



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

**AVALIAÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DAS CASCAS DO
CAULE DA *CROTON URUCURANA BAILL* NA CICATRIZAÇÃO DE
FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS POR PEÇONHA DE *BOTHROPS*
MOOJENI EM CAMUNDONGOS**

LARA CÂNDIDA DE SOUSA MACHADO

GOIÂNIA
2012



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**

**AVALIAÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DAS CASCAS DO
CAULE DA *CROTON URUCURANA* BAILL NA CICATRIZAÇÃO DE
FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS POR PEÇONHA DE *BOTHROPS*
MOOJENI EM CAMUNDONGOS**

LARA CÂNDIDA DE SOUSA MACHADO

Orientadora: Prof.^a Dra. Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer

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
2012

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC/GO).

M149a

Machado, Lara Cândida de Sousa.

Avaliação do extrato etanólico bruto das cascas do caule da *Croton urucurana* Baill na cicatrização de feridas cutâneas induzidas por peçonha de *Bothrops moojeni* em camundongos [manuscrito] / Lara Cândida de Sousa Machado. – Goiânia, 2012.

72 f. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Programa de Pós Graduação Stricto Sensu Mestrado em Ciências Ambientais e da Saúde, 2012.

“Orientadora: Profa. Dra. Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer”.

1. Plantas medicinais. 2. Inflamação. 3. Envenenamento. I. Título.

CDU: 615.015.32(043)



DISSERTAÇÃO DO MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE
DEFENDIDA EM 19 DE DEZEMBRO DE 2012 E CONSIDERADA
aprovada PELA BANCA EXAMINADORA:

1) Inmtraut Araci P. Pfrimer

Profa. Dra. Imtraut Araci Hoffmann Pfrimer / PUC Goiás (Presidente)

2)

Rodrigues

Prof. Dr. José Rodrigues do Carmo Filho / PUC Goiás (Membro)

3)

Eduardo Garcia Frassetto

Prof. Dr. Eduardo Garcia Frassetto / FESURV (Membro Externo)

4)

Profa. Dra. Maira Barberi / PUC Goiás (Suplente)

A Deus, pela fé, força, tolerância e proteção total da minha vida
À minha mãe, pelo incentivo e amor incondicional
Ao meu esposo, pelo apoio e estímulos nas horas de desistência, pelas horas não
dedicadas e suas por direito.

AGRADECIMENTOS

Prof.^a Dr.^a Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer: Obrigada pelo incentivo, paciência e credibilidade. Sua compreensão, dedicação e amizade foram fundamentais. A vontade de desistir foi grande, mas seus conselhos superavam tudo. Parabéns pela competência.

Prof.^a Dr.^a Leonice Manrique Faustino Tresvensol, pela atenção disponibilizada, por sua competência, compromisso e incentivo.

Prof.^a Ms. Marta Regina Magalhães, pela oportunidade do desenvolvimento dessa pesquisa, pelo imenso apoio, pela dedicação, humildade e até pelos sorrisos. A pesquisa não seria a mesma sem a sua presença.

Ao Prof. Ms. Hélder Lúcio Rodrigues Silva, pela liberação do Centro de Estudos e Pesquisas Biológicas (CEPB) para campo de pesquisa e pela confiança.

Ao Prof. José Realino de Paula, pela colaboração e pela disposição ao realizar a coleta da *Croton urucurana* às margens do córrego João Leite.

À Bióloga Sayonara Aymoré, pela grande participação, dedicação e companheirismo.

Aos monitores Lilibete Pereira de Oliveira e Hugo Marques Cabral, pela colaboração, disponibilidade e amizade.

Ao companheiro rotariano Marcelo Gomes Júdice, pelas sugestões e contribuição na orientação estatística dos dados desse trabalho.

Ao Prof. Luiz Fernando Fróes Fleury, pela realização das análises histológicas.

Ao colega de trabalho César Romero Macêdo, pelas sugestões, amizade e contribuição na execução desse projeto.

À instituição onde trabalho, Universidade de Rio Verde – UniRV, pela liberação das minhas atividades e aos meus colegas de trabalho do curso de enfermagem, pelo apoio e incentivo que me foram proporcionados.

RESUMO

INTRODUÇÃO: As plantas medicinais e outros produtos naturais são recursos terapêuticos amplamente utilizados no auxílio da cicatrização de feridas cutâneas dos primórdios da civilização até a atualidade. Dentre as plantas utilizadas para tratamento de feridas infectadas, a *Croton urucurana* se destaca, por ser uma planta com poderes curativos e que aceleram o processo de cicatrização. **OBJETIVO:** Avaliar a atividade cicatrizante de extratos das cascas do caule de *Croton urucurana* nas feridas cutâneas de camundongos, induzidas pelo veneno de *Bothrops moojeni*. **METODOLOGIA:** O extrato etanólico das cascas do caule da *Croton urucurana* (EECC) obtido através de um processo de maceração dinâmica, foi diluído em solução salina para obtenção das concentrações de 10%, 20% e 40%. Foi realizado um experimento piloto para determinação da dose mínima necrosante, utilizando camundongos (n=5) da linhagem Swiss, machos, com massa corpórea variando de 18 a 25g. Para avaliação da atividade cicatrizante foram utilizados camundongos (n=60) da mesma espécie e com as mesmas características, distribuídos aleatoriamente em cinco grupos de doze animais cada (n=12): GC – Grupo Controle, GS – Grupo Soro, GT1 – Grupo Tratamento com EECC a 10%, GT2 – Grupo Tratamento com EECC a 20% e GT3 – Grupo Tratamento com EECC a 40%. Para indução da ferida, os animais foram anestesiados via intramuscular com tiopental sódico na dose de 40 mg/Kg. Após a tricotomia no dorso do camundongo, foi inoculado intradermicamente 120 µg/50 µL de salina, afim de se obter uma necrose. **RESULTADOS:** A dose mínima necrosante do veneno de serpente *Bothrops moojeni* em camundongo é de 120 µg de peçonha diluída em 50 µL salina intradermicamente da região dorsal. Houve retração significativa das feridas cutâneas do grupo GT1 nos dias 7º e 12º em relação ao grupo GC. Houve retração significativa das feridas cutâneas do grupo GT2 e GT3 no 12º dia em relação ao grupo GC. A análise histológica dos grupos GT1, GT2 e GT3 permitem concluir que as feridas cutâneas apresentam processo de cicatrizações evidentes em 12 dias de tratamento em relação ao grupo GC, por estimular a angiogênese, neoformação dos folículos pilosos e reparação fibrosa. **CONCLUSÃO:** As feridas cutâneas em camundongos induzidos pela peçonha de *Bothrops moojeni* quando tratadas com EECC (10%, 20% e 40%), apresentam um processo de cicatrização mais acelerado em relação ao grupo controle.

Palavras-chave: *Croton urucurana*, Cicatrização de feridas, *Bothrops moojeni*.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The herbal and other natural products are widely used therapeutic resources to aid the healing of skin wounds of early civilization to the present. Among the plants used for treatment of infected wounds, the *Croton urucurana* stands out for being a healing plant that accelerates the healing process. **OBJECTIVE:** To evaluate the healing activity of extracts of the stem bark of *Croton urucurana* skin wounds in mice, induced by *Bothrops moojeni*. **METHODOLOGY:** The ethanolic extract from the stem bark of *Croton urucurana* (EECC) obtained through a maceration dynamic process, was diluted in saline to obtain concentrations of 10%, 20% and 40%. It was established a pilot experiment to determine the minimum dose necrotizing using mice (n = 5) of Swiss lineage, males with body mass index ranging from 18 to 25g. To evaluate the healing activity, it was performed in mice (n = 60) of the same type and with the same characteristics were randomly divided into five groups of twelve animals each (n = 12): GC - Control Group, GS - Group Soro, GT1 - Group Treatment with 10% EECC, GT2 - Group Treatment EECC to 20% and GT3 - Group Treatment EECC to 40%. For induction of the wound, the animals were anesthetized intramuscularly with sodium thiopental at the dose of 40mg/kg. After shaving the dorsum of the mice, it was inoculated intradermally 120µg/50µL of saline in order to obtain a necrose. **RESULTS:** The minimum necrotic dose of venom from *Bothrops moojeni* in mice is 120 mg of venom diluted into 50 uL intradermally saline in the dorsal region. There was a significant decrease of skin wounds of the GT1 group in 7th and 12th days compared to the GC. There was a significant decrease of skin wounds of the group GT2 and GT3 on the 12th day compared to the GC. The Histological analysis of the groups GT1, GT2 and GT3 allows to conclude that the skin wounds show a process of evident scarring at 12 days of treatment compared to the GC, by stimulating angiogenesis, neoformation of hair follicles and fibrous repair. **CONCLUSION:** The skin wounds in mice induced by the venom of *Bothrops moojeni* when treated with EECC (10%, 20% and 40%), have a more rapid healing process in the control group.

Key Words: *Croton urucurana*, Wound healing, *Bothrops moojeni*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xii
 1. INTRODUÇÃO	 13
1.1. <i>Croton urucurana</i>	23
1.2. Processo inflamatório	28
1.3. Inflamação provocada por envenenamento botrópico.....	31
 2. OBJETIVOS	 35
2.1. Objetivo geral	35
2.2. Objetivos específicos	35
 3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	 36
3.1. Tipo de estudo	36
3.2. Local de estudo	36
3.3. Material botânico	36
3.4. Extrato etanólico bruto.....	37
3.5. População / Amostra	38
3.6. Determinação da dose mínima necrosante	38
3.7. Avaliação da atividade cicatrizante.....	39
3.8. Análise histológica.....	40
3.9. Análise estatística.....	41
 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	 42
4.1. Padronização da dose necrosante	42
4.2. Análise macroscópica das feridas	43
4.3. Grau de contração das feridas cutâneas.....	45
4.4. Avaliação microscópica da atividade cicatrizante de EECC em feridas cutâneas.....	49
 5. CONCLUSÕES	 57
 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 58
 ANEXO.....	 69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C - Antes de Cristo

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CEPB – Centro de Estudos e Pesquisas Biológicas

d.C - Depois de Cristo

DMN – Dose Mínima Necrosante

EECC – Extrato Etanólico das Cascas do Caule de *Croton urucurana*

H.E – Hematoxilina-Eosina

IQUEGO – Indústria Química do Estado de Goiás

K – Potássio

Kg- Kilograma

Mg - Miligrama

Mm - Milímetro

Na – Sódio

NK – Natural Killer

OMS – Organização Mundial de Saúde

P.A – Pró-análise

PMN – Polimorfonuclear

PUC – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

RDC – Resolução da diretoria colegiada

SAB – Soro Antibotrópico

SABC – Soro Antibotrópico/Crotálico

SABL – Soro Antibotrópico/Laquético

SCU – Solução de *Croton urucurana*

SF 0,9% - Solução Fisiológica a 0,9%

T.M – Tricrômico de Masson

UFG – Universidade Federal de Goiás

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Relação de algumas espécies de fitoterápicos de acordo com a RDC n. ° 14/2010.....	20
FIGURA 2. Resina avermelhada da casca do caule da <i>Croton urucurana</i>	22
FIGURA 3. Arbusto da <i>Croton urucurana</i>	22
FIGURA 4. <i>Croton urucurana</i> às margens do rio João Leite no município de Goiânia-Goiás	23
FIGURA 5. Folhas da <i>Croton urucurana</i>	23
FIGURA 6. Flores e inflorescências da <i>Croton urucurana</i>	24
FIGURA 7. Área das feridas em camundongos no 7º dia de experimento. As barras representam a mediana e a variação do valor máximo e mínimo das médias entre os grupos controle (GC), grupo soro (GS), grupo tratamento EECC 10% (GT1), grupo tratamento EECC 20% (GT2), grupo tratamento EECC 40% (GT3). $P>0,05$	43
FIGURA 8. Área das feridas em camundongos no 12º dia de experimento. As barras representam a mediana e a variação do valor máximo e mínimo das médias entre os grupos controle (GC), grupo soro (GS), grupo tratamento EECC 10% (GT1), grupo tratamento EECC 20% (GT2), grupo tratamento EECC 40% (GT3). $P<0,05$	44
FIGURA 9. Área das feridas em camundongos no 15º dia de experimento. As barras representam a mediana e a variação do valor máximo e mínimo das médias entre os grupos controle (GC), grupo soro (GS), grupo tratamento EECC 10% (GT1), grupo tratamento EECC 20% (GT2), grupo tratamento EECC 40% (GT3). $P>0,05$	45
FIGURA 10. Fotomicrografias das feridas cutâneas de camundongos no 7º dia de tratamento após a inoculação da peçonha. (A) Grupo controle (GC) (B) Grupo tratamento (GT1) (C) Grupo tratamento (GT2) (D) Grupo tratamento (GT3).....	47

FIGURA 11. Fotomicrografias das feridas cutâneas de camundongos no 12º dia de tratamento após a inoculação da peçonha. (A) Grupo controle (GC) (B) Grupo tratamento (GT1) (C) Grupo tratamento (GT2) (D) Grupo tratamento (GT3).....49

FIGURA 12. Fotomicrografia da ferida cutânea do grupo GT3 após a inoculação da peçonha no 15º dia de tratamento. Nota-se área de reparação, com fibrose e intensa hialinose do colágeno. Observa-se regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme. H.E. 120 x.....51

FIGURA 13. Fotomicrografia da ferida cutânea do grupo GT3 após a inoculação da peçonha no 15º dia de tratamento. Nota-se área de reparação, com fibrose e intensa hialinose do colágeno. Observa-se regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme. H.E. 250 x.....51

FIGURA 14. Fotomicrografia da ferida cutânea do grupo GT3 após a inoculação da peçonha no 15º dia de tratamento. Nota-se área de reparação, com fibrose e intensa hialinose do colágeno (em azul). Masson 300 x.....52

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Médias da contração das feridas cutâneas em camundongos (%) (n=12) do grupo controle (GC), grupo soro (GS), grupo tratamento EECC 10% (GT1), grupo tratamento EECC 20% (GT2) e grupo tratamento EECC 40% (GT3), nos 7, 12 e 15 dias de tratamento.....	46
--	----

1. INTRODUÇÃO

O termo fitoterapia é formado por dois radicais gregos: *Phyton* e *Therapia* que significam planta e tratamento respectivamente, num sentido mais simples são o tratamento por meio de plantas medicinais (OLIVEIRA & AKISUE, 2000). Em outra concepção, a “fitoterapia pode ser definida como o estudo e a aplicação dos efeitos terapêuticos de drogas vegetais e derivados dentro de um contexto holístico” (ELDIN & DUNFORD, 2001).

Na Mesopotâmia (3.000 a.C.) o homem estava sempre a serviço dos deuses e acreditava que as doenças eram castigos pelos pecados cometidos. Na Suméria foram encontradas placas de barro onde foram descritas várias receitas e referências sobre medicamentos à base de ervas (FERRO, 2008).

A primeira referência escrita que foi encontrada sobre remédios utilizando plantas medicinais foi a obra chinesa por nome *Pen Ts'ao* (“A Grande Fitoterapia”) escrita pelo imperador chinês Shen Nung em 2800 a.C. e apresenta uma relação com mais de 360 espécies de plantas que são utilizadas até nos dias atuais. Papiros antigos por volta de 2000 a.C. no Egito informam que muitos médicos já utilizavam plantas como remédios na cura de doenças e foram os egípcios que desmistificaram pela primeira vez a fitoterapia relatando tratar de magia (VALE, 2002).

O primeiro tratado médico egípcio usando plantas medicinais foi o papiro decifrado em 1873 pelo egiptólogo alemão Georg Ebers. Esse manuscrito é datado aproximadamente de 1500 a.C., registra mais de 700 substâncias utilizadas e 811 prescrições, como, por exemplo: babosa (*Aloe vera*), ginseng (*Panax spp.*), losna (*Artemisia absinthium*) e mirra (*Commiphora molmol*) (DUARTE, 2006).

Antigos documentos gregos fazem muitas referências a dois grupos de estudiosos sobre plantas medicinais: *Asclepiadae* e *Rhizotomoki*. O primeiro grupo foi batizado em honra ao deus grego da medicina denominado Asclépio ou Esculápio, e o segundo grupo descreve os “coletores de raízes”, fornecedores de plantas medicinais e o primeiro grupo de pessoas a fazerem uma listagem precisa das propriedades medicinais das plantas que comercializavam, originando um manual de fitoterapia. Esse manual do século IV a.C., é o *Rhizotomika*, compilado por Diócles, um dos discípulos de Aristóteles, contém notas detalhadas sobre os efeitos fisiológicos das plantas medicinais (ELDIN & DUNFORD, 2001).

Descrito muitas vezes como o “o pai da medicina”, Hipócrates (468-377 a.C.) foi um investigador do tratamento holístico, utilizando remédios à base de plantas medicinais, bem como exercícios e dietas especiais adaptados aos sintomas individuais de cada paciente, marca registrada da fitoterapia nos dias de hoje (ELDIN & DUNFORD, 2001).

Dioscórides (78-100 d.C.), médico naturalista, observador dos fundamentos empíricos, foi importante na história da fitoterapia por propor compilar um guia fitoterápico bem abrangente, que mostrasse as características das plantas medicinais, bem como o modo de usá-las (FERRO, 2008).

Remontando ao século I d.C., a obra “De Matéria Medica” (sobre as formas de curar) composta por cinco volumes, foram os primeiros manuais do gênero. Os textos bem detalhados descreviam cerca de 600 espécies de plantas fitoterápicas e ainda apresentavam informações acerca das dosagens sugeridas de várias plantas medicinais e de seus possíveis efeitos tóxicos (ELDIN & DUNFORD, 2001).

Em 131-201 d.C., Galeno relacionou 473 produtos de origem vegetal. Sua fundamentação baseava-se em quatro humores (sangue, linfa, bile e atrabile). Esses

humores eram associados aos quatro elementos da natureza (fogo, terra, água e ar). Assim cada planta medicinal agia conforme o temperamento do paciente (FERRO, 2008).

Na Europa, os escribas continuaram buscando o conhecimento sobre plantas medicinais por toda a idade média (476-1453 d.C.). Em Bagdá uma equipe de tradutores árabes do século VIII, iniciou um trabalho de tradução das obras gregas sobre fitoterapia. Três séculos depois as traduções árabes foram novamente traduzidas agora para o latim, contribuindo com a introdução do pensamento árabe no ocidente (ELDIN & DUNFORD, 2001; FERRO, 2008).

Ainda na idade média, houve a inserção de plantas consideradas exóticas como a noz-moscada e o cravo. Ocorreu também o fortalecimento da Igreja Católica, contudo esta passa a apoderar-se dos escritos científicos greco-romanos da época restringindo-os aos mosteiros e promovendo a paralisação de novos estudos e informações sobre plantas medicinais. Assim, o uso das plantas medicinais e também o cultivo das mesmas tornaram-se exclusividades da Igreja Católica, pois, qualquer prática relacionada à essa área era considerada por seus sacerdotes, como práticas de bruxaria, magia, feitiçaria ou alquimia (MARTINS et al., 2000 apud BADKE, 2008).

Nicolaus de Salerno, da escola de medicina de Salerno, escreveu um extenso trabalho sobre fitoterapia, por nome de *Antidotarium*, sendo o centro dos estudos de farmácia durante os séculos XIII e XIV (ELDIN & DUNFORD, 2001).

Para Celso (1493-1541), médico suíço, “pai da farmacoquímica” e desafiador das condutas médicas da época, promoveu uma grande contribuição para as novas descobertas sobre medicamentos. Apreciava o misticismo e a alquimia e ainda popularizou o uso do ópio por toda Europa. Foi para a idade moderna um grande

professor de química, defendia o uso de produtos químicos no tratamento de doenças, além de utilizar essências medicinais, tônicos e hidrolatos (VALE, 2002; FERRO, 2008).

No Brasil, a primeira referência sobre plantas medicinais foi no ano de 1500, por Pero Vaz de Caminha, do grupo de Pedro Álvares Cabral, que descreveu em uma de suas cartas ao rei D. Manoel as belezas e a importância das propriedades medicinais da flora brasileira. Entretanto, não se pode desconsiderar a contribuição que os jesuítas (José de Anchieta e Nóbrega em 1560) proporcionaram ao divulgarem os remédios feitos por plantas medicinais usados pelas populações indígenas brasileiras, informando seus usos e sua toxicidade (FERRO, 2008).

Em 1558, o francês André Thévet publica um livro (*Les Singularité de France Antartique*) relatando algumas plantas medicinais encontradas numa de suas viagens ao Rio de Janeiro. E em 1600 padre Fernão Cardim dedica um capítulo sobre ervas medicinais em seu livro *o Tratado sobre o Clima e a Terra do Brasil*, onde descreve as propriedades de quinze ervas usadas na época. Foi uma grande contribuição literária sobre a História Natural e cultura indígena (FERRO, 2008; CARNEIRO, 2011).

Maurício de Nassau, governador holandês de Pernambuco (1637-1644), trouxe ao Brasil o astrônomo e cartógrafo Jorge Marcgrave (alemão) e o médico Guilherme Piso, que estudaram profundamente a fauna e a flora brasileira, descrevendo toda a cultura brasileira de uma forma bem ampla e também sobre informações empíricas de benzedores, curandeiros, boticários, bem como indígenas. Publicaram juntos em 1648 (Amsterdam) doze livros entre eles a *Historia Naturalis Brasiliae* e *Medicina Brasiliensi*. Essas obras foram as maiores da época, sendo superadas somente a partir do século XIX (FERRO, 2008; CARNEIRO, 2011).

Também tiveram destaque outros estudiosos que descreveram plantas medicinais em publicações importantes como fontes históricas e científicas. Pierre Pomet (1673), farmacêutico, publica *Histoire general des drogues* e o também farmacêutico francês Nicole Lémery (1680-1700) o *Traite des drogues simples*. No Brasil, Fonseca Henriques (1731) escreve o *Âncora Medicinal* e Manuel Rodrigues Coelho (1735) publica monografias na *Farmacopéia Tubalense* (FERRO, 2008).

No século XIX, os recursos terapêuticos consistiam de plantas e extratos de plantas e o empirismo da alquimia passa a ser substituído pela química experimental que permitiu a síntese laboratorial de novas substâncias orgânicas, o que seria fator determinante da revolução tecnológica e industrial produzindo aceleradamente novos medicamentos. A fitoterapia passa a ser negligenciada (VALE, 2002; FIRMO et al., 2011).

Ainda no século XIX, estudiosos realizam grandes descobertas tais como: Seturner (1806) morfina, Pelletier e Caventou (1818) estreptina, Wöhler (1828) uréia, Friedrich August Kekulé (1860) ácido acético e Adolph von Baeyer (1864) ácido barbitúrico. Kekulé e Baeyer contribuíram para a formação história da farmacologia na descoberta de novos barbitúricos lipossolúveis, bem como hipnóticos, indutores anestésicos e anticonvulsivantes (VALE, 2002; FERRO, 2008).

Na metade do século XX, os profissionais da área da saúde deixam de estudar as plantas medicinais e passam a estudar os produtos químicos que delas são extraídos. Assim a fitoterapia foi sendo esquecida para dar espaço ao medicamentos alopáticos (LOPES, 1996 apud BADKE, 2008; FERRO, 2008).

O século XX foi também marcado por grandes descobertas científicas, um dos acontecimentos mais marcantes foi a descoberta da penicilina por Alexander Fleming (1928), antibiótico importante para a época (PEREIRA, 2005).

Ainda nesse período, com o crescimento da indústria farmacêutica o governo percebe a necessidade da criação de leis que regulamentem o funcionamento dos ervanários no Brasil, assim a legislação federal do Brasil (1931) através do decreto 19.606, institui regras para funcionamento de ervanários, exigindo-se licença para especialidades farmacêuticas, exceto para os produtos inclusos nas farmacopéias (FERRO, 2008).

A Conferência Internacional sobre Cuidados Primários em Saúde, promovido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pelo Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF), em Alma-Ata, na antiga URSS (1978), recomendaram a incorporação da medicina tradicional na atenção primária de saúde e também a difusão mundial dos conhecimentos necessários para o seu uso, considerando as plantas medicinais importantes instrumentos da assistência farmacêutica. Assim, os medicamentos fitoterápicos com finalidade profilática, curativa e paliativa passaram a ser oficialmente reconhecidos pela OMS (RODRIGUES, 2004; FERRO, 2008).

O Brasil possui uma situação privilegiada por possuir a flora mais rica do planeta em termos de biodiversidade, além da população brasileira estar culturalmente adaptada ao uso de plantas medicinais. Somente em 1986, com o relatório final da 8ª Conferência Nacional de Saúde, ponte para a criação do Sistema Único de Saúde (SUS) em 1988, foi sugerida a introdução de práticas alternativas à saúde no âmbito dos serviços públicos de saúde (FERRO, 2008).

A fitoterapia no Brasil foi oficialmente inserida no SUS em 1988, a partir da publicação da resolução da Comissão Interministerial de Planejamento e Coordenação (CIPLAN) que regula, entre outras coisas, a prática de fitoterapia no serviço de saúde nas unidades federadas, além de criar rotinas e procedimentos em

unidades de cuidados médicos, possibilitando o usuário escolher a terapêutica preferida (BRASIL, 2012).

O Conselho Federal de Medicina (CFM) sob o parecer nº 06/1991 reconhece “a atividade de fitoterapia somente sob a supervisão médica como prática reconhecida pelo Ministério da Saúde” e, no ano seguinte, com o parecer nº 04/1992 reconhece a fitoterapia como método terapêutico necessitando de supervisão rigorosa do estado por meio da vigilância sanitária, exigindo a necessidade de regulamentação da formação de recursos humanos dentro dos parâmetros éticos (BRASIL, 2006a).

Foi criado o Projeto Farmácias-Vivas (1985), pelo farmacêutico Francisco José de Abreu Matos, da Universidade do Ceará, com a finalidade de cultivar hortas de plantas medicinais em pequenas comunidades carentes de atendimento das atenções primárias de saúde, sem fins lucrativos, porém com assistência farmacêutica fitoterápica de base científica e de acordo com as recomendações da OMS (MATOS, 1994).

No Brasil, em 2001, foram realizados fóruns, seminários e conferências sobre plantas medicinais, assistência farmacêutica e fitoterápicos, que trouxeram subsídios para a regulamentação e normatização das ações do governo nessas áreas. As ações derivadas desses movimentos se concretizaram em 2004 na Política Nacional de Assistência Farmacêutica (PNAF), Política Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde (PNCTIS) e na Agenda Nacional de Prioridades de Pesquisa em Saúde (ANPPS). Em 2005, o Ministério da Saúde publica o documento “Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos” que irá contemplar serviços e produtos relacionados à medicina tradicional chinesa/acupuntura, homeopatia e plantas medicinais e fitoterapia (BRASIL, 2006a; BRASIL, 2006b, BARRETO, 2011).

O Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos tem ações importantes para a melhoria do acesso da população aos medicamentos tais como: acesso seguro, uso racional de plantas medicinais, inclusão social e regional, incentivo à pesquisa, respeito ao conhecimento indígena, além do uso sustentável da biodiversidade brasileira (BRASIL, 2012).

A prática da legislação da fitoterapia facilita a institucionalização num contexto de progresso e consolidação do SUS, aumentando as discussões sobre a expansão da humanização dos cuidados de saúde nos serviços públicos, melhorando a assistência e participação da comunidade e o conhecimento popular. Portanto, a prática de medicina fitoterápica é dada como um processo democrático que promove ao usuário a escolha da melhor terapêutica. Com a criação da Estratégia de Saúde da Família (ESF) aumenta a oportunidade dos usuários de terem acesso a prática de medicina fitoterápica (SANTOS, 2008).

Também foram criados vários programas estaduais e municipais de fitoterapia implantados no SUS. Algumas capitais como Rio de Janeiro e Distrito Federal destacam-se por possuírem regulamentos próprios para o serviço de fitoterapia no SUS implementados há mais de 10 anos. Quanto aos programas municipais, podem ser citados os de Vitória (ES), Fortaleza (CE), Curitiba (PR), Campinas (SP), Belém (PA), Rio de Janeiro (RJ), Ipatinga (MG), Porto Alegre (RS), Goiânia (GO), entre outros (RODRIGUES, 2004).

A fitoterapia atua no ESF como complemento das terapêuticas e apresenta papel importante em relação à orientação da população quanto ao uso indiscriminado de algumas plantas medicinais, esclarece dúvidas e ensina a utilização correta das plantas, pois o uso incorreto pode acarretar acidentes graves (ARNOUS et al., 2005).

As plantas medicinais podem ser tóxicas, causar queimaduras, irritações e até serem letais, porém sua utilidade como adjuvante do tratamento convencional traz muitos benefícios. São classificadas por categoria, de acordo com sua ação no organismo, como: estimulantes, calmantes, emolientes, fortificantes, ação coagulante, diuréticas, sudoríferas, hipotensoras, reguladora intestinal, depurativas, remineralizantes e reconstituintes (ARNOUS et al., 2005; FERRO, 2008).

Pode-se utilizar várias partes das plantas medicinais para se obter a ação desejada, tais como: raízes, folhas, frutos, sementes, flores, cascas, etc. Porém existem métodos científicos padronizados para se realizar a retirada dos princípios ativos de dentro da planta, os principais métodos extrativos são: maceração, infusão, decocção, digestão, percolação, destilação, chás, alcoolaturas e cataplasmas (SIMÕES, 1998; FERRO, 2008).

O Brasil possui várias espécies de plantas medicinais, que são utilizadas através de chás, garrafadas, cataplasmas entre outros, mas a retirada excessiva das plantas sem o replantio e a exportação (Estados Unidos e Alemanha), fez com que algumas espécies ficassem ameaçadas de extinção, tais como: língua de vaca (*Plantago guilleminiana*), jaborandi (*Pilocarpus spp.*), arnica (*Lychnophora ericoides*), fava d'anta (*Dimorphandra mollis*), pau-brasil (*Caesalpinia echinata*) e várias outras espécies (SILVA et al., 2001).

O Ministério da Saúde visualizando espécies em extinção e o uso indiscriminado de plantas medicinais sem nenhuma normatização resolve então criar resoluções que normatizem o registro, o uso e a comercialização dos fitoterápicos (BRASIL, 2009; RAMALHO, 2012).

A resolução RDC n.º 17/2000 do Ministério da Saúde normatiza o registro de medicamentos fitoterápicos junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária

(ANVISA), substituída em 16 de Março de 2004 pela RDC n.º 48/2004, visando atualizar a normatização dos registros de medicamentos fitoterápicos. Em 31 de março de 2010 a ANVISA regulamenta através da RDC n.º 14/2010 a produção, comercialização, definição de termos técnicos, bem como o modo de usar de cada fitoterápico de acordo com comprovações científicas que estabelecem a indicação e os possíveis efeitos colaterais (BRASIL, 2000; BRASIL, 2004; TUROLLA, 2004; BRASIL, 2010).

A RDC n.º 14/2010 estabelece também a lista de 66 espécies de fitoterápicos indicando nomenclatura botânica, nomenclatura popular, parte utilizada, forma de utilização, posologia, indicação e contra indicação, efeitos adversos entre outras informações necessárias à população em geral. Na figura 1 pode-se visualizar algumas espécies conhecidas, sua nomenclatura botânica, nomenclatura popular e indicação (BRASIL, 2010).

Nomenclatura botânica	Nomenclatura popular	Indicação
<i>Achillea millefolium</i>	Mil folhas	Falta de apetite, dispepsia, febre, inflamação e cólicas.
<i>Allium Sativum</i>	Alho	Hipercolesterolemia, expectorante e antisséptico.
<i>Arnica Montana</i>	Arnica	Traumas, contusões, torções, edemas e hematomas.
<i>Baccharis Trimera</i>	Carqueja	Dispepsia
<i>Bidens pilosa</i>	Picão	Icterícia
<i>Calendula Officinalis</i>	Calêndula	Inflamações e lesões, contusões e queimaduras.
<i>Lippia Alba</i>	Erva cidreira	Quadros leves de ansiedade e insônia, como calmante suave. Cólicas abdominais, distúrbios estomacais, flatulência, digestivo e expectorante.
<i>Passiflora Edulis</i>	Maracujá azedo	Quadros leves de ansiedade e insônia, como calmante suave.
<i>Paullinia Cupana</i>	Guaraná	Estimulante
<i>Punica Granatum</i>	Romã	Inflamações e infecções da mucosa da boca e faringe como anti-inflamatório e antisséptico.
<i>Rhamnus Purshiana</i>	Cáscara sagrada	Constipação intestinal
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	Barbatimão	Lesões como cicatrizante e antisséptico tópico na pele e mucosas bucal e genital.

Figura 1. Relação de algumas espécies de fitoterápicos de acordo com a RDC n.º 14/2010. Fonte: BRASIL, 2010.

A fitoterapia permite que as pessoas interajam com a natureza especialmente com as plantas medicinais. O acesso a essas plantas permitem tratamento alternativo e até mesmo coadjuvante para ajudar a cura de doenças. Também está inserida na saúde pública exigindo que os profissionais estejam preparados para realização de palestras em educação em saúde junto à comunidade a fim de minimizar a ocorrência de casos de intoxicação ou de agravos à saúde pelo uso indevido das plantas medicinais (FRANÇA et al., 2008).

1.1. *Croton urucurana*

A origem da *Croton urucurana* acredita-se ser indígena por tribos que viviam no Oceano Índico na ilha de Socotra, porém existe uma grande divergência sobre sua origem e identidade, algumas fontes afirmam que a sangue de dragão provém das Ilhas Canárias, Madeira e Sudeste da Ásia e também da África Oriental e Ocidental. Os primeiros escritos sobre o seu emprego tradicional na medicina foi registrado por um naturalista e explorador espanhol chamado P. Bernab 'Cobo, em uma de suas expedições. Foi utilizada intensamente por tribos indígenas do México, Peru e Equador por volta do ano de 1600 (GUPTA et al., 2008).

Por possuir na entrecasca uma resina avermelhada (Figura 2) a *Croton urucurana* ficou popularmente conhecida como sangra d'água, sangue de dragão, sangue da água, *urucurana* e *lucurana* (LORENZI & MATOS, 2002).



Figura 2. Resina avermelhada da casca do caule da *Croton urucurana*. Fonte: Prof.^a Dr.^a Leonice Manrique Faustino Tresvensol e Prof. Dr. José Realino de Paula - UFG (2010).

Pertencente à família *Euphorbiaceae* é uma planta decídua de espécie arbórea, apresentando arbustos de 07 a 14m de altura (Figura 3) e o tronco variando de 25 a 35 cm de diâmetro. O gênero *Croton* apresenta várias espécies com características e propriedades semelhantes: *C.urucurana*, *C. salutaris*, *C. lechleri*, *C. planostigma* e *C. cajucara* (LORENZI & MATOS, 2002; MILO et al., 2002; GURGEL et al., 2005; LORENZI, 2002).



Figura 3. Arbusto da *Croton urucurana* Baill. Fonte: Prof.^a Dr.^a Leonice Manrique Faustino Tresvensol e Prof. Dr. José Realino de Paula - UFG (2010).

Comumente encontrada no Paraguai, norte da Argentina, Uruguai e no Brasil ocorrendo nos estados da Bahia, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Mato Grosso, Goiás e Mato Grosso do Sul. Cresce em solos arenosos e úmidos e também em brejos, quase sempre próximo às bordas de rios (Figura 4), principalmente em áreas de matas ciliares. Seu plantio é indicado em regenerações de matas de galerias e é protegida pela legislação ambiental brasileira (LORENZI & MATOS, 2002; ALVES et al., 2008).



Figura 4. *Croton urucurana* às margens do Rio João Leite no município de Goiânia – Goiás. Fonte: Prof.^a Dr.^a Leonice Manrique Faustino Tresvensol e Prof. Dr. José Realino de Paula - UFG (2010).

Suas folhas apresentam formas simples e ovaladas que lembram um coração (Figura 5), quando envelhecem adquirem coloração alaranjada.



Figura 5. Folhas da *Croton urucurana*. Fonte: Prof.^a Dr.^a Leonice Manrique Faustino Tresvensol e Prof. Dr. José Realino de Paula - UFG (2010).

Possuem botões e inflorescências com aspecto de espigadas terminais (Figura 6), que ao final apresentam flores pequenas branco-esverdeadas, florescendo nos meses de dezembro a junho (LORENZI & MATOS, 2002; LORENZI, 2002).

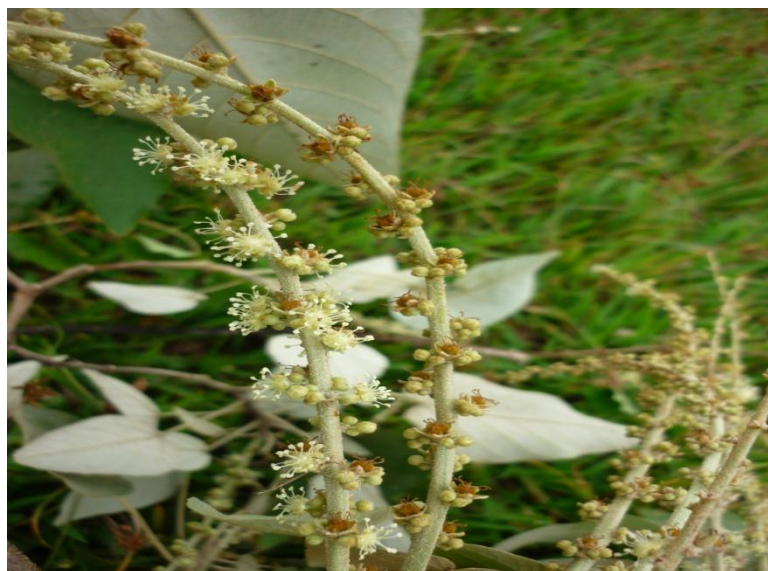


Figura 6. Flores e inflorescências da *Croton urucurana*. Fonte: Prof.^a Dr.^a Leonice Manrique Faustino Tresvensol e Prof. Dr. José Realino de Paula - UFG (2010).

Foi utilizada pelos gregos, romanos e árabes por suas propriedades medicinais, tais como: cicatrização de feridas, diarreia, coagulante, estados febris, úlceras de boca, garganta e eczema. Na China fizeram uso em fraturas, leucorreias, entorses, dores em geral e controle do sangramento menstrual (GUPTA et al., 2008). No Brasil, se destaca pelas atividades anti-inflamatórias, antiulcerogênica, cicatrizante, anticancerígena, antibacteriana, analgésica e anti-hipertensiva, além de mal estar gástrico, alívio de dores, vômitos, diarreia e febres (RANDAU et al., 2004; PASA et. al., 2005; LORENZI, 2002).

Segundo Rao et al., (2007), aplicada topicamente em feridas e picadas de insetos promovem a cicatrização. Esmeraldino et al., (2005), demonstrou que o extrato aquoso da casca do caule de *C. urucurana* antagoniza a atividade hemorrágica do veneno de *Bothrops jararaca*.

Também utilizada por culturas indígenas do Rio Amazonas para o tratamento de feridas infectadas e úlceras, a *Croton urucurana* possui óleos essenciais com características antioxidante e adstringente, além de ser apícola e rica em substâncias tanóides. Dessa espécie são utilizadas algumas partes da planta na medicina, tais como: as folhas, cascas do caule e o látex ou resina da casca do caule (PIRES et al., 2004; SIMIONATTO et al., 2007; LÓPEZ, 2010).

Estudos de Gurgel et al., (2000) mostraram que a *Croton urucurana* não é potencialmente tóxica. Do extrato da casca detectou-se a presença de vários terpenóides, como t-crotonina, t-desidrocrotonina, ácido acetil aleuritólico, além de t-desidrocrotonina que tem sido estudada extensivamente por sua atividade farmacológica (CAMPOS et al., 2002). Também foi encontrado na seiva da *Croton urucurana* açúcares como a fucose, arabinose e galactose (MILO et al., 2002).

Estudos realizados com ratos utilizando 200 a 400mg/kg da seiva vermelha da *Croton urucurana* evidenciaram que essa não exerce um efeito sedativo e nem causa deficiências motoras, apresentando um potencial de toxicidade baixo (RAO et al., 2007).

Oliveira, et al., (2008) identificaram que o látex da *Croton urucurana* apresentou atividade antibacteriana com espectro de ação maior que a atividade apresentada pelos extratos obtidos das folhas e entrecasca.

A atividade da *Croton urucurana* se deve a mais de um princípio ativo, mas o mais importante é o alcalóide chamado taspina, conhecida por estimular a contração da ferida, auxiliar na formação da crosta e na regeneração da pele, ajudando a rápida formação de colágeno. Esta ação se dá pelas catequinas e proantocianidinas presentes e seu mecanismo ação pode estar relacionado com a estimulação da quimiotaxia de fibroblastos (RISCO et al., 2001).

1.2. Processo inflamatório

A pele é o maior órgão do corpo humano, representando 15% de seu peso. Possui uma complexa estrutura de tecidos adaptada a exercer diferentes funções, tais como proteção do organismo de agentes externos, barreira contra perda excessiva de líquidos, regula a temperatura corpórea e percepção de estímulos táteis (SILVA et al., 2007; BORGES et al., 2008).

Está subdividida em três partes, dentre elas a epiderme (camada externa) formada por tecido epitelial, derme (camada intermediária) formada por tecido conjuntivo e hipoderme (camada interna ou subcutânea). A epiderme, histologicamente constituída das camadas basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea é um importante órgão sensorial. Na derme, encontramos os vasos sanguíneos, linfáticos, folículos pilosos, glândulas sudoríparas e sebáceas, pelos e terminações nervosas, além de células como: fibroblastos, mastócitos, macrófagos, plasmócitos entre outros. A hipoderme é constituída exclusivamente de tecido adiposo (NITZ et al., 2006; SILVA et al., 2007).

Por ser a primeira barreira de proteção do organismo contra agentes externos, a pele está sujeita a constantes agressões que no momento do trauma interrompe conexões vasculares e nervosas da pele, sendo que, quanto mais extenso for o traumatismo, maior é o número de elementos lesados (BORGES et al., 2008).

Ao ocorrer a ruptura da pele, na membrana das mucosas ou órgãos, as funções básicas de proteção da pele ficam comprometidas, resultando em feridas e/ou lesões causadas por um agente físico, químico ou biológico e dependendo da

intensidade do trauma, a ferida pode ser considerada superficial ou grave (CUNHA, 2006; BORGES et al., 2008).

A classificação constitui importante forma de sistematização, necessária para o processo de avaliação e registro. Assim, as feridas podem ser classificadas como: cirúrgica e não cirúrgica (SANTOS, 2000); simples, complexas, penetrantes e complicadas (MAVIOSSO, 2003); agudas e crônicas (BLANES, 2004); limpas, limpas contaminadas, contaminadas e infectadas (GEOVANINI et al., 2007); superficial, profunda superficial e profunda total (BORGES et al., 2008); patológicas e iatrogênicas (GEOVANINI et al., 2007; BORGES et al., 2008) e acidentais ou traumáticas (COLTRO et al., 2010).

A pele quando lesada, independentemente da etiologia da ferida, inicia o processo denominado cicatrização. O processo de cicatrização de feridas é composto de uma série de estágios complexos, interdependentes e simultâneos, que são descritos em três fases: a) inflamatória (defensiva ou reativa), b) proliferativa (reconstrução) e c) de maturação (remodelagem) (BORGES et al., 2008; ISAAC, et al., 2010).

A fase inflamatória é a reação imediata após o início do trauma e é definida como uma reação local dos tecidos a uma agressão, caracterizada por alterações do sistema vascular, dos componentes líquidos e celulares. Pode ser provocada por fatores endógenos ou exógenos e tem duração de 48 a 72 horas. Ocorre a ativação da cascata de coagulação, onde vários mediadores inflamatórios são produzidos e liberados por plaquetas e mastócitos. Estes são elementos-chave para orquestrar as reações inflamatórias em resposta aos ferimentos, além de induzir os sinais e sintomas do processo, tais como aumento da permeabilidade vascular e dor, a vasodilatação (calor e rubor) e quimiotaxia dos leucócitos, principalmente neutrófilos

e macrófagos (TEIXEIRA et al., 2003; MONTENEGRO & FRANCO, 2004; TSIROGIANNI et al., 2006; HATANAKA & CURI, 2007; LIMA et al., 2007; LARRARTE et al., 2007; TEIXEIRA et al., 2009).

Os mediadores inflamatórios originários do plasma (cininas e proteínas do sistema de coagulação e derivados) ou de células (eicosanóides, citocinas, quimiocinas, histamina, serotonina e prostaglandina) são produzidos na circulação ou na proximidade do ferimento por células endoteliais e células residentes. As prostaglandinas são essenciais no processo de cicatrização, pois, favorecem a exsudação vascular, estimulam a mitose celular e a quimiotaxia de leucócitos (TEIXEIRA et al., 2003; HATANAKA & CURI, 2007; TAZIMA et al., 2008; TEIXEIRA et al., 2009).

O segundo estágio do processo de cicatrização é a fase proliferativa que se inicia por volta do 3º dia após a lesão e dura de 2 a 3 semanas. Caracteriza-se pelos seguintes fenômenos: fibroplasia, angiogênese, formação do tecido de granulação, contração da ferida e reepitelização. O tecido de granulação é constituído por um leito capilar, fibroblastos, macrófagos, rede de colágeno, fibronectina e ácido hialurônico (TAZIMA et al., 2008; ISAAC et al., 2010).

A fibroplasia realizada pelos fibroblastos tem função de sintetizar e secretar colágeno, elastina e proteoglicanos. O colágeno é reponsável pela sustentação e força tensil da cicatriz, porém o processo de cicatrização não se encerra ao final da síntese do colágeno, mas continua sob a forma de remodelação (TORRES-NETO et al., 2007; BORGES et al., 2008; TAZIMA et al., 2008).

A angiogênese é o processo de formação de novos vasos sanguíneos, também responsável pela nutrição do tecido e aumento do aporte de células como macrófagos e fibroblastos para o local da ferida. A etapa final da fase proliferativa é

a reepitelização (reestruturar funções da epiderme) e contração da ferida onde as margens do ferimento são unidas (TAZIMA et al., 2008; ISAAC et al., 2010).

Por fim o terceiro e último estágio é a fase de maturação, também chamada de fase de remodelagem e consiste na reorganização das fibras colágenas que é um processo que permite o tecido cicatricial aleatoriamente depositado na ferida, seja orientado de forma linear e lateral (MANDELBAUM et al., 2003; SILVA et al., 2007).

Nos dias de hoje, vivenciamos uma revolução na abordagem e terapêutica de feridas, principalmente quanto aos tratamentos tópicos. O tratamento de feridas é denominado terapia tópica da lesão e tem dois componentes fundamentais: a limpeza (que inclui o debridamento) e a cobertura (SANTOS, 2000; GEOVANINI et al., 2007).

A escolha do tratamento para uma ferida depende do seu grau de contaminação, da maneira como foi produzida, dos fatores locais e sistêmicos relacionados com o processo de cicatrização e da presença ou não de exsudatos. Além disso, deve ser avaliada a dor, edema, extensão e profundidade da lesão, as características do leito da ferida, características da pele ao redor e exsudato. É feito através de curativos que é a proteção da lesão ou ferida, contra a ação de agentes externos físicos, mecânicos ou biológicos, consiste na limpeza e aplicação de produtos e coberturas estéreis, com a finalidade de promover a rápida cicatrização (BLANES, 2004; GEOVANINI et al., 2007).

1.3. Inflamação provocada por envenenamento botrópico

O veneno de uma serpente possui vários componentes, dentre eles substâncias como proteínas, toxinas ou enzimas com atividades tóxicas,

carboidratos, lipídios, aminas biogênicas, nucleotídeos, aminoácidos, peptídeos e componentes inorgânicos, que podem causar feridas agudas, variando em tamanho e complexidade e dependendo do volume e tipo de toxina, injetada com a picada (CAPRONI, 2009; LEE & HANSEN, 2009).

A sintomatologia típica do envenenamento botrópico é causada por componentes cujas atividades estão relacionadas a três atividades principais: proteolítica ou inflamatória aguda, coagulante e hemorrágica (RIBEIRO & JORGE, 1997).

A atividade proteolítica, que é de suma importância para a caracterização clínica do acidente, resulta atividade inflamatória aguda responsável pelas alterações que ocorrem no local da picada. A dor é imediata e de intensidade variável, seguida de eritema e edema local. As equimoses, bolhas e necroses podem aparecer em dias sucessivos. A ação coagulante se deve a uma fração do veneno do tipo protombina que ativa a coagulação e por último a atividade hemorrágica com ruptura da integridade do endotélio vascular, podendo ocasionar hemorragias em diversos locais (AZEVEDO-MARQUES et al., 2003).

Uma das complicações locais mais graves, causadas pelo envenenamento botrópico são o abscesso e a necrose. O abscesso causado pela ação proteolítica do veneno favorece o aparecimento de infecções locais, pois, os agentes patogênicos que causam essa infecção podem provir da boca do animal ou da pele do acidentado. As bactérias isoladas desses abscessos são bacilos Gram-negativos, anaeróbios e, mais raramente, cocos Gram-positivos. A necrose causada principalmente pela ação proteolítica do veneno está associada à isquemia local decorrente de lesão vascular e de outros fatores como infecção, trombose arterial, síndrome de compartimento ou uso indevido de torniquetes (BRASIL, 2001).

A necrose coagulativa com hialinização das fibras musculares está associada à hipóxia celular e à compressão, ocasionada pela intensa hemorragia que impede a adequada oxigenação dos tecidos nessa área (CALDAS et al., 2008). A diminuição do fluxo sanguíneo local provoca uma diminuição da respiração mitocondrial, causando alterações na membrana celular, como diminuição da eliminação de sódio, com conseqüente aumento da relação Na/K e aumento de água no interior da célula (ROCHA, 2003).

Estas reações são de extrema importância nestes envenenamentos por se iniciarem imediatamente após a picada e terem uma rápida progressão. Experimentalmente, Gonçalves & Mariano (2000) demonstraram que um minuto após a injeção do veneno de *Bothrops jararaca* na bolsa escrotal de ratos ocorre desorganização das fibras colágenas e desgranulação de mastócitos. Dado esse de extrema relevância, uma vez que estas células possuem no interior de seus grânulos histamina, uma amina vasoativa responsável pelo aumento da permeabilidade celular.

Devido à sua rápida progressão, as reações locais induzidas por venenos botrópicos são pouco neutralizadas pela soroterapia. A literatura demonstra que o soro antibotrópico é eficiente em inibir o edema induzido pelo veneno de *Bothrops jararaca* e *Bothrops asper* em ratos, somente quando administrado antes do envenenamento ou imediatamente após a injeção do veneno (PICOLO et al., 2002).

O tratamento específico consiste na administração, o mais precocemente possível, do soro antibotrópico (SAB) por via intravenosa e, na falta deste, das associações antibotrópico-crotálica (SABC) ou antibotropicolaquética (SABL). Como tratamento geral, são tomadas medidas, tais como, elevação e extensão do membro afetado pela picada, uso de analgésicos para alívio da dor, hidratação e

antibioticoterapia. Como tratamento das complicações locais, como por exemplo, as necroses, são indicadas debridamento de áreas necrosadas delimitadas e a drenagem de abscessos (BRASIL, 2001).

Alguns fitoterápicos também são utilizados no tratamento de feridas necrosadas causadas por acidentes botrópicos. No estudo de Borges (2011), feridas cutâneas necrosadas em camundongos causadas por acidente botrópico, foram tratadas com extrato das folhas e da raiz da *Cassia occidentalis* a 10% e apresentaram processo de cicatrização completo em 14 dias de tratamento.

O extrato da *Calendula officinalis* utilizado em feridas necrosadas por envenenamento ofídico promoveu atividade antiinflamatória, analgésica e bactericida, além de proteger contra a ação miotóxica da peçonha (MISE et al., 2009).

Em outro estudo com camundongos e acidentes botrópico, Silva & Fernandes (2008), demonstraram que a *Marsypianthes chamaedrys* promoveu um aumento do número de linfócitos e a diminuição de neutrófilos no período de 6 horas, sugerindo assim que a planta inibe a resposta inflamatória.

Na medicina popular brasileira as plantas de diversas regiões do país são utilizadas com o intuito de promover uma melhor cicatrização de feridas cutâneas, entre elas pode-se citar a *Croton urucurana*, por ser uma planta com poderes curativos e que aceleram a cicatrização (LORENZI & MATOS, 2002; SIMIONATTO et al., 2007).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a atividade cicatrizante de extratos das cascas do caule de *Croton urucurana* nas feridas cutâneas de camundongos, induzidas pelo veneno de *Bothrops moojeni*.

2.2. Objetivos específicos

- a) Determinar a dose mínima necrosante do veneno da serpente *Bothrops moojeni*
- b) Determinar o grau de contração das feridas cutâneas em camundongos, induzidas pelo veneno de serpente *Bothrops moojeni*
- c) Avaliar histologicamente a atividade cicatrizante de extratos das cascas do caule de *Croton urucurana* em feridas cutâneas de camundongos, induzidas pelo veneno de serpente *Bothrops moojeni*

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Tipo de estudo

Pesquisa experimental analítica. Realizada de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, Resolução Nº 879 do Conselho Federal de Medicina Veterinária, Lei Nº 11764/08. E conta com o parecer favorável pela Comissão de Ética em pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (parecer Nº 001/2010).

3.2. Local de estudo

O experimento foi realizado no biotério do Centro de Estudos e Pesquisas Biológicas (CEPB/PUC-GO). O biotério conta com área adequada para o alojamento dos animais em sala climatizada com temperatura controlada entre 23 e 20C, umidade relativa do ar de 50-70% e observação de fotoperíodo claro/escuro de 12 h.

3.3. Material botânico

O material botânico, constituído por cascas do caule da *Croton urucurana* foram coletadas em Goiânia, no mês de Junho/2010 período de floração da *Croton urucurana*, às margens do Rio João Leite, pois, é uma espécie arbórea sempre encontrada às margens de rios, desde a beira d'água até as bordas externas das matas ciliares. Uma exsicata se encontra depositada no herbário da Universidade Federal de Goiás (UFG), sob o Nº43. 857.

3.4. Extrato etanólico bruto

Em vários estudos foram utilizadas partes da planta, tais como: as folhas, cascas do caule e o látex ou resina da casca do caule (PIRES et al., 2004; SIMIONATTO et al., 2007; LÓPEZ, 2010). Foi demonstrado que no extrato da casca detectou-se a presença de vários terpenóides que tem sido estudada extensivamente por sua atividade farmacológica conhecida por estimular a contração da ferida (RISCO et al., 2001; CAMPOS et al., 2002). A seiva contém mais açúcares do que terpenóides, apresentando atividade antibacteriana com espectro de ação maior do que atividade cicatrizante (OLIVEIRA, et al. 2008). Desta forma, justifica-se a escolha do extrato em estudo.

As cascas do caule foram fragmentadas e colocadas em estufa com ventilação forçada à 40°C, até secagem. A amostra foi triturada em moinho de facas tipo Willey, até obtenção do pó.

O pó obtido das cascas do caule da *Croton urucurana* foi acondicionado em recipiente adequado e submetido a um processo de maceração dinâmica a frio em um agitador mecânico, por quatro horas, usando etanol a 96% P.A. O extrato obtido foi filtrado e concentrado em rotaevaporador em temperatura à 40°C. O resíduo vegetal foi extraído mais três vezes pelo mesmo processo e as frações reunidas e concentradas, constituindo o extrato etanólico bruto das cascas do caule da *Croton urucurana* (EECC), de acordo com o protocolo utilizado por Ferri (1996).

Utilizou-se um cálculo matemático através da regra de três simples para encontrar o valor necessário de gramas (extrato) para diluição em porcentagem. Assim o extrato foi diluído proporcionalmente em solução salina (SF 0,9%) para obtenção das concentrações de 10%, 20% e 40%.

3.5. População/amostra

Foram utilizados para este estudo camundongos Swiss, machos, com massa corpórea variando de 18 a 25 g, não-isogênicos, provenientes de colônias mantidas no Biotério da Indústria Química do Estado de Goiás (IQUEGO) e mantidas no biotério do Centro de Estudos e Pesquisas Biológicas, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (CEPB/PUC-GO).

Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, individualmente. A cama dos animais foi preparada com palha de arroz seca trocada a cada 48h. Para a realização dos testes foi observado o período mínimo de cinco (05) dias de aclimação dos animais ao novo ambiente.

A alimentação foi com ração comercial (Labina/Purina) de boa qualidade e adequada às necessidades nutritivas dos animais. Não houve restrição à alimentação e água durante o experimento.

3.6. Determinação da dose mínima necrosante

A ferida a ser tratada foi provocada pela injeção do veneno bruto de *Bothrops moojeni*. Para definir a dose mínima necrosante (DMN), foi realizado um experimento piloto, utilizando cinco camundongos.

Os camundongos foram anestesiados com tiopental sódico na dose de (40mg/kg). Depois de anestesiados receberam intradermicamente na pele da região dorsal a peçonha em diferentes concentrações. O camundongo 1 foi inoculado com 50 µg/50 µL de salina, camundongo 2 com 80 µg/50 µL de salina, camundongo 3 com 100 µg/50 µL de salina, camundongo 4 com 120 µg/50 µL de salina e

camundongo 5 150 µg/50 µL de salina, a fim de provocar uma necrose com 10mm de diâmetro.

Ao final do experimento piloto todos os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e posteriormente cremados.

3.7. Avaliação da atividade cicatrizante

Os animais foram pesados e distribuídos aleatoriamente em cinco grupos de doze animais cada (n=12): GC – Grupo Controle, cujas feridas não receberam nenhum tipo de tratamento, GS – Grupo Soro, cujas feridas foram tratadas com solução salina, GT1 – Grupo Tratamento, cujas feridas foram tratadas com o extrato etanólico das cascas de *Croton urucurana* (EECC) na concentração de 10%, GT2 – Grupo Tratamento, cujas feridas foram tratadas com o extrato etanólico das cascas de *Croton urucurana* (EECC) na concentração de 20% e GT3 – Grupo Tratamento, cujas feridas foram tratadas com o extrato etanólico das cascas de *Croton urucurana* (EECC) na concentração de 40%.

Foi injetado 120 µg de peçonha diluída em 50 µL salina na pele da região dorsal dos camundongos. Após 24 horas da obtenção da ferida pela injeção do veneno bruto de *Bothrops moojeni*, iniciou-se pela manhã os curativos nos diferentes grupos exceto o grupo controle (GC). Os curativos foram realizados diariamente no mesmo horário, sempre na parte da manhã das 08hs às 11hs.

Foram instiladas através de pipetas automáticas 100 µL da solução teste (EECC) nas devidas concentrações de acordo com o grupo, nas feridas dos animais por quinze dias.

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, presença ou não da perda de pêlos e bordas da ferida, sendo os dados registrados em fichas individuais. Dois animais de cada grupo eram eutanaziados por deslocamento cervical aos 2, 7, 12 e 15 dias de tratamento, para a colheita de fragmento de pele na área da ferida, conforme protocolos preconizados por Lopes et al. (2005) e Garros et al. (2006).

Para a análise morfométrica, as feridas foram fotografadas nos dias 2, 7, 12 e 15, utilizando-se uma câmara digital (Sony CYBER-SHOT) adaptada a um tripé fixo e mantida a uma distância constante de 46 cm da ferida com um zoom de 64%. As imagens foram transferidas para um microcomputador e analisadas utilizando-se o software Image J 1.3.1 (NIH, EUA).

Para avaliar o grau de contração da área da ferida foi utilizada a fórmula seguinte, segundo Al-Watban & Andres (2003) e Oliveira et al. (2000).

$$\text{Contração relativa da ferida (\%)} = \frac{(\text{Área lesada inicial} - \text{Área contraída})}{\text{Área lesada inicial}} \times 100$$

Ao final do experimento todos os animais foram eutanaziados por deslocamentos cervical e posteriormente cremados.

3.8. Análise Histológica

Para análise histológica foi retirada uma margem de 1 cm de pele em torno da lesão, fixado em formol tamponado a 10% (LUNA, 1968) e submetido às técnicas histológicas convencionais e encaminhados ao laboratório de patologia da Pontifícia

Universidade Católica de Goiás (PUC-GO). Os cortes histológicos foram submetidos à coloração com hematoxilina-eosina (H.E) e tricrômico de Masson (T.M). Foram avaliados os parâmetros de infiltrado inflamatório de polimorfonucleares, neoformação vascular (angiogênese), neoformação de folículos pilosos e hialinose de colágeno.

3.9. Análise Estatística

O estudo estatístico foi realizado pelo programa SOFTWARE: SPSS 20.0.0. Para análise dos resultados foram aplicados os seguintes testes: análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS complementadas pelo Teste de Comparações Múltiplas (método de Dunn) com finalidade de comparar as medidas do tamanho da lesão efetuadas nos períodos 2, 7, 12 e 15 dias de tratamento. Esta análise foi feita para o grupo controle (GC) em relação ao grupo GS, GT1, GT2 e GT3. Fixou-se em 0,05 ($p < 0,05$) o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Padronização da dose necrosante

Após 24 horas da injeção do veneno bruto de *Bothrops moojeni* nos camundongos, foi avaliada a dose mínima necrosante (DMN). Observou-se que o camundongo 4 produziu uma necrose de 10 mm de diâmetro, enquanto os camundongos 1, 2 e 3 não apresentaram necrose e o camundongo 5 veio a óbito. Foi observado que 120 µg da peçonha diluída em 50 µL salina conseguiu produzir uma necrose de 10 mm de diâmetro em 24 horas.

Este resultado difere do estudo realizado por Theakston & Reid (1983). Estes autores injetaram intradermicamente no dorso da pele de camundongos, 40 µg de peçonha diluída do gênero *Bothrops atrox asper* em 50 µL de solução salina e observaram uma necrose com 10mm de diâmetro em 60 minutos.

A diferença decorre pela composição do veneno apresentar características particulares, o gênero *Bothrops atrox asper* possui ligação da heparina com um sítio rico em lisina da miotoxina (MjTX-II), resultando na neutralização das suas atividades citolítica e miotóxica in vitro e in vivo, já a *Bothrops moojeni* apresenta três miotoxinas: a toxina (MOO-1) que possui elevada atividade fosfolipase, miotoxina I (MjTX-I) e miotoxina (MjTX-II). A miotoxina II da *Bothrops atrox asper* por fazer ligação com a heparina induziu a mionecrose e bloqueou a junção neuromuscular em testes com ratos com um volume de peçonha (DMN) menor que a utilizada no presente estudo (LOMONTE et al., 1994 a, b; STÁBELI et al., 2006; PERCHUC et al., 2010).

Foram realizados outros estudos de padronização da DMN, porém não foram especificados os valores da dose utilizada e/ou o tamanho da necrose produzida. Dentre esses estudos destacam-se Villarroel (1978) apud Vilar et al., (2005), que definiu a menor quantidade de veneno botrópico necessária para provocar uma área de necrose de 0.6 a 0.8 mm² em 72 horas em camundongos, bem como a quantidade necessária de antiveneno específico para impedir a ação local dessa dose mínima após a aplicação de veneno necrosante. Furtado et al., (1991) avaliou o efeito edematogênico e necrótico do veneno botrópico, injetando peçonha diluída em 50 µL de solução salina, obtendo necrose em 24 horas.

4.2. Análise macroscópica das feridas

As crostas começaram a se formar após 24 horas da indução com a peçonha, apresentado-se espessas e ressecadas em todos os camundongos. Aos sete dias, os camundongos tratados com EECC a 10% (GT1) apresentavam crostas com bordas regulares, cor vermelho claro que se destacavam com facilidade. Os camundongos dos grupos GT2 (EECC a 20%) e GT3 (EECC a 40%), apresentavam crostas com bordas irregulares, com coloração vermelho escuro e grudadas à pele. Os grupos GC e GS apresentaram crostas irregulares, maiores, grudadas à pele e de cor acastanhada.

Ao 12º dia houve sinais de cicatrização em todos os grupos (GC, GS, GT1, GT2 e GT3) e nos grupos GT1 e GT2 houve ausência total de crosta e pele de aspecto rosado. No 15º dia os grupos GS, GT1, GT2 e GT3 apresentaram pêlos na região onde existia a ferida cutânea, ausência de crostas, aspecto rosado e cicatrização completa. O grupo GC, não apresentava crosta, porém tinha aspecto

avermelhado e uma área com ausência de pêlos maior que os grupos GS, GT1, GT2 e GT3.

No decorrer do tratamento foi observado que em nenhum dos dias (2, 7, 12 e 15) as feridas cutâneas apresentaram exsudato, porém houve sinais evidentes de isquemia, equimoses e necroses, devido à ação proteolítica, coagulante e hemorrágica do veneno da *Bothrops moojeni*. Estes dados corroboram com os achados de Ribeiro & Jorge (1997), Barraviera & Pereira (1999) e França & Málaque (2003).

Antonio (2005) tratou feridas cutâneas de camundongos com creme contendo extrato de *Croton urucurana*, aplicado diariamente, uma vez ao dia com o auxílio de espátulas de madeira. Para causar a lesão foi utilizado um punch metálico que produziu uma lesão de 10 mm de diâmetro na região dorsal do tórax. Observou no sétimo dia de tratamento que as feridas do grupo controle apresentavam aspecto mais úmido, crostas irregulares e coloração vermelho claro. O grupo tratado com creme de *Croton urucurana* apresentavam crostas também vermelho claro, contornos regulares e formação de tecido de granulação, o que também foi observado nas feridas cutâneas dos camundongos tratados com EECC (GT1, GT2 e GT3) no presente estudo.

Em outro estudo semelhante, Cavalcanti (2008) realizou um experimento utilizando o óleo essencial do *Croton zehntneri* numa concentração de 2%, 10% e 20% na cicatrização de feridas cutâneas em camundongos. As lesões de 5 mm na região dorsal do animal foram obtidas através de um punch metálico. Foi observado no 10º dia que os grupos tratados com *Croton* a 2% e 10%, grupo controle e grupo salina ainda apresentaram crostas grudadas à pele, com coloração pouco avermelhada, aspecto mais úmido e tecido de granulação moderado em relação ao

grupo tratamento com *Croton* a 20% que apresentou ausência total de crostas sobre as lesões e intenso grau de tecido de granulação.

4.3. Grau de contração das feridas cutâneas

Em todos os grupos do presente estudo não foi observada retração das feridas no 2º dia após o inóculo da peçonha (Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn). Cavalcanti (2008) utilizou em seu experimento com camundongos a *Croton zehntneri* (2%, 10% e 20%) no tratamento de feridas cutâneas produzidas por punch metálico. Ao mensurar a área das feridas cutâneas no 3º dia de tratamento observou que as lesões dos grupos tratados com *Croton zehntneri* não apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparadas ao grupo controle.

No 7º dia após inóculo da peçonha apenas o grupo GT1 apresentou uma maior retração da ferida em relação ao grupo controle (GC) (Figura 7).

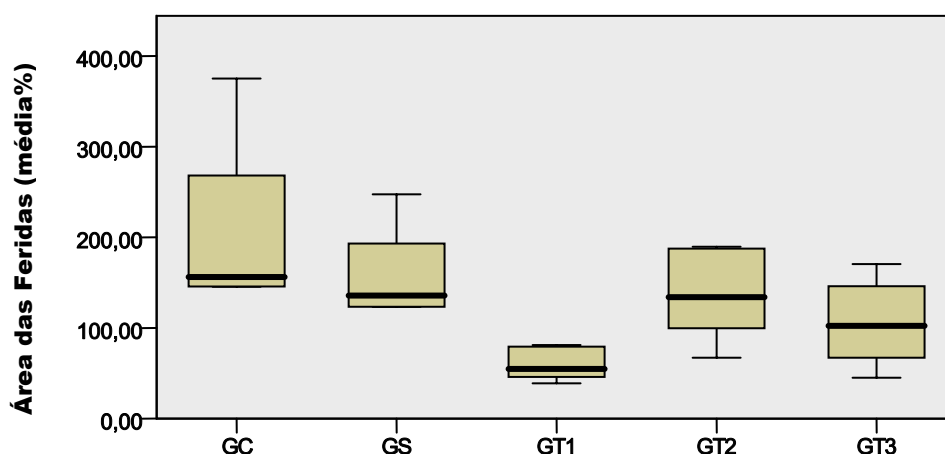


Figura 7. Área das feridas em camundongos no 7º dia de experimento. As barras representam a mediana e a variação do valor máximo e mínimo das médias entre os grupos controle (GC), grupo soro (GS), grupo tratamento EECC 10% (GT1), grupo tratamento EECC 20% (GT2), grupo tratamento EECC 40% (GT3). $P > 0,05$ (Teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn).

Antonio (2005) observou no 7º dia de tratamento das feridas produzidas por punch, uma área menor no grupo controle com diferença estatística em relação ao grupo tratado com extrato etanólico em creme de *C. urucurana*. Cavalcanti (2008), em seu experimento também tratou feridas cutâneas de camundongos, porém utilizou a *Croton zehntneri* na concentração de 2%, 10% e 20% e observou no 7º dia de tratamento uma diferença significativa na redução da área das feridas tratadas com *Croton* a 20% em relação às feridas tratadas com *Croton* a 2% e 10% e grupo controle.

As áreas das feridas cutâneas dos camundongos tratados com *Croton urucurana* 10% (GT1) do presente estudo, diminuíram significativamente no 7º dia de tratamento em relação aos grupos (GC, GS, GT2 e GT3). Estes dados estão de acordo com os achados de Cavalcanti (2008), embora este pesquisador tenha utilizado a *Croton zehntneri* e diferem dos de Antonio (2005). Uma das possíveis explicações para essa diferença é o fato, de ter sido utilizado no seu estudo o creme contendo extrato de *Croton urucurana*, glicerina, água, álcool e sulfato de sódio.

Vários pesquisadores relatam que a associação de outras substâncias (água, glicerina, sulfato de sódio, ácido linoleico) ao extrato etanólico da *C. urucurana*, pode interferir no processo de cicatrização da ferida. A água por promover umidade local, melhorando a taxa de reepitelização em 50%, a glicerina e o ácido linoleico atuam como ácidos graxos essenciais (AGE) agindo no aumento da resposta imune e acelerando o processo inflamatório estimulando a angiogênese e epitelização e o sulfato de sódio por possuir ação antiinflamatória (MILO et al., 2002, LORENZI, 2002, MANDELBAUM et al., 2003; DI NARDI et al., 2004; PIRES et al., 2004; SIMIONATTO et al., 2007; LÓPEZ, 2010).

A área da ferida cutânea dos camundongos dos grupos GT1, GT2 e GT3 retraíram significativamente quando comparadas ao grupo controle (GC) no 12º dia após a indução da necrose (Figura 8). Um camundongo do GT2 e outro do GT3 apresentaram cicatrização total no 12º dia.

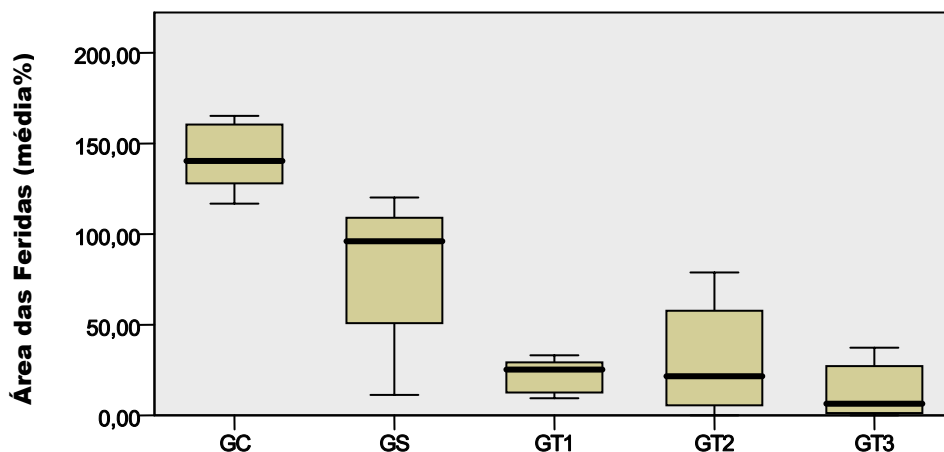


Figura 8. Área das feridas em camundongos no 12º dia de experimento. As barras representam a mediana e a variação do valor máximo e mínimo das médias entre os grupos controle (GC), grupo soro (GS), grupo tratamento EECC 10% (GT1), grupo tratamento EECC 20% (GT2), grupo tratamento EECC 40% (GT3). $P < 0,05$ (Teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn).

Não foram encontradas referências na literatura sobre a mensuração da área de feridas cutâneas de camundongos tratados com *Croton urucurana* e demais espécies da mesma família no 12º dia de tratamento.

No 15º dia de tratamento das feridas cutâneas, observou-se macroscopicamente uma pequena diferença quanto ao tamanho da área da lesão entre o grupo controle (GC) e os grupos tratamentos (GS, GT1, GT2 e GT3), porém estatisticamente o grupo controle (GC) não apresentou diferença significativa em relação ao tamanho da área da ferida dos grupos tratamentos (GS, GT1, GT2 e GT3), pois, estavam com processo cicatricial completo (Figura 9).

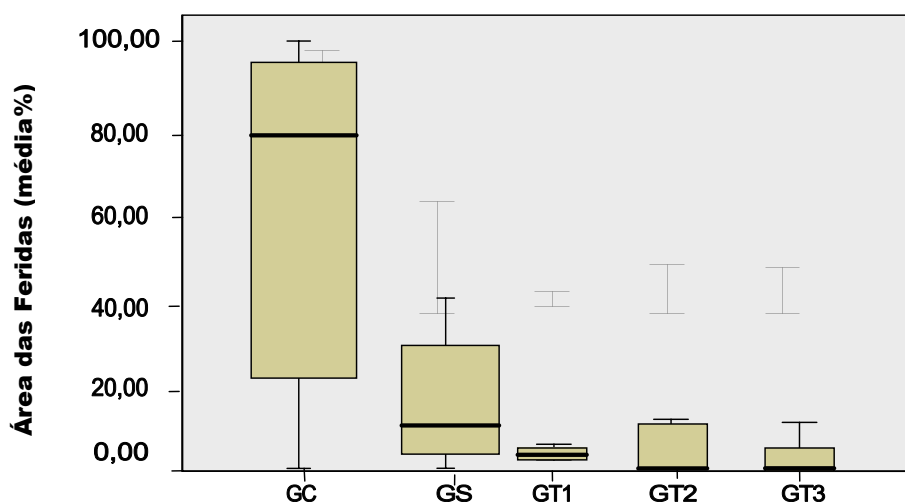


Figura 9. Área das feridas em camundongos no 15º dia de experimento. As barras representam a mediana e a variação do valor máximo e mínimo das médias entre os grupos controle (GC), grupo soro (GS), grupo tratamento EECC 10% (GT1), grupo tratamento EECC 20% (GT2), grupo tratamento EECC 40% (GT3). $P > 0,05$ (Teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn).

Campos (2009) utilizou a seiva da *Croton lechleri* para tratar feridas cutâneas de ratos, causadas por lâmina de bisturi número 15 na região dorsal. O pesquisador observou no 15º dia de tratamento das lesões, que o grupo controle apresentava a área da ferida cutânea maior em relação ao grupo tratado com *Croton lechleri*. Cavalcanti (2008) ao avaliar a área das feridas cutâneas de camundongos tratados com *Croton zehntneri* na concentração de 20%, no 15º dia de tratamento, também observou que as áreas das feridas cutâneas apresentaram-se significativamente menores quando comparados ao grupo controle.

O tratamento das feridas cutâneas induzidas por peçonha de *Bothrops moojeni* com o extrato etanólico das cascas da *Croton urucurana* nas concentrações de 10%, 20% e 40% aceleram o processo de cicatrização das feridas no 12º dia, como pode ser observado na tabela 1.

Tabela 1. Médias da contração das feridas cutâneas em camundongos (%) (n=12) do grupo controle (GC), grupo soro (GS), grupo tratamento EECC 10% (GT1), grupo tratamento EECC 20% (GT2) e grupo tratamento EECC 40% (GT3), nos 7, 12 e 15 dias de tratamento.

Grupos	7 dias	12 dias	15 dias
Grupo Controle	5,17 %	30,89 %	70,43 %
Grupo Soro	27,65 %	33,21 %	92,71 %
Grupo Tratamento 10%	64,51 %	87,35 %	96,71 %
Grupo Tratamento 20%	24,97 %	84,32 %	96,49 %
Grupo Tratamento 40%	40,16 %	92,85 %	98,06 %

(Para avaliar o grau de contração da área da ferida foi utilizada a fórmula segundo Al-Watban & Andres, 2003 e Oliveira et al., 2000).

4.4. Avaliação microscópica da atividade cicatrizante de EECC em feridas cutâneas

No sétimo dia de tratamento após a inoculação do veneno, observa-se no grupo GC necrose de coagulação difusa que atinge a hipoderme e músculo cutâneo, abaixo do qual se observa área de hemorragia (H.E. 400 x). O grupo GT1 caracteriza-se pela proliferação de fibroblastos e neoformação vascular (angiogênese) (H.E. 300 x). Ainda no sétimo dia o grupo GT2 apresentou área de reparação, com reação de granulação fibrovascular sobre a qual nota-se reepitelização por epitélio queratinizado típico (H.E. 120 x). No grupo GT3 pode ser observado tecido de reparação relativamente frouxo, com reação de granulação fibrovascular inicial, caracterizada pela proliferação de fibroblastos e expressiva neoformação vascular (angiogênese) (H.E. 300 x) (Figura 9).

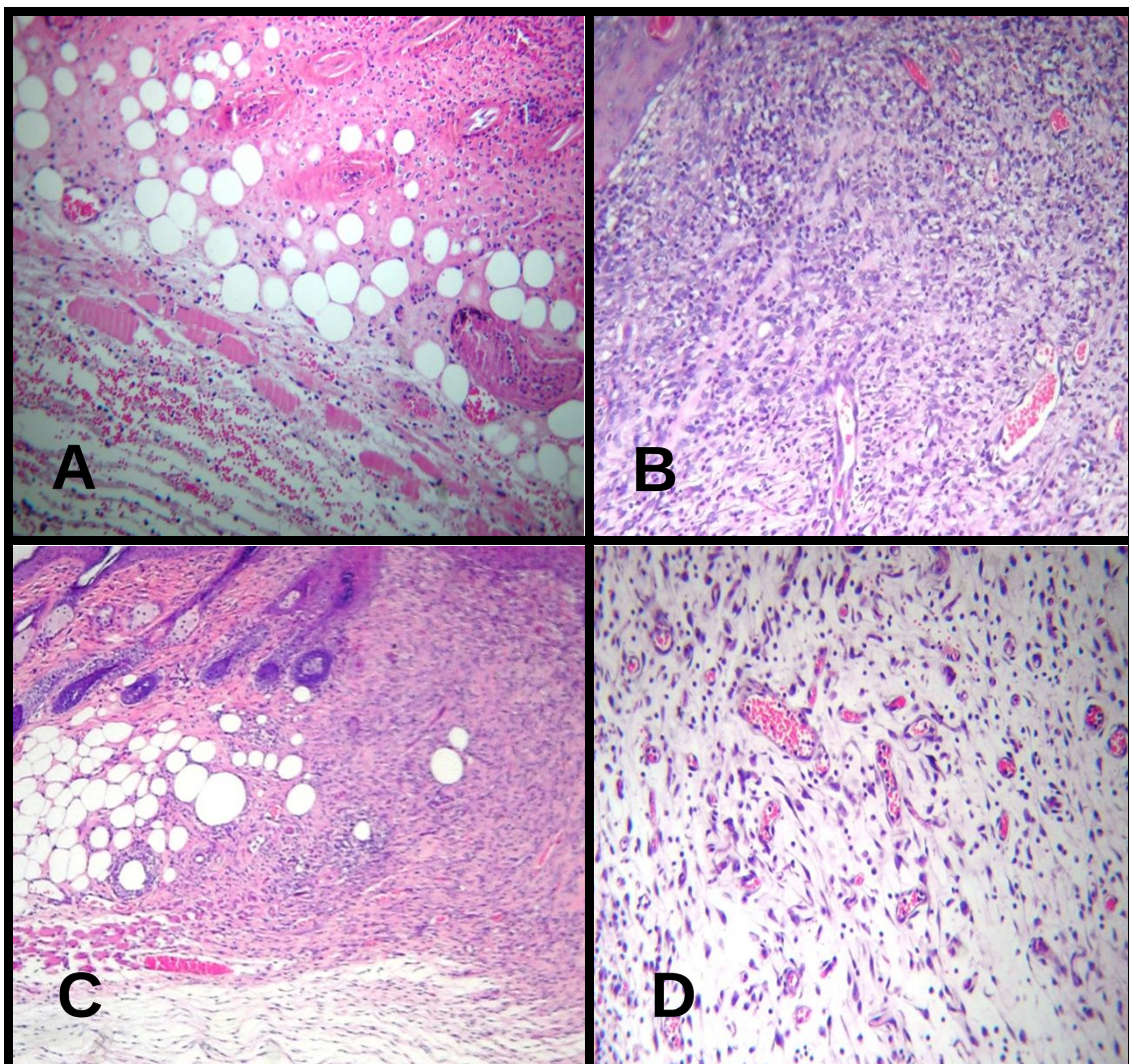


Figura 10. Fotomicrografias das feridas cutâneas de camundongos no 7º dia de tratamento após a inoculação da peçonha. (A) Grupo controle (GC) apresentando necrose de coagulação difusa que atinge a hipoderme e músculo cutâneo, abaixo do qual observa-se área de hemorragia. H.E. 400 x. (B) Grupo tratamento (GT1) nota-se processo de reparação, com reação de granulação fibrovascular, caracterizada pela proliferação de fibroblastos e neoformação vascular (angiogênese). H.E. 300 x. (C) Grupo tratamento (GT2) apresenta área de reparação, com reação de granulação fibrovascular sobre a qual nota-se reepitelização por epitélio queratinizado típico. H.E. 120 x. (D) Grupo tratamento (GT3) nota-se tecido de reparação relativamente frouxo, com reação de granulação fibrovascular inicial, caracterizada pela proliferação de fibroblastos e expressiva neoformação vascular (angiogênese). H.E. 300 x.

Cavalcanti (2008) tratou lesões cutâneas de camundongos com *Croton zehntneri* na concentração de 2%, 10% e 20%, porém o grupo tratamento na concentração de 20% apresentou no 7º dia de experimento intenso grau de tecido de granulação, epitélio queratinizado com leve infiltrado inflamatório, presença de fibroblastos e colágeno desorganizado em relação ao grupo controle e aos grupos

tratamentos (2% e 10%), onde apresentaram tecido de granulação moderado e desorganização de poucas fibras colágenas.

Num estudo semelhante com camundongos utilizando *Croton lechleri* em feridas cutâneas Campos (2009), no 7º dia de experimento, observou no grupo controle raros fibroblastos, macrófagos, linfócitos e extensas áreas com tecido conjuntivo pouco organizado exibindo vasos sanguíneos, porém o grupo tratamento com *Croton lechleri* apresentou moderado número de fibroblastos, macrófagos, linfócitos e polimorfonucleares neutrófilos, demonstrando um processo cicatricial mais acelerado que o grupo controle.

Ao 12º dia de tratamento o grupo GC apresentou moderada produção de colágeno evidenciado pela coloração esverdeada causada pelo Tricrômico de Masson, alguns pontos hemorrágicos, tecido de reparação relativamente frouxo e neoformação de folículos pilosos (Masson 120 x). No grupo GT1 observa-se regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme, além de neoformação de folículos pilosos e reparação fibrosa da derme (H.E. 120 x). Ainda no 12º dia o grupo GT2 apresenta área de reparação, com fibrose e regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme, além de neoformação de folículos pilosos (H.E. 300 x). No grupo GT3 pode ser observado também área de reparação, com fibras colágenas destacadas em azul, regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme, além de neoformação de folículo piloso (Masson 250 x) (Figura 10).

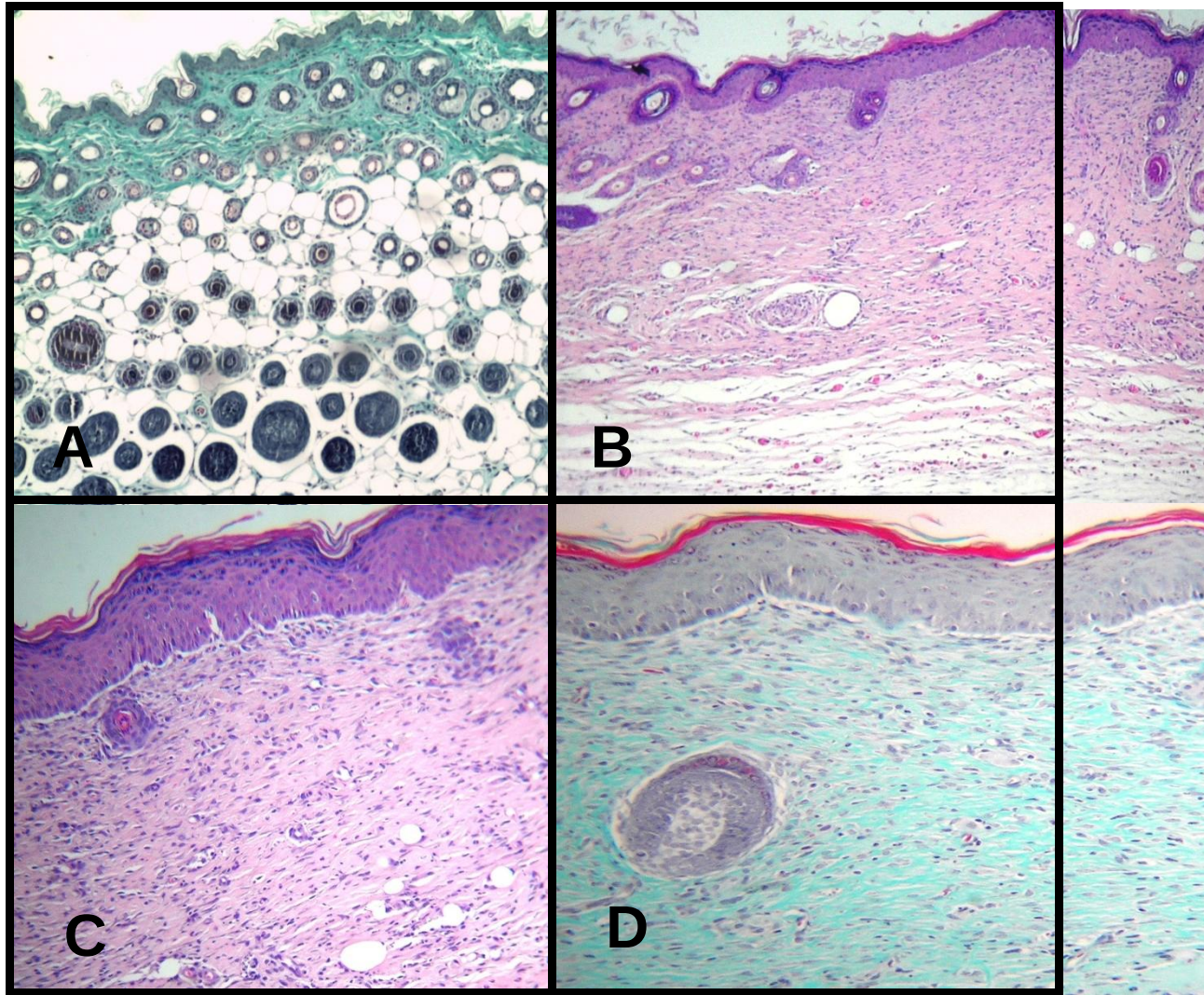


Figura 11. Fotomicrografias das feridas cutâneas de camundongos no 12º dia de tratamento após a inoculação da peçonha. (A) Grupo controle (GC), apresentando moderada produção de colágeno evidenciado pela coloração esverdeada causada pelo Tricrômico de Masson, alguns pontos hemorrágicos, tecido de reparação relativamente frouxo e neoformação de folículos pilosos. Masson 120 x. (B) Grupo tratamento (GT1), observa-se regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme, além de neoformação de folículos pilosos e reparação fibrosa da derme. H.E. 120 x. (C) Grupo tratamento (GT2), apresenta área de reparação, com fibrose, regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme, além de neoformação de folículo piloso. H.E. 300 x. (D) Grupo tratamento (GT3), Nota-se área de reparação, com fibras colágenas destacadas em azul. Observa-se regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme, além de neoformação de folículo piloso. Masson 250 x.

A reepitelização é uma das três fases importantes no processo de cicatrização, pois, é responsável pelo fechamento da ferida, juntamente com a fase de fibroplasia que além de promover a formação de tecido de granulação, é um grande produtor de colágeno e elastina e por último a fase da angiogênese essencial na diminuição do tamanho da cicatriz e formação de novos vasos (MANDELBAUM et

al., 2003; BALBINO, et al., 2005). A angiogênese destaca-se por ser uma das características histológicas importantes a ser observada no tecido de granulação do processo de cicatrização e reparação da pele (BIONDO-SIMÕES et al., 2005). Corresponde à formação de novos vasos capilares a partir de células endoteliais e é essencial ao desenvolvimento de órgãos, cicatrização de ferimentos e nos processos inflamatórios (SILVA et al., 2007). Estimulando a etapa da angiogênese pode-se acelerar o processo de cicatrização, dessa forma a utilização do extrato etanólico bruto das cascas do caule de *Croton urucurana* (GT1 (10%), GT2 (20%) e GT3 (40%)) no tratamento de feridas cutâneas de camundongos do presente estudo, estimularam a angiogênese especialmente no 7º e 12º dia de tratamento evidenciando uma melhor evolução do processo cicatricial, porém a análise estatística realizada pelo Teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn demonstram que o grupo GT2 e GT3 apresentou uma diminuição da área das feridas nos mesmos dias.

Não foram encontradas referências na literatura sobre a avaliação microscópica de feridas cutâneas de camundongos induzidas por peçonha de *Bothrops moojeni*, tratados no 12º dias com *Croton urucurana* e demais espécies da mesma família.

No 15º dia foi verificada a cicatrização completa das feridas em todos os grupos do experimento. As figuras 11, 12 e 13 mostram a área de reparação, com fibrose e intensa hialinose do colágeno, regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme (H.E. 120 x e 250 x). Observou-se fibrose e intensa hialinose do colágeno (em azul) (Masson 300 x).

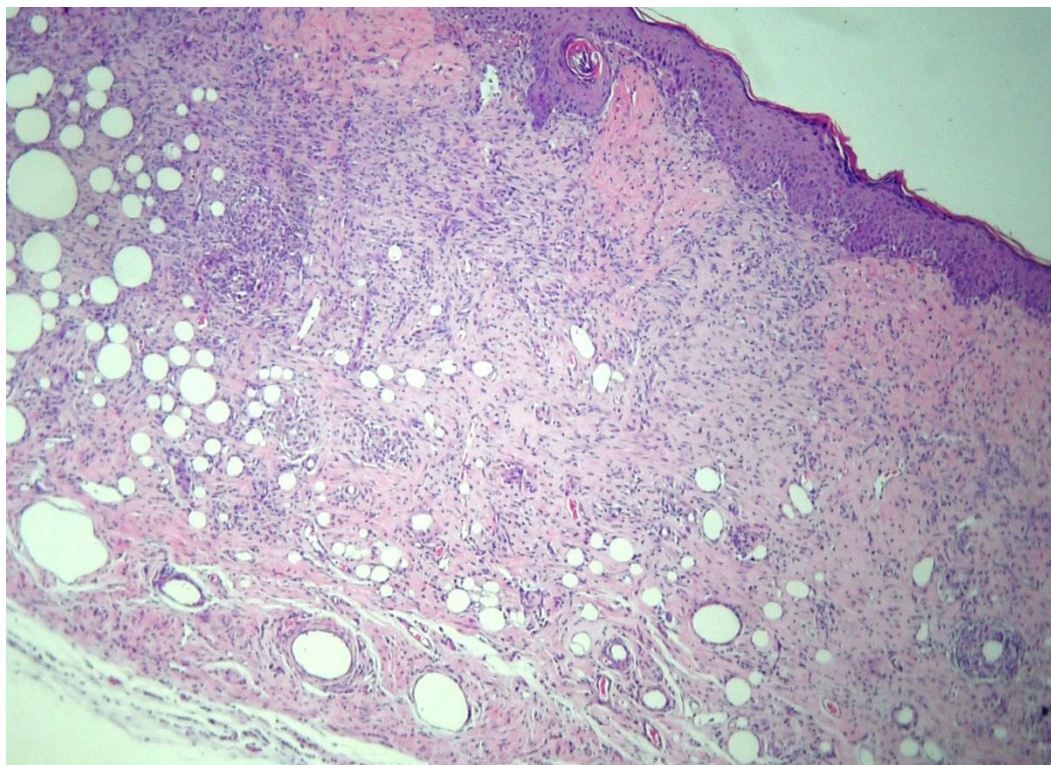


Figura 12. Fotomicrografia da ferida cutânea do grupo GT3 após a inoculação da peçonha no 15º dia de tratamento. Nota-se área de reparação, com fibrose e intensa hialinose do colágeno. Observa-se regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme. H.E. 120 x.

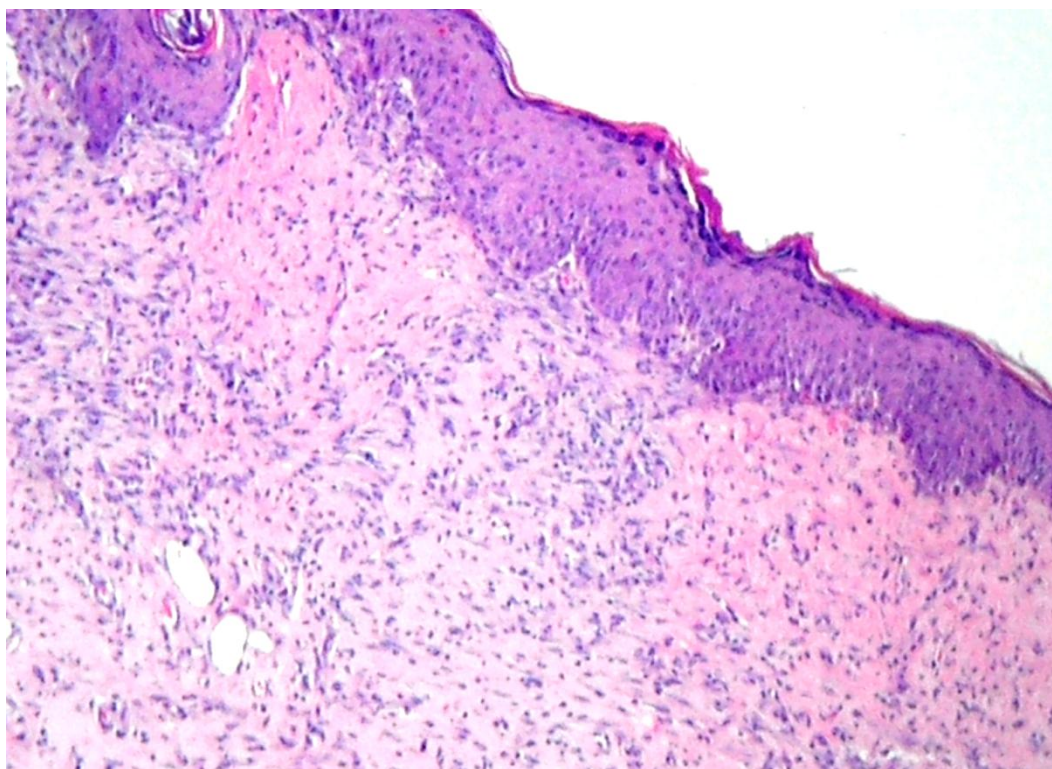


Figura 13. Fotomicrografia da ferida cutânea do grupo GT3 após a inoculação da peçonha no 15º dia de tratamento. Nota-se área de reparação, com fibrose e intensa hialinose do colágeno. Observa-se regeneração completa do epitélio escamoso queratinizado típico da epiderme. H.E. 250 x.

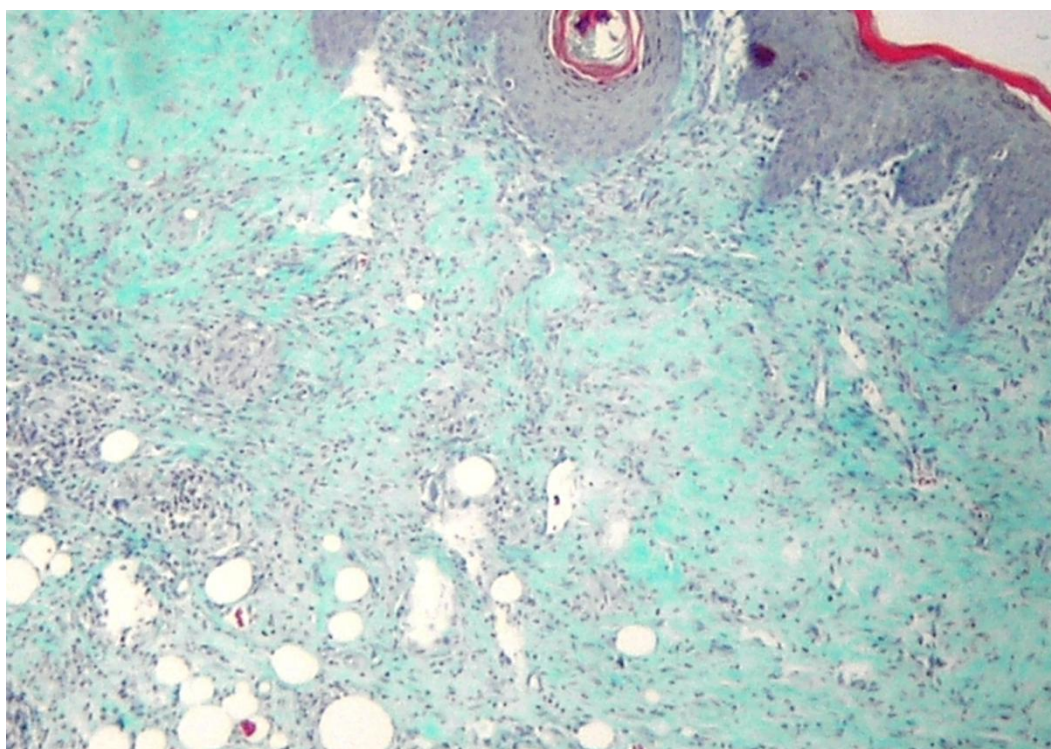


Figura 14. Fotomicrografia da ferida cutânea do grupo GT3 após a inoculação da peçonha no 15º dia de tratamento. Nota-se área de reparação, com fibrose e intensa hialinose do colágeno (em azul). Masson 300 x.

Num estudo semelhante Cavalcanti (2008), tratou feridas cutâneas de camundongos com *Croton zehntneri* na concentração de 20% e observou no 15º dia de tratamento que o grupo controle apresentava epitélio neoformado contínuo e queratinizado, com ausências de células inflamatórias e presença de fibroblastos com feixes de fibras organizadas. O grupo tratamento com *Croton zehntneri* (20%), apresentou reepitelização completa na maioria das feridas tratadas, além de epitélio queratinizado, tecido conjuntivo de densidade variada com presença de fibrócitos e maior quantidade de fibras colágenas. Assim o grupo tratamento demonstrou um processo cicatricial mais acelerado em relação ao grupo controle.

O presente estudo corrobora com os achados de Rao et al., (2007), onde afirma que a *Croton urucurana* aplicada topicamente em feridas e picadas de insetos promovem a cicatrização. Esmeraldino et al., (2005), demonstrou que o extrato

aquoso da casca do caule de *C. urucurana* antagoniza a atividade hemorrágica do veneno de *Bothrops jararaca*.

Com base nos estudos obtidos até aqui, podemos considerar que o extrato etanólico bruto das cascas do caule da *Croton urucurana* (10%, 20% e 40%) utilizado no tratamento de feridas cutâneas de camundongos causadas pela picada de *Bothrops moojeni* apresentam atividade cicatrizante.

Ao final percebe-se a necessidade de outros estudos com a peçonha *Bothrops* avaliando melhor as frações dos seus componentes químicos relacionados as feridas cutâneas, como também a diferença entre as peçonhas da mesma família *Bothrops*.

5. CONCLUSÕES

- A dose mínima necrosante do veneno de serpente *Bothrops moojeni* em um camundongo é de 120 µg de peçonha diluída em 50 µL salina na pele da região dorsal dos camundongos causando uma necrose de 10 mm de diâmetro.

- Houve retração significativa das feridas cutâneas do grupo GT1 nos dias 7º e 12º em relação ao grupo GC.

- Houve retração significativa das feridas cutâneas do grupo GT2 e GT3 no 12º dia em relação ao grupo GC.

- A análise histológica dos grupos GT1, GT2 e GT3 permitem concluir que as feridas cutâneas apresentam processo de cicatrizações evidentes em 12 dias de tratamento em relação ao grupo GC, por estimular a angiogênese, neoformação dos folículos pilosos e reparação fibrosa.

- As feridas cutâneas em camundongos induzidos pela peçonha de *Bothrops moojeni* quando tratadas com EECC (10%, 20% e 40%), apresentam um processo de cicatrização mais acelerado em relação ao grupo controle.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, E.O., MOTA, J.H., SOARES, T.S., VIEIRA, M.C. (2008). Crescimento e distribuição espacial de *Croton urucurana* Baill em Dourados – MS. Revista Caatinga. 21(1): 83-88.
- AL-WATBAN, F.A.H., ANDRES, B.L. (2003). Polychromatic LED therapy in burn healing of non-diabetic and diabetic rats. Journal of clinical laser medicine & surgery. New York; 15(5): 209-215.
- ANTÔNIO, F.I. (2005). Aspectos macroscópicos e microscópicos da reparação de feridas cutâneas de camundongos (swiss-vallée) tratadas com o creme de *Hyptis suaveolens* e *Croton urucurana* Baill. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia.
- ARNOUS, A. H., SANTOS, A. S., BEINNER, R. P. C. (2005). Medicinal plants of domestic use – popular knowledge and interest in a community garden. Revista espaço para a saúde. Londrina; 6(2): 1-6.
- AZEVEDO-MARQUES, M.M., CUPO, P. & HERING, S. E. (2003). Acidentes por Animais Peçonhentos: serpentes peçonhentas. Medicina, Ribeirão Preto, 36: 480-489.
- BADKE, M. R. (2008). Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais e o cuidado de enfermagem. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Santa Maria – RS.
- BALBINO, C., A., PEREIRA, L., M., & CURTI, R. (2005). Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 41(1), 27-51.
- BARRAVIERA, B. & PEREIRA, P., C., M. (1999). Acidentes por serpentes do gênero *Bothrops*. 261 – 280. In: Barraviera, B. (coord). Venenos – Aspectos clínicos e terapêuticos dos acidentes por animais peçonhentos. EPUB, Rio de Janeiro.
- BARRETO, A. F. (2011). Integralidade e saúde: epistemologia, política e práticas de cuidado. Ed. Universitária da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Recife, 192 p.

BIONDO-SIMÕES, M.L.P., WESTPHAL, V.L., PAULA, J.B., BORSATO, K.S., NORONHA, L. (2005). Síntese de colágeno após a implantação de telas de polipropileno em parede abdominal de ratos jovens e velhos. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 20(4): 300-304.

BLANES, L. (2004). Tratamento de feridas. São Paulo, 23p. Disponível em: URL: <http://www.bapbaptista.com>, acesso em Agosto de 2009.

BORGES, et al.(2008). Feridas: como tratar. Belo Horizonte, Coopmed, 246p.

BORGES, M. D. (2011). Avaliação dos extratos da *Cassia occidentalis* na cicatrização de feridas cutâneas causadas por indução de veneno de *Bothrops moojeni* em camundongos. Dissertação de Mestrado. Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde. Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Goiânia-GO.

BRASIL, Ministério da Saúde. (2000). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 17, de 24 de Fevereiro de 2000. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.

BRASIL, Ministério da Saúde. (2001). Fundação Nacional da Saúde (FUNASA). Manual de diagnóstico e tratamento dos acidentes por animais peçonhentos. Brasília.

BRASIL, Ministério da Saúde. (2004). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 48, de 16 de Março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.

BRASIL, Ministério da Saúde. (2006a). Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos. Brasília: 148 p.

BRASIL, Ministério da Saúde. (2006b). Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília: 60 p.

BRASIL, Ministério da Saúde. (2009). O SUS de A a Z : garantindo saúde nos municípios. Editora do Ministério da Saúde. Brasília: 3. 480 p.

BRASIL, Ministério da Saúde. (2010). Agência nacional de vigilância sanitária. Resolução RDC nº 14, de 31 de Março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.

BRASIL, Ministério da Saúde. (2012). Secretaria de Atenção à Saúde.

CALDAS, S.A., TOKARNIA, C.H., FRANÇA, T.N., BRITO, M.F., GRAÇA, F.A.S., COELHO, C.D. & PEIXOTO, P.V. (2008). Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais do envenenamento experimental por *Bothrops alternatus* em bovinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, 28(6): 303-312.

CAMPOS, A.R., ALBUQUERQUE, F.A.A., RAO, V.S.N., MACIEL, M.A.M., PINTO, A.C. (2002). Investigations on the antinociceptive activity of crude extracts from *Croton cajucara* leaves in mice. Revista de Fitoterapia. 73: 116-120.

CAMPOS, M. S. (2009). Avaliação da biocompatibilidade da seiva do *Croton lechleri* (sangue de dragão) em tecido subcutâneo de ratos. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Odontologia. Universidade Estadual Paulista (UNESP). Araçatuba - SP.

CAPRONI, P.(2009). Ação da Bothropstoxina-1 do veneno total de *Bothrops jararacussu* irradiados sobre o sistema imune. 60f. Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo, São Paulo.

CARNEIRO, H. (2011). O saber fitoterápico indígena e os naturalistas europeus. Revista Fronteiras – Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados – MT: 13 (23), 13-32.

CAVALCANTI, J. M. (2008). Efeito do óleo essencial do *Croton zehntneri* e seu constituinte anetol, na fase aguda do processo de reparo tecidual em camundongos. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza – CE.

COLTRO, P.S., FERREIRA, M. C., BATISTA, B.P.S.N., NAKAMOTO, H. A., MILCHESKI, D. A., TUMA JÚNIOR, P. (2010). Tratamento cirúrgico das feridas complexas: experiência da cirurgia plástica no hospital das clínicas da FMSUP. Revista de Medicina. São Paulo; 89 (3/4); 153-157.

CUNHA, N. A. (2006). Sistematização da assistência de enfermagem no tratamento de feridas crônicas. Projeto de pesquisa da faculdade de enfermagem. Fundação do Ensino Superior de Olinda (FUNESO). Olinda – PE.

- DE NARDI A.B., RODASKI S., SOUSA R.S., BAUDI D.L.K., CASTRO J.H.T. (2004). Secondary cicatrization in dermoepidermal wounds treated with essential fatty acids, vitamins A and E, soy lecithin and polynylpyrrolidone- iodine in dogs. Arch Vet Sci.;9(1):1-16.
- DUARTE, M. C. T. (2006). Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. Revista Multiciência. Universidade Estadual de Campinas. 1-16p.
- ELDIN, SUE & DUNFORD, ANDREW. (2001). Fitoterapia na atenção primária à saúde. Trad. Dinah de A. Azevedo. São Paulo: Manole.
- ESMERALDINO, L. E., SOUZA, A. M., SAMPAIO, S. V. (2005). Evaluation of the effect of aqueous extract of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) on the hemorrhagic activity induced by the venom of *Bothrops jararaca*, using new techniques to quantify hemorrhagic activity in rat skin. Phytomedicine Elsevier. 12; 570-576.
- FERRI, P.H. (1996). Química dos produtos naturais: métodos gerais. In: DI SATSI, L.C. (Ed.) Plantas medicinais: arte e ciência, um guia de estudos interdisciplinares. São Paulo: Editora da UEP.132-40p.
- FERRO, Degmar. (2008). Fitoterapia: Conceitos clínicos. Ed. Atheneu, São Paulo-SP; 532p.
- FIRMO, W. C. A., MENEZES, V. J. M., PASSOS, C. E. C., DIAS, C. N., ALVES, L. P. L., DIAS, I. C. L., NETO, M. S., OLEA, R. S. G. (2011). Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. Caderno de pesquisa de São Luís. São Luís – MA; 18; 90-95.
- FRANÇA, F. O. S. & MÁLAQUE, C. M. (2003). Acidente botrópico. P. 72 -86. In: Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. Cardoso et al. (Orgs). Savier, São Paulo - SP.
- FRANÇA, I. S. X., SOUZA, J. A., BAPTISTA, R. S., BRITTO, V. R. S. (2008). Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. Revista Brasileira de Enfermagem (REBEN). Brasília; 61(2); 201-208.
- FURTADO, M.F.D., MARUYAMA, M., KAMIGUTI, A.S., ANTÔNIO, L.C. (1991). Comparative study of nine *Bothrops* snake venoms from adult female snakes and their offspring. Toxicon, 29(2): 219 – 226.

- GARROS, I.C., Campos, A.C.L., Tâmbara, E.M., Tenório, S.B., Torres, O.J.M., Aquilham, M.A. (2006). Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 21(3): 55 – 65.
- GEOVANINI, T; JUNIOR, A.G.O; PALERMO T.C.S. (2007). Manual de Curativos. São Paulo, Corpus, 160p.
- GONÇALVES, L.R.C & MARIANO, M. (2000). Local haemorrhage induced by *Bothrops jararaca* venom: relationship to neurogenic inflammation. *Mediators of Inflammation*. 9: 101–107.
- GUPTA, D., BLEAKLEY, B. & GUPTA, R. K. (2008). Dragon's blood: Botany, chemistry and therapeutic uses. *Journal of Ethnopharmacology*. 115: 361–380.
- GURGEL, L. A., MARTINS, D. T. O., MATTOS, P. O., RAO, V. S. (2002). Estudo da atividade antidiarréica e antissecretória intestinal do látex do *Croton urucurana* Baill. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 12; 39-42.
- GURGEL, L. A., SIDRIM, J. J. C., MARTINS, D. T., CECHINEL FILHO, V., RAO, V. S. (2005). In vitro antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes. *Journal of Ethnopharmacology*. 97; 409-412.
- GURGEL, L.A. (2000). Avaliação experimental da atividade antidiarréica do látex do *Croton urucurana* Baill. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Fortaleza-Ceará.
- HATANAKA, E., CURI, R. (2007). Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Farmácia*. 88: 53-58.
- ISAAC, C., LADEIRA, P. R. S., REGO, F. M. P., ALDUNATE, J. C. B., FERREIRA, M. C. (2010). Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. *Revista de Medicina*. São Paulo; 89 (3/4); 125-131.
- LARRARTE, J. P. M., PINEDA, Y. R., HERNADÉZ, D. M. P. (2007). Aspectos teóricos-prácticos de la inflamación em las enfermedades reumáticas. *Revista Cubana de Medicina General e Integral*. 23(2).
- LEE, K., HANSEN, S.L. (2009). Management of acute wounds. *Surgical Clinics North America*; 89(3): 659-76.

- LIMA, R. R., COSTA A. M. R., SOUZA, R. D. de, GOMES-LEAL, W. (2007). Inflamação em doenças neurodegenerativas. *Revista Paraense de Medicina*. 21(2): 29-34.
- LOMONTE, B., MORENO, E., TARKOWSKI, A., HANSON, L.A., MACCARANA, M. (1994a). Neutralizing interaction between heparins and myotoxin II, a lysine 49 phospholipase A2 from *Bothrops asper* snake venom. Identification of a heparin-binding and cytolytic toxin region by the use of synthetic peptides and molecular modeling. *Journal Biological Chemistry*. 269, 29867–29873.
- LOMONTE, B., TARKOWSKI, A., BAGGE, U., HANSON, L.A. (1994b). Neutralization of the cytolytic and myotoxic activities of phospholipases A2 from *Bothrops asper* snake venom by glycosaminoglycans of the heparin/ heparan sulfate family. *Biochem Pharmacology*. 47, 1509–1518.
- LOPES, G.C. SANCHES, A.C.C., NAKAMURA, C.V., DIAS FILHO, B.P., HERNANDES, L., DE MELLO, J.C.P. (2005). Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization wounds in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 99 (2): 265 – 272.
- LÓPEZ, P. V. A. (2010). Bioprospecção de extratos de *Croton urucurana* Baill e seus fungos endofíticos. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba-PA.
- LORENZI, H. (2002). Árvores Brasileiras: manual de identificação em cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, SP: Plantarum, 512p.
- LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. (2002). Plantas Medicinais no Brasil – Nativas e Exóticas. Instituto Plantarum. Nova Odessa, São Paulo, 512p.
- LUNA, L. G. (1968) Manual of histologic staining methods of the armed forces Institute of Pathology. 3. ed. New York: McGraw-Hill, p. 258.
- MANDELBAUM, S.H., DI SANTIS, E.P. & MANDELBAUM, M.H.S. (2003). Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. Rio de Janeiro, 78(4): 393-410.
- MATOS, F.J.A. (1994). Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais. Projeto para pequenas comunidades. Fortaleza: Editora UFC.
- MAVIOSSO C. (2003). Noções básicas sobre feridas e cicatrização. Serviço de cirurgia plástica e reconstrutiva do hospital São José.

- MILO, B., RISCO, E., VILA, R., IGLESIAS, J., CAÑIGUER, S. (2002). Characterization of a Fucoarabinogalactan, the main polysaccharide from the gum exsudate of *Croton urucurana*. *Journal of Natural Products*. 65(8): 1143-1146.
- MISE, Y. F., CASAIS-E-SILVA, L. L., LIRA-DA-SILVA, R. M. (2009). Ação protetora da *Calendula officinalis* (Asteraceae; compositae) sobre a atividade miotóxica do veneno de *Bothrops leucurus* (serpente; viperidae). *Gazeta Médica da Bahia*. Bahia – BA; 79 (1); 50-55.
- MONTENEGRO, M. R., FRANCO, M. (2004). *Patologia - Processos Gerais*. São Paulo: Atheneu, 320p.
- NITZ, A. C., ELY, J. B., D'ACAMPORA, A. J., TAMES, D. R., CORRÊA, B. P. (2006). Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: *Coronopa didymus* e *Calendula officinalis*. *Arquivos Catarinenses de Medicina*. Balneário Camboriú – SC; 35 (4); 74-79.
- OLIVEIRA, F. & AKISUE, G. (2000). *Fundamentos de farmacobotânica*. São Paulo: Atheneu.
- OLIVEIRA, I.S., LIMA, J.C.S., SILVA, R.M., MARTINS, D.T.O. (2008). Triagem da atividade antibacteriana *in vitro* do látex e extratos de *Croton urucurana* Baillon. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 18(4): 587-593.
- OLIVEIRA, S.T, LEME, M.C, PIPPI, N.L, RAISER, A.G, MANFRON, M.P. (2000). Formulações de confrei (*symphytum officinale* L.) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. *Revista da Faculdade de Zootecnia Veterinária e Agronomia*; 7(1): 61-5.
- PASA, M.C., SOARES, J.J. & GUARIM NETO, G. (2005). Estudo etnobotânico na comunidade de Conceição-Açu (alto da bacia do rio Aricá Açu, MT, Brasil). *ActaBotânica Brasileira*. 19(2): 195-207.
- PEREIRA, A. L., PITA, J. R. (2005). Alexander Fleming (1881-1955). Da descoberta da penicilina (1928) ao Prêmio Nobel (1945). *Revista da Faculdade de Letras*. 6 (3); 129-151.

- PERCHUC, A. M., MENIN, L., FAVREAU, P., BÜHLER, B., BULET, P., SCHÖNI, R., WILMER, M., ERNST, B., STÖCKLIN, R. (2010). Isolation and characterization of two new Lys49 PLA2s with heparin neutralizing properties from *Bothrops moojeni* snake venom. *Toxicon* 55, 1080–1092.
- PERES, M.T.L.P., MONACHE, F. D., CRUZ, A. B., PIZZOLATTI, M. G., YUNES, R. A. (1997). Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baill (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 56: 223-226.
- PICOLO, G. et al. (2002). Evaluation of antivenoms in the neutralization of hyperalgesia and edema induced by *Bothrops jararaca* and *Bothrops asper* snake venoms. *Brazilian Journal of Medical Biological*. 35(10): 1221-8.
- PIRES, M. M. Y., SOUZA, L. A., TERADA, Y. (2004). Biologia floral de *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae) ocorrente em vegetação ripária da ilha Porto Rico, Porto Rico, Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences Maringá*. 26 (2); 209-215. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica. Brasília; 1ª, 156p.
- RAMALHO, L. S. (2012). Informações sobre medicamentos fitoterápicos: análise de bulas e propagandas em revistas populares. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciência da Saúde da Universidade de Brasília. 117p.
- RANDAU, K.P., FLORÊNCIO, D.C., FERREIRA, C.P., XAVIER, H.S. (2004). Estudo farmacognóstico de *Croton rhamnifolius* H.B.K. e *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira Farmacognosia*. 14(2): 89-96.
- RAO, V. S., GURGEL, L.A., LIMA-JÚNIOR, R.C.P., MARTINS, D.T.O., CECHINEL-FILHO, V., SANTOS, F.A. (2007). Dragon's blood from *Croton urucurana* (Baill.) attenuates visceral nociception in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 113: 357–360.
- RIBEIRO, L.A. & JORGE, M.T. (1997). Acidente por serpentes do gênero *Bothrops*: série de 3.139 casos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 30: 475-480.
- RISCO, E., IGLESIAS, J. & CAÑIGUERAL, S. (2001). Interés Terapéutico del látex de *Croton lechleri*. 12º Forum de Natura Rerum, París, 20-21 de Octubre.

- ROCHA, J.C.T. (2003). Terapia laser, cicatrização tecidual e angiogênese. Revista Brasileira em Promoção da Saúde; 17(1): 44-8.
- RODRIGUES, A. G. (2004). Política Nacional de Plantas Medicinais, Medicamentos Fitoterápicos e Assistência Farmacêutica. Brasília: 8 p. Documento de circulação interna do Ministério da Saúde.
- SANTOS, M. A. P. (2008). Estratégia de saúde da família e fitoterapia: avanços, desafios e perspectivas. Dissertação de Mestrado. Universidade Estácio de Sá. Rio de Janeiro-RJ.
- SANTOS, V.L.C.G. (2000). 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, Atheneu: 265-306.
- SILVA JÚNIOR, I. F., CECHINEL FILHO, V., ZACCHINO, S. A., LIMA, J.C.S., MARTINS, D. T. O. (2009). Antimicrobial screening of some medicinal plants from Mato Grosso Cerrado. Revista Brasileira de Farmacognosia. Brazilian Journal of Pharmacognosy. 19(1B): 242-248.
- SILVA, D. C. & FERNANDES, J. (2008). Avaliação do potencial antiinflamatório do extrato da *Marsypianthes chamaedrys* (Vahl) Kuntze em camundongos (*Mus musculus*) swiss. Trabalho de conclusão de curso. Ciências Biológicas. Universidade de Guarulhos. 35p.
- SILVA, R.C.L da, FIGUEIREDO, N.M.A. de & MEIRELES, I.B. (2007). Feridas: Fundamentos e Atualizações em Enfermagem. São Paulo: Yendis, 67-80p.
- SILVA, S. R., BUITRÓN, X., OLIVEIRA, L. H., MARTINS, M. V. M. (2001). Plantas medicinais do Brasil: aspectos gerais sobre legislação e comércio. Relatório financiado pelo Ministério de Cooperação Econômica e Desenvolvimento da Alemanha e pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).
- SILVA, T., H., Á., da, BUTERA, A., P., LEAL, D., H., S., & ALVES, R., J. (2007). Agentes antitumorais inibidores da angiogênese: modelos farmacofóricos para inibidores da integrina $\alpha_3\beta_1$. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 43(1): 1-17.

- SIMIONATTO, E., BONANI, V.F.L., MOREL, A.F., POPPI, N.R., RAPOSO JÚNIOR, J.L., STUKER, C.Z., PERUZZO, G.M., PERES, M.T.L.P., HESS, S.C. (2007). Chemical Composition and Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Activities of the Essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) Stem Bark. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 18(5): 879-885.
- SIMÕES, C. M. O. et al. (1998). Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS: Ed. da UFRGS.
- STÁBELI, R. G., AMUI, S. F., SANT´ANA, C. D., PIRES, M. G., NOMIZO, A., MONTEIRO, M.C., ROMÃO, P. R. T., GUERRA-SÁ, R., VIEIRA, C. A., GIGLIO, J. R., SOARES, A. M. (2006). Bothrops moojeni myotoxin-II, a Lys49 phospholipase A2 homologue: An example of function versatility of snake venom proteins. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 142: 371–381.
- TAZIMA, M. F. G. S., VICENTE, Y. A. M. V. A., MORIYA, T. (2008) Biologia da ferida e cicatrização. *Simpósio de Medicina*. Ribeirão Preto – SP. 41 (3): 259-64.
- TEIXEIRA, C., CURY, Y., MOREIRA, V.M., PICOLO, G., CHAVES, F. (2009). Inflammation induced by *Bothrops asper* venom. *Toxicon*. 54: 988-997.
- TEIXEIRA, C.F.P., LANDUCCI, E.C.T., ANTUNES, E., CHACUR, M., CURY, Y. (2003). Inflammatory effects of snake venom myotoxic phospholipases A2. *Toxicon*. 42: 947- 962.
- THEAKSTON, R.D.G. & REID, H.A. (1983). The development of simple standard assay procedures for the characterization of snake venoms. *Bulletin of World Health Organization* 61: 949- 956.
- TORRES NETO, J.R., FAKHOURI, R., MENEZES, M.V.A., SANTOS, J.S., PRUDENTE, A.C.L., MONTEIRO, J.T.S., FEITOSA, V.L.C. (2007). Estudo Histomorfométrico de Anastomoses Primárias de Cólon em Coelhos, Com e Sem Preparo Intestinal. *Revista Brasileira de Coloproctologia*. 27(4): 384-390.
- TSIROGIANNI, A.K., MOUTSOPOULOS, N.M., MOUTSOPOULOS, H.M. (2006). Wound healing: immunological aspects. *Injury*. 375: 5-12.
- TUROLLA, M. S. R. (2004). Avaliação dos aspectos toxicológicos dos fitoterápicos: um estudo comparativo. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo.

VALE, N. B. (2002). A farmacobotânica, ainda tem lugar na moderna anestesiologia?. *Revista Brasileira de Anestesiologia*. 52 (3): 368 – 380.

VILAR, J. C., CARVALHO, C. M., FURTADO, M. F. D. (2005). Ofidismo e plantas utilizadas como antiofídicas. *Biologia Geral e Experimental*. São Cristóvão, SE; 6 (1): 3-36.

ANEXO

ANEXO I

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

PARECER CONSUBSTANCIADO



1- IDENTIFICAÇÃO

1.1. Título do Projeto: Avaliação do extrato bruto das cascas do caule da *Croton urucurana Baill* na cicatrização de feridas cutâneas induzidas por veneno de *Bothrops moojeni* em camundongos

1.1. Finalidade: Avaliação da existência de princípio ativo das cascas do caule da *Croton urucurana Baill* na cicatrização de feridas cutâneas

1.2. Protocolo CEP: 001/2010

1.3. Instituição onde será realizado: Pontifícia Universidade Católica de Goiás e Universidade Federal de Goiás

1.4. Data de apresentação ao CEP: 28/04/2010

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade cicatrizante de extratos das cascas do caule de *Croton urucurana* sobre feridas cutâneas de camundongos, induzidas pelo veneno de *Bothrops moojeni*.

2.2 – Objetivos específicos

- Avaliar a ação do extrato etanólico bruto das cascas do caule de *Croton urucurana* na diferentes fases do processo de cicatrização.

3. SUMÁRIO DO PROJETO

3.1. Descrição e caracterização da amostra: 40 ratos machos saudáveis da linhagem Wistar, com peso médio de 230g, provenientes do Biotério da Universidade Paulista – Campus Flamboyant.

3.2. Condições de manutenção dos animais: adequado

3.3. Adequação de metodologia e considerações sobre o sofrimento imposto aos animais: adequado

3.4. Discussão sobre a possibilidade de métodos alternativos: não se aplica

3.5. Utilização de agente infeccioso/gravidade da infecção a ser observada: não se aplica

3.6. Anestésico/analgésico utilizado: não se aplica

3.7. Método de eutanásia: adequado

3.8. Destino do animal (caso não seja submetido à eutanásia): adequado

4. COMENTÁRIOS DO RELATOR FRENTE ÀS ORIENTAÇÕES DOS PRINCÍPIOS ÉTICOS DA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL, RESOLUÇÃO Nº 879 DO CFMV, LEI Nº 11794/08:

O projeto está bem descrito cuja metodologia é adequada com os objetivos propostos.

5. PARECER DO CEP/UCG: Após avaliação deste Comitê de Ética em Pesquisa, o mesmo decide considerar o projeto **APROVADO**

Goiânia, 05 de maio de 2010.


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