04/2014 e com vencimento em 28/09/2014 sob o Registro N° 153131.

✓ O *Aloe vera* em gel a 10% é composto por:

Extrato Glicólico de *Aloe vera* – 10ml

Gel hidroalcolólico qsp – 100g

✓ O Extrato Glicólico de *Aloe vera* é composto por:

Mucilagem de *Aloe vera* – 500g

Álcool de Cereais a 80°GL- 950ml

Propilenoglicol – 50ml

4.2. Avaliação da Atividade Angiogênica na Membrana Corioalantóide- MCA

4.2.1. Ovos embrionados de galinha

Foram utilizados 120 ovos férteis de galinha (*Gallus domesticus*) da linhagem Rhoss. Adquiridos de uma Granja da cidade de Goiânia- Goiás.

4.2.2. Delineamento Experimental

Os ovos embrionados de galinha foram incubados em estufa automática a temperatura de 38°C e em ambiente úmido (65%), e deslocados lateralmente a cada 15 minutos, por movimento automático, durante os cinco primeiros dias de incubação.

No quinto dia de incubação foi realizada, na casca do ovo, uma abertura circular (1,0 cm de diâmetro) em sua base maior (onde está localizada a câmara de ar) com auxílio de uma micro-retífica Dremel. Este procedimento foi realizado dentro de uma câmara de fluxo laminar, em ambiente previamente esterilizado com luz ultravioleta para não haver contaminações recíprocas.

Após a realização da abertura na casca do ovo (utilizando-se seringa e solução salina estéreis) foi depositada uma gota (NaCl 0,9% p/v) de forma a auxiliar na retirada da membrana da casca, expondo a MCA já vascularizada. A abertura, então, foi vedada com fita adesiva transparente e o ovo novamente incubado, porém, sem agitação periódica e com a base furada voltada para cima (Figura 1).



Figura 1. Abertura de 1,0 cm de diâmetro na casca do ovo.

Ao final do 13° dia de incubação, discos de papel de filtro, veiculando 3 μ L da solução a ser testada (extrato glicólico de *Aloe vera* a 10%) 3 μ L de água destilada (controle negativo), 3 μ L de solução injetável de dexametasona 4mg/ml (controle inibidor), e 3 μ L de Regederm® (controle positivo). Para cada teste as substâncias foram depositadas diretamente sobre a membrana corioalantóide de forma cuidadosa.

Todos os ovos voltaram para a incubação até o 16° dia, quando foram retirados da incubadora. Todas as MCAs foram fixadas com solução de formaldeído (3,7 %) por 5 min, cortadas com uma tesoura sem corte curvas e mantidas em placa de Petri com solução de formaldeído.

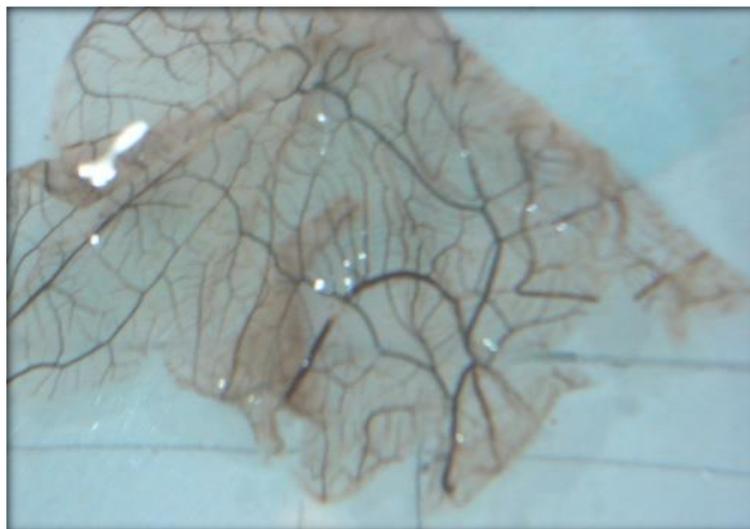


Figura 2. MCA com rede vascular formada.

4.2.3. Obtenção das Imagens

As imagens das MCAs foram obtidas, por equipamento digital, (Sony Cyber-shot 8.1mega pixels) as fotografias foram feitas sob um fundo azul, em tamanho 640X480 pixels e formato de RGB 24 bites com aproximação de zoom de 2,8 a distância de 24cm, sobre um fundo azul, padronizados com objetivo de analisar e quantificar a rede vascular (Figura 2). Que posteriormente foi quantificada por meio do processamento da imagem pelo programa de domínio público Gimp for Windows (version 2.8) para melhor visualização dos vasos sanguíneos.

A análise da imagem foi realizada com auxílio do ImageJ versão 1.45 programa também de domínio público que possibilitou separar intervalos de níveis de intensidade e desta forma isolar e quantificar em pixels correspondentes aos vasos sanguíneos.

A MCA foi utilizada nesse experimento por possuir uma densa rede vascular, sendo está sensível a estímulos angiogênicos e antiangiogênicos. A MCA como vimos na Figura 3, é descrita como uma membrana altamente vascularizada que consiste em três camadas, a ectodérmica, mais externa que exibe uma densa rede de capilares sanguíneos a partir do 12^o dia de desenvolvimento, a mesenquimal que é a intermediária contendo as grandes veias e artérias e a endodérmica, mais externa que é desprovida de vasos sanguíneos tem como função, promover a troca gasosa entre o embrião e o meio ambiente (EGOSHI *et al.*, 2015).

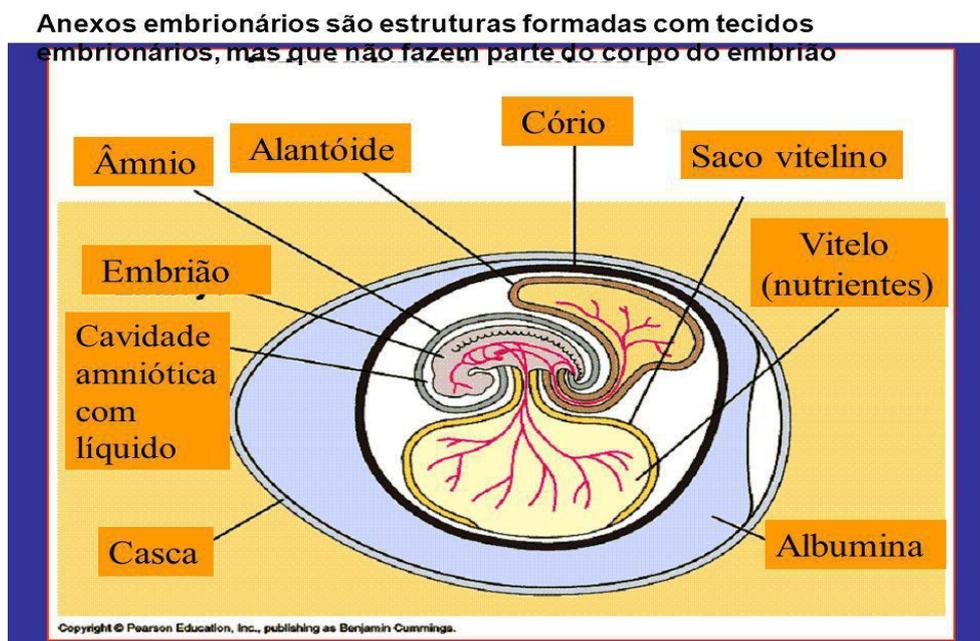


Figura 3. Ovo embrionado de galinha mostrando as camadas interna e externa da MCA

4.2.4. Análise Estatística

Para analisar da atividade angiogênica do extrato de babosa foi utilizado o teste análise de variância (ANOVA) ou um teste não paramétrico denominado Kruskal-Wallis. Os valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

4.3. Avaliação da Atividade Cicatricial do *Aloe vera* em Feridas Limpas em Dorso de Ratos

4.3.1. Amostragem Experimental

Para realizar a pesquisa foram utilizados 15 ratos, saudáveis, da espécie *Rattus norvegicus albinus*, Rodentia mammalia oriundos do Biotério da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, apresentando peso corpóreo entre 200 e 300 gramas e faixa etária entre 2 e 3 meses nos dias no dia do experimento. Estes animais foram ambientados e climatizados por 10 dias para adaptação recebendo água e ração balanceada *ad libitum*. Foram utilizados no estudo os animais que apresentaram condições físico-clínicas apropriadas para realização da pesquisa ($n=15$), seguindo as normas da CEUA.

Os animais foram alojados em gaiolas individuais de polipropileno, forradas com maravalha, conforme padrões internacionais. Receberam água e ração balanceada

ad libitum. A maravalha era trocada a cada três dias. Os animais ficaram no laboratório 4 do MICAS, o mesmo era bem arejada com temperatura média de 21°C, com sistema de ventilação, ciclo de claro- escuro (claridade 07:00- 19:00, escuro 19:00- 07:00).

A alimentação (água e ração) foi suspensa 08 horas do antes do experimento, e voltou 04 horas após a recuperação dos sentidos da indução anestésica.

4.3.2. Anestesia, Tricotomia e Excisão da Pele

Os animais foram anestesiados com quetamina (87 mg/kg) e xilazina (13mg/kg) por via intraperitoneal. Após indução anestésica, os ratos foram posicionados em decúbito ventral, colocados em prancha de acrílico, e submetidos à tricotomia da região dorsal com máquina elétrica. A excisão foi realizada utilizando um molde do tamanho retangular 2,0x3,0cm para retirada do fragmento constituído de pele e tecido subcutâneo. Todo o procedimento cirúrgico foi realizado utilizando técnica séptica (Figura 4).

Em seguida os animais foram identificados de 1 a 20 com tintura de pincel permanente, nas orelhas e na cauda. E as gaiolas também receberam a mesma identificação.

A escolha do dorso do rato para a excisão da pele teve como objetivo impedir que o próprio animal conseguisse atingir a lesão e por ser um modelo muito utilizado nos trabalhos de cicatrização. O processo cicatricial foi avaliado por observação macroscópica da lesão, e por registro fotográfico nos dias 0, 7, 14 e 21.

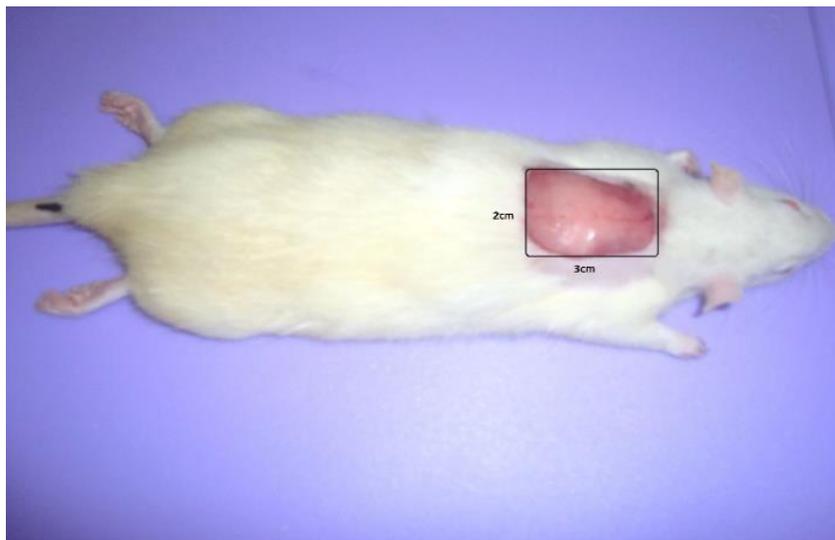


Figura 4. Ferida induzida em Dorso dos Ratos.

4.3.3. Grupos Experimentais e Tratamento Tópico

Os animais foram distribuídos em grupos aleatoriamente. Para cada grupo foram oferecida alimentação e água *ad libitum*, durante todo o período do estudo.

Os grupos foram constituídos de acordo com o agente tópico estudado, distribuídos da seguinte maneira:

- A) GRUPO R – Animais com numeração de 1 a 5 – Controle positivo - Regederm[®]
- B) GRUPO AV – ANIMAIS com numeração de 6 a 10 – Solução Teste *Aloe vera* a 10%
- C) GRUPO S – ANIMAIS com numeração de 11 a 15 – Controle negativo – Soro Fisiológico 0,9%

Em todos os grupos foram realizados curativos diários com a aplicação do produto conforme o grupo estudado até a cicatrização total da ferida. Após a excisão da pele e identificação do animal foi feito o primeiro registro fotográfico, e aplicado o agente tópico de acordo com cada grupo e feito novamente o registro fotográfico mostrando o produto aplicado na lesão. Não foi utilizada nenhuma cobertura secundária nas lesões de nenhum grupo (Figura 5).

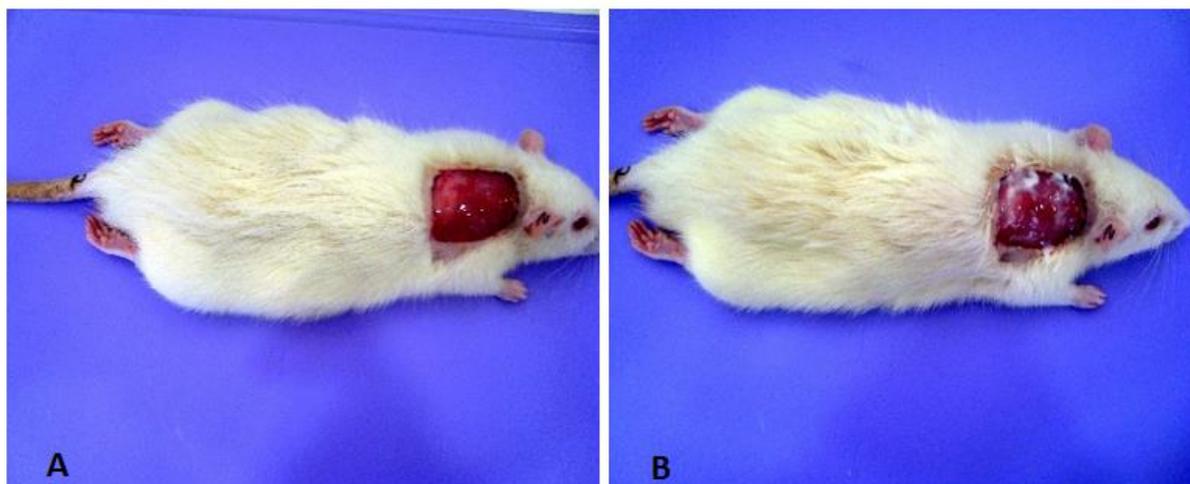


Figura 5. Grupo R: A sem Regederm®. B com Regederm®

4.3.4. Descrição da Realização dos Curativos

Os curativos foram feitos diariamente sempre no mesmo horário, no laboratório 4 do MICAS. Antes do início da realização dos curativos era realizado a antissepsia da bancada e da prancha de acrílico utilizada para colocar os ratos no momento do curativo. Foi utilizado frasco de 250ml de Solução Salina 0,9% previamente aquecida em uma estufa a 37°C perfurada com agulha 40x12.

A utilização da solução salina em jato é a técnica mais adequada para realizar limpeza das lesões cutâneas, pois a pressão exercida é ideal para remover os corpos estranhos e os que se apresentarem descolados da lesão preservando o tecido de granulação que é frágil (BORGES *et al.*, 2008).

A força hidráulica empregada na irrigação com solução salina deve ser abaixo de 15psi (libra/ polegada²). Sendo 8psi considerada como a pressão adequada para limpeza das lesões. Pois acima do valor de 15psi pode provocar trauma no tecido viável e abaixo de 8psi, poderá não ocorrer a limpeza adequada da lesão. Para se obter essa pressão utiliza-se seringa de 35ml com agulhas de calibre 19G, segundo o padrão norte americano (YAMADA, 1999).

No Brasil como não temos disponível esse tipo de seringa utiliza-se várias formas de se fazer a irrigação da lesão obedecendo os critérios norte-americanos, a mais utilizada é o frasco de solução salina de 250 ou 125ml perfurados com agulha 40x12. (BORGES *et al.*, 2008). No estudo utilizamos essa técnica por se de mais fácil aplicação.

A solução salina foi aquecida para que o processo de cicatrização não fosse interrompido, pois a estudos que nos mostram que a divisão celular ocorre á uma temperatura de 37°C. e para preservar esse processo celular é importante manter a temperatura em torno de 37°C (YAMADA,1999).

Os ratos eram colocados um de cada vez na prancha de acrílico, irrigado a lesão com solução salina a 0,9% para retirar as sujidades e restos de tecido dérmico, retirado o excesso da solução da área peri-ferida com gazes e colocado 1ml da terapia tópica na lesão de acordo com cada grupo. Aspirava-se 1ml do tópico e colocava-se na espátula para poder realizar a aplicação nos ratos. Sendo descartado a espátula após cada aplicação e usado 1seringa para cada grupo do experimento.

Após o término do procedimento os ratos eram recolocados nas gaiolas e feito a assepsia da prancha e da bancada com álcool a 70% para iniciar o novo curativo.

Os curativos foram realizados com técnica asséptica utilizando, gorro, máscara cirúrgica e luvas de procedimento que eram trocadas a cada novo curativo, após a ablução das mãos.

No momento da realização dos curativos fazia –se a avaliação macroscópica das lesões quanto ao tamanho, presença de esfacelo ou crosta (necrose) e de exsudato, purulento ou sanguinolento.

4.3.5. Avaliação da Evolução da Cicatrização

Através de câmara digital Sony Cyber-shot (8.1 mega pixels) foram obtidas as imagens das lesões induzidas na pele, em tamanho 640X480 pixels e formato de RGB 24 bites. Sem aproximação de zoom á distancia de 24cm.

As avaliações e os curativos foram realizados diariamente. A área correspondente a ferida da pele foi medida através da utilização do programa IMAGEJ, e os dados obtidos foram arquivados em planilha de cálculo do programa Excel, Microsoft®, para posterior quantificação das áreas e as respectivas comparações.

4.3.6. Análise Estatística

A avaliação da cicatrização nos quatro grupos experimentais foi realizada nos dias 7, 14 e 21 foram comparadas às áreas das lesões pelo Teste F (ANOVA) e, posteriormente, a comparação entre as médias das áreas lesadas pelo Teste de Tukey. O valor de P é considerado significativo quando menor que 0,05 (P <0.05).

5. RESULTADOS

5.1. Avaliação da Atividade Angiogênica na CAM

Os resultados obtidos na rede vascular neoformada foram analisadas, calculando as áreas percentuais e comparando as redes vasculares dos controles e do teste.

Foram analisadas as atividades angiogênicas do *Aloe vera* na concentração de 10% e também do controle negativo (água destilada), controle inibidor (solução de dexametasona) e controle indutor (Regederm®). Os dados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Percentagem de vascularização da membrana carionatóide (MCA) do ovo embrionado de galinha após tratamento com *Aloe vera* e os diferentes controles.

Nº	Controle positivo Regederm®	Controle negativo água destilada	Controle inibidor Dexametasona	Solução Teste <i>Aloe vera</i>
1	48.6	31.2	9.5	49.2
2	46.1	27.6	15.1	45.7
3	50.6	36.3	7.8	42.9
4	45.8	31.8	14.9	45.3
5	50.1	25.3	11.2	47.7
6	46.0	36.0	10.6	50.6
7	40.4	37.6	15.2	46.3
8	41.1	29.1	9.1	41.8
9	48.0	32.6	10.1	44.5
10	52.3	34.1	14.5	44.3
11	48.9	29.3	8.9	48.1
12	46.6	39.5	9.7	39.3
13	43.1	36.4	14.5	44.3
Média	46.7	32.8	11.6	45.4
Desvio Padrão	3.4	4.1	2.7	3.0
Teste de Tukey	a	b	c	a

Letras iguais representam tratamento onde não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Letras diferentes, houve diferença significativa ($p < 0,05$).

Pelos dados apresentados na Tabela 1, pôde-se observar que o tratamento com o *Aloe vera* na concentração de 10% apresentou aumento da percentagem da rede vascular formada em relação aos controles negativo e inibidor ($p < 0,05$). Não foram

constatadas diferenças significativas entre as percentagens da rede vascular formada entre o *Aloe vera* e o controle positivo Regederm® ($p>0,05$).

Portanto, podemos afirmar que o *Aloe vera* possui a mesma ação que o controle positivo Regederm® na MCA, aumentando significativamente a formação da rede vascular.

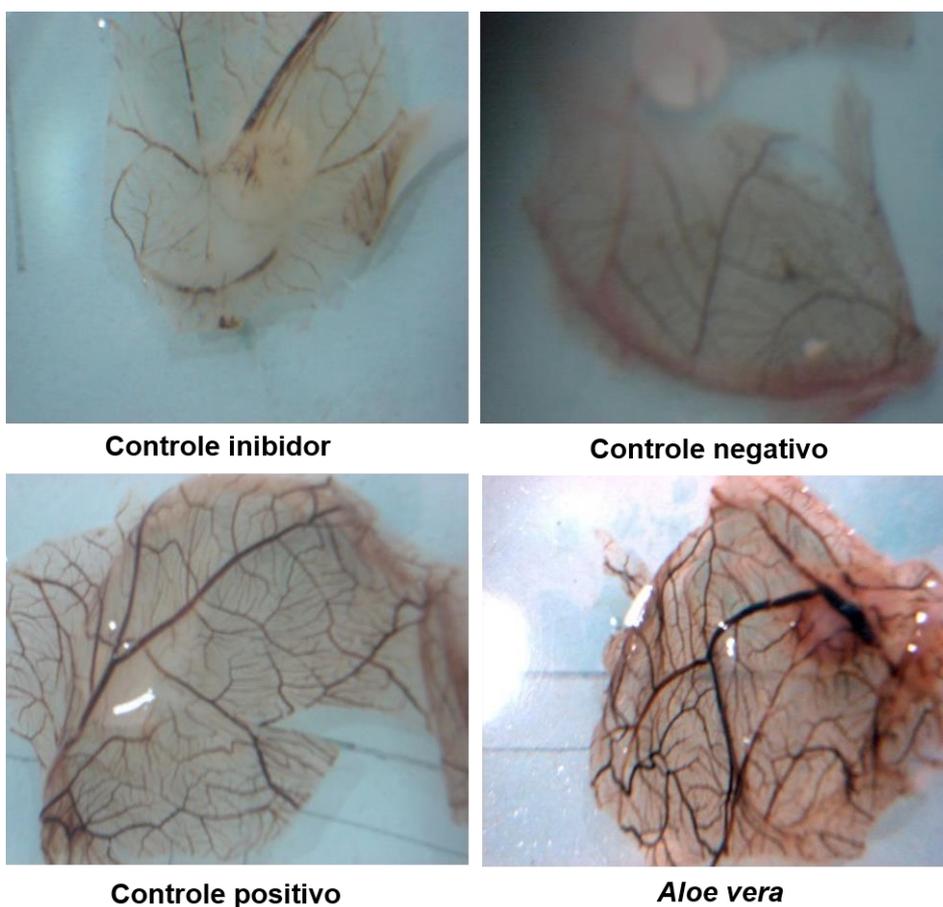


Figura 6. Formação da rede Vascular na MCA

As imagens apresentadas na Figura 6, mostram a formação da rede vascular nos controles e no *Aloe vera* à 10%. Sendo possível observar um aumento da rede vascular do grupo controle positivo e do grupo tratado com *Aloe vera*. E uma vascularização menor nos grupos controle inibidor e negativo.

5.2. Avaliação da Atividade de Cicatrização do *Aloe vera* em Feridas em Dorso de Ratos

Após a realização da excisão da pele de todos os animais, eles se recuperaram satisfatoriamente da anestesia. Havendo apenas um óbito 24h após o início do experimento. E o animal foi imediatamente substituído. Nos demais dias do experimento não houve nenhuma complicação. A Figura 09 mostra a lesão com exposição da fáscia muscular dorsal dos ratos. As avaliações e os curativos foram realizados diariamente.



Figura 7. Imagem obtida em câmera digital mostrando a excisão da pele no dia zero de cada grupo do experimento. Observa-se a exposição da fáscia muscular dorsal.

5.2.1 Avaliação Macroscópica das Lesões no Dorso dos Ratos

A feridas cutânea em todos os ratos nos primeiros dois dias do experimento se apresentava úmida com sangramento discreto no momento do curativo devido a manipulação da mesma.

No terceiro dia somente o Rato N^o 1 do Grupo R apresentou uma crosta, que não foi possível tirar no momento do curativo.

No quarto dia os Ratos de N^o1, N^o3 e N^o4 do grupo R, apresentaram esfacelo no leito da lesão e os Ratos N^o 2 e N^o 5 apresentaram tecido de granulação em toda lesão.

No Grupo AV somente o Rato N^o7 formou uma crosta na lesão. Em todos os ratos e no Grupo SF houve o aparecimento de uma crosta espessa em todos os 05 ratos do grupo.

No sétimo dia observou-se uma crosta espessa(escara) nas lesões dos ratos do Grupo SF, e uma camada mais delgada de esfacelo nos Grupos R e AV, porém todos os ratos apresentavam lesões com tecido de granulação.

Nos ratos que houve o aparecimento de ilhas de necrose seca (escara) foi feito o desbridamento mecânico com técnica de cover para retirada das mesmas.

Figura 8. Imagem dos ratos mostrando as lesões cutâneas com crosta necrótica no 7º dia do experimento.

O desbridamento foi feito utilizando pinça dente de rato e lâmina de bisturi nº 10. Sendo retirado somente o tecido necrosado. Após a retirada do mesmo as lesões foram irrigadas com Solução salina a 0,9% e colocado a terapia tópica de cada grupo.



Figura 9. Fotos dos ratos dos grupos R, AV e SF após a retirada da crosta no sétimo dia do experimento.

Entre o décimo dia e o décimo quarto dia, houve aparecimento de uma fina camada de fibrina, nos indivíduos dos Grupos R e AV que foi se desprendendo espontaneamente. Podendo ser visualizado o tecido de granulação recobrimdo toda lesão. Porém no Grupo SF houve novamente o aparecimento de uma crosta necrótica que foi sendo retirada com soro fisiológico previamente aquecido, durante a realização dos curativos.

A partir do décimo dia as lesões de todos os grupos já apresentavam tecido de epitelização com retração da lesão. Observou-se que do sétimo ao décimo quarto dia houve uma diminuição importante do tamanho das lesões, principalmente nos grupos R e AV.



Figura 10. No 14^o dia do experimento observa-se uma fina camada de fibrina, com presença de tecido de granulação nos ratos dos Grupos R, AV e uma crosta necrótica mais espessa no rato SF.

Tabela 2. Média e desvio padrão das áreas excisadas dos animais dos Grupos R, AV e SF nos dias 0, 7, 14 e 21 dias.

Indivíduos	Médias e desvios padrões das áreas excisadas nos dias			
	0	7	14	21
Grupo R	6,3 ± 0,21#	4,3 ± 0,36#	1,6 ± 0,29#	0,1 ± 0,06#
Grupo AV	6,3 ± 0,29#	4,4 ± 0,29#	1,6 ± 0,29#	0,0#
Grupo SF	6,2 ± 0,16#	4,2 ± 0,51#	1,9 ± 0,22*	0,3 ± 0,31*

Símbolos iguais ($p > 0,05$) – Não houve diferença significativa. Símbolos diferente ($p < 0,05$) – Houve diferença significativa. Todos os resultados (controles e testes) foram comparados entre si pelo teste de Tukey.

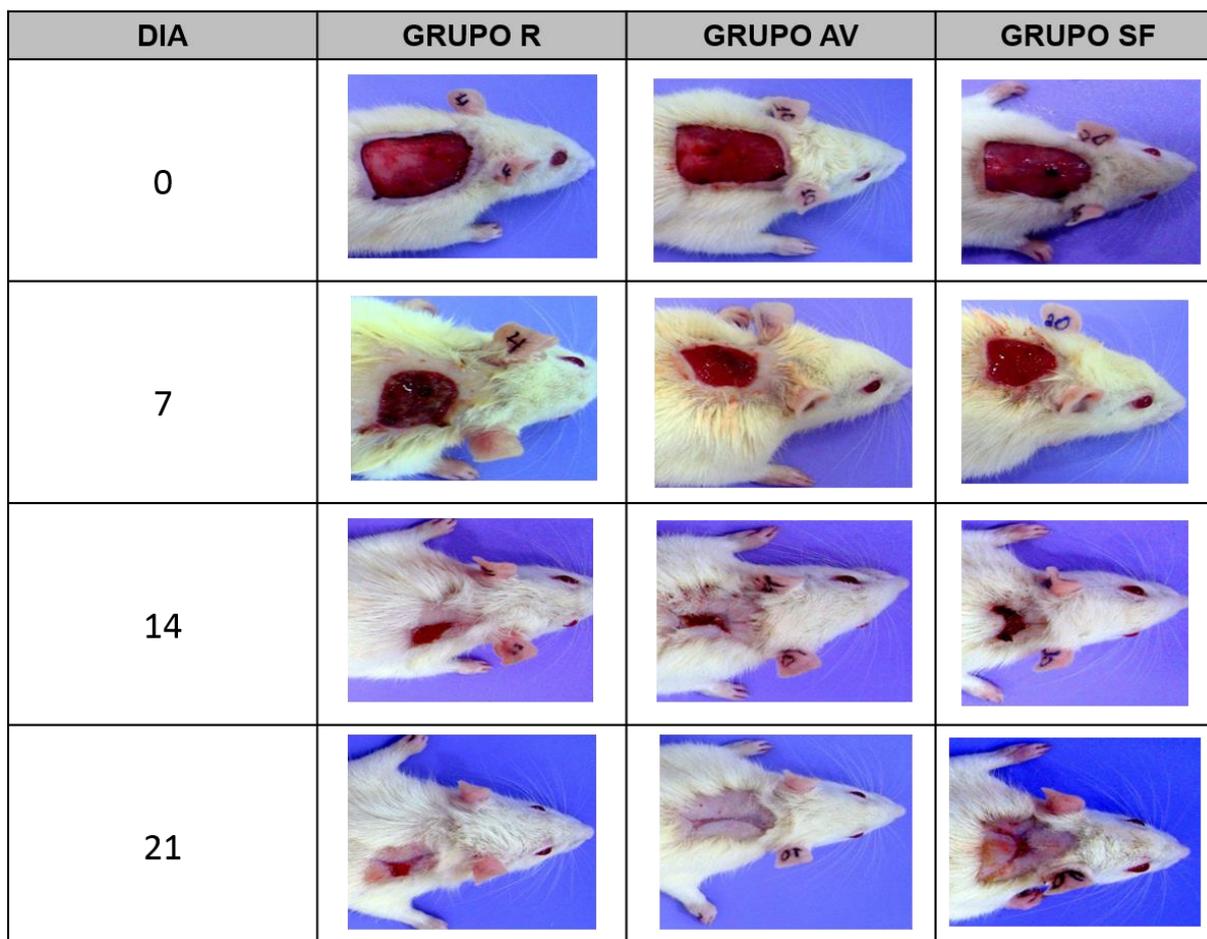


Figura 11. Demonstração da velocidade de cicatrização da cada Grupo.

Os Grupos R e AV apresentaram maior velocidade de fechamento das feridas, em relação ao Grupo SF. A área da ferida diminui gradativamente da periferia para o centro. Esses dados podem ser observados na Tabela 2 e na figura 11. No dia zero, as médias das áreas excisadas foram comparadas entre si e não houve diferenças estatísticas significantes entre elas ($p > 0,05$). Na observação das áreas no sétimo dia de evolução, também não apresentou diferenças estatísticas significantes entre os grupos ($p > 0,05$). Progredindo a avaliação da cicatrização nos dias 14 e 21, os Grupos R e AV não apresentaram diferenças estatisticamente significantes, respectivamente. Entretanto, a diferença ocorreu no Grupo SF, quando comparados aos Grupos R e AV nos 14^o e 21^o dias de evolução ($p < 0,05$).

Na tabela 3 Observa-se a avaliação diária das lesões comparando o grupo teste dos controles em relação as fases de cicatrização no decorrer dos 21 dias da pesquisa.

Tabela 3. Avaliação Macroscópica Diária das Lesões

Dias	Grupo	Crosta	Esfacelo	Tecido de Granulação	Exsudato Sanguinolento	Tecido de Epitelização	Fechamento Parcial	Fechamento Total
01-02	Grupo R	----	----	----	5	----	----	----
	Grupo AV	----	----	----	5	----	----	----
	Grupo SF	----	----	----	5	----	----	----
03	Grupo R	1	----	2	2	----	----	----
	Grupo AV	----	----	5	----	----	----	----
	Grupo SF	----	----	5	----	----	----	----
04-06	Grupo R	1	3	1	----	----	----	----
	Grupo AV	1	3	1	----	----	----	----
	Grupo SF	5	----	----	----	----	----	----
07-09	Grupo R	----	5	----	----	----	----	----
	Grupo AV	----	5	----	----	----	----	----
	Grupo SF	5	----	----	----	----	----	----
10-13	Grupo R	----	----	5	----	5	----	----
	Grupo AV	----	----	5	----	5	----	----
	Grupo SF	4	----	1	----	5	5	----
14-20	Grupo R	----	----	----	----	5	5	----
	Grupo AV	----	----	----	----	5	5	----
	Grupo SF	----	----	----	----	5	5	----
21	Grupo R	----	----	----	----	----	3	2 s/retração
	Grupo AV	----	----	----	----	----	----	5 c/ retração
	Grupo SF	----	----	----	----	----	5	----

NOTA: Nos indivíduos pesquisados foi observado 2 fases do processo de cicatrização ocorrendo na mesma lesão devido os mesmos ocorrerem simultaneamente.

6. DISCUSSÃO

A *Aloe vera* também é um fitoterápico muito estudado para avaliar entre outras indicações sua ação na cicatrização de feridas. Dat *et al.* (2012) realizou uma revisão sistemática sobre a ação da *Aloe vera* no tratamento de feridas crônicas e constatou que apesar de existir inúmeras pesquisas sobre a atividade cicatricial do *Aloe vera* não há evidências suficientes de sua eficácia em seres humanos devido à ausência de ensaios clínicos de alta qualidade e utilizando uma metodologia rigorosa.

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a atividade angiogênica do *Aloe vera* utilizando como modelo experimental a membrana corioalantóide – MCA do ovo embrionado de galinha, e a atividade cicatricial deste fitoterápico em feridas em dorso de ratos. Procurou-se seguir todas as diretrizes estabelecidas para realização de uma pesquisa experimental.

Observou-se através das imagens que 80% das MCAs onde se utilizou o *Aloe vera* houve formação de vasos sanguíneos mais grossos e em maior quantidade. Comparados ao controle negativo e inibidor, porém não apresentou diferenças significativas quando comparada ao controle positivo.

Os dois tipos de resultados obtidos na rede vascular da MCA (porcentagem de vascularização e imagens digitais) permitiram deduzir que o *Aloe vera* estimulou o crescimento de novos vasos sanguíneos.

Estudos mostram que os componentes de baixo peso molecular presentes a partir de um extrato de diclorometanol do *Aloe vera* estimulam a angiogênese na MCA (LEE *et al.*, 1995)

O β -sistoterol presente na *Aloe vera* em um estudo feito com a MCA demonstrou ser um importante componente no processo de angiogênese (MOON *et al.*, 1999).

Podemos concluir que o *Aloe vera* apresentou uma atividade angiogênica de excelente qualidade, corroborando com os resultados dos estudos acima citados.

Quando avaliado a atividade cicatricial do *Aloe vera* em feridas em dorso de ratos podemos comparar a ação da atividade cicatricial do *Aloe vera* com o Regederm® que já é um produto validado para cicatrização de feridas.

Os resultados obtidos demonstraram que o *Aloe Vera* em comparação ao Regederm® não apresentou uma diferença estatística. Sendo utilizado o teste de Tukey para análise dessas diferenças. Demonstrando assim que a atividade cicatricial

do *Aloe vera* é igual à do Regederm® que já possui comprovação científica na cicatrização de feridas.

Durante 21 dias foi observado o processo de cicatrização com registros fotográfico no dia 0,7,14 e 21, os curativos foram feitos diariamente no mesmo horário com técnica asséptica.

A avaliação macroscópica empregada foi de grande valia pois através dela pode ser feito o acompanhamento de todo o processo de cicatrização da lesão, onde foram avaliados a presença de distúrbios hemorrágicos, a formação de crostas e de exsudato.

Durante o experimento nenhum rato apresentou hemorragia e exsudato, porém houve a formação de crostas em alguns ratos entre o terceiro e o sétimo dia assim como a presença de uma pequena camada de fibrina entre o sétimo e o décimo dia. Sendo observado presença de tecido de granulação em todos os indivíduos desde o terceiro dia.

As crostas que aparecem logo após a lesão do tecido, ocorrem devido o contato com o ar, que faz com que a lesão fique ressecada. Ela tem como função a liberação dos mediadores químicos inflamatórios iniciando assim o processo inflamatório causando o aparecimento de um exsudato fibrinoso. Essa crosta também é responsável pela contenção da hemorragia (ALVES *et al.*, 2011).

Este processo inflamatório é muito importante pois é nele que irar ocorre ativação de fatores como as citoxinas, interleucinas, fator de crescimento endotelial vascular – VEGF e fatores de crescimento de plaquetas importantes também na angiogênese (REINKE & SORG, 2012).

A crosta formada nos ratos de todos os grupos foi retirada no sétimo dia do experimento através de desbridamento mecânico utilizando técnica de cover, pois a permanência das mesmas retardaria o processo de cicatrização.

Após a retirada das mesmas apenas os ratos do Grupo SF voltaram a apresentá-las sendo feita a retirada no decorrer dos dias no momento da realização dos curativos.

A retração das lesões pode ser observada no grupo com *Aloe vera* a partir do sétimo dia, as mesmas iniciaram das margens da lesão para o leito.

No décimo quarto dia 100% ratos do Grupo AV já apresentavam cicatrização quase que total da lesão enquanto os Grupos R e SF, ainda apresentavam cicatrização parcial.

Podemos avaliar com isso que o tempo de cicatrização do Grupo AV foi mais acelerado do que os Grupos R e SF

No vigésimo primeiro dia do experimento 100% dos ratos do Grupo AV apresentavam fechamento completo da lesão, no Grupo R 20% dos ratos apresentaram fechamento total da lesão e no Grupo SF apenas 10% apresentaram fechamento total.

A cicatrização das feridas com a utilização do *Aloe vera* é explicada devido seu poder de manter a ferida úmida, facilitando a migração celular epitelial, fazendo com que a maturação do colágeno ocorra mais rapidamente, além de reduzir o tempo de inflamação da lesão (RAMOS & PIMENTEL, 2011). O *Aloe vera* contém uma glicoproteína que, promove a atividade celular aumentando o fornecimento de sangue, e conseqüentemente a oxigenação para lesão (GUPTA & SEMMA, 2012).

O acemannan, principal polissacarídeo de *Aloe vera* estimula a liberação do VEGF e outros fatores relacionados à cicatrização de feridas (MAJEWSKA & GENDASZEWSKA-DARMACH, 2011).

Vários ensaios feitos com ratos comprovaram a eficácia do *Aloe vera* na cicatrização de feridas, porém em seres humanos ainda existem dúvidas sobre sua eficácia (FREITAS *et al.*, 2014).

Uma pesquisa utilizando o *Aloe vera* na cicatrização de feridas em dorso de ratos e concluiu que a utilização do fitoterápico facilitou a cicatrização das lesões (FALEIRO *et al.*, 2009)

Existem estudos que mostram que o *Aloe vera* quando utilizado em queimaduras induzidas em dorso de ratos reduziu o tempo de cicatrização das lesões comparado a sulfadiazina de prata (AKHOONDINASAB *et al.*, 2014)

7. CONCLUSÃO

- ✓ Apresentou uma velocidade de cicatrização igual ao controle positivo
- ✓ Avaliação macroscópica apresentou uma cicatriz com presença de pequenas retrações porém sem elevações
- ✓ Apresentou atividade angiogênica igual ao controle positivo, com formação de novos vasos na MCA.
- ✓ Conclui-se com isso que o extrato de *Aloe vera* ou seus componentes pró-angiogênicos isolados podem ter potencial para aplicações farmacêuticas para o tratamento de feridas.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHOONDINASAB, M. R.; AKHOONDINASAB, M.; SABERI, M. Comparison of Healing Effect of Aloe Vera Extract and Silver Sulfadiazine in Burn Injuries in Experimental Rat Model. *World Journal of Plastic Surgery*, v.3, n.1, p. 29–34, 2014.

ALVES, H.; MACHADO, M. T.; NORONHA, A. M. N. W. Análise Qualitativa do Processo de Reparo em Cicatriz Cirúrgica de Ratos Tratados com Extrato de Musa Sapientum, Aloe Vera e Colagenase. *Revista Ciências em Saúde*, v. 1, n. 2, p: 8-18, 2011.

BADKE, M. R.; BUDÓ, M. D. L. D.; ALVIM, N. A. T.; ZANETTI, G. D.; HEISLER, E. V. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. *Texto and Contexto Enfermagem*, v. 21, n. 2, p. 363, 2012.

BHAT, G.; KUDVA, P.; DODWAD, V. *Aloe vera*: Nature's soothing healer to periodontal disease. *Journal of Indian Society of Periodontology*, v. 15, n. 3, p. 205, 2011.

BLANES, L. Tratamento de feridas. *Cirurgia Vasculiar: Guia Ilustrado*. São Paulo-SP, 2004. [online]. Disponível em: URL: <http://www.bapbaptista.com>.

BOMTEMPO, M. O livro definitivo do *Aloe vera*, a planta milenar da saúde; Brasília, Thesaurus; 2012. 104 Pgs.

BORGES, E. L.; SAAR, S. R. C.; LIMA, V. L. A. N.; GOMES, F. S. L.; MAGALHÃES, M. B. B. Feridas: Como Tratar. 2ª Ed. Belo Horizonte -BH: *Coopmed*, 2008. 248Pgs

BRASIL. Práticas Integrativas e Complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. *Secretaria de Atenção à Saúde*. Departamento de Atenção Básica – Brasília: Ministério da Saúde, Cadernos de Atenção Básica; n. 31, 2012. 156 p.

BRASIL. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. *Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica* - Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p.

BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. The basic science of wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v. 117, n. 7S, p. 12S-34S, 2006.

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. *ABCD Arq. Bras. Cir. Dig*, v. 20, n.1, p. 51-58, 2007.

CARNEIRO, F. M.; SILVA, M. J. P. D.; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no brasil. *Revista Sapiência: Sociedade, Saberes e Práticas Educacionais*, v. 3, n.2, p. 44-75, 2014.

CLARK, R. A. *The Molecular and Cellular Biology Wound Repair*. 2ª Ed. New York: Plenum Press, 1996. 662pgs

DAT, A.D.; POON, F.; PHAM, K.B.T.; DOUST, J. Aloe vera for treating acute and chronic wounds. *Cochrane database of sistematic Reviews*, 2012. 32Pgs

DEALEY, C. *Cuidando de Feridas: Um Guia para Enfermeiras*, 3ª Ed. São Paulo, Editora: Atheneu, 2008. 240Pgs.

DE OLIVEIRA, J. A. A.; HYPPOLITO, M. A.; NETTO, J. C.; MRUÉ, F. Miringoplastia com a utilização de um novo material biossintético. *Rev Bras Otorrinolaringol*, v. 69, n. 5, p. 649-55, 2003.

DE PAULA, R. A.; PIMENTEL, L. C. Ação da Babosa no reparo tecidual e cicatrização/Effectiveness of Aloe vera on the tissue repair and healing process. *Brazilian Journal of Health*, v. 2, n. 1, p. 40-8, 2011.

DOMANSKY, R. C.; BORGES, E. L. *Manual para Prevenção de Lesões de Pele: Recomendações Baseadas em Evidências*. Rio de Janeiro, Editora: Rubio, 2012. Pgs.

EGOSHI, C.T.; ZERBINI D.; UTUMI, P. H.; STUELP-CAMPELO, P. M.; ZISCHLER, M. A. N.; ELIFIO-ESPOSITO, S. Quantificação da Angiogênese Induzida por Tumor em Membrana Corioalantóica de Embrião de Galinha. *Jornal de Biociência*, v. 31, n. 1, p. 303-10, 2015.

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 online*, v. 7, n. 2, p. 56-60, 2009. [on line]. Disponível em: <http://www.naturezaonline.com.br>.

FERREIRA, A. M.; POLETTI, N. A. A.; PEREIRA, A. P. D. S.; RIBEIRO, R. D. C. H. M. O curativo de lesões abdominais por deiscência de sutura. *Nursing*, São Paulo, v. 5, n. 53, p: 29-34, 2002.

FERREIRA, M.; MENDONÇA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J.; MULATO, M. Angiogenic properties of natural rubber latex biomembranes and the serum fraction of *Hevea brasiliensis*. *Brazilian Journal of Physics*, v. 39, n. 3, p. 564-9, 2009.

FREITAS, V. S.; RODRIGUES, R. A. F.; GASPI, F. O. G. Pharmacological activities of Aloe vera (L.) Burm. f. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 16, n. 2, p. 299-307, 2014.

GIRARDI, R. C. G. *Comportamento de matrizes de colágeno utilizadas no tratamento de feridas planas induzidas em pele de rato*. 101f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.

GOGIA, P.P. *Feridas: Tratamento e Cicatrização*; Editora: Revinter Ltda. 2003. Pgs.

GUPTA, V. K.; SEEMA, M. Pharmacological Attribute of *Aloe Vera*: Revalidation through Experimental and Clinical Studies. *Ayu*, v.33, n. 2, p.193–6, 2012.

JORGE, A. S.; DANTAS, S. R. P. E. *Abordagem Multiprofissional do Tratamento de Feridas*. São Paulo, Editora: Atheneu. 2007. 378 Pgs

JÚNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: Cura Segura. *Química nova*, v. 28, n. 3, p. 519-28, 2005.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO J. *Histologia Básica*; 11^aed. Rio de Janeiro; Editora: Guanabara Koogan, 2008. 534Pgs

KAPOOR, M.; HOWARD, R.; HALL, I.; APPLETON, I. Effects of epicatechin gallate on wound healing and scar formation in a full thickness incisional wound healing model in rats. *The American journal of pathology*, v. 165, n. 1, p. 299-307, 2004.

KHAN, A. W.; KOTTA, S.; ANSARI, S. H.; SHARMA, R. K.; KUMAR, A.; ALI, J. Formulation development, optimization and evaluation of aloe vera gel for wound healing. *Pharmacognosy Magazine*, v.9, n.1, p. S6-S10, 2013.

KING, T.C. *Patologia*; Rio de Janeiro; Editora: Elsevier; 2007. 436Pgs.

LAUREANO, A.; RODRIGUES, A. M. Cicatrização de feridas. *Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia*, v. 69, n. 3, p. 355, 2011.

MAJEWSKA, I.; GENDASZEWSKA-DARMACH, E. Proangiogenic activity of plant extracts in accelerating wound healing-a new face of old phytomedicines. *Acta Biochim Pol*, v. 58, n. 4, p. 449-60, 2011.

MALAGUTTI, W.; KAKIHARA, C. T. Curativos, Estomias e Dermatologia: uma abordagem multiprofissional. São Paulo, SP, Editora: Martinari, 2011. Pgs

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, É. P.; MANDELBAUM, M. H. S. A. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares-Parte I Cicatrization: current concepts and auxiliary resources-Part I. *An Bras Dermatol*, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MENDONÇA, F. A. S.; PASSARINI JÚNIOR, J. R.; ESQUISATTO, M. A. M.; MENDONÇA, J. S.; FRANCHINI, C. C.; SANTOS, G. M. T. Effects of the application of Aloe vera (L.) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. *Acta Cir Bras*, v. 24, n. 2, Mar/Apr. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/acb>. Acesso em 30 de Jan. de 2015.

MENDONÇA, R. J.; MAURÍCIO, V. B.; DE BORTOLLI TEIXEIRA, L.; LACHAT, J. J.; COUTINHO-NETTO, J. Increased vascular permeability, angiogenesis and wound healing induced by the serum of natural latex of the rubber tree *Hevea brasiliensis*. *Phytotherapy Research*, v. 24, n. 5, p. 764-768, 2010.

MENEGHIN, P.; VATTIMO, M. F. F.; JORGE, A. S.; DANTAS, S. R. P. E. Fisiopatologia do processo cicatricial. In: JORGE, S. A.; DANTAS, S. R. P. E. *Abordagem multiprofissional ao tratamento de feridas*. São Paulo –SP, Editora: Atheneu, 2007. Pgs: 31-41.

MINATEL, D. G.; PEREIRA, A. M. S.; CHIARATTI, T. M.; PASQUALIN, L.; OLIVEIRA, J. C. N.; COUTO, L. B.; FRANCA, S. C. Estudo clínico para validação da eficácia de pomada contendo barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) na cicatrização de úlceras de decúbito. *RBM Rev. Bras. Med*, v. 67, n. 7, p: 250-6, 2010.

MONETTA, L. Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. *Rev. Bras. Enferm*, v. 40, n. 1, p: 66-73, 1987.

MONETTA, L. Análise evolutiva do processo de cicatrização em úlceras diabéticas, de pressão e venosas com uso de papaína. Dissertação (Mestrado em Enfermagem). Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1998.

MOON, E. J.; LEE, Y. M.; LEE, O. H.; LEE, M. J.; LEE, S. K.; CHUNG, M. H.; KIM, K. W. A novel angiogenic factor derived from Aloe vera gel: β -sitosterol, a plant sterol. *Angiogenesis*, v. 3, n. 2, p. 117-23, 1999.

NADA, A. S.; HAWAS, A. M.; ELMAGEED, Z. A.; AMIN, N. E. Protective value of Aloe vera extract against γ -irradiation-induced some biochemical disorders in rats. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, v. 6, n. 2, p. 31-7, 2013.

NETO, J.; FRACASSO, J. F.; CAMARGO NEVES, C. L.; DOS SANTOS, L. E.; BANUTH, V. L. Tratamento de úlcera varicosa e lesões de pele com *Calendula officinalis* L. e/ou com *Stryphnodendron barbadetiman* (Vellozo) Martius. *Revista de Ciências Farmacêuticas*, v. 17, p: 181-6, 1996.

NICOLETTI, M. A.; CARVALHO, K. C.; OLIVEIRA, J. R. M. A.; BERTASSO, C. C.; CAPOROSSI, P. Y.; TAVARES, A. P. L. Uso popular de medicamentos contendo drogas de origem vegetal e/ou plantas medicinais: principais interações decorrentes. *Revista Saúde*, v. 4, n. 1, p: 25-39, 2010.

OLIVEIRA S. H. S.; SOARES, M. J. G. O.; ROCHA, R. S. Uso de Cobertura com Colágeno e Aloe Vera no Tratamento de Ferida Isquêmica: Estudo de caso. *Rev. Esc. Enferm*, v. 44, n. 2, p: 346-51.

PANAHI, Y.; SHARIF, M. R.; SHARIF, A.; BEIRAGHDAR, F.; ZAHIRI, Z.; AMIRCHOOPANI, G.; SAHEBKAR, A. A Randomized Comparative Trial on the Therapeutic Efficacy of Topical *Aloe vera* and *Calendula officinalis* on Diaper Dermatitis in Children. *The Scientific World Journal*. doi:10.1100/2012/810234. 2012.

PAULO, N. M.; SILVA, M. A. M.; CONCEIÇÃO, M. Biomembrana de látex natural (*Hevea brasiliensis*) com polilisina a 0, 1% para herniorrafia perineal em um cão. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 33, n. 1, p: 79-82, 2005.

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. *Rev. bras. Plantas Med*, v. 16, n. 3, p: 628-36, 2014.

POLETTI, N. A. O cuidado de enfermagem à pacientes com feridas crônicas: a busca de evidências para a prática. 237 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem Fundamental) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2000.

PURNA, S. K.; BABU, M. Collagen based dressings: A Review. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, v. 26, n. 1, p: 54-62. 2000.

RAMOS, A. P.; PIMENTEL, L. C. Ação da Babosa no reparo tecidual e cicatrização Effectiveness of Aloe vera on the tissue repair and healing process. *Brazilian Journal of Health* v. 2, n. 1, p. 40-48, 2011.

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound Repair and Regeneration. *Eur Surg Res*, v. 49, p: 35-43. 2012.

RODRIGUES, A. G.; DE SIMONI, C. Plantas medicinais no contexto de políticas públicas. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 7-12, 2010.

SANTOS, V. L. C. G. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. In: DUARTE, Y. A. O.; DIOGO, M. J. D. Atendimento Domiciliar: Um Enfoque Gerontológico. São Paulo-SP, Editora: Atheneu; 2000. p.265-306.

SCEMONS, D.; ELSTON, D. *Cuidados com feridas em enfermagem*. Porto Alegre, Editora: Artmed. 2011.

SILVA, R. C. L.; FIGUEREDO, N. M. A.; MEIRELES, I. B.; Feridas: Fundamentos e Atualizações em enfermagem; São Caetano do Sul – SP; Editora: Yendis, 2007. Pgs

TAZIMA, M. F. G. S.; VICENTE, Y. A. M. V. A.; MORIYA, T. Wound biology and healing. *Medicina*, Ribeirão Preto, v. 41, n. 3, p: 259-64, 2008.

THAKUR, R. J. N.; PATHAK, R. E.; SANDHU, S. S. Practices in Wound Healing Studies of Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi:10.1155/2011/438056. 2011.

VARGAS, N. R. C.; CEOLIN, T.; SOUZA, A. D. Z. D.; MENDIETA, M. D. C.; CEOLIN, S.; HECK, R. M. Plantas medicinais utilizadas na cicatrização de feridas por agricultores da região sul do RS. *Rev. Pesqui. Cuid. Fundam*, v. 6, n. 2, p: 550-60, 2014.

VEGA, G. A.; AMPUERO, C. N.; DIAS, N. L.; LEMUS, L. R. Aloe Vera (*Aloe Barbadensis* Miller): A Component of Functional Foods. *Rev. Chil. Nutr.*, Santiago, v. 32, n. 3, p:208-214 , 2005.

YAMADA, B. F. A. Terapia tópica de feridas: limpeza e desbridamento. *Rev. Esc. Enf. Universidade de São Paulo, São Paulo*, v. 33, p: 133-40, 1999.

WHO. World Health Organization. Regional office for the Western Pacific. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Editora: Manila: WHO, 1993. 86 p.