

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM DORSO DE RATOS
COM E SEM LASERTERAPIA, DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA
E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae).**

ELIZABETH ARRUDA CARNEIRO PONZI

RECIFE / PE

2010

ELIZABETH ARRUDA CARNEIRO PONZI

**AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM DORSO DE RATOS
COM E SEM LASERTERAPIA, DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA
E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae).**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências
da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco,
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Ciências Farmacêuticas

Área de Concentração: Avaliação e obtenção de
Produtos Naturais e Bioativos

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ivone Antônia de Souza
Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Jane Sheila Higino
Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio

RECIFE / PE

2010

Ponzi, Elizabeth Arruda Carneiro

Avaliação da cicatrização de feridas em dorso de ratos com e sem laserterapia, determinação da toxidade aguda e atividade antimicrobiana de *Momordica chaantia* L. (Cucurbitaceae) / Elizabeth Arruda Carneiro Ponzi. – Recife : O Autor, 2010.

xviii, 85 folhas; il., fig., tab., quadros.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2010.

Inclui bibliografia e anexos.

1. *Momordica chaantia* L. 2. Cicatrização. 3. Análise histológica. I. Título.

633.88

CDU (2.ed.)

UFPE

615.321

CDD (20.ed.)

CCS2010-077

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

REITOR

AMARO HENRIQUE PESSOA LINS

VICE-REITOR

GILSON EDMAR GONÇALVES E SILVA

PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

ANÍSIO BRASILEIRO DE FREITAS DOURADO

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

JOSÉ TADEU PINHEIRO

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

MÁRCIO ANTÔNIO DE ANDRADE COELHO GUEIROS

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DALCI JOSÉ BRONDANI

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANTÔNIO RODOLFO DE FARIA

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PEDRO JOSÉ ROLIM NETO

VICE-COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BEATE SAEGESSER SANTOS

RECIFE / PE

2010



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Recife, 05 de fevereiro de 2010.

Defesa de Tese de Doutorado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 05 de fevereiro de 2010 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E PRIMEIRO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Ivone Antônia de Souza
(Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: Ivone Antônia de Souza

SEGUNDO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Haroudo Sátiro Xavier
(Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Assinatura: Haroudo Sátiro Xavier

TERCEIRO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Maria Nelly Caetano Pisciotano
(Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: Maria Nelly Caetano Pisciotano

PRIMEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Fálba Bernadete Ramos dos Anjos
(Deptº de Histologia da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Assinatura: Fálba Bernadete Ramos dos Anjos

SEGUNDO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Maria da Salete Horácio da Silva
(Centro de Defesa do Saber Popular em Saúde da Paraíba)

Assinatura: Maria da Salete Horácio da Silva

TERCEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. George Chaves Jimenez
(Deptº de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco)

Assinatura: George Chaves Jimenez

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a **Deus**, por ter me dado força e equilíbrio para superar todas as dificuldades que a vida me impôs nesta jornada, bem como discernimento, paciência, calma e sabedoria para que eu pudesse concretizar este grande sonho. Obrigado por ter me iluminado neste percurso que esta sendo concluído.

À meu pai **José Carneiro Xavier de Souza** “in memoriam” e a minha mãe **Nilza Arruda Carneiro de Souza** pelo exemplo de vida e amor incondicional, sempre acreditando em mim.

Aos meus filhos **Priscila, Fabíola e José Edson**, que acompanharam de longe toda esta jornada e, com seu amor e admiração, me deram coragem para seguir sempre em frente. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, minha fortaleza!!! Obrigado Senhor por ter me dado força nos momentos de fraqueza, ânimo nos momentos de tristeza, calma nos momentos de desespero, por ter estado sempre ao meu lado durante a execução deste trabalho.

À imensa compreensão da minha orientadora professora Ivone Antônia de Souza, por seu apoio e inspiração no amadurecimento dos meus conhecimentos científicos e conceitos, pela eficiente orientação, disponibilidade, pelos conhecimentos transmitidos, amizade, dedicação, paciência e conselhos que me levaram à execução e conclusão deste trabalho. Muito obrigado!

Ao Professor Haroudo pelo carinho, incentivo, colaboração, apoio incondicional e ajuda a mim dispensados durante todo o período de convivência, pelo que sou eternamente grata.

As Professoras Falba e Nely pela ajuda e apoio imensurável na realização deste trabalho. Meu muito obrigado.

A Assis, meu grande amigo de todas as horas, pela paciência e incentivo incondicional, estando sempre presente quando mais preciso, não medindo esforços em me ajudar, estando ao meu lado compartilhando os momentos bons e os estressantes durante todo este período.

A toda minha família minha mãe, Dinho, Pipa, Bila, Dindo, Lúcia e Isaque que, com muito apoio e carinho, me incentivaram e estavam sempre presentes para que eu chegasse até o final desta importante jornada da minha vida.

Ao meu amigo Carlos Lopes profissional competente e dedicado sempre presente oferecendo amizade, consideração e apoio incondicional em todas as horas.

As amigas Renata Patrícia Freitas Soares de Jesus e Irla Vanessa Gomes agradeço de todo coração a ajuda que me deram, tornando possível à conclusão deste trabalho.

Aos grandes amigos, Marleny com quem sempre conto nas horas boas e difíceis, agradeço de todo coração; Toinho (Antonio Pinheiro) amigo de varias décadas e de muita importância na minha ascendência profissional.

.A Prof^a. Iracema, minha verdadeira amiga de todas as horas, agradeço o apoio nesta fase tão difícil da minha vida.

A Justino fiel discípulo e amigo agradeço toda a ajuda; a Paulo Victor pelo apoio no Herbário, a Leo pelo auxílio nos procedimentos experimentais.

Aos tios Nancy e Oliveira pelo carinho a mim dispensado, sempre se preocupando comigo me dando palavras de força para concluir esta jornada. Amo vocês.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação Margarete e Conceição pela colaboração e compreensão, em todas as horas que precisei.

E a todos, **familiares e amigos**, que sempre, mesmo de longe, me apoiaram e me incentivaram para que eu não desistisse dos meus objetivos e ideais.

O segredo do bem estar
é sentir prazer nas
pequenas coisas
do dia a dia e
comemorar a
realização
de cada
sonho.

Beth Ponzi

RESUMO

Historicamente, Cucurbitaceae é uma das mais importantes famílias de plantas utilizadas para a produção de alimentos, fibras e fitoterápicos. *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) é muito utilizada no mundo inteiro, não somente as folhas, mais o caule, flores, frutos e raízes. Os estudos fitoquímicos dos componentes botânicos desta planta, revelaram os compostos biologicamente ativos presentes neste vegetal. Este trabalho teve como proposta avaliar a ação do extrato hidroalcoólico (EH) de *M. charantia* L. (uso tópico) no processo de cicatrização de feridas padronizadas em dorso de ratos albinos Wistar (*Rattus norvegicus*) com e sem laserterapia. O processo de reparo cutâneo foi avaliado através da observação macroscópica, mensuração da área de retração da ferida e avaliação microscópica através da contagem do número de células mononucleares, fibroblastos e vasos sanguíneos. Um total de 108 ratos, machos, pesando entre 250 a 340 g. foram divididos em seis grupos, tendo cada um 18 animais: Grupo I – Controle (creme inerte); Grupo II – Tratados com creme (EH) de *M. charantia* L.; Grupo III – Padrão Cicatrizante (Fibrase); Grupo IV – Controle (creme inerte) + laserterapia (685 nm/ 40 mW / 16 J/cm²); Grupo V – Tratados com creme (EH) de *M. charantia* L + laserterapia (685 nm/ 40 Mw / 16 J/cm²); Grupo VI – Padrão Cicatrizante (Fibrase) + laserterapia (685 nm/ 40 mW / 16 J/cm²). Cada grupo foi dividido em três subgrupos (A, B, C), com 6 animais, sendo sacrificados com overdose, três, sete e 14 dias respectivamente. Foi administrados (uso tópico) o extrato da planta e o padrão cicatrizante por cinco dias consecutivos; o grupo com laserterapia foi irradiado a cada 48 horas num total de sete irradiações, procedeu-se à retirada das peças para avaliação histológica com a técnica de hematoxilina-eosina para verificar as diferentes fases de cicatrização. O Grupo V demonstrou ser o mais eficaz por acelerar ($p < 0,01$) o processo de regeneração cutânea, seguido do grupo II, demonstrando a ação do laser e os potenciais farmacológicos desta planta, apresentando diferenças no tempo de cicatrização e no grau de maturação celular.

Descritores: *Momordica charantia* L, Laser, cicatrização, análise histológica

ABSTRACT

Historically, Cucurbitaceae has been one of the most important plant families used in the food production, fiber and phytotherapy. *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) is widely used throughout the world, including its leaves, stem, flowers, fruit and roots. Phytochemical analyses of the botanical components of this plant have revealed biologically active compounds. The aim of the present study was to assess the wound-healing activity of a hydro-alcoholic extract (topical use) from *M. charantia* L. in the healing process of standardized wounds on the dorsum of Wistar rats with and without laser therapy. The skin repair process was assessed through macroscopic observation and the measurement of the retraction area of the wound as well as microscopic assessment through the count of the number of mononuclear cells, fibroblasts and blood vessels. The animals (108 male rats weighing 250 to 340 g) were divided into six groups of 18 animals each: Group I – Control (placebo cream); Group II –Treated with cream (EH) of *Momordica charantia* L. extract cream; Group III – animals treated with chloramphenicol/fibrinolysin/deoxyribonuclease ointment; Group IV – Control (placebo cream) + laser therapy (685 nm / 40 mW / 16 J/cm²); Group V –Treated with cream (EH) of *Momordica charantia* L. extract cream + laser therapy (685 nm / 40 mW / 16 J/cm²); Group VI – animals treated with chloramphenicol/fibrinolysin/deoxyribonuclease ointment + laser therapy (685 nm / 40 mW / 16 J/cm²). The groups were divided into three subgroups (A, B, C) of six animals and sacrificed with an overdose at three, seven and 14 days. The samples were removed for histological analysis using hematoxylin-eosin staining to determine the different stages of healing. Group V proved the most effective at accelerating the skin regeneration process ($p < 0.01$), followed by group II, demonstrating the action of laser therapy and the pharmacological potential of this plant through the difference in healing time and degree of cell maturation.

Descriptors: *Momordica charantia* L, Laser, healing, histological analysis

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	
XIV	
LISTA DE FIGURAS	
XVII	
LISTA DE TABELAS	
XVIII	
1 – INTRODUÇÃO	01
2 – OBJETIVOS	03
2.1 - Objetivo Geral	03
2.2 - Objetivos Específicos	03
3 - REVISÃO DE LITERATURA	04
3.1 – CICATRIZAÇÃO	04
3.1.1 - Etapas na Resolução de uma Ferida	06
3.1.2 - Fase Inflamatória	06
3.1.3 - Fase de Proliferação Celular	08
3.1.4 - Formação de Tecido Conjuntivo	09
3.1.5 - Fase de Contração	09
3.1.6 - Fase de Remodelação	10
3.1.7 - Fatores que Influenciam a Cicatrização de Feridas	10
3.2 – ANTIMICROBIANOS	11
3.3 - <i>Momordica charantia</i> L.	14
3.4 – TOXICOLOGIA	18
3.5 – LASER	18
4 - MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 – Vegetal	24
4.2 – Animais	24

4.3 – Irradiação com Laser	25
5 – RESULTADOS	27
6 – DISCUSSÃO	36
7 – CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40
ARTIGO 1 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO	
DE <i>Momordica charantia</i> L.	52
RESUMO/ABSTRACT	53
INTRODUÇÃO	53
MATERIAIS E MÉTODOS	54
RESULTADOS	55
DISCUSSÃO	55
CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS	56
Quadro 1 – Atividade antimicrobiana do extrato de extração hidroetanólico de <i>M. charantia</i> L.	58
Quadro 2 – Atividade antimicrobiana do extrato de extração hidroetanólica de <i>M. charantia</i> L.	59
ARTIGO 2 - AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA	
DE <i>Momordica charantia</i> L. (curbitaceae)	60
RESUMO/ABSTRACT	61
INTRODUÇÃO	62
MATERIAIS E MÉTODOS	62
OBTENÇÃO DO EXTRATO	62
ANIMAIS	62
ESTUDO TOXICOLÓGICO	63
RESULTADOS	63

DISCUSSÃO	63
CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS	64

Tabela 01 – Parâmetros da toxicidade observados em camundongos

albinos (<i>Mus musculus</i>), machos, tratados com diferentes doses do extrato hidroetanólico de <i>M. charantia</i> L., por via oral.	66
---	-----------

ARTIGO 3 - EFEITO DO USO TÓPICO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE <i>Momordica charantia</i> L. (curbitaceae) NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS - ESTUDO EM RATOS	67
RESUMO/ABSTRACT	68
INTRODUÇÃO	69
MATERIAIS E MÉTODOS	69
RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
CONCLUSÃO	72
REFERÊNCIAS	73

ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER DO COMITE DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL DA UFPE (CEEa) Nº 011375/2006-11 EM 08/08/2006.	75
ANEXO 2 – EXSICATA DE <i>Momordica Charantia</i> L. HERBÁRIO GERALDO MARIZ DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA/CCB/UFPE, nº 57702.	76
ANEXO 3 – ACEITE DA PUBLICAÇÃO NA REVISTA BRAZILLIAN JOURNAL OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY.	77
ANEXO 4 - Corte histológico dos grupos: Padrão Fibrase 3 dias (A, B), 7 dias (C), corado com Hematoxilina-Eosina	78
ANEXO 5 - Corte histológico dos grupos: Padrão Fibrase 7 dias (A), 14 dias (B), Controle dias (C), corado com Hematoxilina-Eosina	79

ANEXO 6 - Corte histológico dos grupos: Controle 3 dias (A), 7 dias (B, C), corado com Hematoxilina-Eosina	80
ANEXO 7 - Corte histológico dos grupos: Controle 14dias (A), Tratado extrato 3 dias (B, C), corado com Hematoxilina-Eosina.	81
ANEXO 8 - Corte histológico dos grupos: Tratado extrato 3 dias (A), 7 dias (B), 14 dias (C), Corado com Hematoxilina-Eosina	82
ANEXO 9 - Corte histológico dos grupos: Tratado extrato 14 dias (A, B, C), corado com Hematoxilina-Eosina	83
ANEXO 10 - Corte histológico dos grupos: EH+Laser 3 dias (A), 7 dias (B),14 dias (C), Corado com Hematoxilina-Eosina.	84
ANEXO 11 - Corte histológico dos grupos: Laser 3 dias (A), 7 dias (B), 14 dias (C) corado com hematoxilina-Eosina.	85

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

%	Porcentagem
(-)	Subtração / Menos
(+)	Adição / Mais
(±)	Mais ou Menos
(λ)	comprimento de onda
(3:7 v/v)	Três para sete volume/volume
μ L	Microlitro
μ m	Milimicra
($p < 0,05$)	Desvio padrão
($p = 0,140$)	Desvio padrão
1/5	Fração - Um Quinto
ANOVA	Análise de variância
AsGa	Arseneto de Gálio
AsAlGa	Arseneto de Gálio e Alumínio
ATCC	American Type Culture Collection
Bireme	Centro Latino-Americano e do Caribe de informação em Ciências da Saúde
CCB	Centro de Ciências Biológicas
CEEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
cm	Centímetro
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CW	contínua
D ₁	Maior dose de sobrevivência
D ₂	Menor dose de letalidade
DL ₅₀	Dose letal para 50% do grupo de animais estudados
DPPH	Método de varredura do radical livre
EH	Extrato hidroetanólico
Er:YAG	Erbium: Yttrium Aluminum Garnet
FCF	Espécie de origem clínica cadastrada Farmácia-Cepa Farmácia
FCP	Espécie de origem clínica cadastrada Farmácia-Cepa – <i>Penicillium</i>
g	Grama
h	Hora
He-Ne	Hélio-Neônio
HILT	Hight-Intensity Laser Treatment
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IM	Intra Muscular
IR	(infrared) – infra-vermelho
J	joule
J/cm ²	Joule por centímetro quadrado
LASER	amplificação da luz por emissão estimulada de radiação
Latitude Sul	7° 59' 23.62'' S
Lilacs	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
LILT	Low-Intensity Laser Treatment
LM	Laboratório de Micologia
Longitude Oeste	34°50'48.23''O
m	Metro

MAP 30	Lecitinas
MCEI-I	Inibidores de elastase
MCTI	mormocharina
mg	Miligrama
mg/kg	Miligrama por Quilograma
MH	Espécie de origem clínica isolada de hemocultura
mm	Milímetro
mW	Milivolt
nm	Nanômetro
° C	Grau Celsius
OMS (WHO)	Organização mundial de saúde
p = 0,05	Desvio padrão
P	Potência
PAF	Fator de ativação plaquetário
S	segundo
Scielo	Biblioteca eletrônica científica on-line.
SLAT	Selective Laser Treatment
SUS	Sistema Único de Saúde
TNF	Fator de necrose tumoral
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
v.o.	via oral
W	Watt

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1 - Etapas do processo de cicatrização.	05
Fig. 2 - Vista geral de <i>M.charantia</i> L.–Melão de São Caetano.	14
Fig. 3 - Estrutura química de momordicinas eu, II e III nas folhas de <i>M. charantia</i> L.	16
Fig. 4 – Espectro de luz visível ao olho humano.	21
Fig. 5 – Folhas trituradas de <i>M. charantia</i> L.	24
Fig. 6- Demonstração do procedimento cirúrgico: incisão.	25
Fig. 7- Aplicação do Extrato (com uma espátula) diretamente na ferida.	25
Fig. 8. Aparelho Laser diodo IR (AsAlGa) de 685 a 830 nm utilizado com Fibra Óptica acoplada.	26
Fig. 9 - Peça em blocos de parafina.	27
Fig. 10 – Contração da ferida: A – Grupo Controle; B – Grupo Tratado; C – Grupo Tratado com Laserterapia; D – Grupo Padrão.	32
Fig. 11 – Observação macroscópica animal tratado com creme EH de <i>M. charantia</i> L. e laserterapia: A – Imediatamente após a cirurgia; B – com 3 dias; C – com 7 dias; D – com 14 dias.	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao Infiltrado inflamatório polimorfo nucleado na fase inflamatória dos grupos estudados com 03 dias.	28
Tabela 2 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao Infiltrado inflamatório mononucleado na fase inflamatória dos grupos estudados com 03 dias.	28
Tabela 3 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao Infiltrado inflamatório mononucleado na fase inflamatória dos grupos estudados com 07 dias.	29
Tabela 4 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao processo de neovascularização da fase inflamatória dos grupos estudados com 03 dias.	30
Tabela 5 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao processo de collagenização da fase inflamatória dos grupos estudados com 03 dias.	30
Tabela 6 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao processo de collagenização da fase inflamatória dos grupos estudados com 07 dias.	31
Tabela 7 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao processo de collagenização da fase remodelação dos grupos estudados com 14 dias.	31

1 – INTRODUÇÃO

O uso de plantas na cura dos mais diversos males é utilizado há centenas de anos pela humanidade. No Brasil a utilização dessa forma de terapia, vem aumentando cerca de 15% ao ano, enquanto o crescimento anual de medicamentos sintéticos gira em torno de 3 a 4% (Simões et al., 2004). Apesar de ser considerado um dos países que tem a maior diversidade vegetal, abrigando cerca de 55.000 espécies catalogadas, estima-se que 4.000 delas sejam utilizadas com fins medicinais, mesmo que poucos estudos sejam desenvolvidos nesta área (ELISABETSKY, 2003).

Com o alto custo dos remédios e a baixa condição de vida da população mundial, as plantas terapêuticas voltaram a ser um importante aliado nos tratamentos de doenças, entretanto, o aproveitamento adequado das ervas medicinais depende de vários fatores: plantio, coleta, secagem, armazenamento e forma de preparo (SIANI, 2003).

Por suas propriedades terapêuticas ou tóxicas as plantas adquiriram importância na medicina popular, motivando nas últimas décadas os órgãos públicos a investirem, crescentemente, em pesquisa com plantas usadas na medicina popular, a fim de avaliar os seus efeitos benéficos à saúde. Atualmente, vem ocorrendo um aumento no interesse por drogas obtidas a partir de plantas medicinais, destacando-se aquelas com potencialidades para promover a cicatrização de feridas (LORENZI, MATOS, 2002).

A inflamação é uma resposta celular e humoral de magnitude variável com repercussão meramente local, loco-regional ou sistêmica cujo disparo ocasiona uma cascata de eventos que envolvem complementos: cininas, fibrinolíticos e coagulantes estimulados, juntos, com a ativação de fagócitos e das células endoteliais (BOGLIOLO, 2000; CÂNDIDO, 2001).

Atualmente, vem ocorrendo um aumento no interesse por drogas obtidas a partir de plantas medicinais, destacando-se aquelas com potencialidades para promover a cicatrização de feridas. O processo de cicatrização tecidual consiste de um fenômeno fisiológico que se inicia a partir da perda da integridade da pele, gerando uma solução de continuidade que atinge os planos subjacentes em diversos graus e depende de uma série de reações químicas, que são classicamente divididas em três fases: inflamação, reparação e deposição de matriz extracelular e remodelação.

M. charantia L. é uma planta medicinal pertencente à família Cucurbitaceae, que vem ganhando espaço no cenário científico mundial, é bastante comum no Nordeste brasileiro, sendo popularmente conhecida como melão de São Caetano (DI STASI et al., 1989; LORENZI, 2002).

A luz tem sido usada como agente terapêutico por vários séculos para recuperar a saúde e a luz Laser é uma forma de radiação não-ionizante, bem tolerada pelos tecidos, altamente concentrada, que de acordo com o tipo do Laser produz efeitos térmicos, fotoquímicos. Esta radiação não possui efeitos mutagênicos, e pode ser usada repetidamente, sem riscos para o paciente (BRUGNERA JUNIOR et al., 2003).

A Laserterapia pode alcançar excelentes resultados, dentre eles, a redução da inflamação, a redução da dor e a aceleração do período de cicatrização das feridas (Pöntinen, 1992). O seu emprego tem sido usado para produzir efeitos biológicos e bioquímicos positivos no processo de regeneração de tecidos segundo Catone (1997). Colls (1984) descreveu as dosimetrias convencionais em função do efeito desejado da seguinte forma: antiálgico de 2 a 4 J/cm²; antiinflamatório de 1 a 3 J/cm² ; regenerativo de 3 a 6 J/cm²; circulatório de 1 a 3 J/cm² (COLLS, 1984; PONTINEN, 1992; CATONE, 1997).

O aumento na produção de colágeno, no número de fibroblastos, além do aumento da circulação sanguínea dentro do tecido regenerado e o efeito supressivo nas reações imunes são efeitos alcançados neste tipo de tratamento com Laserterapia não cirúrgica (PONZI, 1997; BRUGNERA JUNIOR et al., 2003).

A procura por medicações alternativas para melhoria do tratamento de lesões bucais, de etiologia tão variada, tem na fitoterapia um vasto horizonte a ser descortinado, principalmente nas situações onde a modulação do processo inflamatório é tão primordial quanto à abreviação do processo de cicatrização.

Esta pesquisa foi realizada acessando as bases de dados: Lilacs, Scielo, Periódicos Capes e Bireme.

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo Geral

Avaliar a ação do extrato hidroetanólico (EH) das folhas de *Momordica charantia* L., na cicatrização de feridas em animais de experimentação, com e sem laserterapia.

2.2 - Objetivos Específicos

- Avaliar histologicamente a ação do extrato hidroetanólico das folhas de *Momordica charantia* L. em feridas.
- Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico das folhas de *Momordica charantia* L. frente a cepas padrão (ATCC) e isolados de gram + e gram -, fungos e leveduras.
- Avaliar a toxicidade do extrato hidroetanólico das folhas de *Momordica charantia* L. em camundongos *mus musculus*;
- Avaliar o efeito da luz Laser (AsAlGa de 685 nm) no extrato hidroetanólico das folhas de *Momordica charantia* L. em lesões cutâneas.

3 - REVISÃO DE LITERATURA

3.1 - CICATRIZAÇÃO

Compreender o processo inflamatório e cicatricial é de grande importância para a avaliação evolutiva da ferida, pois os procedimentos e a escolha dos fármacos para o tratamento de uma lesão podem variar de acordo com a fase de reparação (CANDIDO, 2001; RODRIGUES et al., 2001).

Segundo Silva e Carvalho (2004) a inflamação é uma resposta protetora e imediata que ocorre nos tecidos circunjacentes a uma lesão ou área de destruição celular. A reação inflamatória resulta da produção local de inúmeros mediadores a partir de fatores humorais ou celulares, que são responsáveis pela uniformidade quase estereotipada da reação inflamatória, independentemente da natureza do agente agressor.

O processo cicatricial ocorre em três etapas diferenciadas que se sobrepõem: fase exudativa (inflamatória), fase proliferativa e fase de maturação, conforme Fig 1 (Pereira, Arias, 2002). Apesar das fases de reparação serem descritas de forma sequencial, na realidade, os eventos consistem de interações complexas superpostas, não existindo um período latente no processo cicatricial. A lesão tissular estimula uma série de eventos metabólicos visando à reparação dos tecidos por meio da regeneração e/ou cicatrização (WEISSMAN, 1992).

A cicatrização de feridas, pode comprometer todo ou parte do tecido, consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a repavimentação e a reconstituição dos tecidos. Esses eventos representam um processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos que se comportam de forma harmoniosa a fim de garantir a restauração tissular (MANDELBAUM, DI SANTIS, MANDELBAUM, 2003).

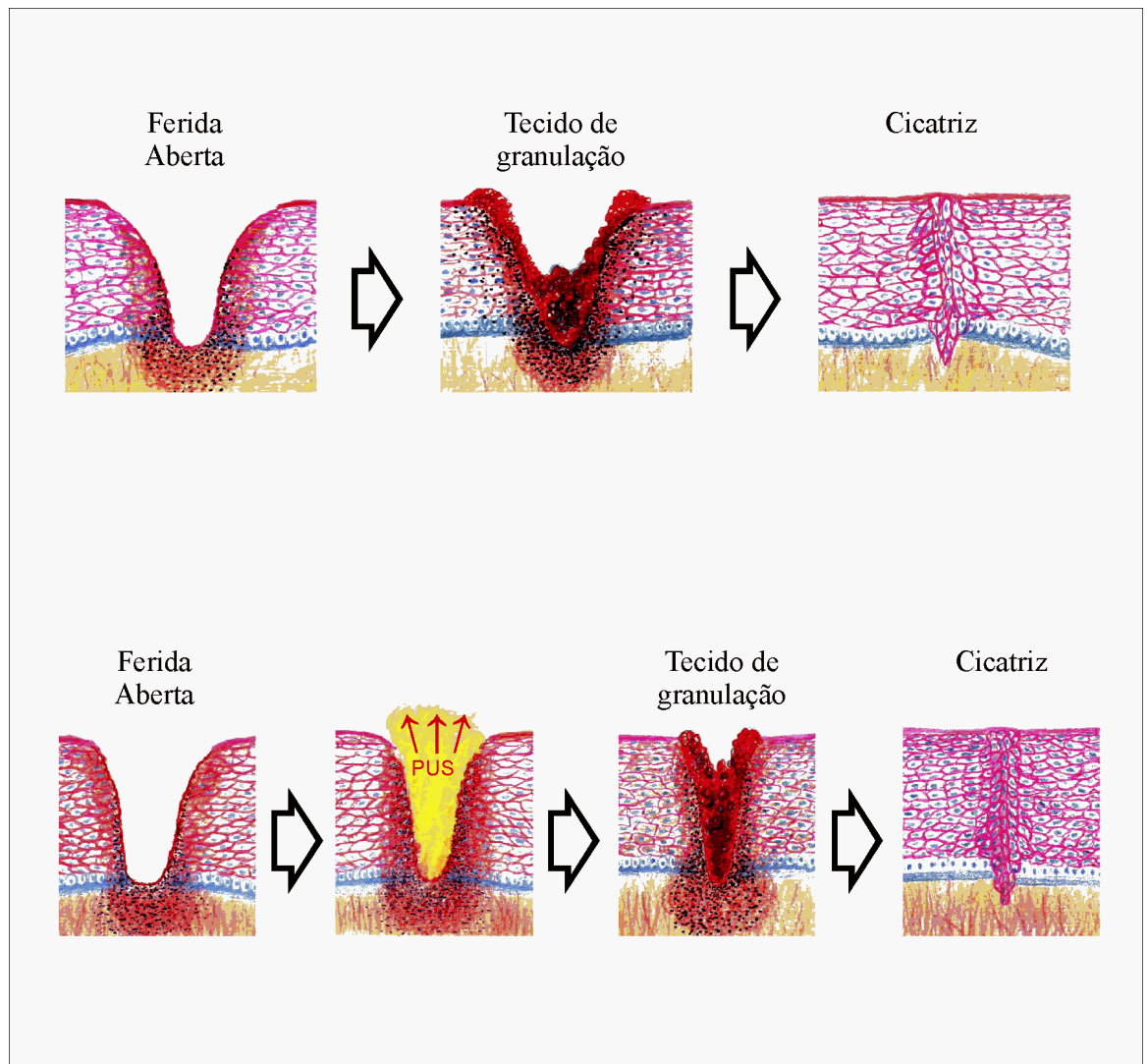


Fig. 1: Etapas do processo de cicatrização.

Fonte: (Pereira, Arias, 2002).

Daí vem à definição do tipo de ferida, que pode ser: espessura parcial (dermoabrasão, traumatismos, etc.), cuja reparação dá-se por reepitelização, resultando uma cicatriz praticamente imperceptível; ou de espessura total (derme total, ou estendendo-se ao tecido celular subcutâneo), que normalmente demanda a formação de um tecido novo, o tecido de granulação; e a epiteliação, base da cicatrização nas feridas de espessura parcial, acontece apenas nas margens da ferida. Nesse caso, a cicatriz fica totalmente perceptível e, muitas vezes pronunciada (MANDELBAUM, DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Mencionam ainda Mandelbaum, Di Santis, Mandelbaum (2003), que o processo cicatricial depende de diversos fatores, locais e gerais, tais quais: localização anatômica, tipo de tecido interessado e metodologia cirúrgica empregada, variando ainda segundo a idade do paciente (feto, recém-nascido ou indivíduo adulto).

3.1.1 - Etapas na Resolução de uma Ferida

A cicatrização de feridas envolve a indução de um processo inflamatório agudo pelo ferimento, a regeneração de células parenquimatosas, a migração e a proliferação de células teciduais parenquimatosas e conjuntivas, a síntese de proteínas da matriz extracelular, o remodelamento do tecido conjuntivo e dos componentes parenquimatosos, a colagenização e a aquisição de força pela ferida. O processo inflamatório é dividido em três fases: inflamação, reparação e deposição de matriz extracelular e remodelação (WEISSMAN, 1992).

3.1.2 - Fase Inflamatória

Celsus, escritor romano do primeiro século d.C., enumerou quatro sinais cardeais da inflamação: rubor, tumor, calor e dor (Cotran, Kumar, Collins, 1993), mas tarde foi acrescentado um quinto sinal clínico: perda de função.

A inflamação atua no sentido de bloquear, diluir ou destruir o agente agressor, substituindo tecido agredido pela regeneração das células parenquimatosas nativas e pelo preenchimento de tecido fibroblástico, reconstituindo e cicatrizando o tecido lesado (Majno, 1992). As células do tecido conjuntivo envolvidas na resposta inflamatória são mastócitos, fibroblastos, macrófagos e linfócitos residentes. As células circulantes incluem neutrófilos, monócitos, eosinófilos, linfócitos, basófilos e plaquetas (KOHN, 1992).

A inflamação é dividida em padrões agudo e crônico. A inflamação aguda é a resposta imediata e inicial a um agente agressor, tem duração relativamente curta e tem como características principais a exsudação de líquidos e de proteínas plasmáticas e a migração de leucócitos, principalmente neutrófilos (COTRAN, KUMAR, COLLINS, 1993).

Para que os leucócitos possam alcançar o interstício, é preciso que haja adesão ao endotélio e transmigração, conhecida como diapedese. As seletinas e as imunoglobulinas são receptores de adesão presentes no endotélio. As integrinas são moléculas encontradas nos leucócitos. Mediadores como histamina, trombina e o fator de ativação plaquetário (PAF) redistribuem as moléculas de adesão na superfície celular endotelial. As citocinas interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF) ou caquexia induzem à síntese e a expressão de moléculas de adesão endotelial. Após atravessarem as junções endoteliais, os leucócitos têm que atravessar a membrana basal, provavelmente com a secreção de collagenase para degradá-la. Após a diapedese, os leucócitos emigram dos tecidos para o

local no qual existam substâncias quimiotáticas. Existem vários mediadores químicos endógenos. Os agentes exógenos quimiotáticos mais comuns são os produtos bacterianos (COTRAN, KUMAR, COLLINS, 1993).

Os fenômenos vasculares na inflamação aguda caracterizam-se pela dilatação arteriolar e abertura de leitos capilares resultando num aumento do fluxo sanguíneo para a região agredida. Este aumento de líquido extravascular rico em proteínas constitui o exsudato (WEISSMAN, 1992).

A inflamação crônica tem longa duração e ao contrário da aguda que se manifesta por alterações vasculares, edema e infiltração basicamente neutrofílica, caracteriza-se por infiltração de células mononucleares que incluem macrófagos, linfócitos e plasmócitos, destruição tecidual, proliferação de pequenos vasos sanguíneos e fibrose (MAJNO, 1992).

A fase inflamatória inicia-se imediatamente após a injúria. A lesão dos vasos produz sangramento como resposta do organismo frente a esse evento, é a hemostasia, que se traduz por vasoconstricção e formação de coágulo. O coágulo auxilia na aproximação das bordas lesadas e na formação de uma matriz, na qual, fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos podem ingressar (HOM, 1993).

Após a parada do sangramento ocorre vasodilatação, mediada por várias substâncias, como histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas e óxido nítrico que permitem um aumento do fluxo sanguíneo para a área do ferimento, causando calor e rubor, levando mais nutrientes, células reparadoras e oxigênio para o interstício, aumentando sua pressão osmótica. A vasodilatação aumenta a pressão hidrostática levando a uma fuga de líquidos para o meio extravascular. A associação destes fenômenos leva ao edema local (MAJNO, 1992).

Dois dias após uma lesão, há um grande afluxo de neutrófilos para a ferida, a qual se encontra com tecido desvitalizado, coágulo, bactérias e proteínas séricas extravasadas. Os neutrófilos são os responsáveis pelo debridamento das superfícies da ferida e de tecidos desvitalizados, fagocitose de partículas antigênicas e de corpos estranhos e liberação de grânulos para a rede de fibrina, provocando hidrólise enzimática da matriz extracelular. Todos esses eventos visam à promoção da limpeza da área lesada e o início da fase seguinte. Durante os dois ou três dias seguintes, as células predominantes são os macrófagos, os quais são provenientes da migração e diapedese dos monócitos circulantes ou são residentes do próprio tecido. Linfócitos também aparecem no local da lesão, mas em número pequeno.

Acredita-se que os linfócitos estejam relacionados aos processos inflamatórios crônicos (WITTE, BARBUL, 1997).

3.1.3 - Fase de Proliferação Celular

A angiogênese é o processo pelo qual surgem novos vasos para refazer as circulações locais, necessárias para oxigenação e nutrição da ferida, diante da hipóxia e a diminuição do pH no centro da lesão. Esse evento tem como componente fundamental os macrófagos, que fazem uma interação com os tromboxanos e as prostaglandinas produzindo assim o fator angiogênico (quimiotático) que atrai as células meso e endoteliais (WITTE, BARBUL, 2002; MAJNO, 1992).

Por volta do segundo ou terceiro dia, após o trauma, ocorre à reparação do tecido conjuntivo com a migração e divisão das células endoteliais e a formação do tecido de granulação constituído por colágeno, fibronectina e ácido hialurônico, com densa infiltração de macrófagos, células endoteliais capilares e principalmente fibroblastos. As primeiras fibras de colágeno produzidas pelos fibroblastos surgem em quatro a cinco dias e o espaço da ferida é preenchido rapidamente por pequenos feixes orientados ao acaso, que aumentam gradativamente, dando origem a uma estrutura densa e consistente que une firmemente os tecidos lesados de modo que, no décimo dia do pós-operatório já representam metade do número total de células (MAJNO, 1992).

Dois ou três dias após o ferimento, continuando nas próximas duas a três semanas, diferencia-se no tecido de granulação, uma célula que possui características ultra-estruturais reduzindo a área cruenta da ferida facilitando a epitelização (WITTE, BARBUL, 1997; DORNELES, 2000).

A epitelização é importante, pois o epitélio oferecerá ao organismo uma dupla proteção a partir do meio interno, contra as perdas de fluidos, eletrólitos e proteínas; e a partir do meio ambiente, contra a penetração de agentes infecciosos na pele. A epiderme espessa-se e as células basais da borda fibroblastos e da célula muscular lisa, denominada miofibroblasto, dando-lhe capacidade contrátil da ferida aumentam de tamanho e migram para a mesma, não se dividindo até ser restaurada a continuidade epidérmica. A migração é influenciada pelo tipo de matriz, tensão de oxigênio e presença ou não de infecção. As células basais fixas em uma zona próxima à borda da ferida continuam a se dividir, e suas células-filha achatam-se e migram sobre a matriz da ferida como uma lâmina (WITTE, BARBUL, 1997; YOUNG, 2001; WITTE, BARBUL, 2002).

Essa proliferação celular iniciada após a migração, é máxima entre 48-72 horas após a lesão. O estágio final da reepitelização é a maturação das células epidérmicas. Em torno do décimo dia há um extrato córneo, que, comumente, é mais espesso que o da pele sã circunjacente (WITTE, BARBUL, 1997; YOUNG, 2001; WITTE, BARBUL, 2002).

3.1.4 - Formação de Tecido Conjuntivo

A formação do tecido de granulação se inicia no terceiro ou quarto dia após a injúria tecidual e é mantida até que a reepitelização esteja completada. O fibroblasto produz o colágeno fibrilar, sintetiza elastina, fibronectina, glicosaminoglicanas e proteases, como a collagenase, importante para o debridamento e o remodelamento (VAN WINKLE, 1967).

A pele normal e uma cicatriz madura contém colágeno dos tipos I e III, com predomínio do tipo I. Contrariamente, o tecido de granulação é amplamente composto por colágeno tipo III (Gabbiani, Lelous, Bailey, 1976). É sobre a fibronectina sintetizada pelos miofibroblastos que as fibras de colágeno tipo III repousarão. O colágeno tipo IV está intimamente envolvido na fase de remodelação da cicatrização de feridas e no estabelecimento de uma junção dermoepidérmica funcional. O colágeno tipo VI é sintetizado por fibroblastos da pele e possui qualidades adesivas tissulares únicas (Olsen, Peltonen, Jaakkola, 1989). O colágeno tipo VII é de extrema importância no estabelecimento e na manutenção de uma junção dermoepidérmica funcional (McGRATH, ISHIDA-YAMANO, O'GRADY, 1993; BURGESSON et al., 1994).

As glicosaminoglicanas não apenas auxiliam na manutenção da hidratação da ferida, mas também podem conduzir a migração e à proliferação celular na ferida (BALAAS, 1950).

3.1.5 - Fase de Contração

Contração da ferida é um processo através do qual as feridas abertas fecham por movimento das margens em direção ao centro, cerca de quatro dias após a interrupção da integridade da pele (WITTE, BARBUL, 1997).

A velocidade de contração da ferida não é a mesma em todos os pontos e o restabelecimento da integridade física não constitui um estímulo que faça cessar a contração. Descartou-se a idéia de que a desidratação do tecido seja responsável pela contração e que a síntese do colágeno e a contração da ferida poderiam ser os responsáveis pela aproximação e união das bordas da ferida. O mecanismo de contração que diminui a lesão é gerado por

forças celulares e elementos contráteis de fibroblastos e miofibroblastos com uma reorganização concomitante do citoesqueleto (COHEN, DIEGELMANN, LINDBLAD, 1992).

3.1.6 - Fase de Remodelação

A remodelação da cicatriz normalmente se inicia por volta da terceira semana após o trauma e persiste por meses ou anos. Esta fase se caracteriza por modificações no tecido conjuntivo, sobretudo da matriz extracelular, como a ação de enzimas proteolíticas que metabolizam o excesso de ligações mais estáveis entre as fibras protéicas para ganho de uma maior resistência mecânica na ferida, e, por último, há uma diminuição da vascularização (WITTE, BARBUL, 1997; DORNELES, 2000; YOUNG, 2001).

3.1.7 - Fatores que Influenciam a Cicatrização de Feridas

Os eventos que ocorrem próximos ou sobre a cicatrização de feridas, tais quais: técnica cirúrgica, formação de hematomas, infecção, reação de corpo estranho, radioterapia, condições de base, drogas, localização e dissecação podem ter grande influência no grau de cicatrização (SAARIALHO-KERE, CHANG, WELGUS, 1992).

Durante a técnica cirúrgica, a manipulação rude da pele por causa da inexperiência e do uso de instrumentação inapropriada podem levar à formação de crostas, descamação da pele, desvitalização do tecido, aumento da reação inflamatória ao redor da ferida, promovendo um local ideal para infecção bacteriana secundária. Por outro lado, ferimentos fechados com material de sutura inapropriado podem levar à reação de corpo estranho, inflamação persistente, necrose e infecção secundária (LEVENSON, GEEVER, CRAWLEY, 1965; BORGES, ALEXANDER, 1978).

A cirurgia a laser, eletrocirurgia, criocirurgia e peeling químico são técnicas indispensáveis mas, também produzem quantidades variáveis de injúria na pele. O cirurgião é responsável pela escolha do instrumental indicado para minimizar o dano do tecido e considerando que o bisturi minimiza o dano à pele, deve ser, sempre que possível, o método escolhido (ANGEL, NARAYANA, SWARTZ, 1986; YOUNG, 2001).

Infecção bacteriana da ferida é a causa local mais comum de uma cicatrização prolongada, todas as feridas são contaminadas pós-operatório pela flora bacteriana residente. Infecções clínicas ocorrem quando um número crítico de organismos patogênicos está

presente. A bactéria retarda a cicatrização pela ativação da via alternada do complemento, prolongando a fase inflamatória da cicatrização de feridas (FARO, 1988).

Um corpo estranho dentro de uma ferida propicia uma superfície apropriada para ativação da via do complemento com a subsequente acumulação excessiva de células inflamatórias. Assim, como na infecção da ferida, essa resposta inflamatória exagerada é prejudicial aos estágios subsequentes da cicatrização (KISCHER, SHETLAR, CHVAPIL, 1982).

Pouco óxido nítrico estimula a proliferação celular e o aumento do número de fibroblastos e pode levar a cicatrizes hipertróficas. Já o aumento, resulta em um acréscimo de macrófagos ativados evidenciando um processo de ativação celular, que induz também, um fenótipo de deslocamento de queratinócitos, auxiliando no processo de fechamento da incisão (GODOY, 2002; WITTE, BARBUL, 2002).

3.2 - ANTIMICROBIANOS

O desenvolvimento de novos agentes bactericidas potentes vem sendo alcançado com sucesso, seja pela elaboração racional de novas gerações de antibióticos visando suplantar a resistência ou a partir de programas direcionados ao descobrimento de produtos naturais bioativos (SILVEIRA et al., 2006).

Os produtos naturais são considerados uma fonte importante de novos agentes antimicrobianos. Os fármacos que derivam dos produtos naturais modificado ou fármacos semi-sintéticos das fontes naturais correspondem a 78% das drogas novas aprovadas pelo FDA entre 1983 e 1994 (CECHINEL FILHO, YUNES, 1998; CRAGG, NEWMAN, SNADER, 1997).

As principais fontes de antimicrobianos são as bactérias e os fungos, mas é crescente o interesse pelas plantas, que vêm contribuindo significativamente na introdução de novos agentes antimicrobianos (KOSTOVA, NIKOLOY, CHILPISA, 1993).

O uso dos extratos de plantas e dos fitoterápicos, ambos com propriedades antimicrobianas conhecidas, podem ser de grande significado em tratamentos terapêuticos (NASCIMENTO et al., 2000).

Muitas plantas são usadas no Brasil em forma de extratos, infusão ou de emplastos para tratar infecções comuns sem nenhuma evidência científica comprovada (HOLETZ et al., 2002).

A seleção de materiais de planta e de suas substâncias isoladas representa uma fonte potencial para medicamentos com maior eficácia (SILVA et al., 2003; SUFFREDINI et al., 2006).

As plantas são possuidoras de várias vias metabólicas secundárias que dão origem a diversas substâncias, incluindo alcalóides, flavonóides, isoflavonóides, taninos, cumarinas, quinonas, terpenos, polipeptídeos, polifenóis além de óleos essenciais que, por vezes, são específicos de determinadas famílias, gêneros ou espécies e cujas funções, até pouco tempo, eram desconhecidas, porém muitos destes compostos já demonstraram atividade antimicrobiana (SIMÕES, 1998; COWAN, 1999; CLARKE et al., 2001).

Alguns estudos têm demonstrado que além de atividades sobre um determinado microrganismo, substâncias obtidas de plantas apresentam também atividades contra linhagens de microrganismos resistentes aos antimicrobianos, como também o efeito sinérgico entre substâncias de plantas associadas a outras substâncias vegetais, ou ainda a antimicrobianos inativos, potencializando sua atividade (BELOFSKY et al., 2004; BETONI et al., 2006; CHANG et al., 2007; HORIUCHI et al., 2007).

A resistência bacteriana é um tema muito importante no estudo dos antimicrobianos, porque sua comprovação implica no fracasso da terapêutica. O aumento do uso de antimicrobianos desde a década de 40 tem sido acompanhado de uma crescente alta na resistência, cuja principal causa é a destruição do antibiótico pela bactéria responsável da infecção (KAYSER, 2006).

A primeira referência à resistência aos microorganismos surgiu nos anos 40, com as penicilinas, tendo ressurgido com o advento dos novos antimicrobianos, nos anos 50 e 60, com a resistência dos gonococos as penicilinas e a sua disseminação as tetraciclinas. Hoje em dia, esta resistência causa enormes problemas terapêuticos com implicações na saúde publica (SOARES, 2001).

A resistência bacteriana é uma resposta evolucionária inevitável ao uso de antimicrobianos. Este fenômeno da alteração de patógenos susceptíveis por uma espécie

mais resistente continua até os dias de hoje, principalmente em ambientes hospitalares (FRENCH, 2005).

O uso abusivo e errôneo de antimicrobianos, tanto em nível hospitalar quanto ambulatorial, tem sido considerado como o principal fator associado ao desenvolvimento de resistência bacteriana, quanto maior a dose e a duração do uso de antimicrobianos, maior o risco de colonização e infecção por bactérias multirresistentes (OLIVEIRA, 2001; FRENCH, 2005; TENOVER, 2006).

As pesquisas na área de antimicrobianos enfrentam uma crise apresentando uma diminuição de cerca de 50% desde 1968, devido à dificuldade e o alto custo de se isolar estruturas químicas e agentes inéditos com novos e melhores fármacos antibacterianos devido à natureza comum da resistência das bactérias a estes medicamentos (BUTLER, 2006).

Enquanto as bactérias resistentes continuarem a aumentar, novos problemas de resistência continuarão a emergir, complicando e impedindo o tratamento de doenças infecciosas. O problema de resistência abrange não somente as bactérias, mas também infecções fúngicas, virais e parasitárias. O diagnóstico correto dos agentes responsáveis pela infecção identificando o microrganismo e a seleção apropriada da terapia para o tratamento destas infecções, assegura o uso rápido e eficaz dos agentes antimicrobianos (LEVY, 2005).

A compreensão dos mecanismos de resistência é fundamental para o desenvolvimento de novas estratégias para a terapia anti-infecciosas, bem como a pesquisa, descoberta e produção de novos agentes antimicrobianos revelam-se crescentes e necessárias (KUMAR, ABBAS, FAUSTO, 2005).

O surgimento de microrganismos resistentes pode acontecer facilmente e é um risco clínico de importância relevante. Processos genéticos de seletividade podem conduzir ao aparecimento de “supermicrobios”. As medidas defensivas a serem tomadas incluem a busca por novos agentes antimicrobianos (TAVARES, 1996; MIMS et al., 1999; LIMA et al., 2001; SCHAECHTER et al., 2002).

3.3 - *Momordica charantia* L.

Historicamente, Cucurbitaceae, é uma das mais importantes famílias de plantas utilizadas para a produção de alimentos, fibras e fitoterápicos. *M. charantia* L., o popular Melão de São Caetano, originalmente conhecido por seu uso na culinária e na medicina, é uma planta anual, herbácea, de folhas membranáceas, fulvescentes e com flores unissexuais, sendo muito comum nas cercas e terrenos baldios. (Fig. 2) (DI STASI et al., 1989; SOUZA, 2001).



Fig.2-Vista geral de *M.charantia* L.–Melão de São Caetano Fonte: Ponzi, E. A. C.

Caracteriza-se por apresentar um caule de 3 a 4 metros de extensão; folhas membranáceas cordiformes com base angulosa dentada e lobulada de cor verde clara; flores frequentemente solitárias, amarelas, unissexuais; fruto amarelo ou laranja com espinhos moles na superfície; e sementes envolvidas por uma película avermelhada (GONZALES, DIAZ, LOWY, 1995; ALONSO, 1998).

Em países em desenvolvimento, 80% das pessoas continuam utilizando a medicina popular nos problemas básicos de saúde. Nas últimas décadas, no entanto, pesquisas objetivaram a avaliação científica de drogas tradicionais originárias das plantas (DI STASI et al., 1989; BELOIN et al., 2005; LEITE, NUNES-PINHEIRO, CAMPELLO, 2005).

A *M. charantia* L. tem sido comumente utilizada na medicina popular topicamente para curar ferimentos. Usado também como emenagogo, antiviral para sarampo e hepatite.

Pesquisas objetivando comprovar a eficácia de *M. charantia* L., utilizando técnicas modernas, obteve como resultados a atividade antiglicêmica, antiviral, antitumoral, antileucêmica, antibacteriana, antihelmíntica, antimutagênica, antioxidante, antiúlcera, antiinflamatória, hipocolesterolêmica, hipotrigliceridêmica, hipotensiva, imunoestimulante e propriedades inseticidas (BELOIN et al., 2005; LEITE, NUNES-PINHEIRO, CAMPELLO, 2005).

Forma de preparo: infusão - folha e raiz; cataplasma - fruto; unguentos e chás - folhas; azeite - sementes (Suarez, 1998). As folhas jovens são utilizadas como verduras, os frutos são usados como sabão, e embora comestíveis, não são recomendáveis para consumo, pois podem produzir aborto, diarreia, e vômitos. É empregado como febrífugo, vermífugo, hipotensor, hipoglicemiante, na dor intestinal, febre produzida durante a malária, disenteria e reumatismo (GONZALES, DIAZ, LOWY, 1995).

As folhas são usadas para leucorréia, verminoses, dores reumáticas e menstruações difíceis. O suco das folhas pode ser usado para tratamento de pele especialmente quando há coceiras, a cocção destas tomada como tisana e com umas gotas de limão, é purgativo (SOLIS, 1992).

Diversos metabólitos secundários tem sido descritos em *M. charantia* L tais como: saponosidos triterpênicos e esteroidais, glicosídeos de flavonóides, alcalóides. Os frutos imaturos são uma boa fonte de vitamina C e também fornecem vitamina A, B1, B2, fósforo e ferro. Várias substâncias como charantina, charina, criptoxantina, cucurbitinas, cucurbitacinas, cicloartenóis, diosgenina, ácido elaeostearico, eritrodilol, ácido galacturônico, ácido gentísico, goiaglicosídeos, goiasaponinas, hidroxitriptaminas, lanosterol, ácido láurico, ácido linoléico, ácido linolênico, momorcharasídeos, momorcharinas, momordenol, momordicina, momordicinas, momordicinina, momordicosídeos, momordina, multiflorenol, nerolidol, ácido oleanólico, ácido oléico, ácido oxálico, pentadecanos, peptídeos, ácido petroselinico, polipeptídeos, proteínas, ácido rosmarínico, rubixantina, espinasterol, glicosídeo esteroide, stigmasterol, taraxerol, v-insulina, uracil, verbascosídeo, zeatina, zeatina ribosídeo, zeaxantina, zeinoxantina foram isolados (SOLIS, 1992; SENER, TEMIZER, 1998; ISMAIL, ISMAIL, LASSA, 1999; MIURA, 2001).

Estrutura química de momordicinas eu, II e III nas folhas de *M. charantia* L (Fig. 3)- Momordicinas eu (eu) e II estão isolados e as estruturas deles elucidaram como 3,7,23 – trihydroxycucurbita-5,24- dien – 19 al e seus 23- O-glucopyranoside. A estrutura do

momordicine III estava isolada do seu acetato, 23- O – glucopyranoside de 3,7,23 – trihydroxy-24-oxocucurbita-5,25-dien-19-al, por espectro e evidência bioquímica (YASUDA et al., 1984).

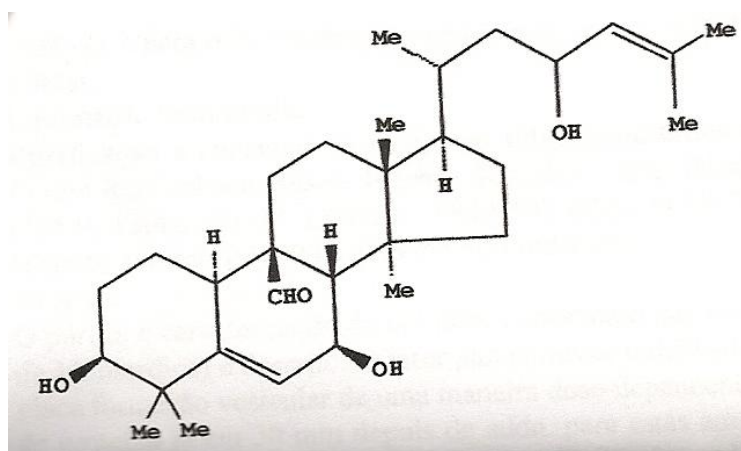


Fig. 3 - Estrutura química de momordicinas eu, II e III nas folhas de *M. charantia* L.
Fonte : YASUDA et al., 1984.

M. charantia L, segundo Alonso (1996), apresenta quimicamente taninos, saponinas triterpênicas (momordicinas eu, II e III) Fig. 3, ácidos orgânicos, ácidos graxos e resinas.

Os químicos hipoglicêmicos de *M. charantia* L. são uma mistura de saponinas esteroidais conhecidas como charantinas, peptídeos dependentes de insulina e alcalóides, os quais estão concentrados nos frutos, que apresentam pronunciada atividade hipoglicêmica/anti-hiperglicêmica. Proteínas inibidoras HIV como MRK29 e MAP30 e lecitinas são documentadas. Constatou-se também, a presença de inibidores de tripsina, elastase, ciclase guanilada e -glicosidase como D-(+) trealose (GROVER, YADAV, 2004).

O extrato alcoólico das folhas desta planta mostrou atividade hipoglicêmica, isto é, uma ação que impede a elevação do teor de açúcar no sangue, ou seja, antidiabetogênica (LORENZI, MATOS, 2002).

Muitos componentes têm sido identificados em extratos de frutos de *M. charantia* L, o suco demonstra ser um estimulador no armazenamento de glicogênio pelo fígado e secreção de insulina pelo isolamento das ilhotas de Langerhans. A atividade hipoglicêmica tem sido encontrada tanto em humanos normais como em diabéticos (tipo 1 e 2), sugerindo que os frutos mimetizam a ação da insulina em humanos (RAZA et al., 1996).

O efeito gastroprotetor de algumas plantas medicinais tem sido atribuído à presença de constituintes como: flavonóides, triterpenóides, taninos e esteróides. Extratos obtidos de

frutos e de folhas de *M. charantia* L quando administrados por via oral inibiram as lesões gástricas induzidas por etanol, conferindo gastroproteção. A presença de esteróides detectada em suas folhas tem sido relacionada ao seu potencial antioxidante (LEITE, NUNES-PINHEIRO, CAMPELLO, 2005).

A atividade anti-helmíntica das folhas de *M. charantia* L. apóia seu uso contra problemas gastrintestinais, os estudos sugerem que os glicosídeos triterpênicos, bem como momordicinas I e II sejam os principais agentes nematicidas apresentando, também, atividade hipoglicemiante nas folhas e nas sementes (BELOIN et al., 2005; CARRINCONDE et al., 1995; DINIZ et al., 2006).

O extrato etanólico das folhas de *M. charantia* L. apresentou um efeito bastante promissor como alternativa de tratamento da dermatofitose provocada pelo *Microsporum canis* em coelhos jovens (BRAGA et al., 2007).

O extrato das folhas de *M. charantia* L. apresentou atividade antifúngica frente a cepas do gênero *Candida* da cavidade bucal (MACENA et al., 2005).

Prabakar, Jebanesan (2004), estudaram a atividade larvicida do extrato das folhas de cinco cucurbitáceas, dentre elas *M. charantia* L. sobre estágio L3 de *Culex quinquefasciatus*, vetor da filariose na Índia, resultando em mortalidade larval após 24 horas de exposição ao extrato, potencializando o uso como um promissor bioinseticida, apoiando os estudos “*in vitro*” para o desenvolvimento de novas formulações alternativas com plantas.

Vasconcelos et al., (2007) em estudo realizado para avaliar um unguento contendo o extrato hexânico das folhas de *M. charantia* L. nas concentrações de 10 a 205 mg demonstrou ser eficaz no processo de regeneração de lesão cutânea em coelhos. A atividade antioxidante “*in vitro*” do extrato hexânico de suas folhas pelo método de varredura do radical livre DPPH, demonstrou ser eficaz na captação desse radical.

Estudos toxicológicos realizados com extratos das folhas de *M. charantia* L demonstraram atividade genotóxica sobre fungo *Aspergillus nidulans* (RUIZ et al., 1996).

Em um estudo com administração oral do infuso de folhas dessa planta, observou-se que em suínos não houve indicação de efeito tóxico; no entanto, em ratos particularmente, os resultados relacionados aos níveis de uréia e creatinina séricos, e aos níveis de creatinina urinária, mostraram uma possível alteração a nível renal e de vias biliares (DINIZ et al., 2006).

O extrato aquoso desta planta, perde completamente sua atividade inibitória contra *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans* após fracionamento. Esta atividade é provavelmente atribuída às proteínas, conhecidas por terem propriedades hiperglicêmicas, antitumor, antileucêmica e antiviral, como as lecitinas (MAP 30), peptídeos napin-like inativadores de ribossomos (charantina), inibidores de tripsina (mormocharina MCTI-I, II, III, e mormocharina) e inibidores de elastase (MCEI-I, II, III e V) presentes no extrato aquoso deste vegetal e perdido após a separação do precipitado do sobrenadante. Assim, se o extrato aquoso total apresenta atividade, essa atividade vem do precipitado, pois o sobrenadante não apresenta atividade (SCHMOURLO et al., 2005).

3.4 - TOXICOLOGIA

A organização mundial de saúde (OMS) 1999, na declaração de 1978, abriu a possibilidade de um dialogo entre os métodos tradicionais e os modernos, de cuidados com a saúde, num entendimento de que práticas médicas inseguras devem ser eliminadas e somente aquelas seguras e eficazes devem ser consideradas.

As pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicas ainda são incipientes, assim como o controle da comercialização, nas feiras, mercados públicos ou lojas de produtos naturais (VEIGA JÚNIOR, PINTO, MACIEL, 2005).

A determinação da toxicidade aguda de uma substância é extremamente importante, principalmente considerando o uso indevido pela população. Um grande número de plantas tem sido utilizado pela população em razão dos seus efeitos terapêuticos. A grande maioria dos estudos realizados com espécies brasileiras aborda apenas aspectos botânicos e químicos (GARCIA, 2007).

3.5 – LASER

Laser significa "amplificação da luz por emissão estimulada de radiação" do inglês "Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation" (MAILLET, 1987; PINHEIRO, 1988; PINHEIRO, FRAME, 1991; BRUGNERA JÚNIOR, VILLA, GENOVESE, 1991; PONZI, 1997).

O desenvolvimento do Laser teve seu início a partir de 1917, quando Albert Einstein estudou a emissão estimulada de radiação, o qual descreveu a interação de átomos, íons e moléculas, na absorção e emissão espontânea de energia eletromagnética. Baseado nos

princípios termodinâmicos imaginou aquilo que viria a ser o terceiro processo de interação: A emissão estimulada de radiação que deveria existir em cada elétron que emite luz, em uma frequência específica: o fóton. Em 1958, Shawlow, Townes sugeriram que os princípios básicos da amplificação por emissão estimulada de radiação poderiam ser aplicados à amplificação da luz Laser (NICCOLI FILHO et al., 1993).

Porém, só em 1960, um físico da Hughes Research Laboratories, Theodore Maiman, em Malibu, na Califórnia, concretizou a teoria formulada por Einstein; construindo o Laser de rubi. Em 1965, Sinclair e Knoll desenvolveram outro tipo de Laser, agora não mais com efeito de corte e, sim, de bioestimulação dos tecidos, conhecidos inicialmente como soft laser (BRUGNERA JR., VILLA, GENOVESE, 1991; PONZI, 1997).

O uso clínico e pesquisas dos Lasers não-cirúrgicos nos dias de hoje devem-se muito aos trabalhos iniciados na Hungria por Endre Mester no final da década de 60, de forma que atualmente a terapia Laser é usada em todo o mundo para tratar lesões do sistema musculoesquelético (artrite reumatóide, artrose, periartrose, tendinite) (MESTER et al., 1968; MESTER et al., 1974).

No Brasil, a introdução da tecnologia Laser foi bastante tardia, em comparação com outros países da Europa e Estados Unidos. Os trabalhos pioneiros nesta área remontam a segunda metade da década de 80 e foram realizados por Duarte, Brugnera, Aun, Watanabe, Genovese, além de outros pesquisadores em São Paulo. Posteriormente, trabalhos na área foram publicados por Silveira e colaboradores em Belo Horizonte, e Pinheiro, Ponzi, Gerbi e Limeira em Recife daí, surgindo o Centro de Laser do Curso de Odontologia- UFPE (PINHEIRO, 1998).

Várias classificações têm sido propostas para os diversos tipos de Lasers. Brugnera Júnior, Pinheiro (1998) preferem uma classificação mais ampla, na qual os Lasers são divididos em três grandes grupos: os Lasers não-cirúrgicos, ou LILT (Low-Intensity Laser Treatment), os Laser cirúrgicos ou HILT (Hight-Intensity Laser Treatment) e os SLAT (Selective Laser Treatment).

Os Lasers, por sua vez, podem ser ainda classificados de acordo com o seu funcionamento, ou seja, quanto à forma de emissão da radiação em contínuos (CW), pulsáteis (P) e Q-switched, e ainda, com a natureza do seu meio ativo em sólido, líquido, gasoso e misto (PINHEIRO, FRAME, 1992; BRUGNERA JÚNIOR, PINHEIRO, 1998).

Os Lasers usados na Biomedicina podem ser divididos em dois grandes grupos: os Lasers de corte, usados com propósitos ablativos, têm como vantagens: boa hemostasia, redução do edema pouca contração e pouca formação de cicatriz e os Lasers não-cirúrgicos (terapêuticos) (PINHEIRO, FRAME, 1992).

Os Lasers cirúrgicos podem ser usados no tratamento de uma variedade de patologias da cavidade bucal que necessitem de uma intervenção cirúrgica (PONZI, 1997; BRUGNERA JUNIOR, PINHEIRO, FRAME, 1998; BRUGNERA JUNIOR et al., 2003).

O Laser não-cirúrgico foi introduzido como modalidade terapêutica, e passou a ser usado para experimentos em animais e humanos. Os experimentos em animais a partir de cicatrização de feridas foi foco dos efeitos do Laser não-cirúrgico de He-Ne e do Laser diodo IR (infrared) sobre a regeneração do tecido conjuntivo (LOEVSCHELL, ARENHOLT, 1994).

Os Lasers têm sido usados para produzir efeitos biológicos e bioquímicos positivos no processo de regeneração de tecidos. Segundo CATONE (1997) e COLLS (1984).

O raio Laser é um raio de luz, portanto, caracteriza-se primariamente por cor e intensidade. O que torna o Laser diferente da luz comum são características e propriedades importantes, tais quais: ser uma fonte de luz monocromática, que pode atingir alta intensidade, ser coerente e com brilho intenso, assim como unidirecional. Cada uma destas propriedades, em separado ou em conjunto, possibilita aplicações específicas e de grandes resultados na área biológica (ALMEIDA-LOPES, 2004).

Por ser uma forma de energia não-ionizante, ao contrário de outras formas de radiação usadas terapeuticamente, tais como raios X, Gama e nêutrons, a radiação Laser é não invasiva e muita bem tolerada pelos tecidos. (Pinheiro, Frame, 1992; Ponzi, 1997; Brugnera Júnior, Pinheiro, 1998; Brugnera Júnior et al., 2003; Gutknecht, Eduardo, 2004). O Laser é visível ao olho humano na faixa de 400 a 700 nm (Fig. 4).

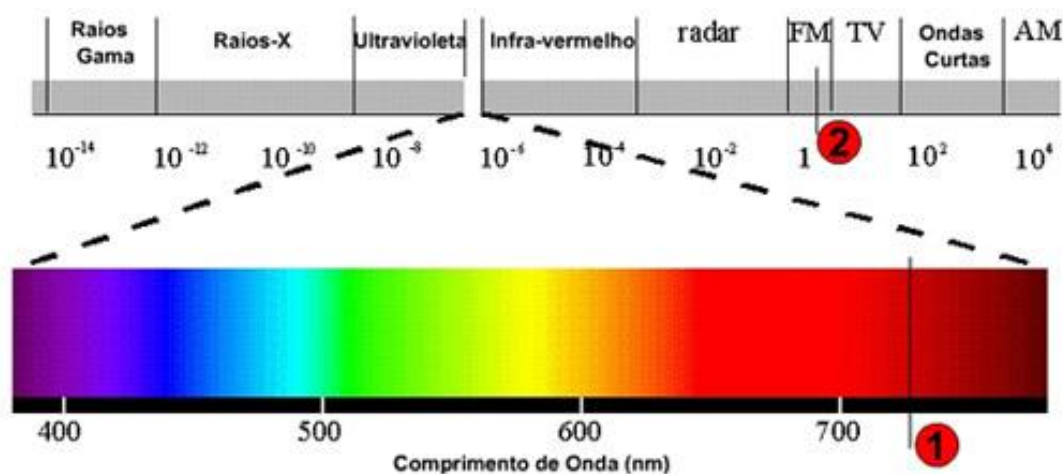


Fig. 4 – Espectro de luz visível ao olho humano

A diferença entre os vários tipos de lasers é dada pelo comprimento de onda e pela potência. Quanto menor o comprimento de onda, maior sua ação e poder de penetração. Sua potência é expressa em watts (W), variando de deciwatts a megawatts e a energia medida em Joules por centímetro quadrado (J/cm^2) sendo igual à potência multiplicada pelo tempo de aplicação (PONZI, 1997; ROCHA, 2004).

Os equipamentos de Laser emitem energia (joule = J) em forma contínua (CW), como por exemplo, os lasers Hélio-Neônio, ou de forma pulsátil ou intermitente (P), como o Laser de Arseneto de Gálio. A emissão intermitente concentra a energia num período muito reduzido seguido de um período maior de não-emissão. A potência de emissão indica-nos a energia emitida em um segundo (s), e sua unidade é o Watt (W) (BRUGNERA JÚNIOR, PINHEIRO, 1998).

O Laser diodo é um *chip* semicondutor que funciona como um diodo elétrico. A região ativa do diodo lembra um “sanduíche” de materiais semicondutores diferentes. Na maioria dos semicondutores a energia é liberada na forma de calor, porém, em materiais como o Gálio, o Alumínio e o Arsênio, a energia é liberada na forma de fótons (BRUGNERA JÚNIOR, PINHEIRO, 1998).

O Laser é utilizado para bioestimulação óssea em diversos campos na Odontologia, nos casos de fraturas não só acelera o tempo de cicatrização como também melhora sua qualidade. Nestes casos a dosimetria é de 2,5 a 4 J/cm^2 sobre a região da fratura, em sessões dia sim, dia não, com duração de uma a duas semanas (BRUGNERA JUNIOR et. al., 2003).

Apesar de diversos trabalhos terem demonstrado o efeito estimulante da Laserterapia (LLLT) sobre a cicatrização de feridas em tecidos moles e no reparo ósseo “*In vivo*” e “*In*

vitro” (Mester et al., 1971; Kana et al., 1981; Osawa et al., 1998; Pinheiro et al., 2001; Torricelli et al., 2001; Gerbi et al., 2003), consideram que são necessários mais estudos nesse sentido, pois a biomodulação em humanos ainda é controversa, bem como também em alguns estudos experimentais. A maioria dos autores afirmou que a energia a ser depositada num tecido por unidade de superfície deve situar-se entre 1 e 6 J/cm², levando-se em consideração o tipo de patologia, a profundidade da lesão, seu tempo de duração, o tipo de tecido, a idade do paciente e a sua condição sistêmica (BRUGNERA JUNIOR, 1998).

A coerência da luz Laser perde-se nas primeiras camadas da pele, devido ao fenômeno da dispersão da luz, antes que se produza a absorção dos fótons por cromóforos (componentes celulares, que podem refletir ou absorver a energia Laser) como a melanina, hemoglobina, citocromo oxidase, entre outros, e não é essencial “*in vivo*”, como demonstraram. Os efeitos biológicos do LLLT também dependem da fase de crescimento celular no momento da irradiação (LOEVSCHALL, ARENHOLT, 1994).

A maioria dos autores afirmou que a energia depositada num tecido por unidade de superfície deve situar-se entre 1 e 6 J/cm², sendo porém o clínico que deverá definir a dosimetria para cada paciente levando-se em consideração o tipo e a profundidade e o tempo de duração da lesão, assim como o tipo de tecido e da idade e condição sistêmica do paciente entre outros (MESTER et al., 1974; COLLS, 1984; PONZI, 1997).

As dosimetrias foram descritas em função do efeito desejado da seguinte forma: Antiálgico de 2 a 4 J/cm²; Antiinflamatório de 1 a 3 J/cm²; Regenerativo de 3 a 6 J/cm²; Circulatório de 1 a 3 J/cm². A dosimetria diz respeito à unidade de superfície irradiada e não a totalidade de irradiação do paciente nem da lesão independente (COLLS, 1984; PONZI, 1997; PINHEIRO, 1998; ALMEIDA-LOPES, 2004).

O laser pode provocar a liberação de substâncias pré-formadas como a histamina, serotonina e bradicinina, bem como modificar reações enzimáticas normais, tanto acelerando como retardando essas reações. A radiação laser proporciona aumento na produção de ATP, o que promoveria um aumento na eficiência da bomba sódio-potássio, com isso a diferença de potencial elétrico existente entre o interior e o exterior da célula é mantida com melhores resultados (ROCHA, 2004).

Em uma ferida cicatrizando por primeira intenção a fibrina, epiderme, neovasos e matriz extracelular contribuem na força de tensão inicial, porém a sutura é a principal responsável por manter os bordos justapostos. Entre 24 e 48 horas a epiderme atravessa o

defeito, na sequência há proliferação fibroblástica e de colágeno com significativo aumento na força de tensão. No estudo do laser de baixa potência obtém-se regeneração epitelial, aumento de colágeno, neovascularização e força de tensão aumentada em feridas irradiadas quando comparado às isentas de tratamento laser (TARTARUNAS, MATERA, DAGLI, 1998).

O Laser Er: YAG (Erbium: Yttrium Aluminum Garnet) conduz a uma progressão rápida do processo de cicatrização com reepitelização completa da epiderme, ausência de processo inflamatório agudo e presença de fibroplasia já no sétimo dia de cicatrização (NORONHA et al., 2004).

Classicamente os lasers apresentam dois tipos de efeitos nos organismos vivos: um efeito de remoção tecidual e um efeito bioestimulativo. Estudos clínicos anteriores apontaram para alguns efeitos positivo da terapia laser não-cirúrgica dentre outras: redução da dor aguda e crônica, redução da inflamação (PONZI, 1997).

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Vegetal

Após aprovação (nº 23076011375/2006-11 em 08/08/2006) pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) UFPE (Anexo I), as folhas de *M. charantia* L. foram coletadas, pela manhã no mês de outubro de 2006 em Olinda, entre as coordenadas (7° 59' 23,62'' S; 34° 50' 48,23'' O) estado de Pernambuco, Brasil.

A identificação botânica foi realizada no Herbário Geraldo Mariz do Departamento de Botânica/CCB/UFPE, recebendo exsicata nº 57702 (Anexo II).

As folhas (900 g), secaram a temperatura ambiente em local arejado. Em seguida foram pesadas, trituradas em moinho (Harley) (Fig. 5) e submetidas à extração por maceração com mistura hidroalcoólica (P.A da Merck) (3:7 v/v) por um período de oito dias. O material foi filtrado e submetido à evaporação a vácuo (45° C), para obtenção do extrato hidroetanólico (EH). que se constitui de um resíduo verde-escuro e higroscópico



Fig. 5 – Folhas trituradas de *M. charantia* L
Fonte: Ponzi, E. A. C

4.2 - Animais

Foram utilizados 108 (cento e oito) ratos albinos *Wistar* (*Rattus norvegicus*), machos, adultos jovens, de 2 a 3 meses de nascido, pesando de 250 a 340 g. adquiridos no Biotério de Antibiótico. Os animais foram separados em grupos e mantidos em gaiolas sob condições adequadas de higiene, luz e temperatura, recebendo ração comercial e água *ad libitum*. Os

procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as Normas de Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Os animais foram selecionados aleatoriamente e divididos em 6 grupos com 18 animais cada, organizados da seguinte maneira: Grupo I – Controle (creme inerte); Grupo II – Tratado (Extrato de *M. charantia* L); Grupo III – Padrão Cicatrizante (Fibrase); Grupo IV – Controle (creme inerte) + laserterapia; Grupo V – Tratado (Extrato de *M. charantia* L) + laserterapia; Grupo VI – Padrão Cicatrizante (Fibrase) + laserterapia. Cada grupo foi dividido em três subgrupos (A, B, C), com 6 animais cada um. O creme inerte e o creme do extrato foram produzidos no Laboratório de Farmacognosia do Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE.

Os animais foram submetidos à anestesia geral, com Xilazina – 50 mg/kg; associada à Quetamina-50 mg/kg - IM (De Luca et al., 1996). Os animais, depois de anestesiados, foram colocados em decúbito ventral, e após a tricotomia foram criadas feridas padronizadas (0,8 cm de diâmetro por 0,3 cm de profundidade) Fig. 6.



Fig. 6 - Demonstração do procedimento cirúrgico: incisão.



Fig. 7 - Aplicação do Extrato (com uma espátula) diretamente na ferida.

Em cada ferida foi aplicado topicamente e de forma padronizada o creme inerte (Controle), o Extrato de *M. charantia* L. (Tratado) e o Padrão Cicatrizante (Fibrase) por via tópica (Fig. 7). A posologia adotada para o tratamento respeitou intervalos de 24 horas, durante 07 dias. Aos Grupos IV, V e VI foi aplicada a Laserterapia (AsAlGa – 685 nm).

4.3 - Irradiação com Laser

Os animais dos grupos experimentais (IV, V, VI), receberam aplicações de radiação Laser de diodo infravermelho com potência (P) de 40 mW e comprimento de onda (λ) de

685 nm, 16 J/cm² em emissão contínua (CW), uma a cada 48 horas diretamente na ferida, sendo que a primeira dose foi ministrada imediatamente após a cirurgia. O Laser utilizado foi o Arseneto de Gálio e Alumínio (AsAlGa) - Thera Laser – DMC Equipamentos, São Carlos, SP - Brasil (Fig.8). Os grupos que não receberam a irradiação Laser, foram manipulados de forma semelhante aos que a receberam para que pudessem ser submetidos ao mesmo stress e conseqüentemente, tiveram as mesmas interferências no período de cicatrização e dessa forma os resultados obtidos tivessem os mesmos parâmetros de comparação.

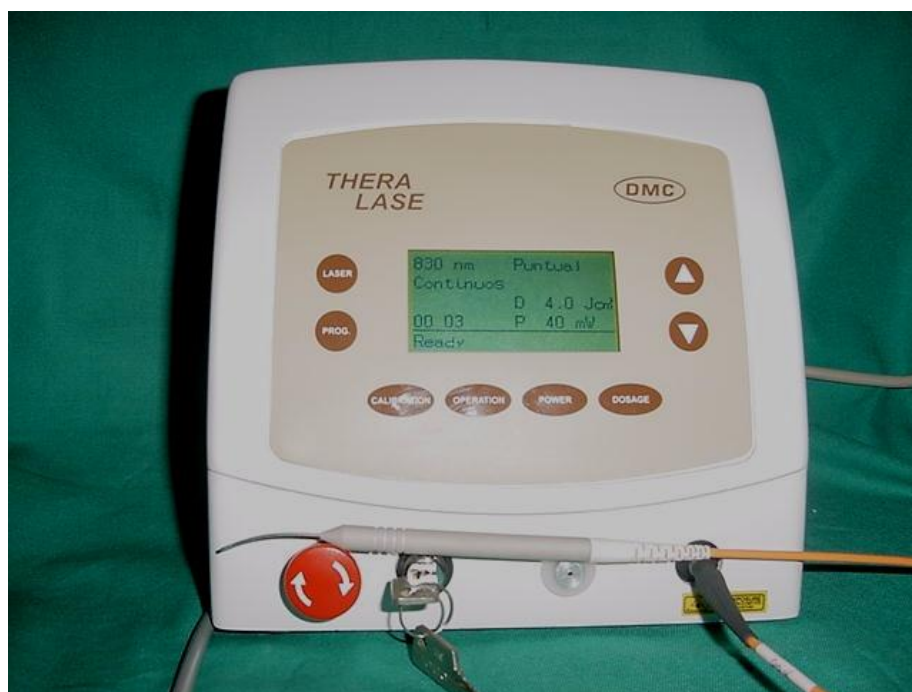


Fig. 8. Aparelho Laser diodo IR (AsAlGa) de 685 a 830 nm utilizado com Fibra Óptica acoplada.

Fonte: Ponzi, E. A. C

Os animais foram sacrificados no período de cicatrização determinado para cada subgrupo: três dias (grupo A), sete dias (grupo B) e 14 dias (grupo C). As lesões foram seccionadas e encaminhadas para análise histológica. Após o período de fixação as peças foram submetidas ao processamento pela técnica histológica de rotina e incluídas em parafina (Fig. 9).

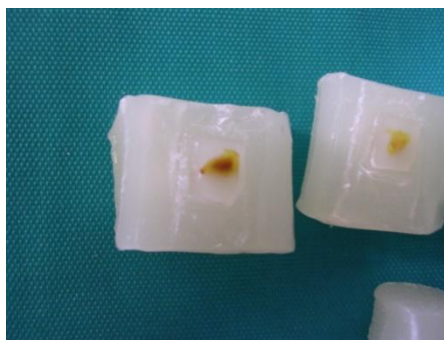


Fig.9 - Peças em blocos de parafina
Fonte: Ponzi, E. A. C

Os cortes foram realizados em micrótomo com espessura de 5 μm , semi-seriados de 1/5, e corados pela técnica de Hematoxilina de Harris e Eosina Alcoólica (HE) e analisadas em macroscopia e microscopia de luz e as imagens foram digitalizadas. As lesões foram submetidas a avaliação macroscópica diária, verificando-se os seguintes parâmetros: edema, hiperemia e presença de exudato (MARTINS et al., 2003).

5 – RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta a distribuição do número de lâminas quanto à intensidade do infiltrado inflamatório polimorfonucleado dos grupos estudados na fase inflamatória no período de três dias após procedimento cirúrgico.

Nesta tabela verifica-se que o percentual de lâminas com análise de intensidade moderada, o qual se descreve com o ideal para esta etapa, foi mais elevada entre as lâminas do grupo tratado com o Extrato (66,66%) do que entre os grupos estudados que foi de aproximada entre os tratados com fibrase e os controle (33,33% x 33,33%) e comprova-se diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Utilizando-se testes de comparações para duas proporções entre os pares de grupos não se comprova diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com a fibrase ($p = 0,140$) e comprova-se diferença significativa entre controle e extrato ($p < 0,001$) e entre fibrase e extrato ($p < 0,001$). Os grupos de 7 e 14 dias não apresentaram diferenças estatísticas no processo de reparo tecidual.

Tabela 1 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao Infiltrado inflamatório polimorfonucleado na fase inflamatória dos grupos estudados com 03 dias.

VARIÁVEIS GRUPOS	LEVE	MODERADO	INTENSO	Valor de p
Tratado com Extrato (n=6)	33,33% (n=2)	66,66% (n=4)	0 (n=0)	P ¹ =0,014
Controle (n=6)	66,66% (n=4)	33,33% (n=2)	0 (n=0)	
Padrão com Fibrase (n=6)	66,66% (n=4)	33,33% (n=2)	0 (n=0)	
T O T A L	55,55% (n=10)	44,44% (n=8)	0 (n=0)	

(*): Diferença significativa a 5,0%.

Através do teste Qui-quadrado de Pearson.

(1):

O comportamento dos grupos tratados nesta fase de cicatrização a despeito do infiltrado inflamatório mononucleados aos três dias do pós-operatório (Tabela 2) apresenta diferenças estatísticas significantes para todos os grupos examinados representando respectivamente 83,33%, 100% e 83,33% , grupos controle, tratados com extrato e tratados com fibrase.

Tabela 2 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao Infiltrado inflamatório mononucleado na fase inflamatória dos grupos estudados com 03 dias.

VARIÁVEIS GRUPOS	LEVE	MODERADO	INTENSO	Valor de p
Tratado com Extrato (n=6)	100 (n=6)	0 (n=0)	0 (n=0)	P ¹ =0,018
Controle (n=6)	83,33% (n=5)	17,33% (n=1)	0 (n=0)	
Padrão com Fibrase (n=6)	83,33% (n=5)	17,33% (n=1)	0 (n=0)	
T O T A L	88,88% (n=18)	11,11% (n=2)	0 (n=0)	

(*): Diferença significativa a 5,0%.

Através do teste Qui-quadrado de Pearson.

(1):

As lâminas observadas ao sétimo dia experimental com intensidade de comportamento celular relacionado ao infiltrado mononuclear, nesta etapa do reparo cicatricial, considerado ideal é moderado. Dos grupos analisados no experimento não se

observou diferença estatística entre os grupos controle e tratados com o extrato, todavia para o grupo tratado com fibrase, numa análise de grupo por grupo, demonstrou-se diferença estatística considerada, pois não apresentou nenhuma lâmina descrevendo este quadro histológico considerado ideal (Tabela 3).

Dos grupos estudados histologicamente nesta fase aos 14 dias, os resultados mais significantes observados, em relação ao infiltrado inflamatório mononucleado, foram das lâminas do grupo extrato (100%), visto que, a situação histopatológica desta etapa transversal do reparo cicatricial considerada como ideal é de intensidade leve. Numa análise estatística grupo a grupo para o valor moderado encontramos que diferenças são observadas para o grupo fibrase (80%) destacando-se do controle que fez um percentual de 50% de lâminas com essa intensidade.

Tabela 3 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao Infiltrado inflamatório mononucleado na fase inflamatória dos grupos estudados com 07 dias.

VARIÁVEIS GRUPOS	LEVE	MODERADO	INTENSO	Valor de p
Tratado com Extrato (n=6)	17,33% (n=1)	83,33% (n=5)	0 (n=0)	P ¹ =0,015
Controle (n=6)	0 (n=0)	100% (n=6)	0 (n=0)	
Padrão com Fibrase (n=6)	33,33% (n=2)	0 (n=0)	66,66% (n=4)	
T O T A L	16,66% (n=3)	61,11% (n=11)	22,22% (n=4)	

(*): Diferença significativa a 5,0%.
Através do teste Qui-quadrado de Pearson.

(1):

Aos três dias de reparo tecidual a neovascularização ainda se determina como ideal de intensidade leve, o que se refletiu particularmente em todas as lâminas analisadas, destacando apenas um discreto aumento de intensidade chegando à moderada em 33,33% dos estudos em lâminas do grupo controle, bem como no grupo fibrase (Tabela 4).

Com sete dias de cicatrização estudos comprovam que as condições perfeitas da neovascularização na fase proliferativa são de intensidade moderada para intensa, com resultados estatísticos observados nestes estudos considerados idênticos, visto que os percentuais do grupo controle, tratados com extrato e padrão com fibrase foram respectivamente de 66,66%, 83,33% e 83,33%.

A influência do extrato nos grupos tratados é visível estatisticamente no que se diz respeito à intensidade da neovascularização aos 14 dias da fase de remodelação visto que

80% das análises se determinaram nesta categoria. Todavia, os demais grupos se diferenciaram estatisticamente no que se diz respeito à intensidade moderada e leve, visto que as lâminas apresentaram esta intensidade (perfazendo 100% de suas amostras).

Tabela 4 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao processo de neovascularização da fase inflamatória dos grupos estudados com 03 dias.

VARIÁVEIS GRUPOS	LEVE	MODERADO	INTENSO	Valor de p
Tratado com Extrato (n=6)	100% (n=6)	0 (n=0)	0 (n=0)	P ¹ =0,028
Controle (n=6)	66,66% (n=4)	33,33% (n=2)	0 (n=0)	
Padrão com Fibrase (n=6)	66,66% (n=4)	33,33% (n=2)	0 (n=0)	
T O T A L	77,77% (n=14)	22,22% (n=4)	0 (n=0)	

(1): Através do teste Qui-quadrado de Pearson.
Diferença significativa a 5,0%.

(*):

No processo de reparo tecidual a fase de colagenização que se realiza na fase proliferativa na fase inflamatória se perfaz de maneira leve, aos 3 dias (Tabela 5) foi observado majoritariamente com 100% de análises para os grupos controle e extrato porém, no grupo fibrase o aumento de intensidade para moderado foi observado em 33,33% das amostras o que pode caracterizar a influência deste tratamento na colagenização, visto que se caracterizou no estudo grupo a grupo uma diferença estatística significativa, mostrando a influência do extrato.

Tabela 5 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao processo de colagenização da fase inflamatória dos grupos estudados com 03 dias.

VARIÁVEIS GRUPOS	LEVE	MODERADO	INTENSO	Valor de p
Tratado com Extrato (n=6)	100% (n=6)	0 (n=0)	0 (n=0)	P ¹ =0,03
Controle (n=6)	100% (n=6)	0 (n=0)	0 (n=0)	
Padrão com Fibrase (n=6)	66,66% (n=4)	33,33% (n=2)	0 (n=0)	
T O T A L	88,88% (n=16)	11,11% (n=2)	0 (n=0)	

(*) Diferença significativa a 5,0%.
Através do teste Qui-quadrado de Pearson.

(1):

Já na fase proliferativa ocorre uma maior intensidade de atividade de colagenização descrevendo assim, um grau moderado aos 7 dias (Tabela 6). Nos grupos analisados esta característica foi considerada pouco significativa estatisticamente para os grupos controle e extrato ($p > 0,05$) e discreta diferença quando comparados os grupos com o dos tratados com a fibrase perfazendo um percentual de 66,66%.

Tabela 6 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao processo de colagenização da fase inflamatória dos grupos estudados com 07 dias.

VARIÁVEIS GRUPOS	LEVE	MODERADO	INTENSO	Valor de p
Tratado com Extrato (n=6)	0 (n=0)	100% (n=6)	0 (n=0)	P ¹ =0,18
Controle (n=6)	17,33% (n=1)	83,33% (n=5)	0 (n=0)	
Padrão com Fibrase (n=6)	33,33% (n=2)	66,66% (n=4)	0 (n=0)	
T O T A L	17,33% (n=3)	83,33% (n=15)	0 (n=0)	

(*): Diferença significativa a 5,0%.
Através do teste Qui-quadrado de Pearson.

(1):

Na tabela 7 observa-se que o grupo extrato, aos 14 dias, aproximou-se mais do considerado ideal para esta fase do reparo cicatricial no que se diz respeito a colagenização, visto que, a mesma pode ser medida como de moderado a intenso. As variáveis de intensidade moderada do grupo controle e do grupo fibrase se perfizeram estatisticamente indiferentes (100% e 83,33%) com $p > 0,05$ e em relação ao nível intenso o grupo extrato se destacou com percentuais de 50%, visto que, os demais foram nulos (n=0).

Tabela 7 – Avaliação percentual e classificação das lâminas quanto ao processo de colagenização da fase remodelação dos grupos estudados com 14 dias.

VARIÁVEIS GRUPOS	LEVE	MODERADO	INTENSO	Valor de p
Tratado com Extrato (n=6)	0 (n=0)	50% (n=3)	50% (n=3)	P ¹ =0,54
Controle (n=6)	17,33% (n=1)	83,33% (n=5)	0 (n=0)	
Padrão com Fibrase (n=6)	0 (n=0)	100% (n=6)	0 (n=0)	
T O T A L	77,77% (n=14)	22,22% (n=4)	0 (n=0)	

(*): Diferença significativa a 5,0%.
Através do teste Qui-quadrado de Pearson

(1):

Todos os grupos estudados com três e sete dias, se comportaram quanto a epitelização nesta fase inflamatória, em 100% de suas lâminas, com um grau de intensidade leve e moderada, o que era esperado para esta atividade cicatricial.

Na fase final de cicatrização (epitelização 14 dias), destacou-se a influência dos grupos tratados com Extrato no que se diz respeito à variável de atividade intensa, visto que a mesma fez um percentual de 50% de amostras neste grau, frente aos outros grupos (controle e fibrase) que foram nulos; no grau de intensidade moderada.

As feridas cirúrgicas foram observadas diariamente quanto ao grau de retração cicatricial e a presença de tecido de granulação. Após três dias da realização da ferida cirúrgica, observou-se em todos os grupos pequena quantidade de coágulo sobre a sua superfície, o que mostrou com nitidez vasos sanguíneos presentes na profundidade da hipoderme.

Decorridos sete dias, macroscopicamente as feridas do grupo tratado e do grupo tratado com laserterapia, exibiram grau de reparação superior quando foram comparadas com as dos grupos padrão e controle (Fig. 10).

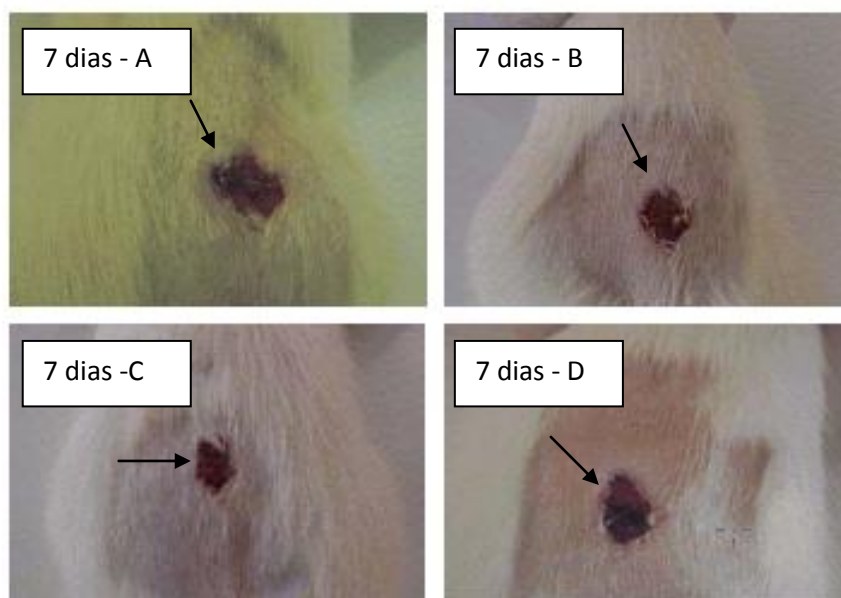


Fig. 10 – Contração da ferida: **A** – Grupo Controle; **B** – Grupo Tratado; **C** – Grupo Tratado com Laserterapia; **D** – Grupo Padrão

Macroscopicamente observou-se que, no Grupo Tratado com creme EH de *M. charantia* L. e laserterapia houve maior retração cicatricial e a ferida com 14 dias apresentou-se quase imperceptível e presença de pelos na área da tricotomia (Fig. 11).

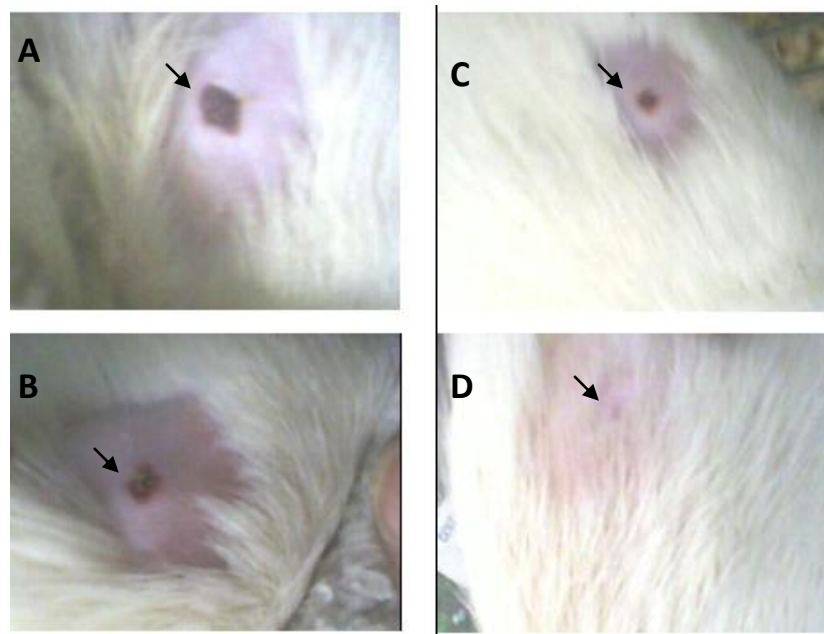


Fig. 11 – Observação macroscópica animal tratado com creme EH de *M. charantia* L.e laserterapia: **A** – Imediatamente após a cirurgia; **B** – com 3 dias; **C** – com 7 dias; **D** – com 14 dias.

Nos cortes histológicos avaliou-se a intensidade da REAÇÃO INFLAMATÓRIA - Infiltrado inflamatório polimorfonucleado, Infiltrado inflamatório mononucleado (leve, moderado e intenso); da FASE PROLIFERATIVA – Neovascularização e Colagenização (leve, moderado e intenso); e do grau de EPITELIZAÇÃO (leve, moderado e intenso).

O estudo histológico mostrou que no 3º dia do pós-operatório, não houve diferença significativa entre os grupos de acordo com o protocolo de observação estabelecido, exceto o grupo I e III (Anexos 4A, B; 5C; 6A) que apresentou uma resposta inflamatória menos pronunciada que os demais grupos.

No 7º dia quanto ao grau de epitelização, não houve diferença significativa nos grupos V e II (Anexos 10B; 8B) apresentando melhor epitelização, seguidos dos grupos VI e III (Anexo 11B; 5A) Nos grupos IV e I (Anexo 6B, C) a maioria dos animais apresentou reação inflamatória leve e quanto ao tipo de reação inflamatória, todos os cortes histológicos apresentaram reação do tipo agudo-crônica.

A célula predominante da reação inflamatória em todos os cortes dos grupos foi o neutrófilo. O grupo V teve uma melhor neovascularização do que os demais grupos.

Em relação ao tecido de granulação, o grupo V apresentou menor quantidade quando comparado aos demais grupos no 14º dia.

No 14º dia, quanto a epitelização, os grupos I e III (Anexo 7A; 5B) apresentaram epitelização leve, enquanto os grupos V e II (Anexo 10C; 8C, 9A, B, C) apresentaram epitelização intensa e moderada e os grupos VI e IV (Anexo 11C) apresentaram moderada e leve.

O grupo III, com três dias, apresentou moderado infiltrado inflamatório, predominantemente formado por células polimorfo nucleares, significando uma reação inflamatória aguda compatível com o período de dias após a realização da ferida. No tocante ao conteúdo das células inflamatórias crônicas observou-se pouca quantidade de células, bem como, uma leve neoformação vascular e formação de colágeno, também não foi observado epitelização superficial na região da ferida (Anexo 4A, B; 5C). Com sete dias já houve a total epitelização com fechamento total da ferida (Anexo 4 C; 5 A). Houve uma intensa collagenização, a ferida foi totalmente fechada e observou-se uma quantidade moderada de vasos neoformados, bem como, uma quantidade moderada de células inflamatórias crônicas, caracterizando o tecido de granulação remanescente. Entretanto, nos tecidos viam-se escassas células inflamatórias polimorfo nucleares.

Já com 14 dias, o grupo V apresentou epitelização completa e completo fechamento dos espaços, collagenização completa, restando poucas áreas preenchidas por tecido de granulação (Anexo 10A, B, C). Na cicatrização observa-se tecido fibroso jovem com presença de espaços vasculares em quantidade moderada.

No grupo II, três dias (Anexo 8A), não se observa epitelização da ferida, também a collagenização é muito leve, leve neovascularização sem haver formação de tecido de granulação, as células inflamatórias crônicas são poucas. Quantidade moderada de células inflamatórias polimorfo nucleares caracterizando uma reação inflamatória aguda. Com sete dias vemos a resolução do fechamento da ferida, porém não há total epitelização (Anexo 8B) onde se observa intensa neovascularização com boa quantidade de tecido de granulação, rico em células mononucleadas e vasos neoformados.

Com 14 dias, o grupo II (Anexo 8C, 9) apresentou total epitelização, também uma collagenização satisfatória, proliferação de fibroblasto e uma quantidade, também moderada, de tecidos de granulação, tecido fibroso jovem e espaços vasculares neoformados.

Quanto à intensidade do colágeno no grupo V, 7 e 14 dias (Anexo 10B, C) parece estar num grau mais elevado de maturação, seguido dos grupos II e VI. Quanto à reação

inflamatória, todos os grupos apresentaram reação inflamatória mínima, sem diferença significativa entre os grupos.

6 – DISCUSSÃO

Os lasers de baixa intensidade aceleram o processo de cicatrização de tecidos moles, alterando o comportamento de várias células presentes nos processos reparativos aumentando a formação vascular, a produção de colágeno, de fibroblastos e de tecido epitelial (PONZI, 1997; TARTARUNAS, MATERA, DAGLI, 1998; NORONHA et al., 2004; BOURGUIGNON-FILHO, 2005; ROCHA JÚNIOR et al., 2006).

A terapia laser de baixa intensidade produz ainda, efeitos analgésicos e antiinflamatórios (Gerbi, 2001; Limeira Júnior, 2001). Neste estudo observou-se que as lesões cirúrgicas submetidas ao tratamento com laser de baixa intensidade, quando comparadas com as lesões do grupo controle mostraram um processo de reparação tecidual mais evoluído e com maior velocidade de migração epitelial.

O laser de baixa potência otimiza o processo cicatricial após o ato cirúrgico nas dosagens de 2 e 4 J/cm², numa única radiação (Tartarunas, Matera, Dagli, 1998) corroborando com os resultados desta pesquisa onde foram usados 4 J/cm².

A respeito da terapia Laser não-cirúrgico (TLNC), (Pinheiro, Frame, 1992; Ponzi, 1997; Brugnera Junior, Pinheiro, 1998; Gerbi, 2001; Limeira Júnior, 2001), relataram que a mesma, pode alcançar excelentes resultados no pós-operatório, tais quais: a redução da inflamação, a redução da dor e aceleração do período de cicatrização das feridas cirúrgicas, como foi comprovado nesta pesquisa.

Tartarunas, Matera, Dagli, 1998; Noronha et al., 2004; Bourguignon-Filho et al., 2005; Rocha Júnior et al., 2006, relataram que os lasers de baixa intensidade aceleram o processo de cicatrização de tecidos moles, alterando o comportamento de várias células presentes nos processos reparativos aumentando a formação vascular, a produção de colágeno, de fibroblastos e de tecido epitelial. Gerbi, (2001) e Limeira Júnior, (2001) concordaram quando citaram que, a terapia com laser de baixa intensidade promove efeitos analgésicos e antiinflamatórios. Bourguignon-Filho et al., (2005) acrescentaram que a contribuição do laser de baixa intensidade no processo de cicatrização de tecidos moles é observada com o aumento de formação vascular, da produção de colágeno, de fibroblastos e de tecido epitelial.

Almeida-Lopes (2004), em seus estudos, na reparação de tecido mole, recomendaram, preferencialmente, o uso de comprimentos de onda emitidos no visível, já

que o fibroblasto, principal célula envolvida nesse processo, responde melhor a esse espectro de luz. Entretanto, o laser infravermelho também poderá ser utilizado nesses casos. Rocha (2004) frisou que a espessura da camada tecidual a ser atingida dependerá do tipo de laser, da potência usada e do tempo de aplicação.

Brugnera Júnior, Pinheiro (1998) citaram que a absorção da luz Laser pelo tecido pode resultar em quatro processos: fotoquímico, fototérmico, fotomecânico e fotoelétrico, e que a bioestimulação Laser, é de natureza fotobiológica, logo pode ser explicado como um fenômeno de tal natureza que envolve a cadeia respiratória mitocondrial, induzindo mudanças nos níveis do AMPc.

Genovese, Brugnera Júnior, Villa (1992) acrescentaram que a radiação do Laser não-cirúrgica absorvida pelos tecidos pode atuar de duas formas. Primeiro através de efeitos bioquímicos, estimulando a liberação de substâncias, como por exemplo, histamina, serotonina, bradicinina e heparina; segundo, modificando reações enzimáticas normais, tanto no sentido de excitação quanto de inibição.

Ao final do experimento que durou 14 dias, as feridas experimentais com e sem laserterapia, mostravam, clinicamente, completa reparação, fato este também observado por (SIMÕES, UZUNIAN, MORA 2003).

Na análise comparativa das feridas, observamos que as dos Grupos V e II mostraram cicatriz com características mais satisfatórias, logo, menos evidentes e imperceptíveis, quando comparadas com as dos grupos VI, III e IV. Este fato comprova os achados de outros autores, o que entendemos, caracteriza ainda mais os efeitos positivos deste grupo tratado.

Na análise dos resultados obtidos observamos que do ponto de vista clínico e histológico, as feridas dos grupos V e II, mostraram processo de reparação mais evoluído, caracterizado por maior contração da ferida e velocidade de migração epitelial. Em nível de tecido conjuntivo, observou-se maior velocidade da evolução do quadro inflamatório agudo para o crônico, além de elevada proliferação fibroblástica, com formação de tecido conjuntivo bem desenvolvido e rico em fibras colágenas.

Na análise clínica das feridas do grupo II, o processo de reparação se mostrou mais evidente que o das outras feridas, corroborando com os resultados de (MESTER et al., 1968; VEJROSTA et al., 1975; KANA et al., 1981).

A avaliação macroscópica foi realizada diariamente até o 14º dia. Nesse estudo foi observado que as lesões teciduais experimentais nos grupos padrão e tratado com o EH de *M. charantia* L. apresentaram melhor regeneração. Braga et al., (2007), comprovaram que os grupos tratados com EH, apresentaram uma evolução cicatricial mais precoce em relação ao controle. No decorrer de toda a investigação observou-se que os sinais de inflamação apareceram: edema e rubor. Nos animais tratados com unguento associado ao extrato etanólico, constatou-se moderada exudação a partir do quarto dia permanecendo até o último dia analisado (14º dia) divergindo do nosso experimento quando no 14º dia os pelos dos animais já estavam formados apresentando uma perfeita regeneração tecidual.

A atividade imunomoduladora e cicatrizante de muitas plantas medicinais são atribuídas a diferentes princípios ativos. Vasconcelos et al., (2006), consideraram que são as substâncias esteróideais as responsáveis por tal ação no extrato das folhas de *M. charantia* L. Desta forma, as ações do extrato hexânico das folhas de *M. charantia* L. pode ser atribuída às substâncias ativas esteróideais.

No início da fase de remodelação, que corresponde aos grupos analisados, no 14º dia neste experimento, observou-se uma redução no número de células mononucleares, fibroblastos e vasos sanguíneos justificando-se a mudança de fase do processo inflamatório, isto é, da fase de proliferação passa-se para a fase de remodelamento, onde há aumento de colágeno e redução de células e vasos corroborando com os resultados deste trabalho.

Sendo que, nos trabalhos de Vasconcelos (2006), Vasconcelos et al., (2007) e Braga et al., (2007) os grupos experimentais tratados com creme à base de extrato hidroetanólico. Essa redução acelerou a reparação tecidual na fase tardia da reação inflamatória, possibilitando o alcance da fase de remodelamento mais precocemente que os demais grupos. Neste mesmo intervalo de tempo, o leito da ferida apresentou-se totalmente preenchido pelo tecido de granulação o que foi evidenciado também na pesquisa de Gurbuz et al. (2000), onde aparecia uma rede capilar em franca regeneração. O tecido de granulação vem sendo enriquecido com mais fibras colagenosas e começa a adquirir a aparência de massa fibrótica característica da cicatriz. As etapas do processo de cicatrização foram observadas no presente trabalho tanto nas lesões tratadas com os extratos hidroetanólico de *M. charantia* L. como nas não-tratadas, com e sem aplicação da laserterapia, conforme os dias analisados.

7 - CONCLUSÃO

Diante da metodologia empregada e da análise dos nossos resultados, podemos concluir:

1 - O extrato hidroetanólico de *Momordica charantia* L. mostrou-se eficaz no processo de cicatrização de feridas.

2 - Houve uma excelente atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico de *M. charantia* L. frente às linhagens estudadas de *Staphylococcus aureus*; *S. epidermidis*; *Candida albicans* e *C. tropicalis*.

3 - O extrato bruto hidroetanólico das folhas de *M. charantia* L não causou letalidade, ao ser administrado por via oral em nenhuma das doses utilizadas.

4 – O efeito do Laser 685 nm no extrato hidroetanólico de *Momordica charantia* L mostrou resultados muito positivos, caracterizado pela aceleração da proliferação tecidual, aumento da vascularização local e formação de um tecido de granulação mais organizado, o colágeno parece estar num grau mais elevado de maturação.

A *M. charantia* L apresenta-se como meio alternativo eficaz na cicatrização de feridas, por ser de fácil aquisição e baixo custo, o que será de grande valia para a população de menor poder aquisitivo, justificando seu desenvolvimento tecnológico farmacêutico.

Podemos concluir que há necessidade de novos estudos (principalmente com a utilização da Laserterapia em fitoterápicos, por esta pesquisa ser pioneira), procurando enfatizar com maior controle metodológico, os diferentes aspectos capazes de oferecer maior sustentação biológica para os resultados pré-clínicos já demonstrados em nosso trabalho, o que possibilitará a inclusão desta (*Momordica charantia* L.) em uma próxima avaliação pelo Ministério da Saúde na lista de plantas que poderão ser usadas como medicamentos fitoterápicos pelo SUS.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA-LOPES, L. **Laserterapia na Odontologia. Clínica Odontológica Integrada.** São Paulo, v. 1, n. 1, p. 7-80, 2004.

ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina.** Buenos Aires: Ed Isis, 1996. p. 729-32.

ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina: Bases Clínicas y Farmacológicas.** Buenos Aires: Ed. Isis, Ediciones SRL: 1998. p. 193, 507, 729, 790 e 820.

ANGEL, M. E; NARAYANA, K. SWARTZ, W. M. The etiologic role of free radicals in hematoma-induced flap, necrosis. **Plast Reconstr Surg**, 77: 795, 1986.

BALAAS; WOOD, G. C. The formation of fibrils from collagen solutions. Effect of chondroitin sulfate and other naturally occurring polyanions on the rate of formation. **Biochem J**, 75: 605, 1950.

BELOFSKY, G.; PERCIVILL, D.; LEWIS, K.; TEGOS, G. P.; EKART, J. Phenolic metabolites of *Dalea Versicolor* that enhance antibiotic activity against model pathogenic bacteria. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 481-484, 2004.

BELOIN, N.; GBEASSOR, M.; AKPAGANA, K.; HUDSON, J.; SOUSSA, K.; KOUMAGLO, K.; ARNASON, J. T. Ethnomedicinal uses of *Momordica charantia* (*Cucurbitaceae*) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, p. 49-55, 2005.

BETONI, J. E. C; MANTOVANI, R. P.; BARBOSA, L. N.; DE STASI, L. C.; JUNIOR, A. F. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 4, p. 387-390, 2006

BOGLIOLO **Patologia, Geraldo Brasileiro Filho**, 6ª ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000.

BORGES; ALEXANDER, 1962, **Dermatol Surg**, 161: 293, 1965; 101: 252-255, 1994. v. 121, p. 813-816, 1978.

BOURGUIGNON-FILHO, A. M; FEITOSA, A. C. R.; BELTRÃO, G. C.; PAGNONCELLI, R. M. Utilização do Laser de Baixa Intensidade no Processo de

Cicatrização Tecidual. Revisão da Literatura. **Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial**. v. 46, n. 1, 2005.

BRAGA, F. R.; ARAUJO, J. V.; CAMPOS, A. K.; CARVALHO, R. O.; SILVA, A. R.; TAVELA, A. O.; MACIEL, A. S. Observação *in vitro* da ação dos isolados fúngicos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Verticillium chlamydosporium* sobre ovos de *Ascaris lumbricoides* (Lineu, 1758). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, p. 356-358, mai-jun. 2007.

BRAGA, L. T.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S; SOUSA, J. A. V.; SILVA, F. M. S.; FARIAS, V. M.; LEITE, A. K. R. M.; LOPES, C. A. P.; FACÓ, O.; CAMPELLO, C. C.; COSTA, J. H.; NOGUEIRA, T. N. A. G. Efeito do levamisol e do extrato etanólico de folhas de *Momordica Charantia* sobre a dermatofitose experimental em coelhos. **Rev. Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 285-295, 2007.

BRUGNERA JUNIOR, A. **Utilização do Laser na Odontologia: Fórum, âmbito Odontológico**. São Paulo, Pancast, 1998.

BRUGNERA JUNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B. **Laser na Odontologia Moderna**. São Paulo: Pancast, 1998.

BRUGNERA JUNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B.; FRAME J. W. **Laser na Odontologia** São Paulo: Pancast, 1998.

BRUGNERA JUNIOR, A.; VILLA, R. G.; GENOVESE, W. J. **Laser na Odontologia**. São Paulo: Pancast, 1991. 61p.

BRUGNERA JUNIOR, A., et al. **Laserterapia Aplicada à Clínica Odontológica**. Santos, 2003, 119p.

BURGESSON, R. E.; CHIQUET, M.; DEUTZMANN, R.; EKBLÖM, P.; ENGEL, J.; KLEINMAN, H.; MARTIN, G. R.; MENEGUZZI, G.; PAULSSON, M.; SANES, J.; TIMPL, P.; TRYGGVASON, K.; YAMADA, Y.; YURCHENCO, P. D.: A new nomenclature for the laminins. **Matrix Biol**, v. 14: p. 209–211, 1994.

BUTLER, M. S. Natural products to drugs: natural product derived compounds in clinical trials. **Natural Product Reports**, v.22, n.2, p. 162-195, 2005. Erratum in: Natural Product Reports, v. 23, n.1, p. 131, 2006.

CANDIDO, L. C. **Nova Abordagem no Tratamento de Feridas**. São Paulo: SENAC, 2001.

CARRICONDE C. **Plantas medicinais e plantas alimentícias**. Olinda: Centro Nordestino de Medicina Popular. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1995.

CATONE, G. A. Qualitative Laser Physics in Maxillofacial Surgery. In: Catone G. A. Alling III CC. **Philadelphia**: W. B. Saunders Company, 1997; 7-27.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. **Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade**. Química Nova: São Paulo. v. 21, p. 99-105, 1998.

CHANG, P. C.; LI, H. Y.; TANG, H. J.; LIU, J. W.; WANG, J. J.; CHUANG, Y. C. “*In vitro*” synergy of baicalein and gentamicin against vacomycin-resistant Enterococos. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 40, p. 56-61, 2007.

CLARKE, J. M.; GILLINS, M. R.; ALTAVILLA, N.; BEALE, A. J. Testing natural products, for antimicrobial activity – potential problems with fluorescein diacetate assays of cell viability. **Journal of Microbiological Methods**, v. 46, n. 3, p. 261, 2001.

COHEN J. K.; DIEGELMANN, F.; LINDBLAD, W. J. **Wound healing: biochemical and clinical aspects**. Philadelphia: Saunders, 1992.

COLLS, J. C. La terapia Laser hoy. Barcelona, Centro documentación: **Laser de Meditec S. A.**, 1984.

COTRAN, R. S.; KUMAR, R.; COLLINS, T. **Patologia estrutural e funcional**, 6^a. ed. Rio de Janeiro, 1993.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. oct., p. 564-582, 1999.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J.; SNADER, K. M. Natural products in drug discovery and development. **Journal of Natural Products, Columbus**, v. 60, p. 52-60, 1997.

DE LUCA, R. R.; ALEXANDERE, S. R.; MARQUES, T; SOUZA, N. L.; MERUSSE, J. L. B.; NEVES, S. P. **Manual para técnicos em bioterismo**. São Paulo:Winner Graph, 1996. 259p.

DI STASI, L. C.; SANTOS, E. M. G.; SANTOS, C. M.; HIRUMA, C. A. **Plantas Medicinais na Amazônia**. São Paulo: Ed. Universidade Estadual Paulista, 1989.

DINIZ, M. F. F. M.; OLIVEIRA, R. A. G.; MEDEIROS, A. C. D.; MALTA JUNIOR, A.; MOURA, M. D. **Memento de plantas medicinais - As plantas como alternativa terapêutica: aspectos populares e científicos**. João Pessoa–PB. Ed. Universitária, 2006.

DORNELES, D. Efeito de *Aloe vera* L. sobre a cicatrização de feridas em pele de coelhos. **Visão Acadêmica**, v. 2, n. 2, 75-80, 2000.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia. **Cienc. Cult.** v. 55, n. 3. 2003.

FARO, A. C. M. Plantas medicinais: um auxílio para a cicatrização. **Acta Paul. Enf.**, v. 1, n.3, p. 73-79, set/1988.

FRENCH, G. L. Clinical impact and relevance of antibiotic resistance. **Advanced. Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 10, p. 1514 – 1527, 2005.

GABBIANI, G.; LELOUS, M.; BAILEY, A. J. Collagen and myofibroblasts of granulation tissue. A chemical, ultrastructural and immunologic study, **Cell Pathol**, 21: 133, 1976.

GARCIA, C. M. **Estudo fitoquímico e atividade biológica de *pavonia distinguenda***. - Hill ET Naudin e *Dorstenia brasiliensis*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2007.

GENOVESE, W. J.; BRUGNERA JUNIOR, A.; VILLA, R. G. **Laser na Odontologia**. In: GENOVESE, W. J. Metodologia do exame clínico. 2.ed. São Paulo: Pancast, 1992. Cap.8, p.325-351.

GERBI, M. E. M. **Avaliação da eficácia do Laser de 830nm no reparo ósseo de feridas cirúrgicas com implante de osso orgânico bovino associado ou não ao uso de membrana biológicas**. Salvador, 2001. Dissertação (Mestrado em Estomatologia). Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia. 181p. 2001.

GERBI, M.; PINHEIRO, A. L. B.; PONZI, E. A. C.; LIMEIRA JÚNIOR, F. A. Assessment of Bone Repair associated to the use of Organic Bone Graft and Membrane with 830nm. **SPIE Lasers in Dentistry**, v. 4950, p. 137-143, June 2003.

GODOY, L. **Efeitos do medicamento Método Canova® sobre a funcionalidade de macrófagos**. Curitiba, 2002. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) - Universidade Federal do Paraná. Paraná, 2002.

GONZALES, F.; DIAZ, J. N.; LOWY, P. **Flora Ilustrada de San Andrés y Providencia**. Sena/Universidad Nacional: Colombia, 1995, p. 121, 124, 164 e 242.

GROVER, J. K.; YADAV, S. P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 123-132, 2004.

GURBUZ, I.; AKYUZ, Ç.; YESILADA, E.; SENER, B. 2000. Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 71, 77-82.

GUTKNECHT, N.; EDUARDO, C. P. **A Odontologia e o Laser. Atuação do laser na Especialidade Odontológica**. Quintessence Ed. Ltda.: São Paulo, 2004.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A.; NAKAMURA, C. V. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem I Oswaldo Cruz**, 97: 1027-1031, 2002.

HOM, D. B. **Grow factors. Biological basis of facial plastic surgery**. Thieme Medical, 1993.

HORIUCHI, K.; SHIOTA, S.; KURODA, T.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; TSUCHIVA, T. Potentiation of antimicrobial activity of amino glycosides by carnosol from *Salvia officinalis*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 2, p. 287-290, 2007.

ISMAIL, Z.; ISMAIL, N.; LASSA, J. Malaysian Herbal Monograph. **Malaysian Monograph Committee**, v. 1, n. 3, 1999.

KANA, J. S.; HUTSCHENREITER, G.; HAINA, D.; WANDELICH, W. Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. **Arch. Surg.** 1981, v 116: 293.

KARBER, G.; BEHRENS, B. **Shistical methods in biological assays**.1ª ed. London: Griffin, 1964.

KAYSER, F. H. Basic aspects of antibiotic resistance in the multiresistant staphylococcus:an overview. **Chemotherapy**, 2006.

KISCHER, C. W.; SHETLAR, M. R.; CHVAPIL, M.: Hypertrophic scars and keloids: a review and new concept concerning their origin. **Scan Eletron Microsc** , v. 4, p. 1699, 1982.

KOHN, S. Structural basis of hyperpermeability of tumor blood vessels. **Lab. Invest.** mai 1992.

KOSTOVA, T. N.; NIKOLOY, N. M.; CHILPISA, L. N. Antimicrobial properties of some hidroxicoumarins and Fraxinus ornus bark extracts. **Journal Ethnopharmacology**, v. 39, n. 3, p. 205-208, 1993.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Adaptação, dano e morte celular**. In:_____, Robbins e Cotran – Patologia - **Bases Patológicas das Doenças**, 7ª ed. São Paulo: Elsevier, 2005.

LEITE, K. L.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S.; CAMPELLO, C. C. Efeito gastroprotetor do extrato hexânico de partes aéreas de *Momordica charantia* L. **Ciência Animal**, 15(1): 15-20, 2005.

LEVENSON, S. M.; GEEVER, E. G.; CRAWLEY, L. V.: The healing of rat skin wounds. **Ann.Surg.** 1965.

LEVY, S. B. Antibiotic resistance – the problem intensifies. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 10, p. 1446-1450, 2005.

LIMA, A. O.; SOARES, J. B.; GRECO, J. B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J. R. **Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

LIMEIRA JÚNIOR, F. A. **Avaliação do Reparo Ósseo com o uso de Osso Anorgânico e Membrana Reabsorvível após Irradiação com Laser Diodo 830nm**. Salvador, 2001. (Mestrado em Estomatologia) - Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia. 177p. 2001.

LOEVSCALL, H.; ARENHOLT, B. D. Effect of low diode Laser irradiation of human oral mucosa fibroblasts in vivo. **Lasers in Surg. and Med.** v. 4, n. 14, p. 347-354, 1994.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas cultivadas**. 1ª ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.

MACENA, M. S. A.; ALVES, P. M.; LEITE, P. H. A. S.; PEREIRA, J. V.; HIGINO, J. S.; PEREIRA, M. S. V. Atividade antifúngica *in vitro* do extrato de *Momordica charantia* L. (melão de São Caetano) sobre cepas de *Cândida* oral. **Braz Oral Res.**, v. 19, Supplement (Proceeding of the 22 and Annual SBPqO Muting). 2005.

Maillet, H. O Laser. São Paulo: Ed. Manole Ltda, 1987.

MAJNO, G. The capillary then and now: An overview of capillary pathology. **Mod. Pathol.** 5: 9, 1992.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte II. **Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 5, p. 525-542, 2003.

MARTINS, P. S.; ALVES, A. L. G.; HUSSNI, C. A.; SEQUEIRA, J. L.; NICLLETI, J. L. M.; THOMASIAN, A. Comparação entre Fitoterápicos na cicatrização de pele em equinos. **Archives of veterinary Science**, v. 8, p. 1-7, 2003.

McGRATH, I. A.; ISHIDA-YAMANOTO, A.; O'GRADY, A. Structural variations in anchoring fibrils in dystrophic epidermolysis bullosa: correlation with type VII collagen expression, **J. Invest Dermatol**, 100: 366-372, 1993.

MESTER, E.; LUDANY, G.; SELLYEI, M.; SZENDE, B.; TOTA, J. G. The stimulating effect of low power laser rays on biological systems. **Laser Rev.**, v. 1, p. 3, 1968.

MESTER, E. et al. Effect of laser rays on wound healing. **The American J. of Surg.**, v. 122, p. 532-535, 1971.

MESTER, E.; BACSY, E.; KORENYI, A.; KOVACS, I.; SPIRY, T. Clinical electron optic and enzyme-histochemical studies on the effect of laser irradiation on wound healing. **Langenbecks Archv Chir Suppl**, v. 261, 1974.

MIMS, C.; PLAYFAIR, J.; ROITT, I.; WAKELIN, D.; WILLIAMS, R. **Microbiologia Médica**. 2ª ed. São Paulo: Manole, 1999.

MIURA, T.; ICHIKI, H.; IWAMOTO, N.; KATO, M.; KUBOS, M.; SASAKI, H.; OKADA, M.; ISHIDA, T.; SEINO, Y.; TANIGAWA, K. Antidiabetic activity of the Rhizoma of *Anemarrhena asphodeloides* and active components, mangiferin and its glucoside. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 24, p. 1009-1111, 2001.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 2, p. 247-256, 2000.

NICOLLI FILHO, W. D. et al. Efeitos da radiação Laser do tipo Helio-Neônio verde (550nm) no processo de reparação em feridas de extração dental: estudo histológico em ratos. **Rev. Odont. UNESP**. v. 2, n. 22, p. 213-221, 1993.

NORONHA, L.; CHIN, W. K.; KIMURA, L. Y.; GRAF, R. Estudo morfométrico e morfológico da cicatrização após uso do laser Erbium:YAG em tecidos cutâneos de ratos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n. 1, p. 41-48, 2004.

OLIVEIRA, C. M. Uso racional dos antimicrobianos. In: PEDROSA, E. R. P.; ROCHA, M. O. C. Antibioticoterapia. Rio de Janeiro: **MEDSI**, v. 4, p. 755-786, 2001.

OLSEN, D. R.; PELTONEN, I.; JAAKKOLA, S. Collagen gene expression by cultured human skin fibroblasts. Abundant steady-state levels of type VI **Clínica Veterinária**, São Paulo: procollagen messenger. 1989.

OSAWA, et al. Low-Power Laser Irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. **Bone**, v. 22, n. 4, p. 347-354, Apr. 1998.

PEREIRA, A. M.; ARIAS, M. V. B. Manejo de feridas em cães e gatos: revisão. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 38, p. 33-42, mai./jun., 2002.

PINHEIRO, A. L. B. Reação tecidual aos lasers. **Rev. IPEI**, 1988; 1: 17-35.

PINHEIRO, A. L. B. **Lasers na Odontologia Moderna**. São Paulo: Pancast, 1998.

PINHEIRO, A. L. B.; FRAME, J. W. O uso do CO₂ laser no tratamento de lesões de tecidos moles na cavidade oral. **Rev. Bras. Med.** 1991.

PINHEIRO, A. L. B.; FRAME, J. W. Laser em Odontologia. Seu uso atual e perspectivas futuras. **RGO**, v. 40, n. 5, p. 327-332, set/out. 1992.

PINHEIRO, A. L. B., et al. Effect of LLLT on Malignant Cells: Study *in vitro*. **Proc. SPIE**, v. 4249, p. 56-60, 2001.

PÖNTINEN, P. **Low level Laser therapy as a medical treatment modality**. Tampere: Art Urpo, 1992.

PONZI, E. A. C. **Efeito da radiação laser diodo de 635 e 670nm sobre a *Candida albicans*: estudo “in vitro”**. 1997. Dissertação (Mestrado em CTBM) – Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 88f. 1997.

PRABAKAR, K.; JEBANESAN, A. Larvicidal efficacy of some Curcubitaceous plant leaf extracts against *Culex quinquefasciatus* (Say). **Bioresource Technology**. v 95, p. 113-114. 2004.

RAZA, H.; AHMED, I.; LAKHANI, M. S.; SHARMA, A. K.; PALLOT, D.; MONTAGUE, W. Effect of Bitter Melon (*Momordica charantia*) Fruit Juice on the Hepatic Cytochrome P450-Dependent Monooxygenases and GLUTATHIONE S. Transferases in Streptozotocin - Induced Diabetic Rats. **Biochemical Pharmacology**, v. l. 52, p. 1639-1642, 1996.

ROCHA, J. C. T. Terapia Laser, Cicatrização Tecidual e Angiogênese. **Revista Brasileira em Promoção de Saúde**. Fortaleza, v. 17, n. 1, p. 44-48, 2004.

ROCHA JUNIOR, A. M.; OLIVEIRA, R. G.; FARIAS, R. E.; ANDRADE, L. C. F.; AARESTRUP, F. M. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. **An. Bras. Dermatol.** Rio de Janeiro, v. 81, n. 2, p. 150-156, 2006.

RODRIGUES, F. R.; CÂNDIDO, L. C.; ASSAD, L. G.; COSTA, M. C. A.; COUTINHO, V. L. Curativos em Cirurgia. In: MARQUES, R. G. **Cirurgia – Instrumental e Fundamentos Técnicos**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2001.

RUIZ, A. R.; TORRE, R. A.; ALONSO, N.; VILLAERSCUSA, A.; BETANCOURT, J.; VIZOSO, A. Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation activity in *Aspergillus nidulans*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 52, p. 123-127, 1996.

SAARIALHO-KERE, U. K.; CHANG, E. S.; WELGUS, H. G. Direct localization of collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases expression in wound healing associated with ulcerative pyogenic granuloma, **J Clin Invest**, v. 90, p. 1952-1957, 1992.

SCHAECHTER, M.; ENGLEBERG, N. C.; EISENSTEIN, B. I.; MEDOFF, G. **Microbiologia: Mecanismos das Doenças Infecciosas**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 642.

SCHMOURLO, G.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; ALVIANO, C. S.; COSTA, S. S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 96, p. 563–568, 2005.

SENER, B.; TEMIZER, H. Biologically compounds of *Momordica charantia* L. **FABAD. Journal Pharmaceutical Sciences**, v. 13, p. 516-521, 1998.

SIANI, A. C. **Desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos: plataforma metodológica**, Rio de Janeiro: Scriptori, p. 23-31, 2003.

SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R.; AGRA, M. F. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (SOLANACEAE). **Quim. Nova**, v. 26, n. 4, 517-522, 2003.

SILVA, M. C.; CARVALHO, J. C. T. Inflamação. In: CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos Antiinflamatórios – aspectos clínicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. 1ª ed. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. cap. 4. p. 49-68.

SILVEIRA, G. P.; NOME, F.; GESSER, J. C.; SÁ, M. M.; TERENCE, H. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SIMÕES, C. M. O. **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul**. 5ª ed. Porto Alegre: UFRGS, 1998.

SIMÕES, M. J. A.; UZUNIAN, O. A.; MORA, S. S. Aspectos ultra estruturais do processo de reparação da pele de ratos albinos. **Revista Paulista de Medicina**. 2003.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2004. Cap. 18, p. 468-495.

SOARES, M. A. Resistência antibiotico. **Pharmacia Brasileira**, v. jan/fev., p. 60-62, 2001.

SOLIS, M. A. **Vade Mecum de Plantas Medicinales Del Ecuador**. Ed. Abya – Yala. Quito, 1992. p. 39, 66, 67, 136, 138.

SOUZA, J. A. L. **Plantas medicinais usadas como anti-helmínticas: estudo químico de *Spigelia anthelmia* Linn.** Monografia de Bacharelado em Química. Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza, CE, 2001.

SUAREZ, J. **Plantas Medicinales de Venezuela – SUS Poderes curativos em lãs distintas enfermidades**. Ed. Panapo: Venezuela, 1998. p. 216.

SUFFREDINI, I. B.; PACIENCIA, M. L. B.; NEPOMUCENO, D. C.; YOUNES, R. N.; CARELLA, A. D. Antibacterial and cytotoxic activity of Brazilian plant extracts Clusiaceae. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 3, p. 287-290, 2006.

TARTARUNAS, A. C.; MATERA, J. M.; DAGLI, M. L. Z.; Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização cutânea no gato doméstico: utilização do laser de baixa potência GaAs (904 nm). **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 13, n. 2, 1998.

TAVARES, W. **Manual de Antibioticos e Quimioterapicos Antiinfeciosos**. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 1996. 792p.

TENOVER, F. C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n. 6A, p. S3-S10, 2006.

TORRICELLI, P.; GIAVARESI, G.; FINI, G. A.; GUZZARDELLA, G.; MORRONE, G.; CARPI, A.; GIARDINO, R. “Laser biostimulation of cartilage: *in vitro* evaluation”, **Biomd Pharmacother**, v. 55, p. 117-120, 2001.

VAN WINKLE, W. The fibroblast in wound healing. **Surg Gynecol Obstet**, 124: 369, 1967.

VASCONCELOS A. K. P. **Ação biológica dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Momordica charantia* L. sobre a resposta imune e a cicatrização em animais de experimentação**. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias – Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, 2006.

VASCONCELOS A. K. P., et al. Avaliação dos ungentos à base de extratos de hexânico ou etanólico das folhas de *Momordica charantia* L. sobre as lesões cutâneas experimentais em coelhos. **Editora Acta**. 35: 59-65, 2007.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**. v. 28, n. 3, 2005.

VEJROSTA, Z; LUKLOVÁ L; HORNOVÁ, J; DOUBEK, J. Laser radiation in healing oral cavity wounds. **Scr. Méd.** 1975; v. 48, n 6/7: 569-576.

WEISSMAN, G. **Inflammation: Historical perspectives**. In Gallin, J. I. et al., (eds.): *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*, 2ª ed. New York, Raven Press, p 5-13, 1992.

WHO Monographs on selected medicinal plants 1v. Geneva: **World Health Organization**, 1999.

WITTE, M. B.; BARBUL, A. **Princípios gerais da cicatrização das feridas**. In: BARBUL, A. *Clínicas Cirúrgicas da América do Norte*. Rio de Janeiro: Interlivros, 1997.

WITTE, M. B.; BARBUL, A. Role of nitric oxide in wound repair. **The American Journal**., 2002.

YASUDA, L.; IWAMOTO, M.; OKABE, H; YAMAUCHI, T. **Fac. Pharm. Sci.**, Fukuoka Univ. Fukuoka, Japão. *Substância química e Boletim farmacêutico*, 32(5). 2044-7, 2007.

YOUNG, T. The healing process: nurses are familiar with the management of wounds as they pass through the different stages of the healing process but do they understand the physiology behind tissue growth and repair as well as they could? **Pract Nursing**, v. 22(10), p. 38, 2001.



ARTIGO 1 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE
Momordica charantia L.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE *Momordica charantia* L.

THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE *Momordica charantia* L. EXTRACT

Elizabeth Arruda Carneiro PONZI¹; Thompson Lopes de OLIVEIRA² Iracema Andrade Ferrer de MORAIS³ José Justino da SILVA JÚNIOR⁴ Marleny Martinez GERBI⁵ Ivone Antônia de SOUZA⁶; Maria Nelly Caetano PISCOTTANO⁷; Haroudo Satiro XAVIER⁸

¹ Prof^a Assistente do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco-Maxilo-Facial - UFPE.;
Prof. Adjunto da Universidade Federal da Paraíba – UFPB
Prof. Adjunto da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE.
Cirurgião-dentista, mestre em Ciências Farmacêuticas da - UFPE
Adjunta da Universidade de Pernambuco – UPE.
Adjunta do Departamento de Antibióticos da UFPE.
do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE
Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE.

2

3

4

⁵ Prof^a

⁶ Prof^a

⁷ Prof^a Titular

⁸ Prof. Titular do

¹ Correspondência:

Diógenes Fernandes Távora, 507, Casa Caiada, Olinda-PE. CEP. 53130-230 E-mail: bethcirurgia@hotmail.com
Fone: (81)9972.9517

Rua

RESUMO: A *Momordica charantia* L., conhecida popularmente como Melão de São Caetano, pertencente à família das Cucurbitaceae, é uma planta tropical, de crescimento rápido, comum em terrenos abandonados e que apresenta efeito medicinal comprovado para o tratamento de várias afecções de origem microbiana. Há muitos anos têm-se estudado várias formas de controle e erradicação das doenças causadas por microorganismos infecciosos através de agentes antimicrobianos, variando em suas ações, aplicações e eficácia, porém o uso abusivo e indiscriminado de antibióticos na prática clínica humana tem um efeito seletivo no surgimento e manutenção de resistências a drogas. O extrato hidroetanólico da espécie vegetal *M. charantia* L. foi testado “*in vitro*” apresentando atividade antimicrobiana significativa em linhagens de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Candida albicans* e *C. tropicalis* com concentração do extrato bruto de 100 mg/mL, sugerindo a utilização desta planta como meio alternativo de baixo custo no tratamento das afecções da boca, justificando seu desenvolvimento tecnológico farmacêutico.

Unitermos: Atividade Antimicrobiana, *Momordica charantia* L, extrato vegetal.

ABSTRACT: The *Momordica charantia* L., Cucurbitaceae plant family, is a tropical plant, fast-growing, and common in abandoned land, which has proven medicinal effects for the treatment of various diseases of microbial origin. It has been many years since researches have been studying various forms of control and eradication of diseases caused by infectious organisms through antimicrobial agents, ranging in their actions, applications and efficacy, but the indiscriminate use of antibiotics in human clinical practice has a selective effect on emergence and maintenance of resistance to drugs. The aqueous ethanol extract of the plant species *M. charantia* L. was tested “*in vitro*” showing significant antimicrobial activity in strains of *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Candida albicans* and *C. tropicalis* concentration of crude extract of 100 mg/mL, suggesting that the use of this substance is an alternative for low-cost treatment of diseases of the mouth, justifying its technological development pharmacist.

Uniterms: The Antimicrobiana Activity, *Momordica charantia* L., vegetal extract.

INTRODUÇÃO

A partir de uma perspectiva histórica, a produção de medicamentos e o tratamento farmacológico de diversas doenças tiveram seu início com o uso de plantas medicinais. Em 1800, quando a medicina entrou na era científica, a medicina tradicional que utilizava as plantas era considerada base inquestionável para todos os livros-texto clássicos de farmacologia^{1,2}.

Os Chineses, Egípcios, Indús e Gregos foram os primeiros a catalogar as ervas medicinais, classificando-as de acordo com sua forma, cor, sabor e aroma, incluindo,

também, suas ligações com os astros e com os atributos mágicos³. O conjunto de dados a respeito das plantas foi sendo passado por diversas gerações e melhorando cada vez mais através da incorporação de outras ervas, assim como as técnicas de utilização⁴.

Desde a antiguidade, o homem tem utilizado as plantas para o tratamento de diversas doenças, com a evolução da ciência e dos métodos de análise as plantas com atividades terapêuticas começaram a ser estudada sob o ponto de vista químico⁵.

A *M. charantia* L. é uma planta muito utilizada na medicina popular por suas atividades antitumoral, hipoglicêmica, vermífuga, antibacteriana, anti-helmíntica^{2,3,6}.

Com o alto custo dos medicamentos e a baixa condição financeira de 80% da população mundial, as plantas voltaram a ser um importante aliado nos serviços de saúde. A Organização Mundial de Saúde (OMS), reconhecendo essa realidade lançou, em 1972, um incentivo à chamada Medicina Tradicional, em que a Fitoterapia se destaca como uma das práticas mais importantes. Em qualquer caso, o aproveitamento adequado das ervas medicinais depende de vários fatores: Plantio, Coleta, Secagem, Armazenamento e Forma de Preparo^{6,7}.

O *Staphylococcus aureus* é um patógeno em potencial e pode ser encontrado na região da orofaringe e nas fossas nasais, são agentes responsáveis por infecções de ferimentos e representam a terceira causa mais comum de infecção hospitalar⁸.

A análise da resistência estafilocócica a agentes antimicrobianos tem revelado três mecanismos bioquímicos principais que se constituem por: inativação de antimicrobianos através de enzimas que modificam ou hidrolisam estes agentes, por alteração dos receptores alvo, seja em decorrência da aquisição de um alvo com reduzida afinidade ao antimicrobiano devido à aquisição de enzimas que possam converter o alvo nativo seja através de mutação de genes que codifiquem este alvo e, finalmente, por um acesso limitado dos antimicrobianos⁹.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Para a realização dos ensaios microbiológicos foram selecionados espécimes de microorganismos de origem clínica, registradas no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPB, bem como, cepas padrões de origem ATCC: *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-9028), *Staphylococcus epidermidis* - MH, *Escherichia coli* - LM, *Aspergillus flavus* (FCF-126), *Trichophyton rubrum* (ATCC-2812), *Microsporum canis* (LM-003), *Microsporum gypseum* (LM-002), *Penicillium* spp (FCP-281), *Candida albicans* (ATCC-90028), *Candida tropicalis* (LM-13) e *Aspergillus niger* (LM-05).

Método de difusão em meio sólido: utilizado na determinação do “screening” da atividade antimicrobiana dos extratos de *M. charantia* L. contra bactérias e fungos de coleção: em placas esterilizadas, foi depositado 1 mL da suspensão de cada microorganismo teste, preparada em solução fisiológica a 0,85% padronizada pelo tubo de 0,5 na escala de McFarland e ajustada para 90% T (530 nm), correspondendo aproximadamente a 10⁶ UFC/mL.

Em seguida, foi adicionado às placas com a suspensão dos microrganismos 21 mL do meio sólido fundido a 50° C, específico para cultivo de bactérias e de fungos. Posteriormente, após solidificação, foram realizadas cavidades de 6x8mm de diâmetro por meio de cânulas estéreis, onde foram depositadas alíquotas de 50 µL do extrato de *M. charantia* L em concentrações diferenciadas. Os controles antimicrobianos utilizados foram: Tetraciclina e Cloranfenicol 30 µg para bactérias e Cetoconazol a 50 µL para fungos.

Os ensaios foram incubados a 35° C ± 2° C por 24-48 horas, para culturas bacterianas e leveduriformes a temperatura ambiente por 7-14 dias para fungos filamentosos.

RESULTADOS

As cepas utilizadas para determinação da eficácia antimicrobiana do extrato de *M. charantia* L., foram cepas padrões ATCC e isolados clínicos. As atividades evidenciadas pelo extrato nas concentrações crescentes de 100 mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL e 12,5 mg/mL são apresentados nos Quadros 1 e 2. Os halos de inibição do extrato de *M. charantia* L. a concentração de 100 mg/mL foi para *Staphylococcus aureus* ATCC de ordem de 12 mm e para *Staphylococcus epidermidis* MH foi de 13 mm, contra halos de diâmetro de 16 a 19 mm para os antibióticos padrões (Tetraciclina 30 µg, Cloranfenicol 30 µg), *C. albicans* ATCC de ordem de 12 mm, *C. tropicalis* LM foi de 10 mm, contra halos de diâmetro de 16 a 15 mm para o antibiótico padrão Cetoconazol 50 µg.

DISCUSSÃO

A medicina tradicional tem se mostrado ineficiente em alguns aspectos relacionados às infecções causadas por um número grande de microrganismos existentes. Os resultados positivos obtidos neste testes de ação antimicrobianas do extrato de *M. charantia* L. numa concentração inibitória mínima de 100 mg/mL corroboraram com Lorenzi, Matos⁴; Matos³ que já defendiam o potencial farmacológico ativo das plantas medicinais.

Em relação aos métodos de tratamento com antibioticoterapia, muitas vezes se mostram ineficazes ou realizados de maneira que propiciam o desenvolvimento cada vez maior, de resistência bacteriana de acordo com Freitas⁹.

Os resultados desta pesquisa foram semelhantes às de Omoregle et al.¹⁰, Brasileiro¹¹, Pham, Hoang, Hoffman.¹², Braca et al.¹³; divergindo de Zhang et al.¹⁴, que em seus resultados não obtiveram efeitos sobre fungos.

O baixo custo das plantas medicinais e poucos efeitos colaterais de *M. charantia* L justificam sua aplicação fitoterápica de acordo com Siani⁷ e Matos³.

Conforme descreve Freitas⁹ as medidas preventivas e curativas de uso de produtos naturais, como extrato de *M. charantia* L. pode desempenhar importante função no sentido de uma resolução para as condições infecciosas crônicas e constitui uma alternativa para o desenvolvimento contínuo de vencer as resistências aos microorganismos na prática clínica.

Campos-Takaki¹⁵ e Tortora¹⁶ relataram em experimento que a formação de enzimas, as alterações de receptores e o acesso limitado aos antimicrobianos são responsáveis por fatores de resistência à ação dos antimicrobianos.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos no presente estudo de atividade antimicrobiana do extrato EH de *M. charantia* L., podemos concluir que houve uma excelente atividade contra as linhagens estudadas de *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), *S. epidermidis* – MH, *C. albicans* (ATCC-90028) e *C. tropicalis* (LM-13) com obtenção de halos de inibição de ordem de 10 a 13 mm apresentando potencialidade de inibir o crescimento das cepas de *Staphylococcus* e *Candida* na cavidade oral, sugerindo a utilização desta planta como meio alternativo de baixo custo no tratamento das afecções da boca, justificando seu desenvolvimento tecnológico farmacêutico.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Cruz GL. Dicionário das plantas úteis do Brasil. 3ª ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1995.
2. Schulz V, Hänsel R, Tyler VE. Fitoterapia racional - um guia de fitoterapia para as Ciências da saúde. São Paulo: Editora Manole Ltda., 2002.
3. Matos FJA. Plantas medicinais: guia de seleção e aproveitamento de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. Fortaleza: IOCE, 1989;2: 144.
4. Lorenzi H, Matos FJA. Plantas daninhas do Brasil – terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3 ed. São Paulo: Nova Odesa, Instituto Plantarum, 2000.
5. Sena Filho JG, Melo JGS, Saraiva AM, Gonçalves AM, Pisciotano MNC, Xavier HS. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.). Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2006;16: 506-509.
6. Matos FJA. O formulário fitoterápico do Prof. Dias da Rocha: informações sobre o emprego na medicina caseira, de plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 2ª ed. Fortaleza: Fac-sim, 2002.
7. Siani AC. Desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos: plataforma metodológica, Rio de Janeiro: Scriptori, 2003.
8. Silva D. Atividade Antimicrobiana do Conocarpano e seus derivados e análogos frente a cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* Dissertação (mestrado em Produtos Naturais e Substancias Bioativas) Universidade do Vale do Itajaí, 66 p., 2007.
9. Freitas DB. Atividade antimicrobiana de fluorquinolonas e ação sobre plasmídios em amostras de *Staphylococcus aureus* humanas e bovina. Dissertação (mestrado em Genética) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2003.
10. Omoregle, RE., Ikuebe OM, Ihimire IG. Antimicrobial activity of some medicinal plants extracts on *Escherischia coli*, *Salmonella paratyphi* and *Shigella dysenteriae*. Journal of medicine and medical science. Nigéria, African. 25(4), 373-5, 1996.
11. Brasileiro, BG, Pizziolo, VR, Rasian, DS, Jamal, CM, Silveira, D. Triagem das atividades antimicrobianas e citotóxicas de algumas plantas medicinais brasileiras, usadas na cidade de Governador Valadares. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. São Paulo, v. 42, n2,195-202, abril-junho, 2006.
12. Pham, TV., Hoang, TT.; Hoffman, A. Antimicrobial activity from acorn and bitter melon. ACS National Meeting, New Orleans, LA. United States, April 6-10, 2008.

13. Braca, A; Siciliano, T; D'Arrigo, M; Germano, MP. Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* seed essential oil. Journal Written in English. Italy. 79(2), 123-125. 2008.
14. Zhang, P; Liu, J; Wang, C; Ye, Y; Xie, J. Study on the antimicrobial activities of the extracts from *Momordica charantia* L. Journal Written in Chinese, Tianjin. 20(4), 721-724. 2008.
15. Campos-Takaki GMC. Atividade “*in vitro*” das fluorquinolonas perfloxacina, ofloxacina, ciprofloxacina e norfloxacina sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*. Recife: UFPE, 1992, 380p.
16. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiologia. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.

Produto (Extrato)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC-25923)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC-9028)	<i>Escherichia coli</i> – LM	<i>Staphylococcus epidermidis</i> – MH	
100 mg/mL	-	+	+	-	
50 mg/mL	+	+	+	+	
25 mg/mL	+	+	+	+	
12,5 mg/mL	+	+	+	+	
Controle de cepas *	+	+	+	+	

Quadro 1 – Atividade antimicrobiana do extrato de extração hidroetanólica de *M. charantia* L

* Controle positivo das cepas no meio de cultura: (-) inibição do ensaio de crescimento
(+) não inibição de crescimento

Produto (Extrato)	<i>Aspergillus flavus</i> (FCF-126)	<i>Trichophyton rubrum</i> (ATCC-2812)	<i>Microsporium canis</i> (LM-003)	<i>Microsporium gypseum</i> (LM-002)	<i>Penicillium</i> spp (FCP-281)	<i>Candida albicans</i> (ATCC-90028)	<i>Candida tropicalis</i> LM-13	<i>Aspergillus niger</i> (LM-05)
100 mg/mL	+	+	+	+	+	-	-	+
50 mg/mL	+	+	+	+	+	+	+	+
25 mg/mL	+	+	+	+	+	+	+	+
12,5 mg/mL	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle de cepas*	+	+	+	+	+	+	+	+

Quadro 2 – Atividade antimicrobiana do extrato de extração hidroetanólica de *M. charantia* L.

* Controle positivo das cepas no meio de cultura: (-) inibição do ensaio de crescimento

(+) não inibição de crescimento



**ARTIGO 2 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE *Momordica charantia* L.
(Cucurbitaceae).**

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae)

EVALUATION OF THE ACUTE TOXICITY OF *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae)

Elizabeth Arruda Carneiro Ponzi¹; Guilherme Carvalho Ribeiro Rodrigues²; Isla Vanessa Gomes Bastos³; Renata Patrícia Freitas Soares de Jesus¹; Thompson Lopes de Oliveira⁴; Iracema Andrade Ferrer de Moraes⁵; Ivone Antônia de Souza⁶.

¹ - Doutoranda em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Pernambuco; ² - Graduando em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco; ³ - Mestranda em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Pernambuco; ⁴ - Prof. Adjunto da Universidade Federal da Paraíba; ⁵ - Prof^o Adjunto da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE; ⁶ - Prof^a. Dr^a. do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

RESUMO

Todas as substâncias podem ser consideradas tóxicas ou atóxicas de acordo com as reações de um organismo vivo e a capacidade de resposta apresentada. Algumas espécies vegetais apresentam efeitos considerados nocivos a nível sistêmico. Elas representam importante veículo como fonte de saúde para o nosso organismo. Este trabalho objetivou avaliar a toxicidade aguda da espécie *Momordica charantia* L. Para tanto, o material botânico foi extraído com solução etanólica, e em seguida liofilizado. O extrato bruto foi dissolvido em solução salina a 0,9% de acordo com as doses previamente estabelecidas. A administração foi por via oral pelo método de gavagem em camundongos albinos (*Mus musculus*), machos, procedentes do Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os animais utilizados foram de aproximadamente 60 dias de nascidos e pesos variáveis entre 25 a 35 g. Para cada grupo, foram utilizados 6 animais devidamente identificados. Antes do tratamento, todos foram privados de alimentação por período de 12 horas e receberam água *ad libitum*. A dose máxima administrada foi de 4000 mg/ kg, a dose mínima de 2000 mg/kg e não foi registrado óbito de nenhum camundongo no experimento, sendo observado alguns sinais de toxicidade aguda. Foi verificado que o extrato bruto de *M. charantia* L apresentou inicialmente efeitos estimulantes e em seguida efeitos depressores ao nível de sistema nervoso central e a substância, nestas doses, foi de pouca toxidade, pois quando administrado por via oral, não apresentou reações agressivas ao organismo sendo considerado seguro para o uso da população.

Palavras-chave: toxicidade aguda, plantas medicinais.

ABSTRACT

Thus, all substances can be considered as toxics or atoxics with the reactions presented by the living organism and the ability of response. This response will be of higher or lower intensity according to the substance properties, way of application and the exposure time both at short and long run. Some plant species present harmful effects to the organism. This work aims to do the evaluation of toxicity acute of *M. charantia* L. specie. The evaluation was done with the extract (in ethanol, then freeze-dried) of the above mentioned plant. The extract was dissolved in a saline solution 0.9% according to the tested doses, and administered orally by the gavage feeding method in male mice (*Mus Musculus*), as provided by the Vivarium of the department of antibiotics from the UFPE. The animals were 60 days old and weighted 25 to 35 g. For each group there were 6 animals, all clearly tagged. Before the treatment the animals were not fed for 12 h, but were allowed to drink water *ad libitum*. The highest dose that was given was 4000 mg/kg, and the lowest 2000 mg/kg. Not mouse died during the experiment, but signs of acute toxicity were observed. It is concluded that the extract of *M. charantia* L causes stimulation and depression effects on the central nerve system and it is , these doses, classified was little toxicity when orally taken, thus it is safe for human consumption.

Key-words: Acute toxicity, medical herbs.

INTRODUÇÃO

Muitas plantas medicinais apresentam substâncias que podem desencadear reações adversas, seja por seus próprios componentes, seja pela presença de contaminantes ou adulterantes presentes nas preparações fitoterápicas, exigindo um rigoroso controle de qualidade desde o cultivo, coleta da planta, extração de seus constituintes, até a elaboração do medicamento final¹.

Os testes toxicológicos são realizados para se obter dados sobre as condições em que os compostos químicos possam produzir efeitos tóxicos, a natureza desses efeitos e os níveis seguros para exposição do organismo a estas doses².

De fato, toda substância pode ser considerada um agente tóxico, esta condição irá depender das circunstâncias nas quais ocorrerá a interação do agente químico com o organismo, como tempo e frequência de exposições, dose administrada ou absorvida, e a via pela qual se deu a administração³.

Dentre as diversas espécies do reino vegetal, destaca-se *M. charantia* L. - Cucurbitaceae. Seus frutos são usados, quando verdes, na fabricação de conservas e picles; seu caule e folhas servem para tirar nódoas das roupas e alvejá-las; a infusão das folhas é aplicada no tratamento de leucorréia e cólicas menstruais; seu sumo é empregado no tratamento de queimaduras e como vermífugo; a infusão do fruto maduro é empregada no tratamento de hemorróidas⁴.

Toda planta é utilizada, externamente, no tratamento de eczemas e outras afecções da pele. Na homeopatia é empregada para combater diarreias flatulentas, dismenorréias e reumatismo articular¹³. O suco das folhas é indicado contra sarna¹⁴. O fruto maduro é usado externamente na cicatrização de feridas, na Turquia¹⁵. É ainda comumente usada como agente antiglicêmico e anti-hiperglicêmico na Ásia Oriental e América Latina⁵.

E na perspectiva do largo uso popular de *M. charantia* L. faz-se necessário investigar sua toxicidade tendo em vista o uso seguro desta planta pela população, bem como, servir de base para futuros estudos farmacológico. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade do extrato bruto hidroetanólico de *M. charantia* L. frente a camundongos albinos (*Mus musculus*).

MATERIAIS E MÉTODOS

OBTENÇÃO DO EXTRATO

Após a coleta das folhas de *M. charantia* L. em Olinda-PE (7° 59' 23.62'' S; 34°50'48.23''O), pela manhã, no mês de outubro de 2006, o material foi encaminhado ao laboratório para ser processado. As folhas foram desidratadas, a temperatura ambiente em local arejado, pesadas (900 g) e trituradas em moinho (Harley), e maceradas sendo adicionado etanol (P.A da Merck) (3:7 v/v) por um período de oito dias. Após este processo o material foi filtrado e submetido à evaporação a vácuo (45° C), para obtenção do extrato hidroetanólico (EH). que se constitui de um resíduo verde-escuro e higroscópico

ANIMAIS

Foram utilizados camundongos albinos (*Mus musculus*), machos, obtidos no Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, com aproximadamente 60 dias de nascidos e peso variável entre 25 a 35 g. Os mesmos foram

mantidos em gaiolas de polipropileno, em condições controladas de iluminação (ciclo 12 horas claro/escuro) e temperatura ($22^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}$). O protocolo obteve a permissão do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEa) da Universidade Federal de Pernambuco aprovação nº 23076011375/2006-11 em 08/08/2006.

ESTUDO TOXICOLÓGICO

Para cada grupo, foram utilizados 6 animais devidamente identificados. Antes do tratamento, os mesmos foram privados de alimentação por período de 12 horas recebendo água *ad libitum*. O ensaio foi efetuado em duas fases sendo uma preliminar e outra definitiva.

Inicialmente, o EH de *M. charantia* L liofilizado foi dissolvido em solução salina a 0,9% de acordo com as doses estudadas de 2000 mg/kg, 3000 mg/kg, 4000 mg/kg e 5000 mg/kg. Na primeira fase, a preliminar, o extrato de *M. charantia* L. foi administrado por via oral (v.o.) em doses crescentes procurando-se obter a dose mais elevada isenta de mortalidade (D_1) e a menor capaz de levar a óbito 100% dos animais (D_2). Já na fase definitiva, os animais receberam doses (v.o) compreendidas entre D_1 e D_2 obedecendo a uma progressão geométrica de ordem 0,5. A partir desses dados, a DL_{50} calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$DL_{50} = Df - \frac{\sum (a+b)}{n}$$

Onde: Df = dose mínima capaz de matar todos os animais;
a= diferença entre duas doses consecutivas administradas;
b= média de animais mortos entre duas doses consecutivas;
n= número de camundongos por lote.

RESULTADOS

Na tabela 1 verificamos a dose máxima administrada por via oral nos camundongos, que foi de 4000 mg/kg atingido o limite máximo recomendado por lei para este estudo, não havendo necessidade de serem avaliadas doses mais elevadas. Ela expressa os sinais de toxicidade aguda com dose de 2000 mg/kg onde foram observados efeitos estimulantes do Sistema Nervoso Central (SNC) como: agitação, tremores, movimentação estereotipadas e circulares, agressividade, movimentação de vibrissas, entre outros. Foram verificados os efeitos autonômicos como: cianose, defecação e piloereção entre outros. Em termos gerais as respostas clínicas observadas foram alteração respiratória, alteração da atividade motora, alteração ocular, alteração cardiovascular e de pele. Para a dose de 4000 mg/kg além destes, após 30 minutos da administração foram observados estimulação e ação depressora específica do SNC, como: saltos, taquicardia, abaixamento posterior, prostração entre outros.

DISCUSSÃO

A planta medicinal é um xenobiótico e, como todo corpo estranho, os produtos de sua biotransformação são potencialmente tóxicos. Não há razão para crer na inocuidade dos vegetais, uma vez que desse reino são extraídas substâncias extremamente tóxicas como a estricnina, digitoxina, tubocuranina, cocaína, entre outras. Entretanto, observa-se que segundo estudos clínicos com padrões de controle e supervisão, a incidência de efeitos colaterais é menor com fitoterápicos do que com drogas sintéticas^{6, 7, 8}.

Toxicidade de uma substância é a capacidade intrínseca da mesma de afetar de forma negativa ou trazer dano para um organismo. Esta avaliação foi realizada com objetivo de determinar o potencial das drogas e produtos relacionados. Testes que avaliam a toxicidade sistêmica aguda são utilizados para classificar e rotular substâncias de acordo com o seu potencial de letalidade ou toxicidade como estabelecido pelas leis. Portanto, para que o dano ocorra é preciso que o organismo seja exposto e que também haja uma reação com o agente intoxicante^{9, 10}.

A utilização de fitoterápicos tem se destacado nestes últimos anos principalmente pela população de baixa renda que não tem acessibilidade a tratamentos com fármacos industrializados. Algumas plantas apresentam compostos potencialmente tóxicos e devem ser utilizadas com cautela, respeitando seus riscos toxicológicos, portanto é preocupante o uso indiscriminado como automedicação dos mesmos podendo causar dano sistêmico, pois podem vir a causar reações das mais diversas^{11, 12}.

Testes que avaliam a toxicidade sistêmica aguda são utilizados para classificar e rotular substâncias de acordo com o seu potencial de letalidade ou toxicidade como previsto na lei^{9, 10}.

O extrato administrado nos animais apresentou efeitos semelhantes aos das substâncias que agem principalmente no Sistema Nervoso Central (SNC). As avaliações foram conferidas pelas interferências observadas que compromete a viabilidade neuronal. Após as intensas atividades estimulantes, foi observada a inversão de efeito depressor até discreto torpor¹³.

Esta reação somática é muito incidente no córtex motor pelos sistemas piramidais que constituem a via neuronal para o músculo. O evento de contração muscular se verifica pela formação de um potencial de ação que invade as fibras musculares lisas que em conjunto gera energia muscular o que resulta em exaustão seguida de relaxamento¹⁴.

Os testes toxicológicos do extrato bruto etanólico de *M. charantia* L demonstraram ausência de letalidade para a dose máxima administrada de 4000 mg/kg, não necessitando testar doses superiores a esta por lei, classificando-a como atóxica (não tóxica).

CONCLUSÃO

O extrato bruto hidroetanólico das folhas de *M. charantia* L não causou letalidade, até a dose de 4000 mg/kg por via oral, sendo uma mistura de pouca toxicidade por esta via de administração. Sendo assim, o uso de *M. charantia* L. pode ser seguro e funcionar como meio viável e de baixo custo no tratamento das afecções da boca, justificando seu desenvolvimento tecnológico farmacêutico.

REFERÊNCIAS

- 1 – Turolla MSR, Nascimento ES. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil/Toxicological information of some herbal medicines used in Brazil Rev. Bras. Cienc. Farm. 2006. 42(2).
- 2 - Castro JA. Toxicologia básica mecanismos de toxicidad y sus aplicaciones. Acta Bioq. Clin. Latino americana. 1993. 2; 197-206
- 3 - Loomis MD, Hayes AW. Loomis's essentials of toxicology. 4^o ed. California: Academic Press, 1996.

- 4 - Martins, JEC. (1989) "*Plantas medicinais de uso na Amazônia*". Belém: Cultural. CEJUP.
- 5 - Ahmed, MSL., M. Gilett, A. John & R. Raza (2001) *Diabetes Res. Clin. Pr.* 51: 155-61.)
- 6 - Drew A, Myers SP. Safety issues in herbal medicine: implications for the health professions. *Med. J. Australian.* 1997. 166; 538-541.
- 7 - Lapa AJ. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: Simões CMO. *Farmacognosia da planta ao medicamento.* 2000. 2; 181-196.
- 8 - Dimech GS. Avaliação toxicológica pré-clínica do extrato bruto da *Mentha Crispa* [Mestrado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2003.
- 9 - Lopes SG. *Fundamentos da Toxicologia Clínica.* São Paulo: Editora Atheneu. 2006. 158.
- 10 -Peña CE, Carter DE, Ayala-Fierro F. [on line] [acesso 23/09/2009]. Disponível em: <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/>.
- 11 - De Paiva SR, Figueiredo MR, Kaplan MAC. Estudo fitoquímico de *plumbago auriculata* LAM. *Ver. Fitos.* 2005. 1(2).
- 12 - Albuquerque UP, Hanazaki N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2006. 16; 678-689.
- 13 - Lima CMP. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal a investigação toxicológica e utilização terapêutica [mestrado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2007.
- 14 - De Almeida RN. *Psicofarmacologia: Fundamentos Práticos.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.

Tabela 01 – Parâmetros da toxicidade observada em camundongos albinos (*Mus musculus*), machos, tratados com diferentes doses do extrato hidroetanólico de *M. charantia* L., por via oral (Loomis, Hayes, 1996).

PARÂMETROS	DOSE (mg/kg)		
	2000	3000	4000
Estimulantes			
↑Frequência Respiratória	+	-	++
Agitação	+	-	+
Piloereção	+++	+++	++
Movimentos estereotipados	+++	+++	+++
Movimentos circulares	+++	+++	+++
Movimentos de vibrissas	-	+	+
Tremores finos/grosseiros	+	+	+
Ereção de cauda	+++	++	++
Postura de ataque	-	+++	+
Salto	+	+	+++
Levantamento do trem posterior	+	-	+
Postura em garra	+	+++	+++
Exoftalmia	+	-	-
Agressão	+	-	-
Taquicardia	-	+	-
Aumento da libido	-		
Depressores			
Prostração	++	++	+++
Sonolência	-	-	-
Tendência ao agrupamento	+	-	-
Abaixamento do trem posterior	+	++	++
↓Frequência Respiratória	++	+	-
Inversão de marcha	++	+	-
Outros			
Excreção fecal	+	+	+
Reação de fuga	+++	+++	+++
Espasmos	+++	+++	+++
Refluxo	+++	+++	+++
Palidez	+	+	++
Distensão Abdominal	+	+	-
Diurese	+	+	+
Edema de focinho	++	++	++
Postura estática	+++	+	+
Petéquias	+	+	+
Escurecimento do olho	-	+	-
Fotossensibilidade	-	-	-
Sibilo	+++	++	+++
Apnéia	-	-	-
Fotofobia	-	+	-
Lacrimejamento	+	+	-
Cianose	-	++	-
Ondulação caudal	-	+	-
- = sem efeito + = efeito leve ++ = efeito moderado +++ = efeito acentuado			



**ARTIGO 3 – EFEITO DO USO TÓPICO DO EXTRATO
HIDROETANÓLICO DE *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) NA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS – ESTUDO EM RATOS.**

**EFEITO DO USO TÓPICO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *MOMORDICA CHARANTIA* L. (CUCURBITACEAE) NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS –
STUDO EM RATOS.**

**EFFECT OF TOPICAL USE OF THE HYDRO-ALCOHOLIC EXTRACT FROM *MOMORDICA CHARANTIA* L. (CUCURBITACEAE) ON THE HEALING OF SKIN WOUNDS –
A STUDY ON RATS.**

Elizabeth Arruda Carneiro Ponzi¹; Guilherme Carvalho Ribeiro Rodrigues²; Isla Vanessa Gomes Bastos³; Renata Patrícia Freitas Soares de Jesus⁴; Falba Bernadete Ramos dos Anjos⁴; Iracema Andrade Ferrer de Moraes⁵; Marleny Martinez Gerbi⁶; Ivone Antônia de Souza⁷

¹ - Doutoranda em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Pernambuco ; ² - Graduando em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco; ³ - Mestranda em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Pernambuco; ⁴ - Doutoranda em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Pernambuco; ⁵ - Prof^a Dr^a. da Universidade Federal de Pernambuco; ⁶ - Prof^a Dr^a. do Departamento de Odontologia Preventiva da Universidade Federal de Pernambuco; ⁷ - Prof^a Dr^a. da Universidade de Pernambuco – UPE; - ⁷ Prof^a Dr^a. do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco

RESUMO

Entre as inúmeras plantas empregadas na medicina tradicional destaca-se a *Momordica charantia* L (Cucurbitaceae), que vem ganhando notoriedade científica por suas diversas propriedades biológicas e farmacológicas. apresentando propriedades antiinflamatórias e/ou analgésicas. Este trabalho objetivou avaliar a atividade cicatrizante do extrato hidroetanólico EH (uso tópico) de *M. charantia* L. no processo de cicatrização de feridas padronizadas em dorso de ratos Wistar albinos (*Rattus norvegicus*), divididos em 3 grupos: Grupo I – animais tratados com creme do Extrato de *M. charantia* L., Grupo II - Controle + creme placebo, Grupo III - Padrão tratado com Fibrase tendo cada um 18 animais, perfazendo assim um total de 54 ratos, machos, pesando entre 250g a 340g. Os grupos foram subdivididos em 3 subgrupos de 6 animais, sendo sacrificados com overdose após 3, 7 e 14 dias respectivamente. Procedeu-se a retirada das peças para avaliação histológica com a técnica de hematoxilina-eosina a fim de verificar as diferentes fases da cicatrização dos grupos. O ungüento contendo o creme do EH de *M. charantia* L. demonstrou provavelmente, ser o mais eficaz por acelerar ($p < 0,01$) o processo de regeneração cutânea, demonstrando o potencial farmacológico desta planta, apresentou diferença no tempo de cicatrização e no grau de maturação celular, em relação aos demais grupos.

Descritores: *Momordica charantia* L., Cucurbitaceae, cicatrização cutânea, análise histológica.

ABSTRACT

Among the numerous plants used in traditional medicine, *Momordica charantia* L (Cucurbitaceae) has been gaining scientific recognition due to its biological and pharmacological properties as an anti-inflammatory agent and analgesic. The aim of the present study was to assess the wound-healing activity of a hydro-alcoholic extract (topical use) from *M. charantia* L. in the healing process of standardized wounds on the dorsum of Wistar rats (*Rattus norvegicus*) divided into three groups (18 animals per group; total of 54 male rats weighing 250 to 340 g): Group I – animals treated with *Momordica charantia* L. extract cream; Group II – Control (placebo cream); Group III – animals treated with chloramphenicol/fibrinolysin/deoxyribonuclease ointment. The groups were divided into three subgroups of six animals and sacrificed with an overdose at three, seven and 14 days. The samples were removed for histological analysis using hematoxylin and eosin staining to determine the different stages of healing. The ointment containing the *M. charantia* L. extract proved probably the most effective at accelerating the skin regeneration process ($p < 0.01$), demonstrating the pharmacological potential of this plant through the difference in healing time and degree of cell maturation, in the other groups.

Descriptor: *Momordica charantia* L., Cucurbitaceae, skin healing, histological analysis.

INTRODUÇÃO

Recentemente, tem aumentado o interesse por drogas obtidas a partir de plantas medicinais, destacando-se aquelas com potencialidade para promover a cicatrização de feridas^{1,2}.

A cicatrização é um fenômeno complexo fundamental para a manutenção da integridade de tecidos lesados, no qual participam elementos comuns a vários sistemas do organismo³. Os fatores ambientais e fisiológicos exercem grande impacto na sua evolução, podendo influenciar na qualidade e no tempo de cicatrização, bem como na ocorrência de complicações^{3,4}. Muitas substâncias como as plantas medicinais, são utilizadas com o intuito de interferir neste processo⁵.

A contração da ferida é um movimento das margens abertas da lesão em direção ao centro, cerca de quatro dias após a interrupção da integridade da pele³. A velocidade deste processo não é a mesma em todos os pontos e o restabelecimento da integridade física não constitui um estímulo que faça cessar a contração³.

Descartou-se a idéia de que a desidratação do tecido seja responsável pela contração, e de que a síntese do colágeno e a contração da ferida poderiam ser os responsáveis pela aproximação e união das bordas da ferida. O mecanismo de contração que diminui a lesão é gerado por forças celulares e elementos contráteis de fibroblastos e miofibroblastos com uma reorganização concomitante do citoesqueleto⁶.

Existem muitas informações na crença popular acerca do uso de plantas como medicamento para todos os males, entre eles, o poder de cicatrização, há muitas dúvidas e uma grande quantidade de trabalhos controversos, que necessita de informação científica para sua comprovação.

A *M. charantia* L. é uma planta utilizada no mundo inteiro, não somente as folhas, mas o caule, as flores, os frutos e as raízes do vegetal, são usados popularmente contra as doenças de pele, tais como eczemas, acne, sarna e doenças por fungos. Além de ação hipoglicemiante, possui propriedades comprovadas cientificamente como antiinflamatórias, anti-séptica, anti-helmintica, antidiarreica e contra hemorróidas^{7,8,9,10,11}.

O nome latino *Momordica* significa “mordida”, referindo-se às bordas da folha que parecem que foram mordidas. É uma planta revolucionária pela sua versatilidade como alimento e em aplicações terapêuticas¹⁰.

O objetivo deste estudo foi analisar comparativamente através da macroscopia e da microscopia, a ação do extrato hidroetanólico de *M. charantia* L. em feridas cutâneas experimentais.

MATERIAIS E MÉTODOS

As folhas de *M. charantia* L. foram coletadas pela manhã, no mês de outubro de 2006, em Olinda, entre as coordenadas (7° 59' 23.62'' S; 34°50'48.23''O) estado de Pernambuco – Brasil. A identificação botânica foi realizada no herbário Geraldo Mariz do Departamento de Botânica/CCB/UFPE, recebendo exsicata nº 57702 (Anexo II)

Após a coleta, elas foram desidratadas, a temperatura ambiente em local arejado, pesadas (900 g) e trituradas em moinho (Harley), e maceradas sendo adicionado etanol (P.A da Merck) (3:7 v/v) por um período de oito dias. Após este processo o material foi filtrado e submetido à evaporação a vácuo (45° C), para obtenção do extrato hidroetanólico (EH). que se constitui de um resíduo verde-escuro e higroscópico.

Foram utilizados 54 (cinquenta e quatro) ratos albinos *Wistar* (*Rattus norvegicus*), adultos jovens, machos, com idade de 2-3 meses e peso entre 250 a 340 g, adquiridos no Biotério de Antibiótico, os animais foram separados em grupos e mantidos livres em gaiolas sob condições adequadas de higiene, luz e temperatura, recebendo ração comercial e água *ad libitum*.

Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Os animais foram selecionados aleatoriamente e divididos em 3 grupos (18 animais por grupo), organizados da seguinte maneira: Grupo I – Tratado Extrato (uso tópico); Grupo II – Controle + creme inerte (uso tópico); Grupo III – Padrão Cicatrizante (uso tópico). Cada um dos grupos foi dividido em três subgrupos (A, B, C) com 6 animais cada um, de acordo com o período de sacrifício.

O creme inerte e o creme do extrato foram produzidos no Laboratório de Farmacognosia do Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE.

Os animais foram submetidos à anestesia geral, com xilazina – 50 mg/kg; associada á quetamina-50 mg/kg - IM¹¹. Os animais, depois de anestesiados, foram colocados em decúbito ventral, e após a tricotomia foram criadas feridas padronizadas (0,8 cm de diâmetro por 0,3 cm de profundidade).

Em cada ferida foi aplicado topicamente e de forma padronizada o creme inerte (Controle), o Extrato de *M. charantia* L. e o Padrão Cicatrizante (Fibrase) por via tópica. A posologia adotada para o tratamento respeitou intervalos de 24 horas.

Os animais foram sacrificados no período de cicatrização determinado para cada subgrupo: 3 dias (grupo A), 7 dias (grupo B) e 14 dias (grupo C). As lesões foram seccionadas e encaminhadas para análise histológica. Após o período de fixação as peças foram submetidas ao processamento pela técnica histológica de rotina e incluídas em parafina.

Os cortes foram realizados em micrótomo com espessura de 5 µm, semi-seriados de 1/5, e corados pela técnica de Hematoxilina de Harris e Eosina Alcoólica e analisadas em macroscopia e microscopia de luz e as imagens foram digitalizadas. As lesões foram submetidas à avaliação macroscópica diária, verificando-se os seguintes parâmetros: edema, hiperemia e presença de exudato.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A importância da pele como barreira de proteção contra agentes nocivos motivaram a realização deste experimento. Além disto, os constantes avanços científicos no ramo da fitoterapia levando a mudanças nos vários conceitos tradicionais no tratamento de feridas reforçaram a necessidade de estudos nesta área. As etapas do processo de cicatrização foram observadas no presente trabalho tanto nas lesões tratadas com EH de *M. charantia* L., como nas não tratadas, conforme os dias analisados.

análise macroscópica revelou que a presença de exsudato no grupo controle interferindo na cicatrização, já que este foi capaz de promover a desagregação do tecido de granulação em formação e o desenvolvimento de microorganismos.

As infecções microbianas causam um aumento nas complicações no fenômeno de cicatrização³. Estudos revelaram que a *M. charantia* L. apresenta um amplo espectro de atividade antimicrobiana^{9,10}

A medida da retração da área do processo inflamatório revelou que durante o tratamento, houve diferença significativa ($p < 0,01$) nas áreas de retração das lesões que receberam unguento a base do EH da planta as quais cicatrizaram com maior rapidez que às lesões controle e a padrão. O influxo de macrófagos e neutrófilos para o sítio da lesão durante a fase inflamatória revelou uma redução ($p < 0,01$) destas células nos grupos tratados com o unguento à base de EH em relação ao controle no 7º dia, indicando que este tratamento foi capaz de modular o processo inflamatório neste intervalo de tempo.

Com a presença local de macrófagos e a liberação dos mediadores químicos produzindo secreção, a migração e ativação de fibroblastos foram intensificadas. Essas células são as principais responsáveis pela formação de tecido de granulação, sintetizando ácido hialurônico, fibronectina, colágenos tipos I e II, elastina e proteases, como a colagenase, importante para o debridamento e o remodelamento das fibras colágenas^{3,6,10}

Os autores^{3,6} concordam que o aumento de fibroblastos na regeneração tecidual encontra seu ápice na fase proliferativa deste processo, que ocorre geralmente entre o 3º e o 10º dia após a lesão. Para a eficiência da fibroplasia é necessária a ocorrência em paralelo da neovascularização da região, já que esta permite a troca de gases e a nutrição das células metabolicamente ativas^{4,6}

No início da fase de remodelação, que corresponde aos grupos analisados no 14º dia neste experimento, observa-se redução no número de células mononucleares, fibroblastos e vasos sanguíneos e isto se justifica pela mudança de fase do processo inflamatório.¹² Numa etapa avançada do reparo tecidual acredita-se que, os fibroblastos estejam relacionados com o fenômeno de remodelação dos feixes de colágeno, no sentido de conferir maior resistência a este tecido lesionado^{4,6}. Isto reforça ainda mais a idéia de que o EH acelerou a atividade de fibroblastos fazendo com que o tecido lesionado apresentasse uma organização muito maior em comparação aos grupos controle e padrão.

Nos grupos experimentais tratados com unguento à base do EH houve uma redução significativa no número de fibroblastos e vasos sanguíneos em relação ao controle e padrão no 14º dia, sugerindo que este extrato acelerou a reparação tecidual na fase tardia da reação inflamatória, possibilitando o alcance da fase de remodelamento, consoante com os achados de^{13,14,15,16}.

Na análise dos resultados obtidos no presente estudo, a avaliação macroscópica e microscópica das feridas do grupo I, mostraram: processo de reparação mais evoluído, caracterizado por maior contração da ferida e velocidade de migração epitelial; ao nível de tecido conjuntivo, observou-se maior velocidade da evolução do quadro inflamatório agudo para o crônico, além de elevada proliferação fibroblástica, com formação de tecido conjuntivo bem desenvolvido e rico em fibras colágenas (Anexos 8, 9).

Nas feridas do grupo I, o processo de reparação se mostrou mais evidente que o das outras feridas, corroborando com os resultados de^{13,14,15}

A avaliação macroscópica foi realizada diariamente até o 14º dia. Os grupos tratados com EH de *M. charantia* L. apresentaram uma evolução cicatricial mais precoce em relação ao grupo padrão (fibrase) e o grupo controle. No decorrer de toda a investigação foram observados que os sinais de inflamação como edema, hiperemia e presença de exsudato foram discretos nas feridas tratadas com unguento à base de EH.

Nos outros grupos foi verificada moderada exsudação a partir do quarto dia, os grupos tratados com EH de *M. charantia* L. apresentaram uma evolução cicatricial mais precoce em relação aos outros grupos, ratificando as pesquisas de ^{13,14,15,16}. No decorrer de toda a investigação observou-se que os sinais de inflamação como edema e rubor apareceram. Nos animais tratados com unguento associado ao extrato etanólico, segundo ^{14,15}, foi constatado moderada exsudação a partir do quarto dia permanecendo até o último dia analisado (14º dia) divergindo deste experimento quando no 14º dia os pelos dos animais já estavam formados apresentando uma perfeita regeneração tecidual.

A abordagem fitoquímica dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *M. charantia* L. de acordo com ^{14,15}, revelaram a presença de esteróides em ambos. A atividade imunomoduladora e cicatrizante de muitas plantas medicinais são atribuídas a diferentes princípios ativos. Desta forma, as ações do EH das folhas de *M. charantia* L. podem ser atribuídas aos princípios ativos contidos nos esteróides.

Sendo que nos trabalhos de ^{13,14,15}, os grupos tratados com unguento à base do extrato etanólico de *M. charantia* L. essa redução acelerou a reparação tecidual na fase tardia da reação inflamatória, possibilitando o alcance da fase de remodelamento mais precocemente que os demais grupos. Neste mesmo intervalo de tempo, o leito da ferida apresentou-se totalmente preenchido pelo tecido de granulação o que foi evidenciado também na pesquisa de ¹⁶, onde aparecia uma rede capilar em franca regeneração.

As etapas do processo de cicatrização foram observadas no presente trabalho tanto nas lesões tratadas com os extratos hidroetanólico de *M. charantia* L., como nas não-tratadas, conforme os dias analisados.

Ao final do experimento que durou 14 dias, as feridas experimentais, mostravam possivelmente, completa reparação, fato este também observado por ¹⁶.

Na observação macroscópica com 7 dias, a retração da ferida foi mais evidente no grupo tratado, seguido do grupo padrão; o grupo controle apresentou uma menor retração em relação aos outros grupos.

Na análise comparativa das feridas, observamos que as do Grupo I mostrou cicatriz com características mais satisfatórias, logo, menos evidentes e imperceptíveis, quando comparadas com as dos grupos II e III.

Ainda pode-se acrescentar que o extrato hidroetanólico de *M. charantia* L., além de não causar alterações patológicas (anátomo e histopatológicas) possui atividade cicatrizante superior quando comparado aos grupos padrão e controle.

CONCLUSÃO

Do ponto de vista microscópico e macroscópico as feridas tratadas com extrato hidroetanólico de *M. charantia* L. apresentaram processo de reparação bem diferenciado, caracterizado por reparação mais rápida caracterizado pela elevada taxa de crescimento epitelial com fechamento completo da ferida e o colágeno parece estar num grau mais

elevado de maturação. Seria ainda oportuno validar em pacientes, o que se demonstrou “*in vivo*”.

O uso do extrato de *M. charantia* L. é possível ampliar as alternativas para o tratamento de feridas, com custos reduzidos, o que será de grande valia para a população de menor poder aquisitivo.

REFERÊNCIAS

1. SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2004. Cap. 18, p. 468-495.
2. FARO, A. C. M. Plantas medicinais: um auxílio para a cicatrização. **Acta Paul. Enf.**, v. 1, n.3, p. 73-79, set/1988.
3. WITTE, M. B.; BARBUL, A. Princípios gerais da cicatrização das feridas. In: BARBUL, A. Clínicas Cirúrgicas da América do Norte. Rio de Janeiro: Interlivros, 1997. V.3, p.509-527.
4. COHEN, J. K.; DIEGELMANN, F.; LINDBLAD, W. J. Wound healing: biochemical and clinical aspects. Philadelphia: Saunders, 1992
5. MIRANDA, L. T. G. S. Uso da tintura de arnica em feridas cutâneas abertas em ratos. – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2001.
6. MARTINS, P. S.; ALVES, A. L. G.; HUSSNI, C. A.; SEQUEIRA, J. L.; NICLLETI, J. L. M.; THOMASIAN, A. 2003. Comparação entre Fitoterápicos na cicatrização de pele em equinos. Archives of veterinary Science, 8: 1-7.
7. MACENA, M. S. A. et al Atividade antifúngica *in vitro* do extrato de *Momordica charantia* L. (melão de São Caetano) sobre cepas de *Cândida* oral. **Braz Oral Res.**, v. 19, Supplement (Proceeding of the 22 and Annual SBPqO Muting). 2005.
8. PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. 1997. Plant foods in the management of diabetes mellitus: vegetables as potential hypoglycemic agents. Nahrung, 41, 68–74.
9. ASSUBAIE, N. F. E.; EL-GARAWANY, M. M. 2004. Evaluation of Some Important Chemical Constituents of *Momordica charantia* Cultivated in Hofuf, Saudi Arabia Journal of Biological Sciences, 4, 628-630.
10. GROVER, J. K.; YADAV, S. P. 2004. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. Journal of Ethnopharmacology, 93, 123–132.
11. DE LUCA et al. Manual para técnicos em bioterismo. São Paulo:Winner Graph, 1996. 259p.
12. WEISSMAN, G. Inflammation: Historical perspectives. In Gallin, J.I., et al. (eds.): Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates, 2ª ed. New York, Raven Press, p 5-13, 1992.

13. BRAGA SILVA, F. M. S. et al., Efeito do levamisol e do extrato etanólico de folhas de *Momordica Charantia* sobre a dermatofitose experimental em coelhos. Rev. Ciência Animal Brasileira, v. 8, n. 2, p. 285-295, 2007
14. VASCONCELOS, A. K. P. Ação biológica dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Momordica charantia* L. sobre a resposta imune e a cicatrização em animais de experimentação 2006. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias – Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, 2006.
15. VASCONCELOS, A. K. P. et al. Avaliação dos ungentos à base de extratos de hexânico ou etanólico das folhas de *Momordica charantia* L. sobre as lesões cutâneas experimentais em coelhos..Editora Acta. 35: 59-65, 2007.
16. SIMÕES, M. J. A.; UZUNIAN, O. A.; MORA, S. S. Aspectos ultraestruturais do processo de reparação da pele de ratos albinos. Revista Paulista de Medicina. 2003.

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Ofício nº 45/06

Recife, 08 de agosto de 2006

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Profa. Elizabeth Arruda Carneiro Ponzi**
Departamento de Prótese e Cirurgia Buco Facial – UFPE
Processo nº 011375/2006-11

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado “**AVALIAÇÃO DA REPARAÇÃO TECIDUAL DAS FERIDAS EM DORSO DE RATOS COM E SEM LASERTERAPIA**”.

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,

Silene Carneiro
Prof. Silene Carneiro do Nascimento
Presidente CEEA



RECEBIDO EM 21/08/2006
NOME *Pedro Silva S. de Oliveira*
ASSINATURA
Pedro Silva S. de Oliveira

CONFERE COM
O ORIGINAL

EM 03/12/2009

Wanda Moraes e Silva
Wanda Moraes e Silva
Secretária da CEEA
SIAPF. 1133

CCB: Integrar para desenvolver



ANEXO 2 – ENSICATA DE *Momordica Charantia* L. HERBÁRIO GERALDO MARIZ DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA/CCB/UFPE, nº 57702

Revista de
CIRURGIA
e Traumatologia
Bucco-maxilo-facial
BrJOMS

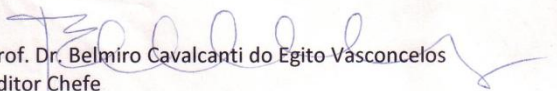
BRAZILIAN JOURNAL OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY

Recife, 20 de janeiro de 2010.

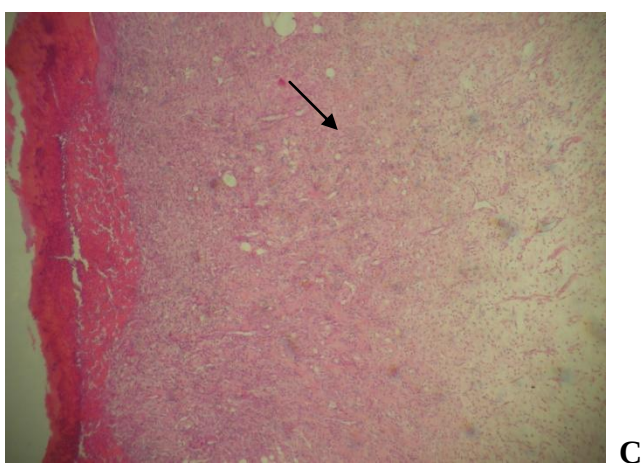
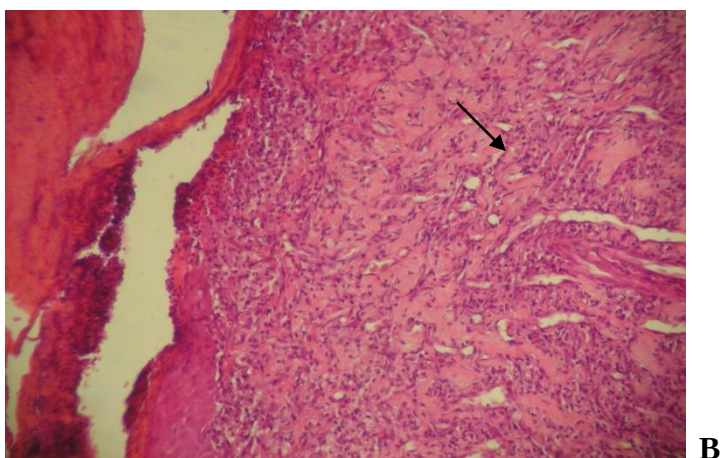
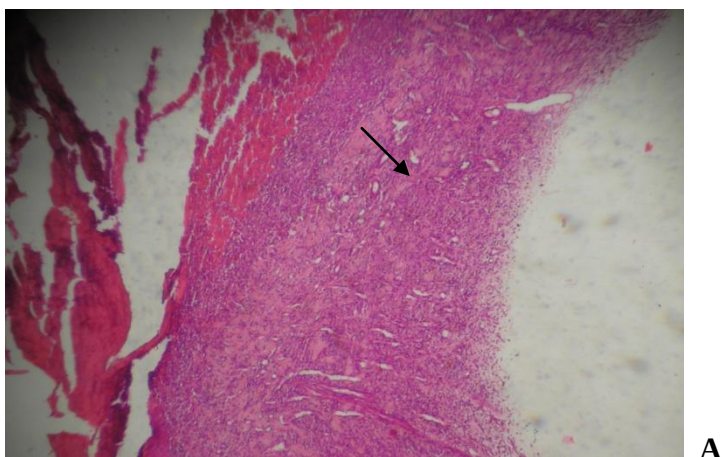
Prezada Dra. Elizabeth Ponzi,

Informamos que o manuscrito intitulado: "ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE *MOMORDICA CHARANTIA* L (Cucurbitaceae).", foi aceito pela comissão editorial da revista e que a previsão para publicação é no segundo semestre de 2010.

Desde já agradecemos sua contribuição e esperamos continuar contando com futuras colaborações.

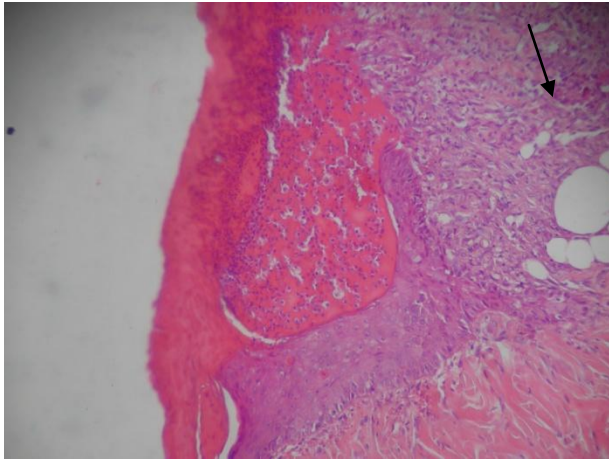

Prof. Dr. Belmiro Cavalcanti do Egito Vasconcelos
Editor Chefe

ANEXO 4

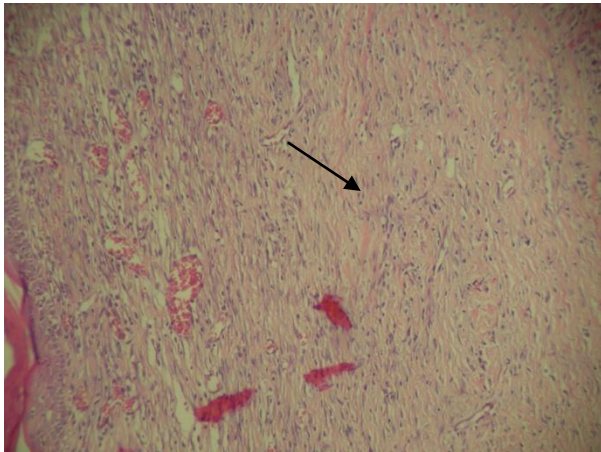


Corte histológico dos grupos: Padrão Fibrase 3 dias (A, B), 7 dias (C), corado com Hematoxilina-Eosina . (Aumento de: 100x (A e C), 400x B).

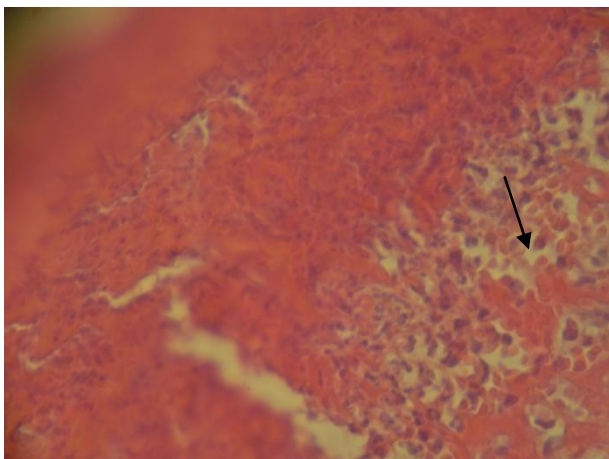
ANEXO 5



A



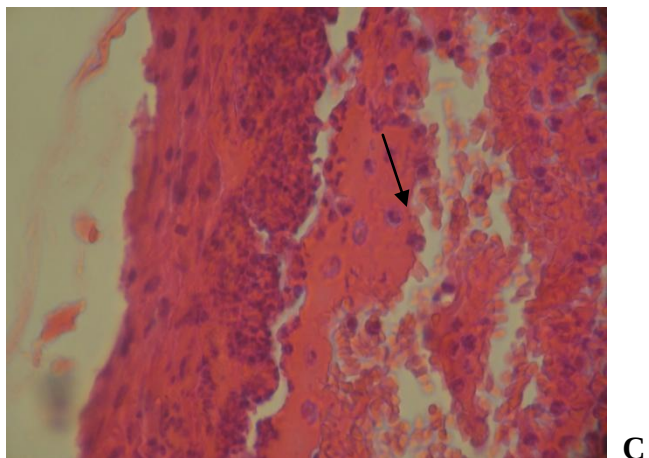
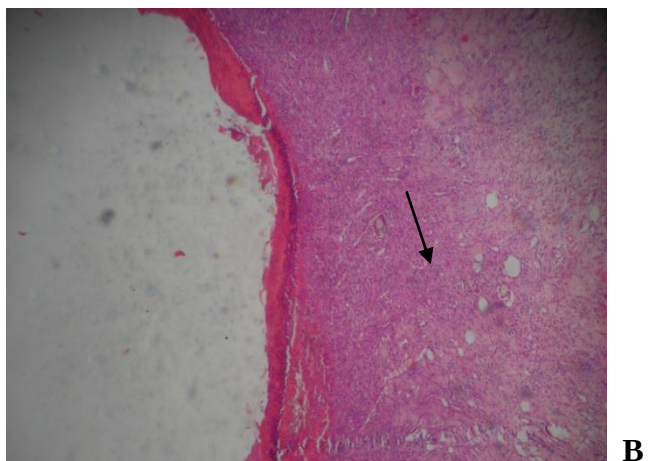
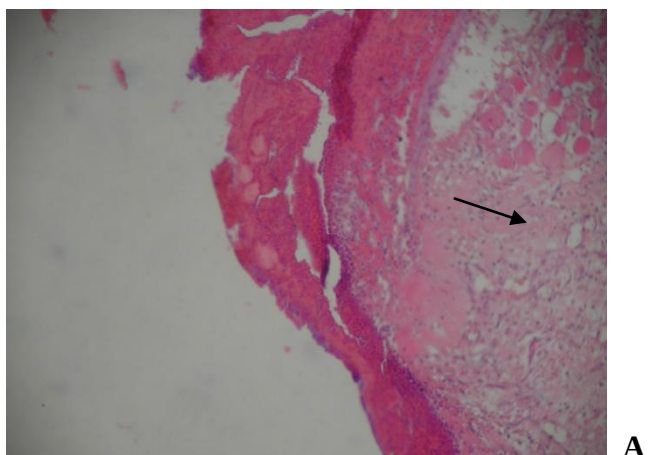
B



C

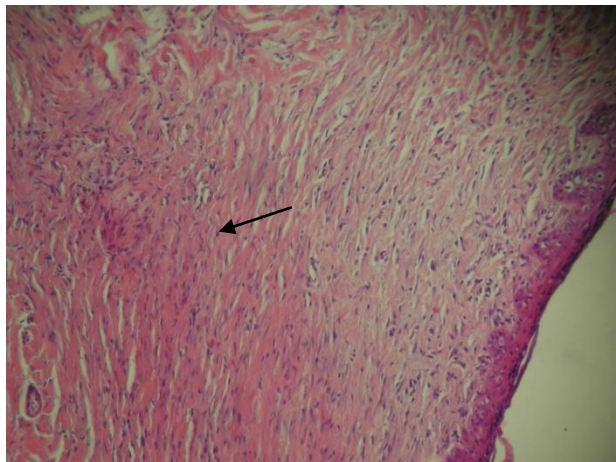
Corte histológico dos grupos: Padrão Fibrase 7 dias (A), 14 dias B, Controle 3 dias (C), corado com Hematoxilina-Eosina .(Aumento de: 200x (A,B), 400x C).

ANEXO 6

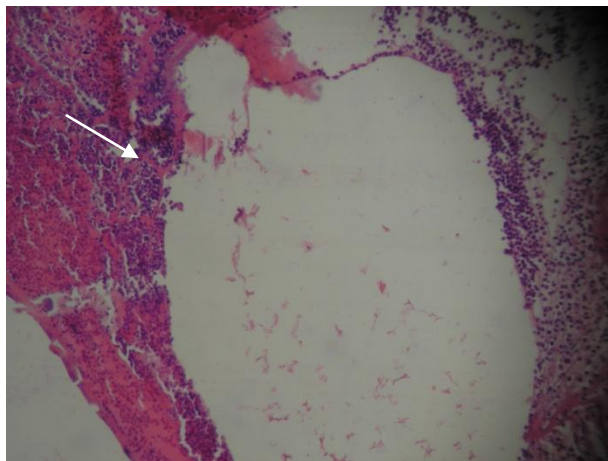


Corte histológico dos grupos: Controle 3 dias (A), 7 dias (B, C), corado com Hematoxilina-Eosina . (Aumento de: 100x (A), 200x (B), 400x (C)).

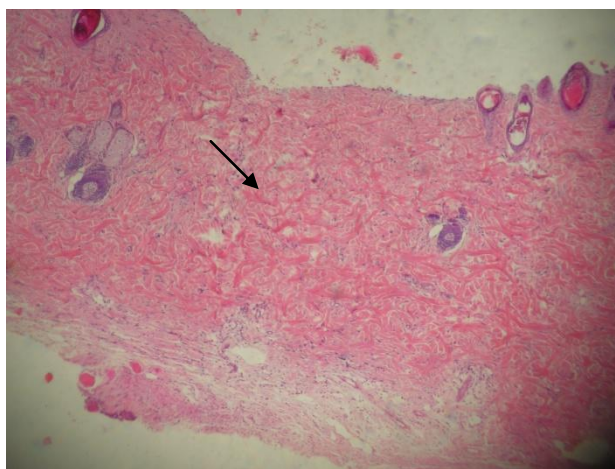
ANEXO 7



A



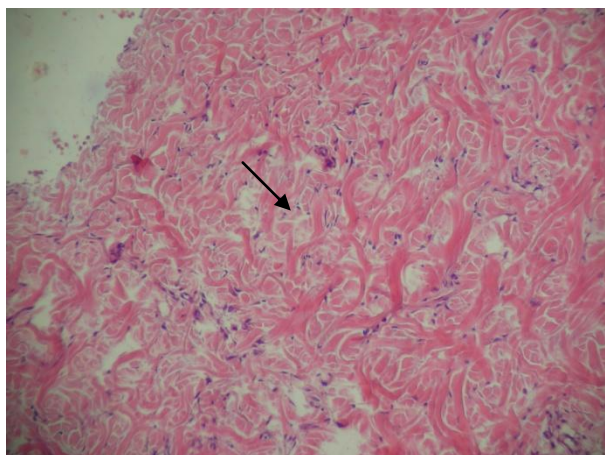
B



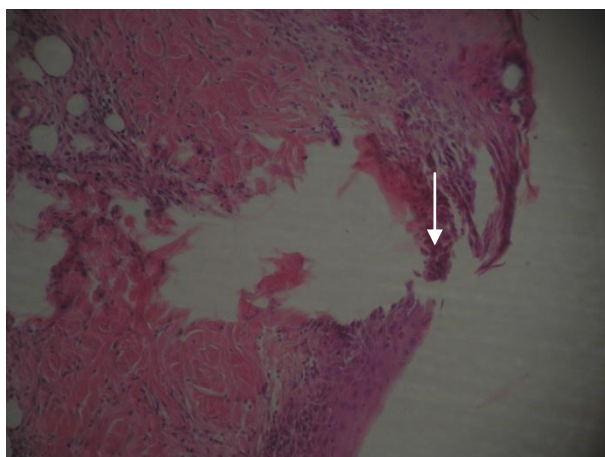
C

Corte histológico dos grupos: Controle 14dias (A), Tratado extrato 3 dias (B, C), corado com Hematoxilina-Eosina. (Aumento de: 200x (A, B), 100x (C)).

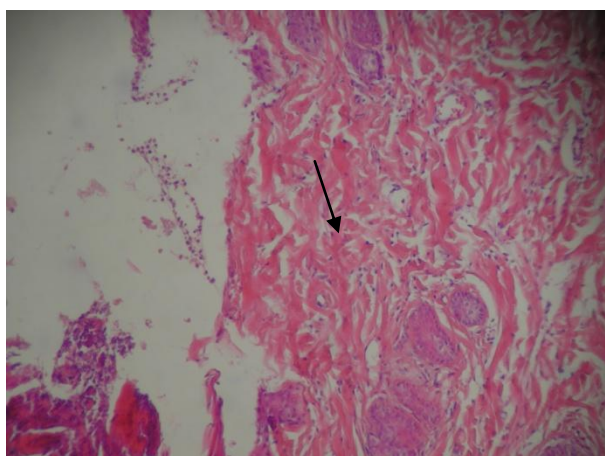
ANEXO 8



A



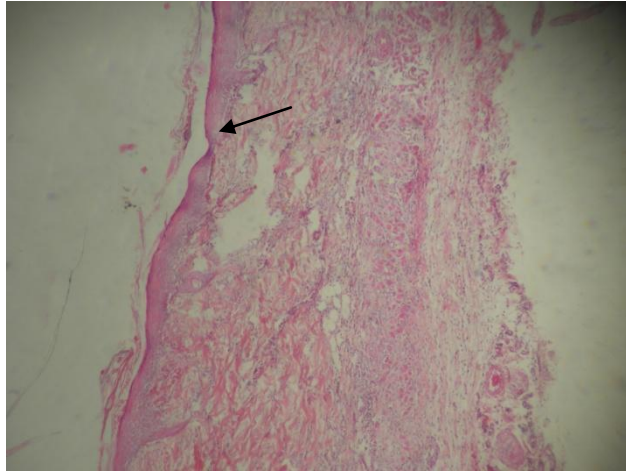
B



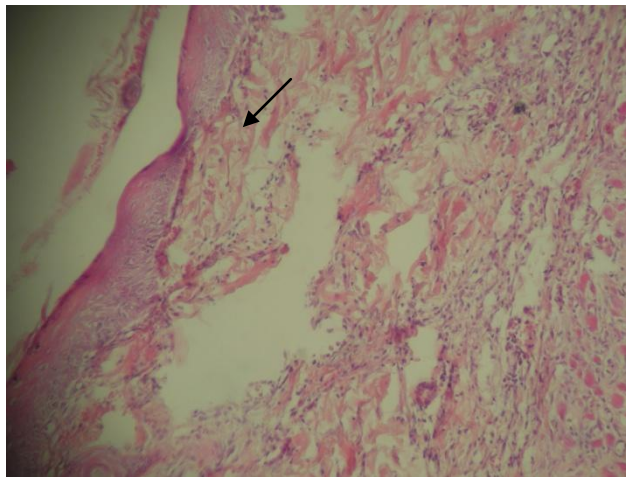
C

Corte histológico dos grupos: Tratado extrato 3 dias (A), 7 dias (B), 14 dias (C), Corado com Hematoxilina-Eosina . (Aumento de: 100x (A), 200x (B), 400x (C)).

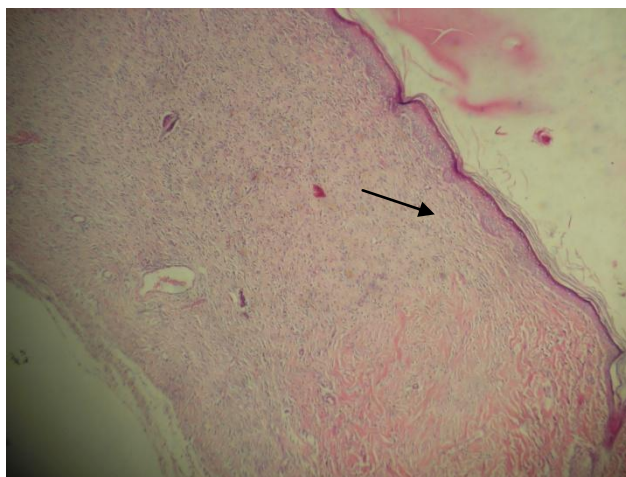
ANEXO 9



A



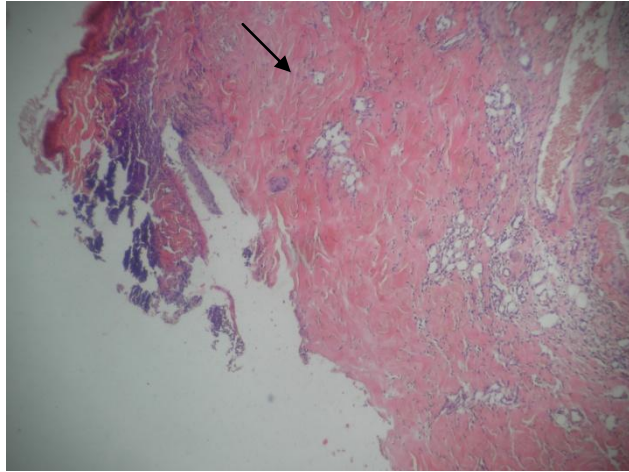
B



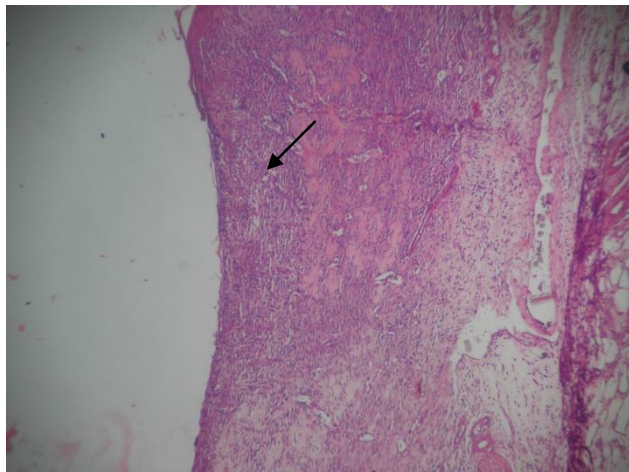
C

Corte histológico dos grupos: Tratado extrato 14 dias (A, B, C), corado com Hematoxilina-Eosina .
(Aumento de: 100x (A, C), 200x (B)).

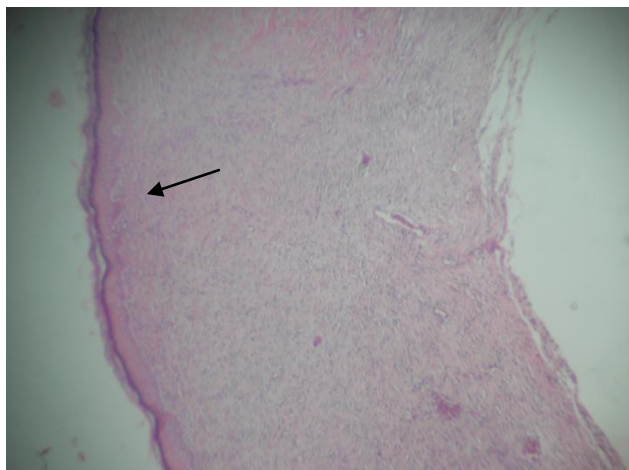
ANEXO 10



A



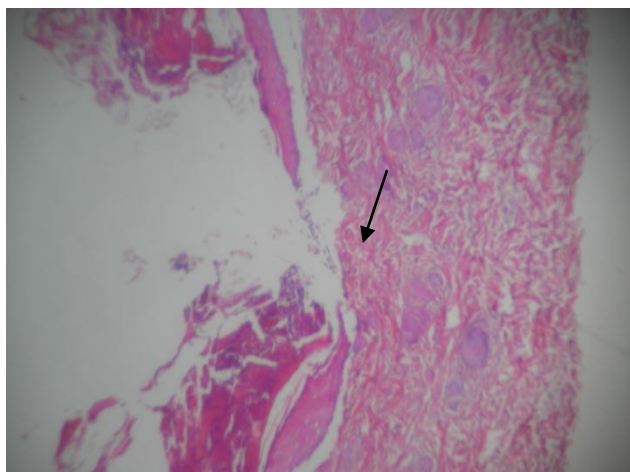
B



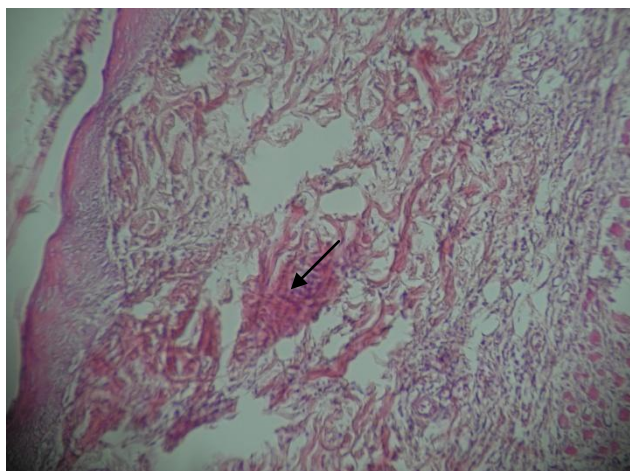
C

Corte histológico dos grupos: EH+Laser 3 dias (A), 7 dias (B), 14 dias (C),
Corado com Hematoxilina-Eosina. (Aumento de: 200x A, B, C).

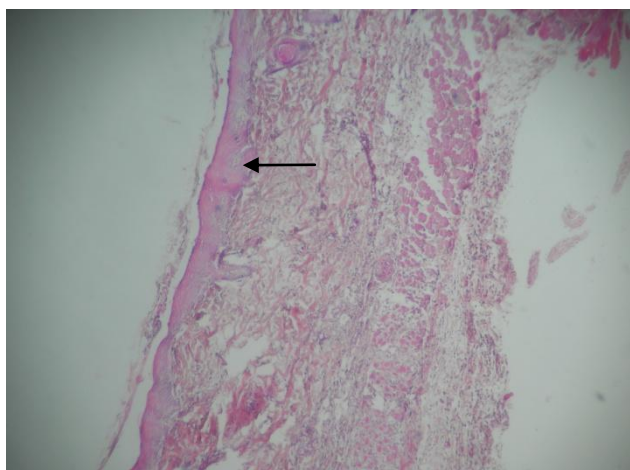
ANEXO 11



A



B



C

Corte histológico dos grupos: Laser 3 dias (A), 7 dias (B), 14 dias (C)
corado com hematoxilina-Eosina. (Aumento de: 200x (A,C).400x (B)).