



MESTRADO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E SAÚDE

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

MARAÍSA DELMUT BORGES

AVALIAÇÃO DOS EXTRATOS DA *CASSIA OCCIDENTALIS*
NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS CAUSADAS
POR INDUÇÃO DE VENENO DE *Bothrops moojeni* EM
CAMUNDONGOS

GOIÂNIA
2011



MESTRADO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E SAÚDE

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

MARAÍSA DELMUT BORGES

**AVALIAÇÃO DOS EXTRATOS DA *CASSIA OCCIDENTALIS*
NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS CAUSADAS
POR INDUÇÃO DE VENENO DE *Bothrops moojeni* EM
CAMUNDONGOS**

Orientadora: Prof. Dra. Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer

Co-orientadora: Dra. Leila Maria Leal Parente

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

GOIÂNIA

2011

DEDICATÓRIA

Dedico primeiramente a **Deus** por ter me dando está oportunidade de estudo, me abençoando e iluminando a cada momento desta jornada de mais de dois ano.

A minha filha maravilhosa **Isadora** que foi a melhor coisa que me aconteceu neste mestrado. Obrigada por ter suportado minha ausência, além da ajuda prestada de diferentes formas para realização de trabalho.

Ao meu **supreendente marido André**, pelo seu amor, tolerância, paciência e incentivo durante a realização deste trabalho.

À minha querida **família**, minha super mãe Lucila, meu pai Isaias e meus irmãos Gleison, Luciana e Milene. Pelo amor e o carinho dispensados a minha pessoa que sempre fizeram com que eu pudesse romper os obstáculos da vida. Obrigada pelo companheirismo, carinho e pelas palavras nos momentos difíceis. Sempre tive e sempre terei o orgulho de fazer parte da vida de vocês. Obrigado por tudo. Obrigado por existir e fazer parte da maneira tão intensa na minha vida. Vocês são a melhor família do mundo, dedico este trabalho.

Enfim, dedico este à aquelas **pessoas que acreditaram em mim**, mesmo nos momentos em que eu achava ser impossível continuar. Muito obrigado a todos vocês.

AGREDECIMENTOS

A minha **orientadora**, Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer pela sua calma e paciência para lidar com toda minha ansiedade. E aos laços de amizade e confiança que foram construídos durante esta jornada de dois anos, que muitas vezes foram até maternos.

A Prof^a. Dr. Leila Maria Leal Parente, minha ilustre **co-orientadora**, pela oportunidade de desenvolver a pesquisa em uma área até então de pouco domínio. Obrigado pela paciência, pelo apoio e por encorajar-me naqueles momentos quando, eu, achava não ter mais possibilidades de prosseguir. Muito obrigada pela sua amizade e ter me dado a chance de conhecer essa pessoa maravilhosa que aprendi a respeitar e admirar.

Aos meus **queridos sogros** dona Sônia e seu Milton por me acolherem com tanto amor, carinho e compressão com este meu projeto.

Aos **familiares do meu marido** de Goiânia que freqüentam a casa do vovô Bressan e da vovó Fifi, os quais sempre me hospedaram todas as vezes que fui para o mestrado. Muito obrigada pela demonstração de cuidado, atenção e carinho de vocês.

À minha Instituição, **Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT**, e ao meus colegas de trabalho do curso de enfermagem, pelas facilidades que me foram proporcionadas e que contribuíram para a conclusão deste trabalho.

A todos do **Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN-UFMG)**, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás. Obrigada por me dar a oportunidade de aprender e de desenvolver uma parte do experimento com vocês.

Ao **Biotério Central** da UFG os quais disponibilizaram os animais para desenvolver meu experimento.

Ao **Biotério Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas (NEPET-UFG)**, por permitirem realizar meus experimento neste espaço.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Os acidentes ofídicos provocados por serpentes do gênero *Bothrops* constituem importante problema de Saúde Pública em regiões tropicais de todo o mundo. Pesquisas estão sendo desenvolvidas com o objetivo de diminuir a reação local provocada pelo envenenamento botrópico, com o uso de várias substâncias e terapias e entre elas, o uso de plantas medicinais, como a *Cassia occidentalis* usada popularmente para picada de cobra. **OBJETIVOS:** Avaliar a atividade cicatrizante dos extratos etanólicos da raiz e das folhas da *Cassia occidentalis* em feridas cutâneas em camundongos induzidas pelo veneno da *Bothrops moojeni*. **METODOLOGIA:** O extrato hidroalcoólico foi obtido através do método de percolação, 10% dos extratos de folhas e raiz da *C. occidentalis* foram incorporados em creme Lanette. Foram utilizados 36 camundongos albinos Swiss, fêmeas, com 60 dias de idade, peso entre 20 a 40 g. Os animais (n=36) foram pesados e divididos de forma aleatória, em dois grupos (n=18) e subdivididos em três subgrupos (n=6). Para a indução da ferida, os animais foram anestesiados, por via muscular, com uma associação de cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina nas doses de 70 mg Kg⁻¹ e 10 mg Kg⁻¹, respectivamente. Após a tricotomia da região dorsocervical, foram inoculados intradermicamente com 4 µg da peçonha da *B. moojeni* diluída em salina, a fim de se provocar uma necrose local. **RESULTADOS:** O extrato das folhas da *C. occidentalis* a 10% em creme Lanette estimulou a angiogênese em feridas na derme de camundongos no 7º e 14º dias após a inoculação do veneno da *B. moojeni*. **CONCLUSÕES:** Dessa forma, a atividade angiogênica do extrato da folha da *Cassia occidentalis* evidenciada pode justificar os achados observados na macroscopia, onde foi evidenciada melhor resolução do processo cicatricial.

Palavras-Chave: Angiogênese, *Bothrops moojeni*, *Cassia occidentalis*

ABSTRACT

INTRODUCTION: The snake bites caused by *Bothrops snakes* constitute a major public health problem in tropical regions around the world. Research is being developed with the goal of finding therapies and substances that can be used to decrease local reaction caused by the snake bite, among them is the use of medicinal plants such as *Cassia occidentalis*. **OBJECTIVES:** Evaluate the healing activity of ethanolic extracts of roots and leaves of *Cassia occidentalis* in skin wounds in mice induced by the venom of *Bothrops moojeni*. **METHODS:** The hydroalcoholic extract was obtained by the method of percolation. The extracts of leaves and root of *C. occidentalis* at 10% were incorporated in Lanette cream. The study used 36 female Swiss albino mice, 60 days old, divided randomly into two groups (n = 18) and subdivided into three subgroups (n = 6). For the wound induction, the animals were anesthetized the dorsal-cervical region was shaved and intradermal inoculation was made with 4 mg of the venom of *Bothrops moojeni* diluted in saline in order to cause local necrosis. **RESULTS:** The leaves extract of *C. occidentalis* at 10% cream Lanette stimulated angiogenesis in wounds at the 7th and 14th day after the inoculation of the venom of *Bothrops moojeni*. **CONCLUSIONS:** The leaf extract of *Cassia occidentalis* at 10% cream Lanette, had a positive effect on healing, that justifies the use of this plant in the treatment of snakebites wounds.

Key-Words: Angiogênese; *Bothrops moojeni*; *Cassia occidentalis*.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Foto da planta *Cassia occidentalis*24
- FIGURA 2.** Camundongos albinos *Swiss*, fêmeas, com 60 dias, 30 minutos após a inoculação do veneno da *B.moojeni*.....37
- FIGURA 3.** Camundongos albinos *Swiss*, fêmeas, com 60 dias do grupo controle 9 dias após a inoculação do veneno da *B.moojeni*.....37
- FIGURA 4.** Medianas da proliferação vascular avaliada em feridas cutâneas induzidas com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratadas por 7 dias com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER)39
- FIGURA 5.** Medianas da proliferação vascular avaliadas em feridas cutâneas induzidas com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratadas por 14 dias com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER)40
- FIGURA 6.** Fotomicrografias das feridas cutâneas em ratos aos 7 (A) e 14 (B) dias PO, evidenciando presença de vasos sanguíneos (setas brancas). A1 e A2 referem-se ao controle e B1 e B2 ao extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette, respectivamente. Hematoxilina-eosina. 20x.40
- FIGURA 7.** Medianas da hiperplasia epidermal avaliada em ferida cutâneas induzidas com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratada por 14 dias com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER) (* $p<0,05$)42

FIGURA 8. Fotomicrografia da ferida cutânea de ratos evidenciando a hiperplasia epidermal. Grupos controle (A1) e extrato da raíz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (B1) no 14^o dia PO. Hematoxilina-eosina. 20x.43

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Medianas das variáveis histológicas avaliadas ao 7º dia da indução das feridas com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratadas com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER)..... 38

TABELA 2. Medianas das variáveis histológicas avaliadas ao 14º dia da indução da ferida com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratada com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER) 39

TABELA 3. Medianas (mm) da hiperplasia epidermal ao 14º dia da indução da ferida com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratada com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER)..... 42

LISTAS DE SIGLAS

B.moojeni – *Bothrops moojeni*

C. occidentalis – *Cassia occidentalis*

GC – Grupo Controle

EF – Extrato da folha *Cassia occidentalis*

ER – Extrato da raiz *Cassia occidentalis*

UFG – Universidade Federal Goiás

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	ii
AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO.....	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE SIGLAS	x
1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Serpentes do Brasil	13
1.1.2. Gênero <i>Bothrops</i>	14
1.1.3. <i>Bothrops moojeni</i>	15
1.2. Veneno das Serpentes	16
1.3. Feridas decorrente do Veneno das Cobras	19
1.4. <i>Cassia Occidentalis</i> : Aspectos Gerais	23
1.4.1. Características químicas	24
1.4.2. Propriedades biológicas	26
2. OBJETIVOS.....	30
2.1. Objetivo Geral	30
2.2. Objetivos Específicos	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1. Material botânico	31
3.2. Preparação do extrato	31
3.3. Preparação da formulação fitoterápica.....	32
3.4. Avaliação da atividade cicatrizante em feridas cutâneas induzidas por veneno de <i>Bothrops moojeni</i>	33
3.4.1 Aspectos Éticos e Legais	33
3.4.2. Animais.....	33
3.4.3. Delineamento experimental.....	33
3.5. Análise Estatística	35

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
6. REFERÊNCIAS	45
ANEXO	53

1. INTRODUÇÃO

1.1. Serpentes do Brasil

As serpentes são animais vertebrados pertencentes ao grupo dos répteis. O seu corpo é coberto por escamas e, não conseguem controlar a temperatura de seu corpo, por esse motivo são chamados de ectotérmicos, popularmente conhecidos como animais de sangue frio Melgarejo (2010),

Canter *et al.* (2010) Orienta a classificar as serpentes em dois grupos básicos, peçonhentas e não peçonhentas, sendo que peçonhentas, são aquelas que conseguem inocular seu veneno no corpo de uma presa ou vítima. Há alguns critérios para diferenciar as serpentes peçonhentas das não peçonhentas. Algumas das principais características da serpente peçonhenta são as presenças de um orifício entre o olho e a narina, denominado fosseta loreal e a cauda que apresenta um chocalho na ponta.

São conhecidas em todo o mundo aproximadamente 2.900 espécies de serpentes, as quais se encontram distribuídas em 20 famílias e 465 gêneros. No Brasil encontra-se de 9 famílias, 75 gêneros e 321 espécies (Franco *et al.*, 2010). Segundo Melgarejo (2010), 20% da fauna de serpentes encontradas no Brasil, apresentam a capacidade de inocular veneno em suas presas.

Das famílias de serpentes existentes no Brasil, segundo Souza (2010), apenas duas abrangem todas as serpentes venenosas, a

família *Viperidae*, com destaque a subfamília *Crotalinae*, a qual engloba os gêneros *Crotalus* (cascavéis sul americanas), *Bothrops* (jararacas), e *Lachesis* (surucucus). A família *Elapidae* engloba gênero *Micrurus*, cujas espécies são popularmente conhecidas como “corais verdadeiras”.

1.1.2. Gênero *Bothrops*

O gênero *Bothrops* é encontrado nas Américas, desde o México até a Argentina, distribuindo-se amplamente pelo território nacional. Habitam preferencialmente áreas úmidas e locais frequentados por roedores, sendo de hábito noturno. Aproximadamente são conhecidas mais 30 espécies desse gênero, dentre as principais, pode-se citar, a jararaca, *jararacuçu*, *moojeni*, *leucurus*, *insulares*, etc (Souza, 2010).

Marques & Sazima (2003), acrescenta que algumas espécies da *Bothrops* possuem maior importância, em virtude de sua extensa distribuição geográfica, como por exemplo, a *Bothrops atrox* na Amazônia, *Bothrops erythromelas* no Nordeste, *Bothrops moojeni* no Centro – Oeste e Sudeste, *Bothrops jararaca* na região Sul, Sudeste e Centro – Oeste.

As serpentes do gênero *Bothrops* apresentam cauda lisa e são consideradas muito agressivas, e são responsáveis por cerca de 90% dos 20.000 acidentes ofídicos anuais registrados no Brasil, assim tendo grande relevância para saúde pública. Quando ocorrem acidentes com essas serpentes, é necessário que seja ministrado imediatamente o soro antiofídico, antiofídico-crotálico e antiofídico-laquélico. O

mecanismo de ação do veneno desse grupo é marcado por uma ação proteolítica, coagulante e hemorrágica, causando um quadro clínico com manifestações locais e sistêmicas características. Desta forma, os principais sintomas observados são: dor, edema evidente que ultrapassa o local da picada, alterações hemorrágicas locais e sistêmicas (Melgarejo, 2010).

1.1.3. *Bothrops moojeni*

A *Bothrops moojeni* é uma espécie de serpente que sofre com alterações e fragmentações de habitat, assim como outros dos componentes da Herpetofauna do Cerrado (Rodrigues, 2005). Em relação a sua distribuição da espécie *moojeni*, essa segundo Nogueira *et al.* (2003), encontra-se amplamente distribuída na Região Centro-Oeste do Brasil e em regiões vizinhas da Argentina e do Paraguai. Está espécie conhecida como Caiçaca, É uma das principais responsáveis por acidentes ofídicos em algumas regiões de Brasília e Triângulo Mineiro (Marques & Sazima, 2003),

Melgarejo (2010) salienta que a *Bothrops moojeni* é uma das poucas espécies que vem crescendo em relevância para a medicina. Tal fato decorre dessa serpente conseguir adaptar-se bem a ambientes modificados, bem como seu veneno ser uma mistura complexa de proteínas com atividade biológica, e assim, ter despertado o interesse médico-científico para a espécie como modelo para desenho de novos fármacos (Marcussi, 2003)

Esses animais podem apresentar variações na composição do veneno produzido, diferenciando-se entre as famílias, gêneros e espécies ou mesmo dentro de uma mesma espécie. Diferenças intraespecíficas na composição do veneno são decorrentes de variações geográficas, sexuais, ontogenéticas e sazonais. Proteínas e peptídeos são os principais componentes das peçonhas, constituindo de 90 a 95% de seu peso seco. Além destes, há uma porção não protéica representada por íons metálicos, carboidratos, nucleosídeos, aminas e uma baixa proporção de lipídeos e aminoácidos livres (Rocha & Furtado, 2007).

1.2. Veneno das Serpentes

Nas serpentes, o veneno é uma adaptação evolutiva, a qual serve para imobilizar as presas, secundariamente usado para a defesa. Ressalta-se que uma cobra pica o ser humano ou animais, somente quando se encontra assustada ou sente-se ameaçada (Reis, 2010). O veneno que produz, desempenha um papel fundamental no metabolismo desses animais, atua como se fosse uma 'glândula salivar' cuja secreção é especializada em paralisar, lubrificar e iniciar a digestão da vítima (Chao, 2010).

A gravidade do acidente depende de vários fatores, tais como, gênero e espécie da serpente; tamanho do animal; tempo de atendimento; quantidade de veneno inoculado; local da inoculação e a intensidade dos sintomas (Legatzki, 2010).

Cada espécie de serpente produz um veneno único, com diferentes componentes e diferentes quantidades de substâncias tóxicas e não tóxicas. Segundo Reis (2010), esses venenos são secreções altamente tóxicas. Quando injetado no corpo de uma presa, o veneno é capaz de imobilizá-la. As toxinas liberadas podem alterar o comportamento da vítima, diminuindo a pressão arterial e até mesmo provocar falência de órgãos (Chao, 2010).

O veneno nada mais é que uma especialização da saliva da serpente, com poder de destruição das proteínas e de desencadear diversas reações nos seres vivos para que se possa realizar a digestão. Existem quatro tipos de ações específicas no veneno das cobras, sendo: proteolítica, coagulante, neurotóxica, hemolítica. No que se referem à ação proteolítica, as enzimas proteolíticas induzem a liberação de substâncias vasoativas, tais como, bradicinina e histamina, que em casos de envenenamento grave, podem levar ao choque. No local da picada, além da intensa dor, pode-se notar o surgimento de um edema firme (inchaço duro), equimose (manchas), rubor (avermelhamento), bolhas hemorrágicas (ou não), que pode se seguir de necrose, a qual atinge pele, músculos e tendões (Bem Neto, 2010).

Legatzki (2010) destaca que a ação proteolítica é característico das serpentes do gênero *Bothrops*, responsável pelo edema inflamatório observado no local da picada. Ocorre ainda uma “ação coagulante do tipo trombina”, com formação de fibrina e ativação dos eventos de coagulação.

Bem Neto (2010), em relação a coagulação relata que o fibrinogênio é a substância responsável por promover a coagulação sanguínea. Com a coagulação do fibrinogênio são depositados microcoágulos nos pulmões, desse modo, o restante do sangue fica incoagulável por falta de fibrinogênio sem que necessariamente haja hemorragia. Esta aparece quando as paredes dos vasos sanguíneos menores são lesadas pela ação proteolítica.

Para Jorge & Ribeiro (1990), outras atividades que podem participar da fisiopatologia do envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops* são a fibrinogenolítica, fibrinolítica e agregadora de plaquetas.

Em função das às ações coagulantes e proteolíticas do veneno botrópico, os mecanismos propostos para explicar as lesões renais são a coagulação intravascular disseminada, nefrotoxicidade direta do veneno, espasmos dos vasos renais por liberação de substâncias vasoativas e choque (Legatzki, 2010).

Faz-se necessário destacar, que no caso de serpentes do gênero Botrópico, existe uma diferença entre o veneno do filhote e do adulto. O veneno do filhote é predominantemente coagulante, já o do adulto apresenta maior reação proteolítica e menor ação coagulante (Jorge & Ribeiro, 1990).

O veneno botrópico atua sobre os músculos esqueléticos, sistema nervoso, rins, sangue e outros órgãos. A crotoxina é a fração do veneno responsável por alterações fisiopatológicas importantes, produzem atividade neurotóxica, provocando bloqueio da junção

neuromuscular, impedindo a liberação do mediador acetilcolina. A crotoxina é uma proteína por duas subunidades, a fosfolipase A2 e a crotopina. A fosfolipase A2 é a responsável pela ação miotóxica, promovendo liberação de mioglobina para o sangue e urina (Legatzki, 2010).

Acidentes por serpentes constituem um problema importante na Medicina Humana, em especial nos países tropicais, devido a sua alta incidência, gravidade e seqüelas (Souza 2010).

Esse é um dos motivos que demonstra a necessidade de realizar estudos a respeito de plantas medicinais com propriedades inibidoras contra o veneno de serpentes. O sucesso da terapia tradicional, é de suma importância a busca por inibidores de veneno diferentes, sejam eles sintéticos ou naturais (Soares *et al.*, 2005).

No Brasil estudos vêm sendo desenvolvidos utilizando plantas medicinais contra veneno de cobra, como por exemplo: *Casearia sylvestris* e *Eclipta prostrata* (Soares *et al.*, 2004), .

Entretanto, apesar da grande diversidade de plantas existentes, poucas espécies têm sido investigadas cientificamente e, ainda menos tiveram seus componentes ativos isolados e caracterizados estrutural e funcionalmente (Souza 2010).

1.3. Feridas decorrentes do Veneno das Cobras

O Brasil é conhecido pela grande quantidade de animais e insetos existentes em suas matas, localizadas nas diversas regiões do país. Em função, dessa diversidade a quantidade de acidentes que

envolvem esses animais é considerável. Esses acidentes já eram registrados na carta datada no dia 31 de maio do ano de 1560, no município de São Vicente pelo jesuíta José de Anchieta e direcionada ao seu superior Padre Diego Laynes em Roma, na qual consta uma série de acidentes advindos de serpentes venenosas das mais variadas espécies, como a jararaca, cascavel e coral. E no período colonial é possível identificar acidentes de ocorrência esporádica (Bocher, 2003).

Segundo Pereira Neto (2010), no ano de 1901 a Vital Brasil deu início ao seu trabalho na área que passaria a ser sua maior e mais importante obra, o ofidismo no Brasil, em que nesse, destacou o elevado número de acidentes por cobras venenosas, em especial no interior do Brasil. Seus estudos abrangem desde a biologia e a morfologia das cobras, a ação tóxica dos venenos em animais de experimentação, culminando com a instituição do uso do soro antiofídico. Assim resultando em uma drástica diminuição no número de mortes por esta causa.

Já é considerado um problema de Saúde Pública, acidentes decorrentes de ofídios, em função da frequência e gravidade, pois todo ano são notificados cerca de 25.000 casos. Deste total, 90% decorrentes das serpentes do gênero *Bothrops* (Brasil, 2005).

De acordo com os conhecimentos de Moreno *et al.* (2005), o gênero *Bothrops* “[...] é responsável pela maioria dos acidentes envolvendo serpentes peçonhentas”. O autor revela que em função desse gênero adaptar-se em diferentes tipos de ambientes, elas por

sua vez podem ser encontradas nos mais diversos ecossistemas, até mesmo regiões alagadas.

Pinho & Pereira (2010), revelam também que as serpentes do gênero *Bothrops*, na grande maioria das vezes podem ser encontradas nas zonas rurais e periferias das grandes cidades, pois tem preferência por ambientes úmidos como.

No mundo inteiro podem ser contabilizadas aproximadamente três mil espécies de serpentes, pelas quais 410 podem representar algum tipo de ameaça para o homem. No Brasil, entre as espécies peçonhentas 20 pertencem ao gênero *Bothrops*, entre elas, jararaca, jaracuçu, caiçara, urutu, combóia e outras 19 são do gênero *Micrurus*, coral verdadeira; do gênero *Crotalus*, está a cascavel; e gênero *Lachesis*, surucucu e surucutinga (Fernandes *et al.*, 2008).

Segundo Bernarde (2004), a terminologia peçonhenta se refere, a um animal que além do veneno, possui algum tipo de mecanismo para inoculá-lo em outro organismo. Há espécies que apresentam glândulas de veneno desenvolvida, cuja função primária é a subjugação e digestão de suas presas, este pode ser usado secundariamente como defesa, causando assim, acidentes em seres humanos. Ressalta-se que o veneno é uma mistura de várias toxinas, enzimas e peptídeos, sendo o responsável por induzir atividades biológicas em suas vítimas.

Nos países tropicais, acidentes causados por serpentes peçonhentas resultam em uma série de problemas de saúde, que podem resultar até mesmo na morte de pessoas, em função do veneno

do animal atingir de maneira letal se não socorrido a tempo (Brasil 2010).

Pinho & Pereira (2010), segundo dados do Ministério da Saúde ocorrem “[...] entre 19.000 a 22.000 acidentes ofídicos por ano, com letalidade ao redor de 0,45%”. Os autores destacam que nos casos que o gênero da serpente foi diagnosticado, verificou-se uma maior incidência de acidentes por *Bothrops* (Jararaca) (78,6%), seguida por *Crotalus* (Cascavel) (20,8%) e *Micrurus*(Corais) (6%). Calcula-se que ocorram em nível mundial aproximadamente 2.500.000 acidentes com serpentes peçonhentas por ano, com 125.000 mortes”.

Conforme explicita Mise (2010), a ocorrência dos acidentes botrópicos “[...] é mais elevada no período chuvoso, no Brasil os acidentes ofídicos em geral predominam de Janeiro a Abril, associados ao aumento de temperatura e pluviosidade, sobretudo nas regiões Sul e Sudeste”.

Pode-se destacar segundo Bochner & Struchiner (2003), que a jararaca é a espécie responsável por grande parte dos acidentes, fato que se relaciona a abundância em que é encontrada e, com a sua distribuição geográfica na região Sul Americana. Os acidentes ofídicos ocorrem na grande maioria das vezes com os homens maiores de 15 anos. Sendo que tal fato se explica em virtude do tipo de trabalho adotado.

No Brasil, localidade onde mais existem espécies de jararaca, foram notificadas aproximadamente 25 espécies diferentes. A variedade da espécie é tão grande que as próprias se adaptam a

qualquer região e qualquer tipo de clima. Características que podem diferenciar as jararacas das demais cobras é o pequeno orifício localizado entre o olho e a narina do animal, que possuem a funcionalidade de sentir a presença de calor do corpo quente de aves e mamíferos, outra característica típica é a calda lisa, que auxiliam no momento do bote, pois não provocam nenhum tipo de barulho que possa despertar ou alertar a presa (Brasil, 2010).

A predominância de acidentes de botes de cobras com essas características, é mais elevada em membros inferiores, chegando há um numero de 75,2% dos casos. Esses índices são em função do hábito terrícola da maioria das espécies do gênero *Bothrops*, situação observada na Bahia e outras regiões do Brasil, denota a não utilização de equipamentos de proteção, em especial nas zonas de agricultura. Aproximadamente 76,7% dos acidentes ocorreram durante o período diurno, mesmo sendo as jararacas de hábitos noturnos, possivelmente porque a atividade laboral favorece a possibilidade de contato do homem com a serpente Mise (2010), Silva & Carvalho (2010),

1.4. *Cassia Occidentalis*: Aspectos Gerais

A *Cassia occidentalis* é uma espécie herbácea nativa das Américas pertencente à família *Fabaceae* (*Leguminosae*) e subfamília *Caesalpinioideae* (Lombardo *et al.*, 2009). É mais conhecida popularmente como fedegoso, mata-pasto, café-negro. A denominação “fedegoso” deve-se ao odor fétido característico, há quem a conheça por “mata-pasto”, pois é facilmente encontrada entre os pastos e,

“café negro”, em virtude do fato de suas sementes serem usadas para preparar uma bebida semelhante ao café (Teske & Trentini, 1994).

O gênero *Cassia* apresenta cerca de 450 espécies, sendo largamente encontrada nas Américas. Essa planta caracteriza-se por apresentar altura média de dois metros, folhas largas, folíolos de 4-6 pares, oval-lanceolados de 1,5 a 7 cm de largura, pecíolos com glândulas em sua base, ramos curtos, apicais, com sépalos de 6-9 mm, flores amarelas, vagem ou legume curvo linear (Alonso,2007).



Figura 1. *Cassia occidentalis*

1.4.1. Características químicas

Segundo Rai & Shok (1983), o gênero *Cassia* se destaca pela grande quantidade de antraquinonas em sua composição. A quantidade dessas substâncias na *C. occidentalis* é maior nas sementes do que nas folhas e raízes. As sementes dessa espécie são eficientes fontes de carboidratos, proteínas e, ricas em *galactomanana*, contudo deve-se

atentar-se para a atividade laxante, característica de componentes antraquinônicos (Katiyar & Niranjana, 1981).

Gupta, Sharma e Soni (2005), destacam que o carboidrato pode substituir as gomas convencionais utilizadas em indústrias farmacêuticas, alimentícias, de papel e outras. Há pesquisas que relatam que a *C. occidentalis* possui corantes, como acrosina e leucoindigotina, esta última permitindo substituir a anileira, caso vantajoso economicamente (Corrêa, 1926).

Além dos derivados de antracenos, análises feitas em várias partes da *C. occidentalis* mostraram que ela pode ainda conter substâncias pertencentes à classe dos flavonóides, das xantonas, dos esteróis, dos carboidratos e outras. Essas substâncias as quais tem uma relevante ação contra alguns bolores, especialmente *Aspergillus niger*. Também, o infuso das folhas e o extrato hidroalcoólico das raízes apresentaram uma notável atividade contra *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*, dermatófitos de elevada multi-fármaco resistência e causadores de infecções cutâneas nos países em desenvolvimento (Lombardo *et al.*, 2009).

Várias substâncias foram isoladas e identificadas por alguns pesquisadores, entre elas: matucinol 7-ramnosídeo¹ e jaceidina 7-ramnosídeo² (Tiwari & Singh, 1977), occidentalol I³ e occidentalol II⁴ (Kitanaka & Takido, 1989), cassiolina⁵ (Gindei *et al.*, 1970), cassioccidentalina A, cassioccidentalina B⁶ e cassioccidentalina C⁷

(Halatano *et al.*, 1999), flavonas (Singh & Singh, 1985; Purwar *et al.*, 2003) e apigenina (Purwar *et al.*, 2003).

O gênero *Cassia* apresenta várias propriedades químicas: fenóis, terpenos, alcalóides, poliacetilenos, ácidos graxos, peptídeos, entre outros. Estudos biológicos comprovaram propriedades purgativa, hepática, bactericida, antipirética, antitumoral, expectorante, anti-inflamatória, diurética, antifúngica e neurotóxica para bovinos. Nas análises fitoquímicas evidenciaram que as antraquinonas, os flavonóides e outros derivados fenólicos são os seus principais constituintes (Cândido 2010).

1.4.2. Propriedades biológicas

C. occidentalis é uma planta anual ou perene usada em vários medicamentos tradicionais para curar diversas enfermidades, com atividades antibacteriana, antifúngica, anti-diabética, anti-inflamatória, anticancerígena, antimutagênica e hepatoprotetora. As partes da planta que podem ser utilizadas são as raízes, folhas e sementes. (Yadav *et al.*, 2010).

Popularmente, raízes, folhas e sementes de *C. occidentalis* são aconselhadas no tratamento de diversas enfermidades, como anemia, dispepsia atônica, ingurgitamento do fígado, biliose hematórica, febres dos tuberculosos, hidropisia flatulenta e desarranjos menstruais. (Lombardo *et al.*, 2009).

Essa planta além de útil para auxiliar na cura de doenças é utilizada como alimento cotidiano de classes pobres da Índia e do Sri

Lanka, sendo que as suas sementes quando macias possuem gosto agradável e similar ao do feijão (Vashishtha *et al.*, 2007).

Na medicina tradicional chinesa destaca-se, indicar o uso das sementes para melhorar a acuidade visual e remover o “calor” do fígado. Na África, a planta é de grande importância para o tratamento de febre amarela, sendo ainda considerado um sucedâneo da quina em quadros de malária resistentes (Gupta; Sharma; Soni, 2005).

Na Nigéria é utilizado o chá das raízes em casos de constipação, a sopa das folhas em quadros de varíola e sarampo e a fricção das folhas em pele acometida por eczemas e infecções fúngicas. Na medicina popular brasileira, é também usada como antifúngico tópico, especialmente no tratamento de feridas e micoses como “impingem” (tínea do corpo) e “pano branco” (ptiríase versicolor). Na primeira edição da Farmacopéia Brasileira é preconizado o uso do extrato fluído da raiz de planta como tônico e depurativo (Lombardo *et al.*, 2009),

Ao serem torradas e moídas, as sementes da *C. occidentalis*, que também são usadas como antifúngico são utilizadas para o preparo de uma bebida parecida com café, conhecida popularmente como “café fedegoso” ou “café do Senegal” (Gupta; Sharma; Soni, 2005).

Essa bebida é largamente utilizada por populações sertanejas, em especial no Ceará. No ano de 1925, em virtude do elevado preço que o café atingiu no Piauí, foi organizado ali a torrefação industrial dessas sementes para substituí-lo. Desde longos anos que vários países aproveitavam-na para fraudar o legítimo café em pó (Corrêa, 1926).

Segundo estudos etnofarmacológicos essa espécie é de grande importância para inúmeras comunidades tradicionais, há tribos que fazem o uso das folhas da planta para pescaria, pois elas possuem substâncias que são capazes de matar os peixes sem torná-los tóxicos (Teske & Trentini, 1994).

No Brasil, principalmente na região Amazônica, de acordo com Jardim (2001), as raízes da *C. occidentalis* são utilizadas para o tratamento de malária. Na região do Xingu (Alagoas), segundo Almeida *et al.* (2006), a *C. occidentalis*, foi classificada como uma espécie de alto valor terapêutico, indicada nos quadros de inflamação na garganta, hemorragia, gastrite, câncer e picadas de serpentes.

Importante se faz ressaltar, que de acordo com os conhecimentos de Rodrigues (2007), é contra-indicada a ingestão de sementes da *C. occidentalis* a gestantes, pois essa planta apresenta elevado potencial abortivo.

Estudos científicos demonstram que o gênero *Cassia* tem um enorme potencial biológico (Viegas Júnior *et al.*, 2006). Conforme destaca Kuo *et al.* (1996), a *C. occidentalis* pode atuar no organismo como: antiinflamatória, antiplaquetária, relaxante muscular, anti-hemolítica e inibidora da peroxidação lipídica, sendo que apresenta tais propriedades, em virtude do fato de ser rica em derivados antraquinônicos.

Lombardo *et al.* (2009), discorrem que estudos realizados *in vitro*, demonstraram que extratos das folhas e das sementes da *C.*

occidentalis apresentaram atividade antibacteriana, com maior eficácia para *Escherichia coli*, *Salmonella* sp e *Staphylococcus aureus*.

Estudos realizados atribuíram ainda à *C. occidentalis* propriedade inseticida, pois se verificou que a espécie tem a capacidade de dificultar o desenvolvimento de triatomíneos, insetos vetores da doença de Chagas, além do mais, o óleo fixo das suas sementes auxilia na diminuição da aderência dos ovos e a mortalidade das larvas de *Callosobruchus maculatus*, inseto encontrado frequentemente em grãos estocados (Lienard *et al.*, 1993).

Na medicina indiana, Ayurveda, é considerada uma importante droga para o tratamento de problemas hepáticos e infecções da pele. A espécie é também utilizada para curar doenças inflamatórias, tais como asma nervosa, reumatismo, bem como patologias infecciosas, incluindo enfermidades venéreas, erisipela, eczemas, problemas cutâneos e oculares (Lombardo *et al.*, 2009).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade cicatrizante dos extratos etanólicos da raiz e das folhas da *Cassia occidentalis* em feridas cutâneas em camundongos induzidas pelo veneno da *Bothrops moojeni*.

2.2. Objetivos Específicos

- Produzir os extratos etanólicos da raiz e das folhas da *C. occidentalis*, coletadas na região de Goiânia, por percolação;
- Avaliar a atividade cicatrizante dos extratos das folhas e raiz *C.occidentalis* em feridas cutâneas em camundongos induzidas pelo veneno da *Bothrops moojeni*;
- Comparar os grupos extrato das folhas e raiz da *C.occidentalis*, com o grupo controle;
- Verificar se ocorrem diferenças entre as variáveis histológicas.
- Avaliar a atividade de reepitalização.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Material botânico

Os materiais botânicos, constituído por raiz e folhas da *Cássia occidentalis* foram coletadas com anuência do proprietário, na região de Goiânia no mês de dezembro de 2010, com coordenadas de 15° 01' 11,8" sul e 49° 52' 32,2" oeste e altitude de 756 metros.

A identificação botânica foi realizada pelo Prof. Dr. José Realino de Paula, do Laboratório de Pesquisa dos Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás. Uma exsicata foi confeccionada e depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás.

O material coletado foi limpo e estabilizado em estufa com circulação e renovação de ar (marca SOLAB) a 100°C por meia hora e depois seco a 40±5°C até obter peso constante. Após a secagem, o material foi moído em moinho de facas (marca TECNAL) e o pó foi acondicionado ao abrigo da luz, em recipiente fechado.

3.2. Preparação do extrato

O extrato etanólico foi obtido através do método de percolação, descrito na Farmacopéia Brasileira II (1959):

- Percolação: "Processo geral A".

Utilizou-se um percolador de vidro e etanol a 95%(p/v) como líquido extrator. O processo foi monitorado pela reação de identificação de glicosídeos antraquinônicos, reação de Borntraeger (UPHOF, 1962). Os extratos foram concentrados em evaporador rotatório em temperatura inferior a 40°C, na

proporção 1:4, obtendo-se os extratos das raízes (ER) das folhas (EF) da *C. occidentalis*.

3.3. Preparação da formulação fitoterápica

No Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, 10% dos extratos de folhas e raiz da *C. occidentalis* foram incorporados em creme Lanette (creme base) e acondicionados em pote plástico.

O creme aniônico (Lanette) é uma composição de álcoois graxos superiores e alquil sulfato, hidratante e emoliente, de baixa oleosidade, de toque suave à alta resistência aos princípios ativos que requerem veículos com este caráter. É compatível ideal para a incorporação de ativos compatíveis com meio aniônico, podendo ser usado como veículo para queratolíticos, hidratantes, antiinflamatórios, regeneradores, adstringentes, calmantes, cicatrizantes, Hidroquinona, entre outros. Composto de Ceras Auto-Emulsionantes, Propilenoglicol, Triglicérides do Ácido Cáprico, Metilparabenos, Propilparabenos, Imidazolidinil Uréia, Dimeticone, BHT, EDTA Dissódico e Água Deionizada. Sua forma de apresentação farmacêutica é creme, com carga aniônico e pH da base: 6,00 a 8,00.

3.4. Avaliação da atividade cicatrizante em feridas cutâneas induzidas por veneno de *Bothrops moojeni*

3.4.1. Aspectos Éticos e Legais

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, sob o protocolo Reg. ANIMAL 007/2010, em 30/11/2010 e aprovado em 02/02/2011.

3.4.2. Animais

Foram utilizados 36 camundongos albinos *Swiss*, fêmeas, com 60 dias de idade, peso entre 20 a 40 g, provenientes do Biotério Central da UFG.

Os animais foram adaptados no Biotério Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas (NEPET-UFG) da Faculdade de Farmácia da UFG, por um período de quinze dias. Foram mantidos em gaiolas individuais de polietileno, forradas com maravalha, sob condições ambientais controladas (temperatura $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar entre 50 e 70% e fotoperíodo claro/escuro de 12h). Água e ração foram fornecidos *ad libitum*.

3.4.3. Delineamento experimental

Os animais (n=36) foram pesados e divididos de forma aleatória, em dois grupos (n=18) e subdivididos em três subgrupos (n=6), para serem estudados de acordo com o seguinte protocolo de avaliação:

Grupo 1 – animais tratados por 7 dias com creme Lanette (grupo controle GC), creme a 10% do extrato da folha da *C. occidentalis* (EF) e creme a 10% do extrato da raiz da *C. occidentalis* (ER).

Grupo 2 - animais tratados por 14 dias com creme Lanette (grupo controle GC), creme a 10% do extrato da folha da *C. occidentalis* (EF) e creme a 10% do extrato da raiz da *C. occidentalis* (ER).

Para a indução da ferida, os animais foram anestesiados, por via muscular, com uma associação de cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina nas doses de 70 mg Kg⁻¹ e 10 mg Kg⁻¹, respectivamente. Após a tricotomia da região dorsocervical, foram inoculados intradermicamente com 4 µg da peçonha da *B. moojeni* diluída em salina, a fim de se provocar uma necrose local. A analgesia foi realizada com paracetamol, administrada individualmente por via oral, e a dose foi calculada por alometria (PACHALY, 2006). Após 24 horas do procedimento, os tratamentos tópicos foram iniciados e realizados diariamente, no mesmo horário, por um período de 7 (grupo 1) e 14 dias (grupo 2) (THEAKSTON; REID, 1983).

Todos os animais foram examinados diariamente quanto ao aspecto geral, ocasião em que se procedia a avaliação macroscópica da ferida, observando-se a presença ou ausência de hemorragia, exsudato e crosta, sendo os dados registrados em fichas individuais. Os animais foram pesados e eutanasiados por meio de anestesia com uma associação de cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina nas doses de 100 mg Kg⁻¹ e 30 mg Kg⁻¹, aos 7 (grupo 1) e 14 dias (grupo 2).

Para a avaliação histológica, um fragmento de cada ferida foi retirado, fixado em formol tamponado a 10%, processado e corado com Hematoxilina e Eosina (HE), de acordo com Luna (1968).

O exame histológico foi realizado no Setor de Patologia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, por um mesmo pesquisador e foi do tipo cego. No 7º dia foram avaliadas as variáveis: fibrina, hemorragia, edema,

hiperemia, infiltrado inflamatório de polimorfonucleares, infiltrado de fibroblastos e proliferação vascular. No 14^o dia foram avaliadas: reepitelização, hiperplasia epitelial, colágeno, infiltrado inflamatório e proliferação vascular. Adotaram-se escores adaptados de Biondo-Simões *et al.* (2006), onde:

- Para todas as variáveis histológicas citadas, com exceção da reepitelização, utilizaram-se os escores ausente (0), discreto (1 a 25%), moderado (25 a 50%) e acentuado (acima de 50%), avaliados aos 7 e 14 dias.

- Para a reepitelização foram utilizados os escores total ou parcial, avaliada no 14^o dia.

- Para avaliação da hiperplasia epidermal foi utilizado o Software Image J 1.3.1 (NIH, Estados Unidos), com a realização de três medidas da espessura do epitélio em fotomicrografia.

3.5. Análise Estatística

Os resultados foram submetidos a tratamento estatístico utilizando-se do programa GraphPad InStat (Version 3.05 for Windows). Para análise das variáveis histológicas, foi realizada uma avaliação semi-quantitativa e foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn. O nível de significância foi de $p < 0,05$ (SAMPAIO, 1998).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No processo de preparação do extrato por percolação das folhas e raiz da *C.occidentalis*, a presença de antraquinonas foi monitorada no caso do extrato da raiz pela fluorescência na luz ultravioleta, pela fluorescência de coloração azul clara, o que pode indicar presença de raponticina, que é um derivado do estilbeno. O mesmo resultado foi observado de uma forma muito discreta, apenas nas bordas, no caso do extrato da folha. A reação de Borntraeger usada para evidenciar a presença de antraquinonas (UPHOF, 1962), foi positiva também apenas para o extrato da raiz, com formação de coloração vermelha. No caso do extrato das folhas, acredita-se que a presença de clorofila tenha interferido no resultado da reação, e a percolação continuou até que a coloração do extrato tornou-se de clara a transparente.

O procedimento de indução da ferida e o tratamento das mesmas transcorreram sem complicações. Todos os animais recuperaram-se bem da anestesia, demonstrando bom estado geral e atividades física e comportamental normais para a espécie.

Ressalta-se que foi observada diminuição de peso de todos os animais nos três grupos experimentais. O veneno das cobras do gênero *Bothrops* apresentam grande atividade proteolítica, característica responsável pelos principais efeitos sistêmicos observados após o acidente ofídicos (BERNARDES, 2004). principais efeitos locais evidenciados são equimose, isquemia, necrose e eventualmente gangrena (BARRIVIEIRA, 1999). Nesse modelo experimental os animais foram

submetidos à ação do veneno da *B. moojeni*, apresentando alguns dos efeitos supracitados (Figura 2), ocasionando uma diminuição no peso corporal.

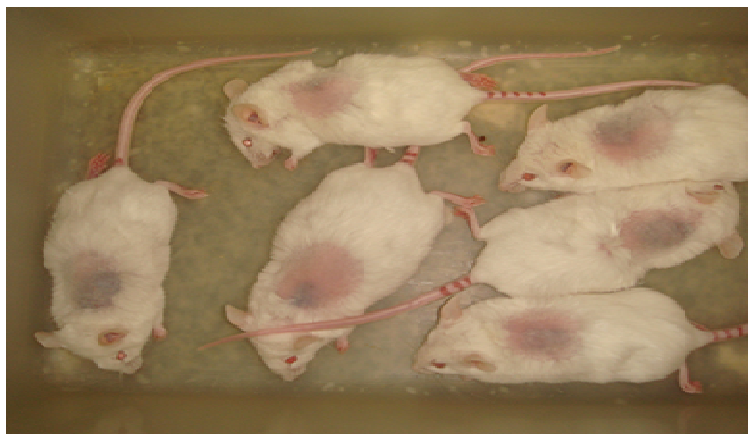


Figura 2. Camundongos albinos *Swiss*, fêmeas, com 60 dias, 30 minutos após a inoculação do veneno da *B.moojeni*

À análise macroscópica evidenciou-se que as feridas apresentavam-se mais secas e com poucos sinais de inflamação nos grupos EF e ER a partir do 3º dia após a indução da ferida em relação ao GC, com aspecto avermelhado e com dor ao toque. Observou-se que as crostas das feridas dos grupos EF e ER apresentavam-se mais delgadas e caíram no 6º dia de tratamento, enquanto que no GC isso só foi verificado no 9º dia (Figura 3). A área das feridas cutâneas diminuiu com a evolução do processo cicatricial e no 14º dia de tratamento todas as feridas estavam completamente cicatrizadas, com exceção de dois animais do grupo controle, correspondendo a 33,33%.

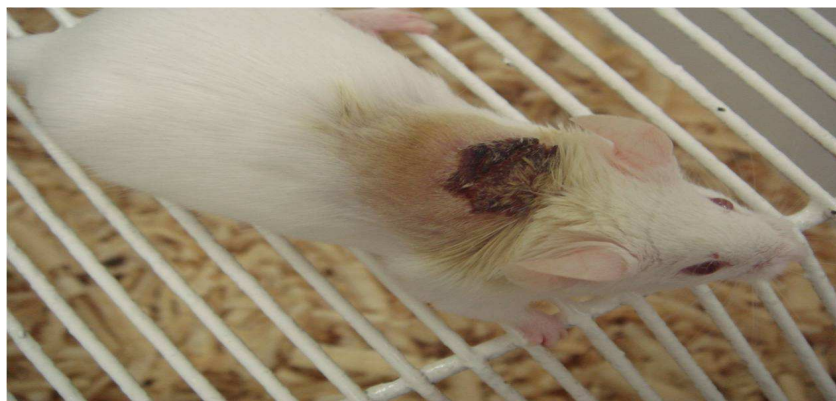


Figura 3. Camundongos albinos Swiss, fêmeas, com 60 dias do grupo controle 9 dias após a inoculação do veneno da *B.moojeni*.

Na avaliação histológica realizada no grupo tratado por 7 dias, observou-se aumento significativo quanto à proliferação vascular no grupo EF quando comparado ao GC e ER (Tabela 1, Figura 4). O mesmo resultado foi evidenciado no 14^o dias (Tabela 2, Figuras 5 e 6).

Tabela 1. Medianas das variáveis histológicas avaliadas ao 7^o dia da indução das feridas com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratadas com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER).

Variáveis Histológicas	Controle	EF	ER	<i>p</i>
Necrose	3,0 ^a	3,0 ^a	3,0 ^a	0,28
Edema	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,44
Hiperemia	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a	0,26
Hemorragia	3,0 ^a	3,0 ^a	3,0 ^a	0,43
Infiltrado Inflamatório polimorfonucleares	2,5 ^a	3,0 ^a	2,0 ^a	0,14
Infiltrado de fibroblastos	2,0 ^a	1,0 ^a	2,0 ^a	0,12
Proliferação vascular	1,0 ^a	2,0 ^b	1,0 ^a	0,032*

p =nível de significância. Letras diferentes diferem significativamente (Teste de Kruskal-Wallis, pós-teste de Dunn, * $p<0,05$).

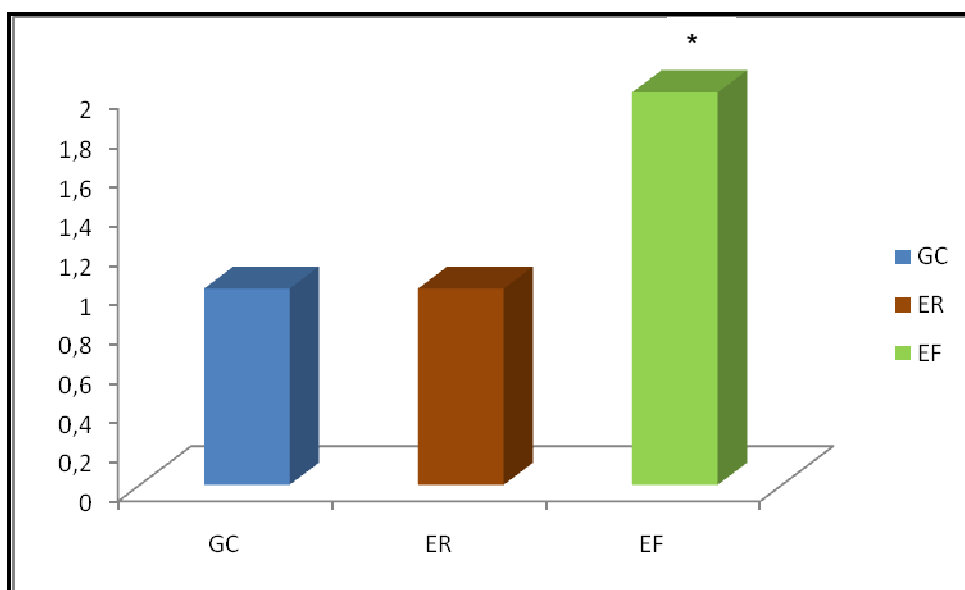


Figura 4. Medianas da proliferação vascular avaliada em feridas cutâneas induzidas com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratadas por 7 dias com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER) (* $p<0,05$).

Tabela 2. Medianas das variáveis histológicas avaliadas ao 14º dia da indução de feridas com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratada com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER).

Variáveis Histológicas	Controle	EF	ER	p
Colágeno	2,0 ^a	2,0 ^a	2,0 ^a	0,57
Infiltrado inflamatório	2,0 ^a	2,0 ^a	2,0 ^a	0,50
Proliferação vascular	1,0 ^a	2,0 ^b	1,0 ^a	0,045*

p =nível de significância. Letras diferentes diferem significativamente (Teste de Kruskal-Wallis, pós-teste de Dunn, * $p<0,05$).

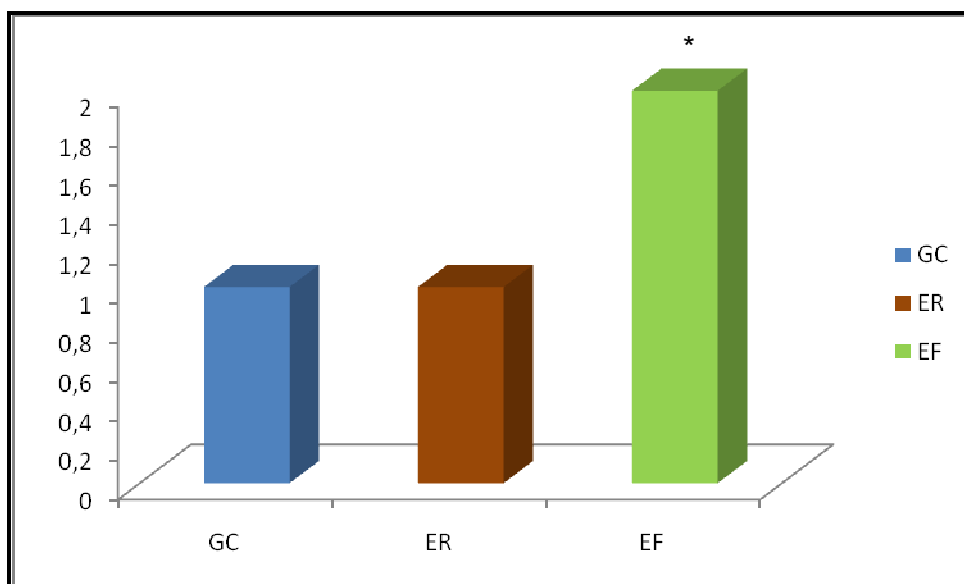


Figura 5. Medianas da proliferação vascular avaliadas em feridas cutâneas induzidas com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratada por 14 dias com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER) (* $p < 0,05$).

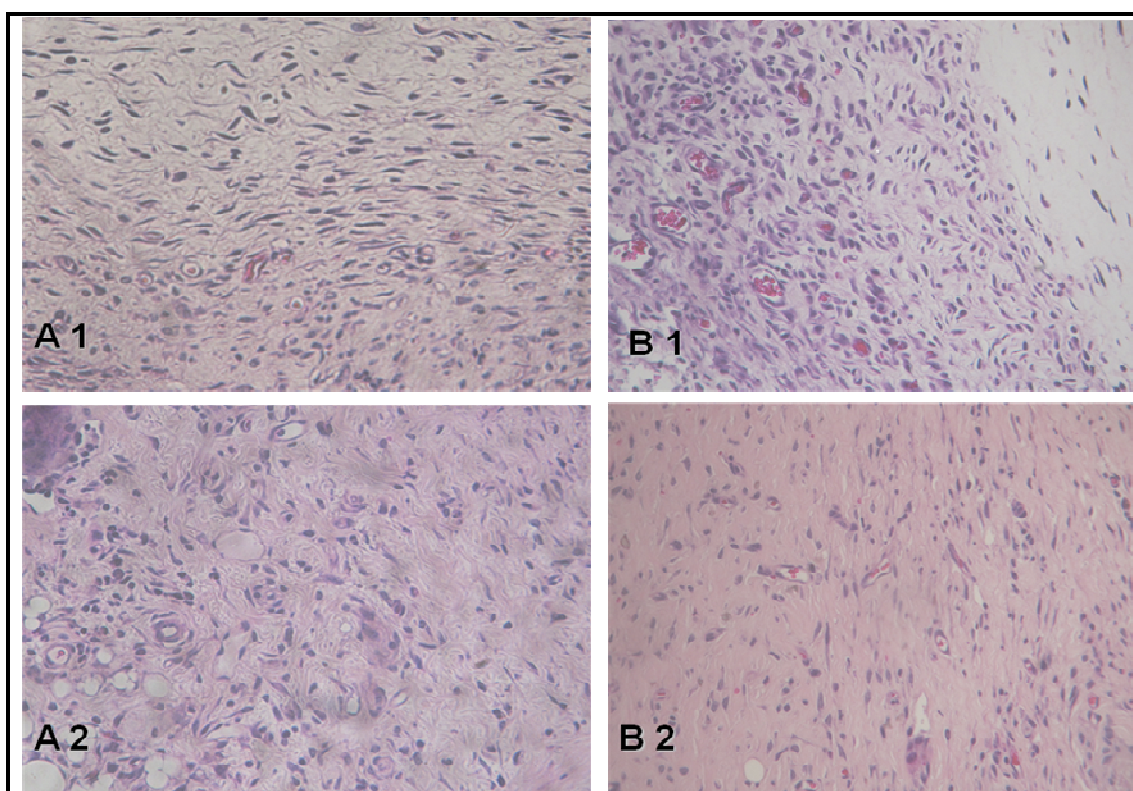


Figura 6. Fotomicrografias das feridas cutâneas em camundongos aos 7 (A) e 14 (B) dias do pós-operatório, evidenciando presença de vasos sanguíneos. A1 e A2 referem-se ao controle e B1 e B2 ao extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette. Hematoxilina-eosina. 20x.

O processo de cicatrização de feridas ocorre em fases superpostas e interdependentes (Guyton & Hall, 2006), compreendendo as fases da inflamação, reparo e maturação. Muitos processos proliferativos ocorrem durante o estágio de reparo da ferida, incluindo angiogênese, fibroplasia e epitelização (Hosdoog, 2006), destacando-se que a angiogênese é uma das características histológicas mais importantes a ser observada no tecido de granulação no processo de cicatrização de pele (Biondo-Simões *et al.*, 2006). A angiogênese corresponde ao crescimento ou formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes nas extremidades da ferida previamente desprovidas de vasos sanguíneos. (Hosdoog, 2006), Uma das formas de atuar sobre o processo de cicatrização é estimular a etapa da angiogênese, pois é nessa fase que ocorre a remoção de debris, suprimento de nutrientes essenciais e oxigênio para o local da ferida. Muitos compostos vêm sendo pesquisados com esse objetivo, como o peptídeo laminina (Malinda *et al.*, 2008), o extrato etanólico da *Calendula officinalis* (Parente *et al.*, 2009) e alantoína (Araújo *et al.*, 2010). Dessa forma, o fato do extrato da folha da *Cassia occidentalis* ter estimulado a angiogênese no 7º e 14º dias corrobora com os resultados de outros estudos, e justifica os achados encontrados na macroscopia, onde foi evidenciada melhor resolução do processo cicatricial.

No 14º dia, todas as feridas dos grupos tratados com extratos das folhas e raiz da *C. occidentalis* apresentaram reepitelização total das feridas. No grupo controle, dois animais apresentaram reepitelização parcial, pois as feridas encontravam-se abertas. Observou-se diminuição significativa na hiperplasia epidermal no grupo tratado com extrato das folhas da *Cassia occidentalis* em relação ao grupo controle (Tabela 3, Figuras 7 e 8).

Tabela 3. Medianas (mm) da hiperplasia epidermal ao 14º dia da indução de feridas com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratadas com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER).

Grupos	Hiperplasia
Controle	86,41 ^a
EF	69,04 ^b
ER	82,74 ^a
<i>p</i>	0,0076*

p=nível de significância. Letras diferentes diferem significativamente

(Teste de Kruskal-Wallis, pós-teste de Dunn, * $p < 0,05$).

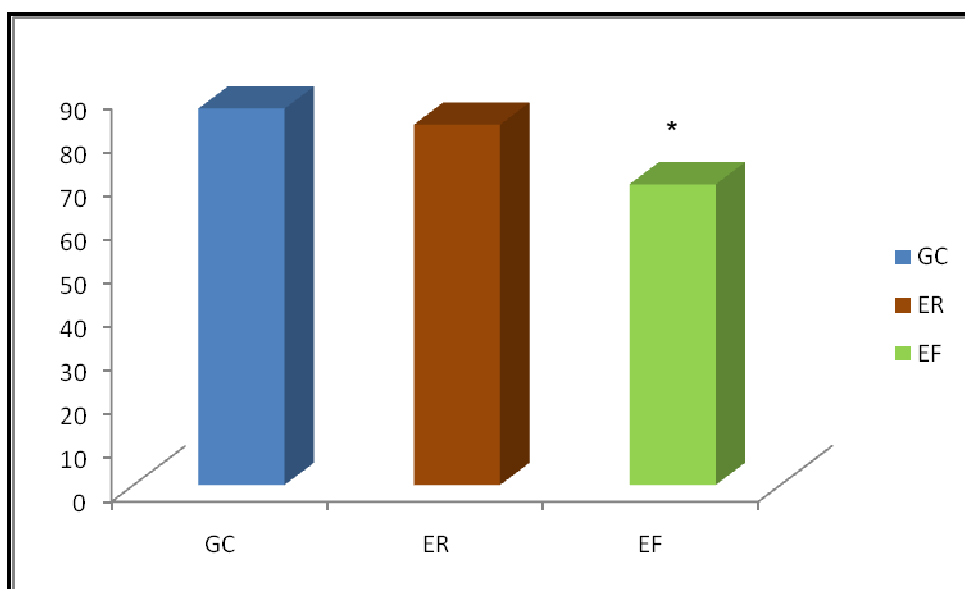


Figura 7. Medianas da hiperplasia epidermal avaliada em ferida cutâneas induzidas com veneno da *Bothrops moojeni* em camundongos e tratadas por 14 dias com creme Lanette (Controle), extrato das folhas da *Cassia*

occidentalis a 10% em creme Lanette (EF) e extrato da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (ER) (* $p < 0,05$).

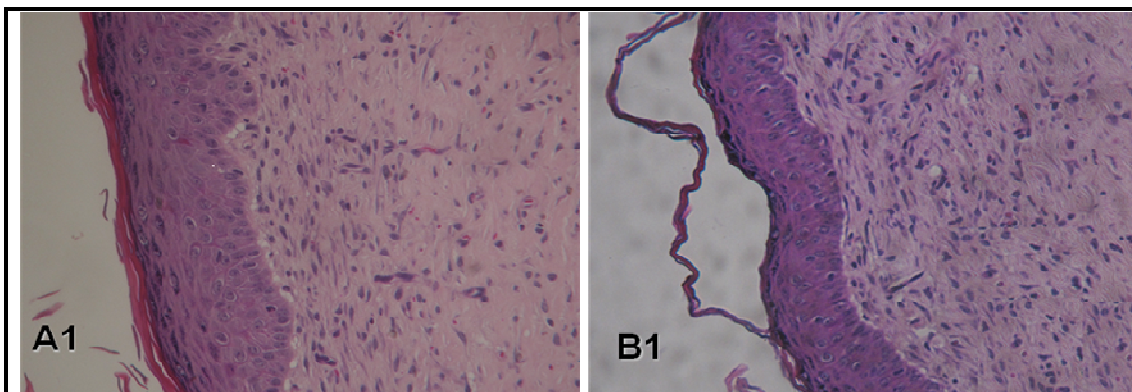


Figura 8. Fotomicrografia da ferida cutânea de camundongos evidenciando a hiperplasia epidermal. Grupos controle (A1) e extrato da folha da *Cassia occidentalis* a 10% em creme Lanette (B1) no 14º dia do pós-operatório. Hematoxilina-eosina. 20x.

Hiperplasia corresponde ao aumento da celularidade de um tecido em decorrência de uma maior demanda funcional ou hiperestimulação (Franco *et al.*, 2010). Admite-se que no decorrer da cicatrização, quando há um retardo na eliminação da causa inicial da lesão pela resposta inflamatória, ocorre uma maior reação hiperplásica das células que atuam no processo (Faria *et al.*, 2003). Nesse trabalho, evidenciou-se que as feridas cutâneas dos animais dos grupos tratados com EF e ER apresentavam-se mais secas e com poucos sinais de inflamação em relação ao GC. Pode-se propor que a diminuição da hiperplasia epidermal observada no EF, possa estar relacionada a um efeito positivo da *C. occidentalis* sobre a fase inflamatória, como evidenciada na avaliação macroscópica das feridas cutâneas, as quais apresentavam-se mais secas e com poucos sinais de inflamação.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os acidentes ofídicos provocados por serpentes do gênero *Bothrops* constituem importante problema de Saúde Pública em regiões tropicais de todo o mundo. Pesquisas estão sendo desenvolvidas com o objetivo de diminuir a reação local provocada pelo envenenamento botrópico, com o uso de várias substâncias e terapias e entre elas, o uso de plantas medicinais, como a *Cassia occidentalis* usada popularmente para picada de cobra.

A partir dos resultados obtidos com este experimento, foi possível estabelecer que:

1. O extrato das folhas da *C. occidentalis* a 10% em creme Lanette estimulou a angiogênese em feridas na derme de camundongos no 7º e 14º dias após a inoculação do veneno da *B. moojeni*.
2. O extrato das folhas da *C. occidentalis* a 10% em creme Lanette exerceu atividade antiinflamatória nas feridas cutâneas em camundongos. Esse efeito foi atribuído à diminuição da hiperplasia epidermal, além de resultar em crostas mais delgadas e secas.
3. Foram verificadas diferenças significativas quanto às variáveis proliferação vascular e hiperplasia epidermal do extrato das folhas da *C. occidentalis* a 10% em creme Lanette em relação ao do extrato da raiz da *C. occidentalis* a 10% em creme Lanette e ao grupo controle.
4. Feridas na derme de camundongos induzidas pelo veneno da *B. moojeni* cicatrizaram completamente em 14 dias de tratamento com extratos das folhas e da raiz da *C. occidentalis* a 10% em creme

Lanette. Em 33,33% dos animais do grupo controle as feridas ainda não estavam cicatrizadas no 14^o dia.

6.REFERÊNCIAS

- ALONSO, J. **Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos**. 1^a Reimpresión corrigida y renovada; Argentina, Rosário. Ed. Corpus Editorial y Distribuidora, 2007, p.258 –263.
- ARAÚJO, L. U.; GRABE-GUIMARÃES, A.; MOSQUEIRA, V. C. F.; CARNEIRO, C. M.; SILVA-BARCELLO, N. M. Profile of wound healing process induced by allantoin. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.25, p.460, 2010.
- BARRAVIERA, B. **Venenos animais: uma visão integrada**. Rio de Janeiro: Editora de Publicações Científicas, 1994. p.411.
- BEM NETO, G. **Serpentes**. Disponível em: <<http://www.ebooksbrasil.org/adobeebook/serpentes.pdf>>. Acesso em: 19 jun. 2010.
- BERNARDE, P. S. **Acidentes ofídicos**. Laboratório de Herpetologia - Centro Multidisciplinar - Campus Floresta, Universidade Federal do Acre–UFAC, 2004. Disponível em: <<http://paulobernarde.sites.uol.com.br>>. Acesso em: 19 jun. 2010.
- BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; ALCANTARA, E. M.; DALLAGNOL, J. C.; YOSHIZUMI, K. O.; TORRES, L. F.; BORSATOS, K. S. Cicatrização de feridas: estudos comparativo em ratos hipertensos não tratados e tratados com inibidor da enzima conversora da angiotensina. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v.33, n.2, p.74-78, 2006.
- BOCHNER, R. **Acidentes por Animais Peçonhentos: Aspectos históricos, epidemiológicos, ambientais e socioeconômicos**.2003.

153 f. Tese de doutorado. Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, 2003.

BOCHNER, R.; STRUCHINER, C. J. Epidemiologia dos acidentes ofídicos nos últimos 100 anos no Brasil: uma revisão. **Cadernos de Saúde Pública**, v.19, n.1, p. 7-16, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília, DF, 2005. 816 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília, DF, 2009. 816 p.

BULGARELLI, D.; BARBOSA, A.M.; CARLOS, F.P.; ZAMUNER, S.F.; LIMA, C.J.; ZAMUNER, S.R. Efeito da terapia LED (*Light Emitting Diode*) na mionecrose e edema induzidos pelo veneno da serpente *Bothrops jararaca*, no músculo gastrocnêmio. **Revista Terapia Manual**, v. 87, n.37, p.217-223, 2010.

CÂNDIDO, A. C. S.; SCHMIDT, V.; FACCENDA, O.; HESS, S. C.; SIMIONATTO, E.; PERES, M. T. L. P.; Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório. **Acta Botanica Brasilica**, v.24, p.235-242, 2010.

CANTER, H. M.; SANTOS, M. F.; SALOMÃO, M. G.; PUORTO, G.; JUNIOR, J. A. P.; **Animais Peçonhentos: Serpentes**. Disponível em: <<http://www.toxnet.com.br/download/serpentes.pdf>>. Acesso em: 04 jun. 2010.

CHAO, M. L. **Veneno de Cobra uma Toxina que Pode Matar ou Curar**. Disponível em: <http://www.terra.com.br/revistaplaneta/edicoes/429/artigo93205-1.htm>. Acesso em: 18 jun. 2010.

- CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. v. 1, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro –Brasil, p.747, 1926.
- FARIA, J. L. *et al.* **Patologia Geral – Fundamentos das Doenças com Aplicações Clínicas**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p.154-238.
- Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil**. 2.ed. São Paulo: Siqueira, 1959, p.1265.
- Farmacopéia Brasileira**: 4ª. edição. parte 1. São Paulo: Editora Atheneu, 1988.
- FERNANDES, T. A.; AGUIAR, C. N.; DAHER, E. DE F. Envenenamento Crotálico: epidemiologia, insuficiência renal aguda e outras manifestações clínicas. **Revista Eletrônica Pesquisa Médica**, v.2, n. 2, p.1-10, 2008.
- FRANCO, F. L. Origem e diversidade das serpentes. In: Cardoso, J. L. C.; FRANÇA. F. O. S.; WEN, F.H.; MALAQUE, C. M. S.; HADDAD JÚNIOR, V. **Animais peçonhentos no Brasil: biologia clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, p.13-32, 2003.
- FRANCO, M.; MONTENEGRO, M. R.; BRITO, T.; BACCHI, C. E.; ALMEIDA, P. C.; **Patologia processos gerais**. São Paulo: Atheneu, 2010. 330 p.
- GINDE, B. S.; HOSANGADI, B. D.; KUDAV, N. A.; NAYAK, K. V.; KULKARNI, A. B. Chemical investigations on *Cassia occidentalis*. I.Isolation and structure of cassiolin, a new xanthone. **Journal of the Indian Chemical Society**, v.5, n.9, p.1285-1289, 1970.
- GUPTA, S.; SHARMA, P.; SONI, P.L. . Chemical modification of *Cassia occidentalis* seed gum: carbamoylethylation. **Carbohydrates Polymers**, v.59, p.501-506, 2005.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. **Tratado de Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2006. 912 p.

- HATANO, T.; MIZUTA, S.; ITO, H.; YOSHIDA, T. C-glycosidic flavonoids from *Cassia occidentalis*. **Phytochemistry**, v.52, p.265-271, 1999.
- HOSGOOD, G. Stages of wound healing and their clinical relevance. **Veterinary Clinics, Small Animal Practice**, v.36, p.667-85, 2006.
- JARDIM, M. A. G.; MENDONÇA, L. F. R.; FERREIRA, M. M. D. Os produtos naturais para o desenvolvimento sustentável e biotecnológico: um estudo sobre plantas antimaláricas no estado do Pará. **Revista Saber Ciências Exatas e Tecnológica**, v.3, p.167-185, 2001.
- JORGE M. T.; RIBEIRO L. A. Acidentes por Serpentes Peçonhentas do Brasil. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.36, p.66-77, 1990.
- KATIYAR, S. K.; NIRANJAN, G. S. Studies on carbohydrates and amino acids of some non-cultivated leguminous seeds. **Journal of the Indian Chemical Society**, v.58, n.1, p.98-100, 1981.
- KITANAKA, S.; TAKIDO, M. Two new bitetrahydroanthracenes from roots of *Cassia occidentalis* L. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 37, n.2, p.511-512, 1989.
- KUO S. C.; CHEN, S. C.; LA, C. F.; TENG, C. M.; WANG, J. P. Studies on the antiinflammatory and antiplatelet activities of constituents isolated from the roots and stems of *C. occidentalis* L. **Chinese Pharmaceutical Journal**, v.48, n.4, p.291-302, 1996.
- LEGATZKI, K. **As serpentes peçonhentas e as principais ações de seus venenos: revisão de literatura**. 2007. 27 f. Trabalho monográfico de conclusão de curso- Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, 2007.
- LIENARD, V.; SECK, D.; LOGNAY, G.; GASPARD, C.; SEVERIN, M. Biological activity of *C. Occidentalis* L. against *Callosobruchus maculatus* (f.)

(Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v.29, n.4, p.311-318, 1993.

LOMBARDO, M.; KIYOTA, S.; KANEKO, T. M. Aspectos étnicos, biológicos e químicos de *Senna occidentalis* (Fabaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.30, p.9-17, 2009.

LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the armed forces Institute of Pathology**. 3.ed. New York: McGraw-Hill, 1968. p.258.

MALINDA, K. M.; WYSOCKI, A. B.; KOBLINSKI, J.; KLEINMAN, H. K.; PONCE, M. L. Angigenic laminin-derived peptides stimulate wound healing. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.40, p.2771-2780, 2008.

MELGAREJO, A. R. **Serpentes Peçonhentas: Principais Grupos, Identificação, Veneno, Acidentes e Primeiros Socorros**
Disponível em: <<http://www.ivb.rj.gov.br/palestras/roteiro.doc>>
Acesso em: 03 Jun. 2010.

MISE, Y. F.; SILVA, R. M. L.; CARVALHO, F. M. Envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops* no Estado da Bahia: aspectos epidemiológicos e clínicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.5, p.569-573, 2007.

MORENO, E.; QUEIROZ, A. M.; LIRA, S. R. M.; TAVARES, N. J. Características clínicoepidemiológicas dos acidentes ofídicos em Rio Branco, Acre. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n.1, p.15-21, 2005.

NETO, A. F. P.; Vital Brazil: Obra científica completa. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.19, n.1, p.341-348, 2003.

- NOGUEIRA, C.; SAWAYA, R. J.; MARTINS, M. Ecology of the Pitviper, Bothrops moojeni, in: The Brazilian Cerrado. **Journal of Herpetology**, v. 37, n.4, p. 653-659, 2003.
- PACHALY, J. R. Terapêutica por extrapolação alométrica. In: Cubas, Z. S.; Silva, J. C. R.; Catão-Dias, J. L. (Orgs.). **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. p.480.
- PARENTE, L. M. L.; SILVA, M. S. B.; BRITO, L. A. B.; LINO-JÚNIOR, R. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; ZATTA, D. T.; PAULO, N. M. Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, p.383-391, 2009.
- PINHO, F. M. O.; PEREIRA, I. D. Ofidismo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.47, n.1, p.24-29, 2001
- PURWAR, C.; RAI, R.; SRIVASTANA, N.; SINGH, J. New flavonoid glycosides from *Cassia occidentalis*. **Journal of the Indian Chemical Society**, v.42, n.2, p.434-436, 2003.
- RAI, P. P.; SHOK, M. Anthraquinone glycosides from plant parts of *Cassia occidentalis*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.45, n.2, p.87-88, 1983.
- REIS, M. C. **Veneno de Cobra**. Disponível em: <<http://naturlink.sapo.pt/article.aspx?menuid=2&cid=1122&bl=1&vewall=true>>. Acesso em: 18 jun. 2010.
- ROCHA, M. M. T.; FURTADO, M. F. Análise das atividades biológicas dos venenos de *Philodryas olfersii* (Lichtenstein) e *P. patagoniensis* (Girard) (Serpentes, Colubridae) **Revista Brasileira de Zoologia**, v.24, n.2, p.410-418, 2007.

- RODRIGUES, E. Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (caboclo-river dweller, indian and quilombola). **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, n.2, p.295-302, 2007.
- RODRIGUES, M. T. The Conservation of Brazilian Reptiles: Challenges for a Megadiverse Country. **Conservation Biology**, v.19, p.659-664, 2005.
- RODRIGUES, R.S.; IZIDORO, L.F.M.; TEIXEIRA, S.S.; SILVEIRA, L.B.; HAMAGUCHI, A.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H.S.; GIGLIO, J.R.; FULY, A.; SOARES, A.M.; RODRIGUES, V.M. Isolation and functional characterization of a new myotoxic acidic phospholipase A₂ from *Bothrops pauloensis* snake venom. **Toxicon**, v. 50, p.153-165, 2007.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária, 1998. p.221.
- SINGH, M.; SINGH, J. Two flavonoids glycosides from *C. occidentalis* pods. **Planta Medica**, v.6, p.525-526, 1985.
- SOARES, A. M.; JANUARIO, A. H.; LOURENÇO, M. V.; PEREIRA, A. M. S.; PEREIRA, P. S. Neutralizing effects of Brazilian plants against snake venoms. **Drugs of the Future**, v.29, n.11, p.1105-1117, 2004.
- SOARES, A. M.; TICLI, F. K.; MARCUSSI, S.; LOURENÇO, M. V.; JANUÁRIO, A. H.; SAMPAIO, S. V.; GIGLIO, J. R.; LOMONTE, B.; PEREIRA, P. S. Medicinal plants with Inhibitory properties against snake venoms. **Current Medicinal Chemistry**, v.12, p.2625-2641, 2005.
- SOUZA, S. M. C. **Efeito do Extrato Hidroalcoólico da Eclipta Prostrata em Modelo de Inflamação *in vivo*, Induzida pelo Veneno da Serpente *Bothrops Moojeni***. 2006. 78 f. Dissertação

de mestrado. Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba. São José dos Campos, 2006

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Compêndio de Fitoterapia**. 4^aed. Curitiba: Herbarium – Laboratório Botânico, 1995. 317p.

TIWARI, R. D.; SINGH, J. Flavonoids from the leaves of *Cassia occidentalis*. **Phytochemistry**, v.16, p.1107-1108, 1977.

THEAKSTON, R. D. G.; REID, H. A. Development of simple standard assay procedures for the characterization of snakes venenoms. **Bulletin of the World Health Organization**, v.61, p.949-856, 1983.

UPHOF, J. C. T. **Plant Hairs**. Berlin: Gebrueder Borntraeger, 1962. p.292

VASHISHTHA, V. M.; KUMAR, A.; JOHN, T. J.; NAYAK, N. C. *Cassia occidentalis* poisoning as the probable cause of hepatomyoencephalopathy in children in Western Uttar Pradesh. **Indian Journal of Medical Research**, v.125, p.756-762, 2007

VIEGAS JÚNIOR, C.; REZENDE, A.; SILVA, D. H. S.; GAMBÔA, I. C.; BOLZANI, V. S. Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. **Química Nova**, v.29, n.6, p.1279-1286, 2006.

YADAV, J. P.; ARYA, V.; YADAV, S.; PANGHAL, M.; KUMAR, S.; DHANKHAR, S. *Cassia occidentalis* L. : a review on its ethnobotany, phytochemical and pharmacological profile. **Fitoterapia**, v.81, n.4, p.223-230, 2010.

ANEXO



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Av. Universitária, 1069 ● Setor Universitário
Caixa Postal 96 ● CEP 74605-010
Goiânia ● Goiás ● Brasil
Fone: (62) 3946.1070 ● Fax: (62) 3946.1070
www.pucgoias.edu.br ● prope@pucgoias.edu.br

Registro CEP ANIMAL 007/2010


DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que o Projeto **AValiação DOS EXTRATOS DA CÁSSIA OCCIDENTALIS NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS CAUSADAS POR INDUÇÃO DE VENENO DE BOTHROPS MOOJENI EM CAMUNDONGOS**, coordenado pelo (a) pesquisador (a) **MARAISA DELMUT BORGES** foi cadastrado no Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (CEP-SGC/PUC Goiás) sob o protocolo Reg. **ANIMAL 007/2010**, em 30/11/2010 e **aprovado** em 02/02/2011.

- CEP-SGC/PUC Goiás pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da RESOLUÇÃO Nº 879 DO CFMV, LEI Nº 11794/08.

Categorias de pesquisa

TCC: Final da pesquisa
Especialização: Final da pesquisa
Mestrado: Relatório anual e final
Doutorado: Relatório anual e final
Outros: Relatório anual e final


Prof. Dr. José Rodrigues do Carmo Filho
Coordenador do CEP-SGC/PUC Goiás

Goiânia, 02 de fevereiro 2011.