

**INSTITUTO METROPOLITANO DE ENSINO SUPERIOR
UNIÃO EDUCACIONAL DO VALE DO AÇO**

Diego Lujan Rocha Souza

Ewerton Moreira Santos

Leandro Marcos Duarte

Yago Matheus Pacheco dos Santos

Analina Furtado Valadão

Leonardo Ramos P. de Lima

Jaqueline Melo Soares

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DO EXTRATO
AQUOSO DA *Psidium guajava* L. EM RATAS WISTAR**

IPATINGA

2016

Diego Lujan Rocha Souza

Ewerton Moreira Santos

Leandro Marcos Duarte

Yago Matheus Pacheco dos Santos

Analina Furtado Valadão

Leonardo Ramos P. de Lima

Jaqueline Melo Soares

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DO EXTRATO
AQUOSO DA *Psidium guajava* L. EM RATAS WISTAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Metropolitano de Ensino Superior – Imes/Univaço, como requisito parcial à graduação no curso de Medicina.

Orientadora: Prof. Dra. Jaqueline Melo Soares
Co-orientadora: Prof. Dra. Analina F. Valadão
Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo Ramos P. de Lima

IPATINGA

2016

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DO EXTRATO AQUOSO DA *Psidium guajava* L. EM RATAS WISTAR

Leandro Marcos Duarte¹, Diego Lujan Rocha Souza¹, Yago Matheus Pacheco dos Santos¹, Ewerton Moreira Santos¹, Leonardo Ramos Paes de Lima² Analina Furtado Valadão² & Jaqueline Melo Soares³

1. Acadêmico do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil
2. Docente do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil. Co-Orientador(a) do TCC.
3. Docente do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil. Orientadora do TCC.

Resumo

Introdução: o uso de fitoterápicos é uma alternativa de baixo custo e de fácil acesso para o tratamento de feridas cutâneas. O empirismo popular e a crença de que algumas espécies vegetais possuem propriedades potencializadoras nos processos de reparo tecidual tem contribuído para o incremento de experimentos que visam à busca de informações mais detalhadas sobre os princípios ativos destas plantas. **Objetivo:** avaliar a atividade cicatrizante do extrato aquoso de cascas do caule de *Psidium guajava* L. no processo de cicatrização de feridas por segunda intenção em ratas Wistar. **Métodos:** quinze animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos de 5 animais: Controle Positivo (CP) (solução Dexpantenol 5%); Controle Negativo (CN) (água bidestilada estéril) e Grupo Experimental (GE) (extrato aquoso de cascas do caule de *Psidium guajava* L. 10%). Foram realizadas feridas cutâneas sob anestesia por meio da aplicação intraperitoneal de ketamina a 10% (80mg/Kg/animal) e xilazina a 2% (15mg/Kg/animal). Após anestesia, foi realizada tricotomia no dorso do animal e antisepsia da região com solução de álcool iodado a 2%. A incisão cirúrgica foi feita com uso de punch de 6 mm, utilizando-se a linha média como referência, incluindo a epiderme, derme e fáscia conjuntiva do dorso do animal. O tratamento foi diário, com aplicação tópica e a evolução da cicatrização foi documentada nos dias 2, 4, 7 e 9. Nestes dias foram avaliados: aspecto e coloração da lesão (edema e hiperemia), presença e quantidade de exsudato, tecido de granulação, necrose e formação de crosta. **Resultados:** os parâmetros edema, hiperemia e tecido de granulação mostraram uma evolução clínica semelhante nos três grupos experimentais. Nos dias 2 e 4 do experimento, observou-se diferença significativa nos valores médios da crosta entre os grupos CN e CP, e também para o grupo GE e CP (valor-p<0,05). **Conclusão:** o extrato aquoso de *Psidium guajava* L. pode auxiliar no processo de cicatrização, mostrando possível potencial terapêutico sobre as lesões cutâneas experimentais. Tal ação provavelmente esteja relacionada à presença dos taninos e flavonoides na planta, já evidenciada em outros estudos.

Palavras-chave: *Psidium guajava* L. Cicatrização de feridas. Fitoterapia.

Introdução

A cicatrização dos tecidos e órgãos constitui-se em um processo biológico complexo essencial para manter a integridade do organismo (TRESVENZOL et al., 2013). Do ponto de vista morfológico, o processo de cicatrização de feridas consiste em três fases consecutivas; a) fase inflamatória – inicialmente vasoconstricção reflexa com fechamentos dos vasos lesados, seguida por vasodilatação com formação de exsudato, sendo os neutrófilos importantes nesta fase por digerir bactérias e tecidos desvitalizados e os monócitos transformados em macrófagos auxiliam na fagocitose de bactérias e restos celulares; b) fase de fibroplasia ou proliferativa – ocorrem reparação do tecido conjuntivo (formação do tecido de granulação, com proliferação endotelial e fibroblastos) e do epitélio; c) fase de maturação – ocorrem deposição, agrupamento e remodelação de colágeno e regressão endotelial (OKAMOTO, 2010).

A utilização de plantas e ervas na medicina popular para os mais variados fins é hábito comum observado em diversas regiões do país. Nesse contexto, muitas espécies vegetais são largamente utilizadas na cicatrização de feridas, por serem a elas atribuídas propriedades terapêuticas (SÉRVIO et al., 2011).

O empirismo popular e a crença de que algumas espécies vegetais possuem propriedades potencializadoras nos processos de reparo tecidual têm contribuído para o incremento de experimentos que visam à busca de informações mais detalhadas sobre os princípios ativos dessas plantas. Esses estudos procuram confirmar ou refutar o real benefício da utilização de seus extratos no processo de regeneração ou cicatrização de feridas cutâneas provocadas por diversos fatores. O sucesso no tratamento está relacionado à escolha da substância correta para atuar em cada etapa do processo (SARMENTO et al., 2014).

A goiabeira - *Psidium guajava* L.- é uma árvore medicinal de pequeno porte nativa da América do Sul, tradicionalmente usada como uma planta medicinal em todo o mundo para uma série de doenças. Há duas variedades mais comuns de goiaba: vermelha (*P. guajava* var. *pomifera*) e a branca (*P. guajava* var. *pyrifera*) (KANERIA; CHANDA, 2011).

É utilizada como antisséptico bucal e intestinal, eficaz no tratamento das inflamações da boca e da garganta quando usada no bochecho e gargarejo (FERREIRA, 2009). Somando-se a isso, na medicina popular ainda pode ser utilizada

para cólicas, colite, diarreia, disenteria e dor de barriga (VENDRUSCOLO et al., 2005; TÔRRES et al., 2005).

Mais recentemente Okamoto (2010) mostrou que o extrato aquoso de *Psidium guajava* L. pode auxiliar no processo de cicatrização, mostrando possível potencial terapêutico sobre as lesões cutâneas experimentais em ratos. Tal ação provavelmente esteja relacionada à presença dos taninos e flavonóides na planta, já evidenciada em outros estudos de *Psidium guajava* L.

Tendo em vista as diferentes aplicações terapêuticas da espécie, e considerando seu alto teor de tanino e de flavonoides, que são constituintes importantes para a ação anti-inflamatória e cicatrizante, o presente estudo teve por finalidade avaliar a atividade cicatrizante do extrato aquoso de cascas do caule de *Psidium guajava* L. em feridas de segunda intenção em ratas Wistar.

Métodos

Aspectos Éticos

Para a realização deste estudo, foram seguidas as premissas do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e protocolos aprovados pelo CRMV (Conselho Regional de Medicina Veterinária). Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES-Univaço (CEUA/IMES) sob protocolo nº 01.001.13.

Coleta e identificação da planta

Ramos com folhas da espécie *Psidium guajava* L., foram coletados em agosto de 2013, no Sítio Jardim Fechado, Córrego do Monjolo, no município de Santana do Paraíso - Minas Gerais, cujas coordenadas são 19° 22' 9" S e 42° 33' 43' W. Os ramos foram removidos com auxílio do podão, colocados em bandejas plásticas, individualmente, para o transporte. Parte do material coletado foi enviado para identificação botânica, que foi realizada com a utilização de coleções botânicas já existentes em outros herbários e também por meio de consultas à literatura e a

especialistas. As exsiccatas foram incorporadas ao acervo do Herbário do Centro Universitário do Leste de Minas Gerais.

Partes selecionadas de cascas do caule dos ramos foram secas em estufa de ventilação forçada, a 60 °C, por 48 horas, para retirada da água e, com isso, impedir reações de hidrólise e crescimento microbiano. Logo após foram moídas, em pequenas dimensões, em moinho de faca e depois tamisados a 20 mesh.

Preparo do extrato aquoso Psidium Guajava L.

Para o preparo do extrato foram utilizadas 20g de casca do caule da *Psidium guajava L.* variedade *pyrifera* (Goiabeira que produz goiabas brancas) tamisadas para cada 150 mL de água. Esta preparação foi fervida por 50 minutos. Após esse período, foram submetidos à filtração. O filtrado, extrato aquoso, foi concentrado em evaporador rotatório para concentração do extrato até aproximadamente 10% do volume inicial. O extrato foi armazenado em frasco escuro e mantido em geladeira.

Grupos Experimentais

Foram utilizadas 15 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) adultas, com média de 8 meses de idade, pesando aproximadamente 250 g, fornecidas pelo biotério do IMES. Durante as etapas experimentais, os animais foram mantidos no biotério, acomodados em caixas apropriadas de polipropileno com um animal por caixa em condições de temperatura e umidade controladas, ciclos noite/dia bem definido, ração própria para a espécie e água “*ad libitum*”. Respeitou-se o período de aclimação de sete dias antes do início do experimento, após alojamento individual dos animais.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos de 5 animais: Controle Positivo (CP) - solução aquosa de Dexpantenol 5% (Bepantol 5%®); Controle Negativo (CN) (água bidestilada estéril) e Grupo Experimental (GE) (extrato aquoso da casca do caule da goiabeira 10%).

Produção da ferida cutânea

Antes da produção das feridas, cada animal foi pesado e identificado na cauda, utilizando uma caneta dermográfica. Identificou-se o número do animal e o grupo experimental. Posteriormente foram alojados em caixas individuais também etiquetadas com a identificação do animal e do grupo experimental. A ferida cutânea foi realizada sob anestesia por meio da aplicação intraperitoneal de ketamina a 10% (80mg/Kg/animal) e xilazina a 2% (15mg/Kg/animal) (Figura 1A). Após anestesia, foi realizada tricotomia no dorso do animal e antissepsia da região com solução de álcool iodado a 2%.

A incisão cirúrgica foi feita em região paravertebral na altura da escápula com auxílio de punch de 6mm, utilizando-se a linha média do dorso do animal como referência, incluindo a epiderme, derme e fáscia conjuntiva do dorso do animal (Figura 1B). A profundidade do ferimento da pele foi padronizada em função da visualização do plano muscular. Foram feitas duas excisões cirúrgicas, na região torácica, sendo uma de cada lado da linha média (Figura 1C). As feridas foram confeccionadas na região torácica esquerda e direita com o intuito de dificultar interferências (lambida e mordida). Para analgesia, os animais receberam pós-procedimento cirúrgico solução aquosa de dipirona sódica (1 gota/100 mL).



Figura 1- Etapas do procedimento cirúrgico de produção das feridas - A- Procedimento anestésico; B- Produção da ferida (Punch 6mm); C- Ferida incisional.

Tratamento

Após o procedimento cirúrgico, todas as feridas de cada grupo experimental foram tratadas com aplicação tópica através de pipeta graduada de 100 uL/ferida com as soluções; água bidestilada estéril (CN); Dexpanthenol 5% líquido (CP) e extrato

aquoso de *Psidium Guajava L.* 10% (GE), conforme o grupo ao qual pertenciam. Todos os animais receberam tratamento diário por um período de nove dias.

O uso da água bidestilada como controle negativo fundamentou-se na sua pouca interferência na lesão e sua ampla utilização em estudos de cicatrização em ratos (GARROS et al 2006; BATISTA et al., 2014).

A escolha do dexpanthenol 5%, como controle positivo, deveu-se desse medicamento ser empregado em diversas pesquisas semelhantes. Esse alivia o prurido e auxilia a cicatrização de lesões de pele por estimular a epitelização e granulação em eczemas e dermatoses discretos, picadas de insetos e escoriações de pouca gravidade (KOROLKOVAS, 2006; MARTORELLI et al., 2011).

Para realização do experimento, foram escolhidas ratas da linhagem Wistar, pela disponibilidade no biotério do IMES, pela facilidade de manuseio, acomodação e à maior resistência às agressões cirúrgicas e processos infecciosos (GARROS et al., 2006).

Análise Clínica

A evolução da cicatrização e as mudanças fisiológicas foram avaliadas e documentadas nos dias 2, 4, 7 e 9. Nesses dias, foram avaliados aspecto e coloração da lesão (edema e hiperemia), presença e quantidade de exsudato, tecido de granulação, necrose e formação de crosta.

O registro das avaliações clínicas foi realizado nos dias 2, 4, 7 e 9. Nesses dias imagens de todas as feridas registraram a evolução da cicatrização.

Para quantificar cada parâmetro (hiperemia, edema, tecido de granulação, exsudato, necrose e crosta) foi considerado ausente ou presente, quando presente foi atribuído o caráter ausente (-); pouco (+); moderado (++) e acentuado (+++).

No décimo dia, após o procedimento cirúrgico, os animais foram eutanasiados em câmara de gás conectada a uma fonte de CO₂ (dióxido de carbono). Posteriormente as carcaças foram coletadas por empresa especializada no gerenciamento e destinação de resíduos biológicos.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos a tratamento estatístico, utilizando-se o software estatístico SPSS versão 15.0. Foram realizadas comparações inter e intra grupos por meio da ANOVA (Análise de Variâncias). Nos casos em que foram observadas diferenças significativas, procedeu-se ao teste de comparação múltipla de Tukey. Em todas as análises foi considerado um nível de 5% de significância.

Resultados

Levando-se em consideração aspectos zootécnicos gerais dos sujeitos do experimento, não houve intercorrências graves a relatar, como óbito ou sinais de infecção, como a presença de secreção purulenta nas lesões.

A avaliação macroscópica do processo cicatricial mostrou-se bastante similar em todos os grupos e foi avaliada até o 9º dia do experimento, quando evidenciado o fechamento completo de todas as feridas de todos os animais dos três (3) grupos experimentais, com exceção de um (1) animal do grupo GE. Na Figura 2 estão mostradas fotos ilustrativas do processo de cicatrização comparando-se os três grupos.

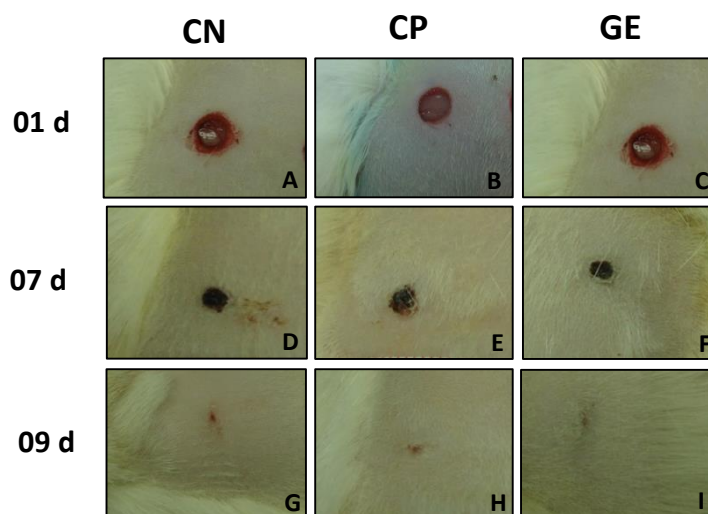


Figura 2 – Ilustração do processo cicatricial por grupo nos dias 01, 07 e 09 do experimento. CN – Controle Negativo – água bidestilada estéril; CP – Controle Positivo – dexpanthenol 5%; GE – Grupo Experimental – extrato aquoso de goiabeira. As imagens A, B e C, ilustram o primeiro dia do experimento, após a cirurgia. D, E e F, ilustram a formação de crosta nos três grupos experimentais. G, H e I ilustram o fechamento completo da ferida, observado nos três grupos no nono dia.

Na avaliação, foram levados em consideração os seguintes parâmetros: presença ou ausência de hiperemia, necrose, exsudato, edema, tecido de granulação e crosta.

Na composição dos sinais da inflamação, hiperemia e exsudato foram discretamente evidenciados em poucos animais corroborando com uma evolução positiva do processo cicatricial. Não houve também evidência de necrose nos animais testados.

Os valores médios de edema, tecido de granulação e crosta entre os três grupos (CN, GE e CP) ao longo dos dias de avaliação (Dias 2, 4, 7 e 9), estão evidenciados nos gráficos de linhas das Figuras 3, 4 e 5 respectivamente. Em seguida, foram realizadas comparações inter e intra grupos por meio da ANOVA (Análise de Variâncias). Nos casos em que foram observadas diferenças significativas, procedeu-se ao teste de comparação múltipla de Tukey.

Em todas as análises, foi considerado um nível de 5% de significância e utilizou-se o software estatístico SPSS versão 15.0.

Os dados da Figura 3 evidenciam que, nos três grupos testados houve edema a partir do 2º dia do experimento com diminuição progressiva a partir do 4º dia, com registro mais forte no grupo CP. Não foi encontrada diferença estatística entre os grupos (valor-p > 0,05).

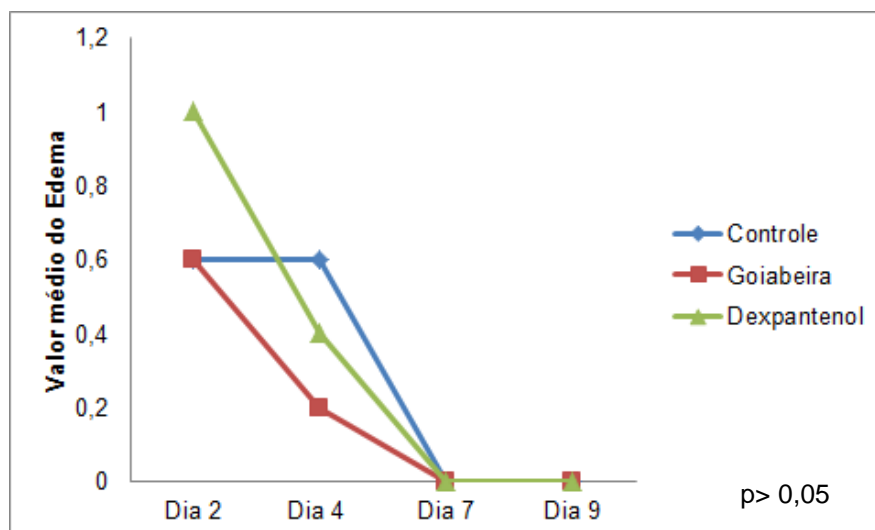


Figura 3 – Gráfico de linhas dos valores médios de edema ao longo dos dias de experimento para cada um dos grupos experimentais.

De acordo com os resultados apresentados na Figura 4, observou-se a presença discreta de tecido de granulação nos animais dos três grupos experimentais a partir do 2º dia, com pico máximo no 7º e queda brusca no 9º dia. Não foram observadas diferenças significativas nos valores médios do tecido de granulação entre os grupos para nenhum dos dias do experimento (valor- $p > 0,05$).

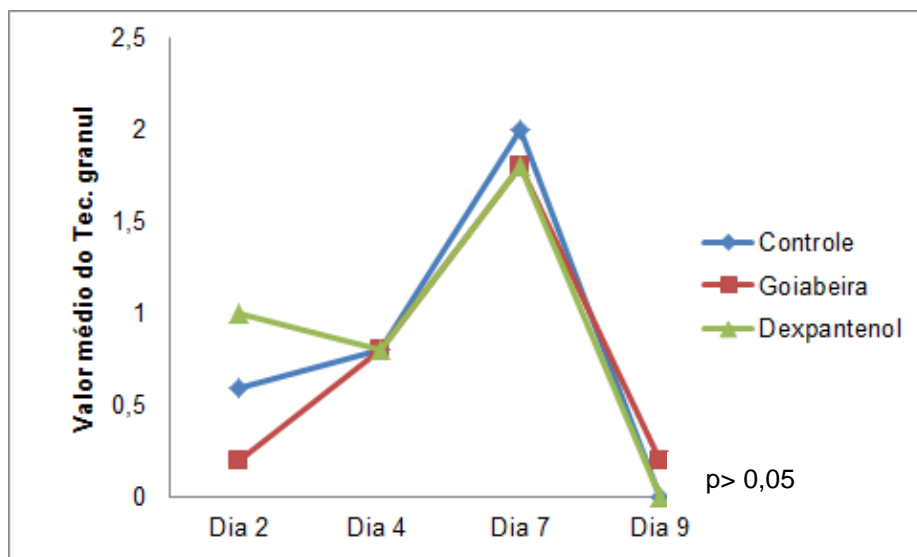


Figura 4: Gráfico de linhas dos valores médios de tecido de granulação ao longo dos dias de experimento para cada um dos grupos testados.

A evolução de formação de crosta está mostrada no gráfico da Figura 5. Foi evidenciada a formação de crosta a partir do 2º dia de experimento em todos os animais de todos os grupos. Nos grupos CP e GE o pico máximo de produção de crosta foi no 4º dia, mantendo-se com intensidade estável até o 7º dia, diferentemente o grupo CN que apresentou o pico máximo de espessamento de crosta apenas no 7º dia. No intervalo entre o 4º e o 7º dias, evidenciou-se um platô na produção de crosta espessa e uniforme, ainda mais predominante no grupo GE, sendo que, no 9º dia, com exceção de um (1) animal do grupo GE, as crostas já haviam se desprendido do dorso dos animais, com retração completa das bordas da ferida e instalação do processo de reepitelização em todos os animais dos grupos CN e CP.

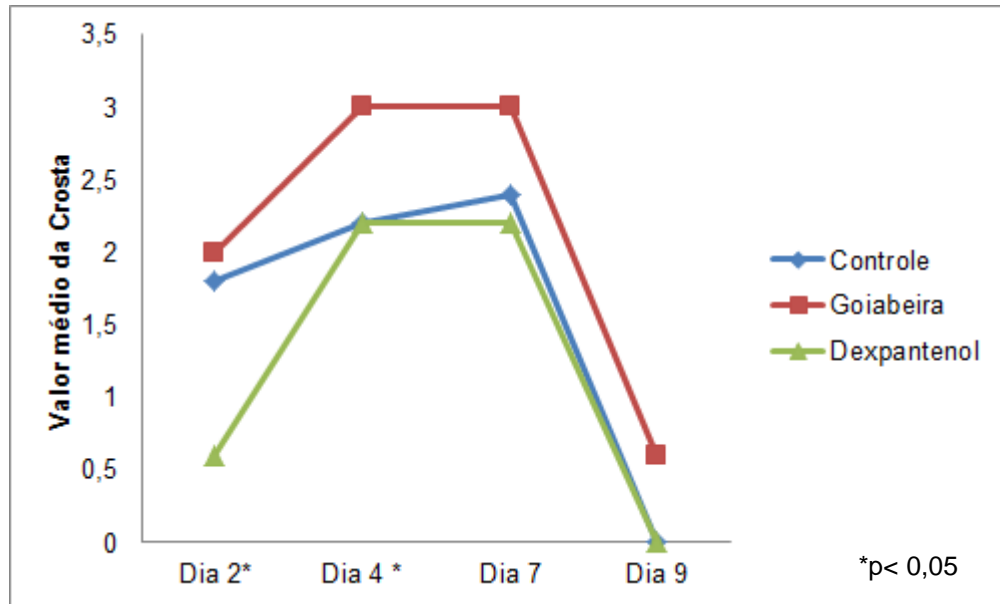


Figura 5: Gráfico de linhas dos valores médios de crosta ao longo dos dias de experimento para cada um dos grupos comparados.

Comparações inter e intra grupos por meio da ANOVA (Análise de Variâncias) mostrou diferença significativa nos valores médios da crosta entre os três (3) grupos para os dias 2 e 4 do experimento (valor- $p < 0,05$). Nos dias 7 e 9, essa diferença não foi estatisticamente significativa.

Para comparação múltipla entre os grupos, nos dias 2 e 4 foi realizado o Teste de Tukey e os resultados estão apresentados na Tabela 1.

	Grupos Experimentais	Valor-p
Dia 2	Controle (CN) x Goiabeira (GE)	0,725
	Dexpantenol (CP) x Controle (CN)	0,002
	Dexpantenol (CP) x Goiabeira (GE)	0,000
Dia 4	Controle (CN) x Goiabeira (GE)	0,012
	Controle (CN) x Dexpantenol (CP)	1,000
	Dexpantenol (CP) x Goiabeira (GE)	0,012

Tabela 1: Resultados do teste de comparação múltipla de Tukey, levando-se em consideração os valores médios da crosta entre os grupos Água Bidestilada, Goiabeira e Dexpantenol, nos dias 2 e 4.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, no dia 2 do experimento foi observada diferença significativa entre os valores médios de crosta para os grupos CN e CP, e também para os grupos GE e CP. Os resultados mostram

crosta mais evidente no grupo CN quando comparado com o grupo CP, assim como o grupo GE em relação ao grupo CP. Não foi observada diferença entre os grupos CN e GE no dia 2 do experimento. Conforme mostrado no gráfico da Figura 5, os valores médios da crosta foram menores no grupo CP e maiores nos grupos CN e GE.

No dia 4, houve diferença significativa na comparação entre os grupos CN e GE, bem como entre GE e CP. Não houve diferença na comparação entre CN e CP. De acordo com a Figura 5, os valores médios da crosta foram menores no grupo que utilizou água (CN) e dexpanthenol (CP) e significativamente maiores que no grupo que utilizou o extrato de goiabeira (GE).

É importante ressaltar que, com relação à formação de crosta, também foram observadas diferenças significativas nos dias 2 e 4 para os três grupos (valor- $p < 0,05$), com tendência a diminuição dos valores, chegando à média de aproximadamente zero no último dia.

Discussão

Feridas cutâneas causam preocupação à população e à comunidade médica; por um lado provocam marcas cicatriciais que comprometem a estética e por outro funcionam como porta de entrada para vários microrganismos patogênicos. Baseado nessas premissas, muitos pesquisadores estudam a evolução do processo cicatricial assim como a potencialização deste, por meio da utilização de tratamentos tópicos com extratos, tinturas e óleos vegetais que são aplicados sobre as lesões com o intuito de avaliar propriedades farmacológicas capazes de influenciar positiva ou negativamente a cicatrização, tanto do ponto de vista macro quanto microscópico, obtendo resultados muitas vezes conflitantes.

Desse modo, pode ser favorável a utilização de agentes cicatrizantes que possuam a capacidade de agir diretamente no processo, interferindo no reparo ou atuando como agente antisséptico (CAVALCANTI NETO et al., 2005).

A opção de utilizar o extrato aquoso da casca da goiabeira (*Psidium guajava* L.) foi baseada na necessidade de avaliação científica de suas propriedades cicatrizantes, tendo em vista resultados de pesquisas experimentais com animais de laboratório, que mostram sua ampla ação em diferentes processos biológicos; seu

amplo emprego popular em diferentes regiões do Brasil; e ao uso empírico como cicatrizante por populações de cidades do Norte do Brasil.

Barbalho et al. (2012) mostram, em um artigo de revisão, resultados de várias pesquisas, as quais utilizaram todas as partes da planta goiabeira, incluindo frutas, folhas, cascas do caule e raízes. As partes da planta foram usadas na preparação de diferentes extratos: alcóolico; metanólico; aquoso; glicólico entre outros e em diferentes concentrações. Todos os extratos mostraram ações em diversos processos celulares.

Uso popular mostra ainda o uso de chás de folhas, uso da polpa da fruta e sementes para tratar doenças respiratórias, gastrointestinais, além do emprego como antiespasmódico, anti-inflamatório, antidiarreico, no tratamento da hipertensão, obesidade, no controle da diabetes mellitus (RYU et al, 2012). As sementes também já são usadas como antimicrobianos, para o tratamento de dor de estômago e diarreia, como antialérgica e anticarcinogênica (PELEGRINI et al., 2008; METWALLY et al., 2010; HUANG; YIN; CHIU, 2011; BONTEMPO et al., 2012).

Com o foco na atividade cicatrizante da goibeira, temos os resultados obtidos dos experimentos de Chah et al. (2006) mostrando aplicação do extrato metanólico de *Psidium guajava* L. na cicatrização de feridas produzidas em ratos albinos. Os autores relatam o fechamento das feridas produzidas após 14 dias de tratamento.

A atividade cicatrizante de extrato glicólico de *Psidium guajava* L. foi também avaliada em experimento com ratos machos da linhagem wistar, por Okamoto (2010). A pesquisadora mostrou, no teste de cicatrização das lesões produzidas com punch 0,4 mm, que o extrato glicólico de *Psidium guajava* L promoveu a cicatrização das feridas em 14 dias de tratamento, porém não houve diferença significativa quando comparado com solução fisiológica. No entanto, em análise microscópica (histológica) das lesões, foram observadas diferenças qualitativas em relação aos controles, tendo sido evidenciado fibroplasia e proliferação vascular, características de fase granulatória. Para a autora, os resultados indicam eficácia do extrato na cicatrização de feridas.

Os resultados do presente estudo evidenciam uma evolução clínica das feridas, semelhante nos três grupos experimentais, com homogeneidade maior entre os grupos CP (Controle Positivo – Dexpantenol) e GE (Grupo Experimental – Extrato de Goiabeira), e com aparente superioridade cicatricial do Grupo CN (Controle Negativo – Água Bidestilada) em relação ao grupo CP (valor- $p < 0,05$). Quando se comparam

os grupos CP e GE, tendo como parâmetro a formação e espessura da crosta, observou-se diferença significativa nos valores médios da crosta entre os grupos para os dias 2 e 4 do experimento (valor- $p < 0,05$). Notou-se que as crostas foram evidentes do 4° ao 7° dias de experimento em todos os grupos, entretanto foram mais espessas e consistentes nos cinco animais do grupo GE. Independentemente de parâmetros individualizados para a observação de crosta, no 9° dia do experimento, com exceção de um (1) animal do grupo GE, todas as crostas se desprenderam espontaneamente com fechamento completo das bordas. O animal supracitado pode ter sofrido interferência individual.

A formação de crosta é sinal de estágio avançado de cicatrização e parâmetro de fundamental importância na epitelização, uma vez que o aparecimento desta mostra que ocorreu a formação do tampão plaquetário e a vasoconstrição por estímulo de vários fatores (HANKS; SPODNICK, 2005; HOSGOOD, 2006; REINKE; SORG, 2012). A formação da crosta promove também proteção da lesão, prevenindo futuras hemorragias e permitindo que o processo de cicatrização ocorra discretamente abaixo da lesão (HOSGOOD, 2006). Então, no presente trabalho, entende-se que a formação de crosta abundante no grupo tratado com extrato de goiabeira provavelmente beneficiou os animais durante o fechamento da ferida.

Embora utilizando substâncias diferentes, tanto Santos et al. (2006) como Amorim et al. (2006) perceberam predomínio de crosta em relação aos demais elementos estudados, especialmente nos primeiros 7 dias de tratamento. Esses autores utilizaram extratos de *Jatropha gossypifolia* L e *Orbignya phalerata*. Esses resultados foram reafirmados por Garros et al (2006) que, utilizando *Passiflora*, observaram que as lesões, tanto no grupo Controle como no grupo *Passiflora*, apresentavam suas superfícies recobertas por crosta fibrino-leucocitária, que corroboravam os dados encontrados em outros estudos feitos sobre cicatrização em ratos.

Hanks e Spodnick (2005) e Reinke e Sorg (2012) destacam também a importância do tecido de granulação na evolução do processo cicatricial. Quanto mais tecido de granulação houver na lesão, maior o número de queratinócitos, que se espalham nas bordas da ferida favorecendo o processo de epitelização. Neste estudo a visualização do tecido de granulação foi evidenciada no 2° dia, com evolução até o 7° dia, entretanto com baixa intensidade, provavelmente com visualização dificultada

pela formação da crosta, sobretudo no grupo GE. A crosta encobriu as feridas, o que dificultou a visualização do tecido de granulação. Nesse caso a avaliação histológica seria fundamental para identificação e quantificação dos tipos celulares em cada dia de evolução do processo.

Os resultados deste estudo mostraram uma evolução cicatricial discretamente com tempo menor comparado com outros estudos semelhantes realizados com ratos e utilizando extratos de plantas. Isso não é surpreendente, pois os estudos apresentam características individualizadas como o gênero (machos ou fêmeas) e o peso dos animais e o número de feridas produzidas; uso de extratos diversos entre outras características particulares de cada estudo. Freitas (2014) destaca que cada produto pode agir em fases diferentes e tem diferentes formas de aplicação e tempo de tratamento, o que possibilita um grande número de combinações de produtos e padronização de protocolos.

Independentemente das características de cada estudo, o importante é observar o processo de cicatrização na sua sequência ininterrupta de eventos que interagem, buscando a reparação do tecido lesado, compreendendo as fases de extravasamento do plasma, coagulação e agregação plaquetária, e por fim, a reepitelização e remodelagem tecidual (MENDOÇA; COUTINHO-NETTO, 2009).

Apesar de a maioria das feridas cutâneas evoluírem com resolução natural, os tratamentos recomendados intencionam uma evolução mais rápida, com efeitos colaterais diluídos e maior conforto. A literatura científica mostra o uso de vários produtos naturais à base de extratos de plantas, denominados fitoterápicos, como opções eficientes para todos os tipos de ferida. Essa categoria de medicamentos promove a cicatrização por diversos mecanismos, incluindo ação anti-inflamatória e antibiótica (FREITAS, 2014). Mandelbaum et al. (2003) acrescentam ainda que os fitoterápicos também têm a vantagem de ser de baixo custo, acessíveis e seguros no tratamento de feridas.

Piriz e seus colaboradores (2014) realizaram uma busca na literatura, a fim de obter informações acerca da utilização de plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas. Os resultados apontaram um total de 52 plantas medicinais e um composto de ervas que foram estudados experimental ou rotineiramente, quanto aos seus efeitos no auxílio do processo de cicatrização, sendo que a maioria (88,5%) apresentou eficácia. Dentre as plantas relatadas, destacou-se o uso de extrato

glicólico (OKAMOTO, 2010) e metanólico (CHAH et al. 2006), de folhas de *Psidium Guajava L.*

É também importante destacar que o Ministério da Saúde Brasileiro busca estimular a inserção das práticas complementares de cuidado no sistema oficial de saúde. Destaca-se a implementação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) (BRASIL, 2006a) e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) (BRASIL, 2006b), ambas no ano de 2006 que visam estimular o acesso às práticas complementares e às plantas medicinais, para o cuidado em saúde, de forma eficaz e segura.

No ano de 2010, foi também publicada a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 10. Essa resolução lista 66 plantas medicinais com comprovadas ações na saúde humana. De acordo com essa lista, as plantas medicinais indicadas para cicatrização de feridas, com comprovadas ações são *Anacardium occidentale L.* (cajuzeiro), *Caesalpinia ferrea Mart.* (pau-ferro), *Casearia sylvestris Sw.* (guaçatonga), *Schinus terebinthifolia Raddi* (aroeira), *Stryphno dendro madstrigens* (Mart.), Coville (barbatimão), *Calendula officinalis L.* (calêndula), *Polygonum punctatum Elliott* (erva-de-bicho), *Coronopudidymus (L.) Smith* (mastroço), *Aloe Vera (L.)* (babosa) e *Helianthus annuus* (girassol) (BRASIL, 2010). Vê-se que a *Psidium guajava L.* não é citada, estimulando ainda mais a busca de sua eficácia na cicatrização de feridas.

Com isso, verifica-se que a utilização de plantas medicinais é uma importante alternativa no tratamento de feridas e que começa também a fazer parte da atenção primária à saúde brasileira, o que requer mais estudos para comprovação clínica, avaliação de custos e de benefícios e a constante atualização acerca das publicações realizadas.

Importante destacar ainda a necessidade de analisar as substâncias presentes no extrato aquoso utilizado. Sabe-se que o tipo de solvente e a parte da planta utilizada interfere no tipo e concentração das substâncias presentes no extrato.

Os principais constituintes já descritos da goiaba são as vitaminas, taninos, compostos fenólicos, compostos, flavonoides, óleos essenciais, álcoois de sesquiterpeno e ácidos triterpenoides (HAIDA; BARON, 2011), além de altas concentrações de carotenoides (Beta-caroteno, licopeno, e beta-criptoxantina), vitamina C e polifenóis em polpa de goiaba (OLIVEIRA et al., 2010; RAMIREZ; DELAHAYE, 2011).

Diante da ausência de relatos de toxicidade da goibeira, de sua ampla distribuição no Brasil, e, mediante os resultados encontrados, neste estudo, faz-se necessária a ampliação dos experimentos, com a utilização de grupos maiores de animais, com outras concentrações e apresentações do extrato aquoso e com a análise microscópica das lesões (histologia), para que seja possível comprovar a ação da *Psidium guajava L.* sobre as células envolvidas no processo de cicatrização.

Conclusão

Em conclusão, o extrato aquoso de *Psidium guajava L.* pode auxiliar no processo de cicatrização, mostrando possível potencial terapêutico sobre as lesões cutâneas experimentais. Tal ação provavelmente esteja relacionada à presença dos taninos e flavonoides da planta, que influenciam no fechamento precoce das bordas da ferida e o espessamento da crosta.

Como as lesões de pele, particularmente as feridas, possuem grande importância clínica em função da alta frequência com que ocorrem, este estudo aponta perspectivas para a utilização do extrato aquoso de *Psidium guajava L.* em ferimentos cutâneos de segunda intenção.

Title

Healing activity assessment of *Psidium guajava L* aqueous extract in female wistar rats.

ABSTRACT

Introduction: Usage of phytomedicinals is a low cost alternative and an easy access to skin wounds treatments. The popular empiricism and the belief that some plant species have potentiating properties in tissue repair processes has contributed to the increase of experiments aimed at seeking more detailed information about the therapeutic agents of these plants. Aim: to evaluate the healing activity of *Psidium guajava L*. stem bark aqueous extract in second intention wounds in female wistar rats. Methods: fifteen animals were randomly divided into three groups of 5 animals each: Positive Control (PC) (Dexpanthenol 5% solution); Negative Control (NC) (sterile distilled water) and Experimental Group (EG) (10% *Psidium guajava L*. stem bark aqueous extract). Wounds were made under anesthesia by intraperitoneal application of 10% ketamine (80mg/kg) and 2% xylazine (15mg/kg). After anesthesia, the animals were shaved upper back and 2% iodine alcohol solution was used for antisepsis. Surgical incision was made using a 6mm punch, having the middle line as reference. Epidermis, dermis and conjunctiva fascia of the animal were included in the stratification. Treatment was daily with topical application and the progress of healing was documented on days 2, 4, 7 and 9. In these days were evaluated: lesion appearance and color (edema and hyperemia), presence and amount of exudate, granulation tissue, necrosis and crust. Results: edema, hyperemia and granulation tissue showed similar clinical outcomes in the three experimental groups on days 2 and 4 of the experiment. The mean values of the crust between the control groups and dexpanthenol, and also for the EG and dexpanthenol group were statistically significant (p-value <0.05). Conclusion: *Psidium guajava L*. aqueous extract can be used as effective natural strategy to help treat wounds. The mechanism of action is probably related to the presence of tannins and flavonoids in the plant, as shown by other studies.

Keywords: *Psidium guajava L*. Wound healing. Phytomedicinals.

Referências

AMORIM, E. et al. Efeito do uso tópico do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (Babaçu) na cicatrização de feridas cutâneas - estudo controlado em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira** – v. 21 (Suplemento 2) 2006 – 67.

BARBALHO et al. *Psidium Guajava* (Guava): A Plant of Multipurpose Medicinal Applications. **Med Aromat Plants**, v.1, n. 4, p. 2-6, 2012.

BATISTA, E. K. F. et al. Avaliação do efeito de formulações com o látex da *Euphorbia tirucalli* na terapêutica tópica de feridas cutâneas: aspectos clínicos e histopatológicos. **Medicina Veterinária**, v.8, n.2, p.1-11, 2014.

BONTEMPO, P. et al. *Psidium guajava* L. anti-neoplastic effects: induction of apoptosis and cell differentiation. **Cell Prolif**, v.45, p. 22-31, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. 60 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS – PNPIC-SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006b. 92p.

BRASIL. Terceiro Conselho Regional de Nutricionistas. Resolução RDC nº 10. 9 de março de 2010. Disponível em:
<http://www.crn3.org.br/legislacao/doc/resolucao10_09_03_10.pdf> Acesso em 07 de mar de 2016.

CAVALCANTI Neto A.T. et al. Comparative evaluation between copaiba oil-resin and chlorhexidine digluconate on wound healing. Histological study in rats. **Rev Odontol UNESP**, v.34, n.2, p.107-112. 2005.

CHAH, K.F. et al. Antibacterial and wound healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.104, n.1-2, p.164-167, 2006.

FERREIRA M.S. Otimização de solução extrativa e desenvolvimento tecnológico de produto seco por aspersão de *Psidium guajava* L. Natal, RN: UFRN, 2009. Disponível em: <<http://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/13442>>. Acesso em: 10 de mar 2016.

FREITAS, V.S. et al. Propriedades farmacológicas da Aloe vera (L.) Burm. f. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.2, p.299-307, 2014.

GARROS, I.C. et al. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21, p.55, 2006.

HAIDA, K. S.; BARON, A. Phenolic compounds and antioxidant activity of two varieties of guava and rue. **Rev Bras Ciênc Saúde**, v.28, p.11-19, 2011.

HANKS, J.; SPODNICK, G. Wound healing in veterinary rehabilitation patient. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**. [S.l.] v. 35, n. 6, p. 1453-1471, nov. 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 01 de abr 2016.

HOSGOOD, G. Stages of wound healing and their clinical relevance. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**. [S.l.] v. 36, n. 4, p. 667-685, 2006. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 01 de fev 2016.

HUANG, C. S.; YIN, M. C.; CHIU, L.C. Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Psidium guajava* fruit in streptozotocin-induced diabetic rats. **Food Chem Toxicol**, v.49, p.2189-2195, 2011.

KANERIA, M.; CHANDA, S. Phytochemical and Pharmacognostic Evaluation of Leaves of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Pharmacog**, v.23, p. 32-41, 2011.

KOROLKOVAS A. **Dicionário terapêutico Guanabara**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap.19. 724p.

MANDELBAUM, S. H. et al. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte II. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro , v.78, n.5, p.521-522, 2003.

MARTORELLI et al., 2011. Efeito anti-inflamatório e cicatrizante do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius Raddi* (AROEIRA) A 30% em orabase – estudo “*In vivo*”. **Int J Dent**, Recife, 10(2):80-90, abr./jun.,2011 Disponível em: <<http://www.ufpe.br.ijid>> Acesso em: 05 de mar 2016.

MENDONÇA J.F.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **An Bras Dermatol**. v.84, n.3, p.257-62, 2009.

METWALLY, A. M. et al. Phytochemical investigation and antimicrobial activity of *Psidium guajava* L leaves. **Pharmacogn Mag**, v.6, p.212-218, 2010.

OLIVEIRA, F.C.S.; BARROS, R.F.M.; MOITA NETO, J.M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.3, p.282-301, 2010.

OKAMOTO, M. K. H. Estudo das atividades cicatrizante e antimicrobiana do extrato glicólico e do gel de *Psidium guajava* L., e estudo da estabilidade do gel. **Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo**. Departamento de Farmácia. São Paulo, 2010. 118p.

PELEGRINI, P.B. et al. Identification of a novel storage glycine-rich peptide from guava (*Psidium guajava*) seeds with activity against Gram-negative bacteria. **Peptides**, v.29, p.1271-1279, 2008.

PIRIZ, M.A. et al. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.3, p.628-636, 2014.

RAMÍREZ, A.; DELAHAYE, E. P. Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. **Interciencia**, v.36, p. 71-75, 2011.

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

RYU, N. H. et al. A Hexane Fraction of Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) Induces Anticancer Activity by Suppressing AKT/Mammalian Target of Rapamycin/Ribosomal p70 S6 Kinase in Human Prostate Cancer Cells. **J Med Food**, v.15, p. 231-241, 2012.

SANTOS, M.N.F et al. Avaliação do uso do Extrato Bruto de *Jatropha gossypifolia* L. na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira** - v 21 (Suplemento 3), 2006.

SARMENTO, P.A. et al. Avaliação do extrato da *Zeyheria tuberculosa* na perspectiva de um produto para cicatrização de feridas. Maceio, **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 22, n. 1, p. 165-172, Feb. 2014 .

SÉRVIO, E.M.L. et al. Cicatrização de feridas com a utilização do extrato de *Chenopodium ambrosoides* (Mastruz) e cobertura secundária estéril de gaze em ratos. Terezina, **ConScientiae Saúde**, v.10, n.3, p.441-448, 2011.

TÔRRES, A.R. et al. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.4, 373-380, 2005.

TRESVENZOL, L.M.F. et al. Avaliação da toxicidade aguda e da atividade cicatrizante dos extratos etanólicos das folhas e raízes da *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers (Bignoniaceae). **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 15, n. 3, p. 423-430, 2013.

VENDRUSCOLO G.S, Rates S.M.K, Mentz L.A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Rev Bras Farmacogn**, v.15, p.361-372, 2005.