



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

JERRAR JANEDSON XAVIER SILVA

**CREME DE *RHIZOPHORA MANGLE* NA CICATRIZAÇÃO DE SEGUNDA
INTENÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM PÁLPEBRA SUPERIOR: Ensaio
clínico randomizado**

Recife
2019

JERRAR JANEDSON XAVIER SILVA

**CREME DE *RHIZOPHORA MANGLE* NA CICATRIZAÇÃO DE SEGUNDA
INTENÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM PÁLPEBRA SUPERIOR: Ensaio
clínico randomizado**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do Título Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Oculoplástica

Orientador: Prof^o. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Leila Bastos Leal

Recife

2019

Catálogo na fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S586c Silva, Jerrar Janedson Xavier.
Creme de *Rhizophora mangle* na cicatrização de segunda intenção de feridas cutâneas em pálpebra superior: ensaio clínico randomizado / Jerrar Janedson Xavier Silva. – 2019.
76 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Jeymesson Raphael Cardoso Vieira.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Recife, 2019.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Cicatrização. 2. Rhizophoraceae. 3. Fitoterapia. I. Vieira, Jeymesson Raphael Cardoso (Orientador). II. Título.

610 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2019-047)

JERRAR JANEDSON XAVIER SILVA

**CREME DE *RHIZOPHORA MANGLE* NA CICATRIZAÇÃO DE SEGUNDA
INTENÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM PÁLPEBRA SUPERIOR: ensaio clínico
randomizado**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção do
Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em: 15/02/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Simone Cristina Soares Brandão (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Bruno Severo Gomes (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Maria Isabel Lynch Gaete (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Leila Bastos Leal (Coorientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Aos meus amados Pais, **Antonio Vitorino da Silva** e **Sebastiana Xavier da Silva**, por me ensinarem a buscar sempre ser uma pessoa melhor. À minha segunda mãe, Rosa de Lima, pelo exemplo de humildade e dedicação. Aos meus irmãos: Lourdinha, Malba, Leida, Jair, Nara e Mônica, pelo amor que recebo e por me fazer amar.

AGRADECIMENTOS

O mestrado foi para mim um aprendizado de ciência e de superação. Esta última por ter que conciliar trabalho e estudo, a qual não teria sido possível se não existissem pessoas ao meu lado que de alguma forma me ajudaram para que eu pudesse estar aqui hoje escrevendo esses agradecimentos.

À minha família, por ser minha fortaleza.

Ao Marcio Helder Melo pelo incentivo e por acreditar em mim.

Ao meu orientador e amigo Professor Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira pelo incentivo à carreira acadêmica, por sua paciência, compreensão e pela extraordinária orientação.

À minha coorientadora, Professora Dra. Leila Bastos Leal pela sua dedicação à pesquisa e ao meu trabalho.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde por todo o apoio.

À Universidade Federal de Pernambuco, o Departamento de Histologia e Embriologia do CCB/UFPE e o Laboratório de Farmacologia/UFPE, com todo seu pessoal sempre solícito e bem preparado.

Meus sinceros agradecimentos.

“A maior lição da vida é de que, às vezes, até os tolos têm razão”.
(CHURCHIL, 1950)

RESUMO

Plantas usadas na medicina tradicional para reparação tecidual como a *Rhizophora mangle* oferecem uma nova alternativa acessível na terapêutica da cicatrização de feridas. Este estudo teve por objetivo avaliar a eficácia do creme de *R. mangle* 5% em cicatrização de segunda intenção de feridas cutâneas em humanos. Dezoito pacientes foram submetidos à confecção de ferida cirúrgica aberta na pálpebra superior, divididos em 2 grupos com 9 pacientes cada, os quais utilizaram de forma tópica e diária, Dexpantenol a 5% em creme (grupo padrão) e creme de extrato de folha de *R. mangle* a 5% (grupo intervenção) durante 7 dias. Quando então foram feitas as análises clínicas e morfométricas da ferida e realizado o procedimento cirúrgico para retirada da pele, contendo a ferida em questão para estudos histomorfométricos. O poder de hidratação dos cremes foi medido para avaliar possíveis correlações com o processo de cicatrização e a população foi caracterizada pela concentração de melanina na pele. Não houve diferença significativa entre os dois grupos em relação à concentração de melanina na pele. Os cremes de *R. mangle* e Dexpantenol mostraram maiores valores de média de hidratação da pele quando comparados com um creme placebo. Na análise morfométrica, todas as feridas tratadas com esses cremes de *R. mangle* e Dexpantenol se apresentaram com cicatrização macroscópica completa, sem sinais inflamatórios e livres de infecção. O creme de *R. mangle* apresentou valores da distância entre os epitélios na análise histomorfométrica mais baixos que o creme de Dexpantenol, sendo verificada diferença significativa entre os grupos. O creme da *Rhizophora mangle* 5% mostrou-se eficaz na cicatrização de feridas cutâneas de pálpebra superior em humanos com melhora significativa da epitelização quando comparada com o Dexpantenol 5%.

Palavras-chave: Cicatrização. Rhizophoraceae. Fitoterapia.

ABSTRACT

Plants used in traditional medicine for tissue healing such as *Rhizophora mangle* offer a new affordable alternative in tissue repair therapy. Our purpose of this study was to evaluate the efficacy of 5% *R. mangle* cream in the healing of second-intention skin wounds in humans. A total of 18 patients were submitted to open surgical wound on the upper eyelid, divided into 2 groups with 9 patients each, which used topically and daily, Dexpanthenol 5% cream (standard group) and *R. mangle* 5% cream (intervention group) for 7 days. At that time, the clinical and morphometric analyzes of the wound were done and the surgical procedure was performed to remove the skin containing the wound for histomorphometric studies. The hydration power of the creams was measured to evaluate possible correlations with the healing process. There was no significant difference between the two groups in relation to melanin concentration in the skin. *R. mangle* and Dexpanthenol creams showed higher mean values of skin hydration when compared to a placebo cream. In the morphometric analysis, all wounds treated with *R. mangle* and Dexpanthenol creams presented complete macroscopic scarring, without inflammatory signs and free of infection. The *R. mangle* cream presented values of the distance between the epithelia in the histomorphometric analysis lower than the cream of Dexpanthenol, being verified a significant difference between the groups. *Rhizophora mangle* 5% cream proved to be effective in the healing of upper eyelid skin wounds in humans with a significant improvement in epithelization when compared to Dexpanthenol 5%.

Keywords: Wound healing. Rhizophoraceae. Phytotherapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Fluxograma do processo de cicatrização e os fatores de interferências	20
Figura 2-	Mapa ilustrativo da distribuição dos manguezais na costa do Brasil	28
Figura 3-	Planta de <i>Rhizophora mangle</i> L. com caule e folhas no seu habitat de mangue	29
Figura 4-	Gráfico de Espalhabilidade da formulação cremosa	35
Figura 5-	Gráfico da tensão de cisalhamento x taxa de cisalhamento da formulação cremosa da <i>R.mangle</i>	37
Figura 6-	Aspecto e cor do creme do extrato aquoso da <i>R. mangle</i>	37
Figura 7-	Medição da concentração da melanina no antebraço	38
Figura 8-	Equipamento corneometer Kourage&Khazaka	39
Figura 9-	Esquema de colocação dos cremes no antebraço para medição da hidratação	39
Figura 10-	Punch dermatológico de 3 mm	40
Figura 11-	Aspecto final da ferida após confecção cirúrgica	40
Figura 12-	Marcação da pele para exérese na cirurgia de blefaroplastia	41
Figura 13-	Retirada e preparação da pele com área cicatrizada para estudos	42
Figura 14-	Aspecto macroscópico da área cicatrizada da ferida de pálpebra superior	46
Figura 15-	Distâncias entre os epitélios após 7 dias de utilização dos cremes de <i>R. mangle</i> 5% e Dexpanthenol 5% expressas em média + erro padrão	47
Figura 16-	Secções histológicas de pele da área de cicatriz de ferida da pálpebra superior mostrando grupo com dexpanthenol (A) e com <i>R. mangle</i> (B). As imagens mostram o grau de reepitelização após 7 dias de tratamento: [1] distância entre os epitélios e [2] reepitelização total. Coloração HE. Aumento 2x	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Correlação da concentração da medida de melanina na pele em $\mu\text{g}/\text{mg}$ com a classificação dos tipos de pele de Fitzpatrick	21
Tabela 2-	Plantas usadas na cicatrização de feridas e suas possíveis formas de ação	27
Tabela 3-	Valores médios da viscosidade aparente (Pa/s) da formulação nos tempos inicial e 30 dias sob duas diferentes condições de armazenamento	36
Tabela 4-	Características da amostra pesquisada por grupo	44
Tabela 5-	Correlação da medida da melanina na pele com a classificação dos tipos de pele de Fitzpatrick	45
Tabela 6-	Valores de hidratação pré e pós aplicação dos cremes de <i>R. mangle</i> 5%, Dexpanthenol 5% e Placebo	46

LISTA DE ABREVIATURAS

µg	Micrograma
µl	Microlitro
µm	Micrômetro
COX 2	cicloxygenase 2
EDTA	etilenodiaminotetracético
g	Gramma
h	Hora
mg	Miligramma
min	Minutos
ml	Mililitro
mm ²	Milímetro quadrado
nm	Nanômetro
nº	Número
°C	Grau centígrado
<i>R. mangle</i>	<i>Rhizophora mangle</i>
PGG2	prostaglandina 2
SF 0,9%	Soro fisiológico 0,9 por cento

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCB	Centro de Ciências Biológicas
CPRH	Companhia Pernambucana de controle de poluição ambiental e administração de recursos hídricos
DP	Desvio padrão
EAF	extrato aquoso da folha
EGF	fator de crescimento epidérmico
HE	hematoxilina eosina
MMA	Ministério do Meio Ambiente
OMS	Organização Mundial de Saúde
PDGF	fator de crescimento derivado de plaquetas
r.p.m.	rotação por minuto
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF-b	fator de transformação do crescimento beta
TNF	fator de crescimento tumoral
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UV	ultravioleta
VEGF	fator de crescimento endotelial vascular
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Processo de cicatrização.	17
2.2	Tipos de cicatrização de feridas.	19
2.3	Cicatrização étnica.....	21
2.4	Hidratação de ferida x cicatrização.	21
2.5	Medicina Tradicional.....	22
2.6	Fitoterapia.....	23
2.7	Manguezal.....	28
2.8	<i>Rhizophora mangle</i>.....	29
2.9	Dexpanthenol.....	31
3	OBJETIVOS.....	32
3.1	Geral	32
3.2	Específicos	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1	Delineamento do estudo.....	33
4.2	Local do estudo.....	33
4.3	Amostra.....	33
4.4	Material vegetal.	33
4.5	Obtenção de extrato aquoso das folhas de <i>Rhizophora mangle</i> e preparação do creme cicatrizante.	33
4.5.1	Avaliação das características organolépticas do creme de <i>R.mangle</i>	34
4.6	Ensaio clínico	37
4.6.1	Critérios de inclusão e exclusão.....	37
4.6.2	Randomização e Cegamento.....	38
4.6.3	Medição da concentração de melanina na pele.....	38
4.6.4	Avaliação do efeito hidratante na pele humana.	39
4.6.5	Realização da ferida cirúrgica e obtenção do material para estudo histológico.	40
4.6.6	Análise clínica macroscópica e avaliação morfométrica da ferida.....	41
4.6.7	Cirurgia de blefaroplastia.	41
4.6.8	Confecção das preparações histológicas e análise histomorfométrica... 	42

4.7	Análise Estatística.....	43
4.8	Aspectos bioéticos	43
5	RESULTADOS	44
5.1	Caracterização étnica da população.	44
5.2	Grau de hidratação na pele.	45
5.3	Descrição dos aspectos clínicos macroscópicos das feridas.	46
5.4	Análise morfométrica da área da cicatriz.	47
5.5	Análise histomorfométrica da área da cicatriz.....	47
6	DISCUSSÃO	49
6.1	Caracterização étnica da população.	49
6.2	Grau de hidratação na pele.	50
6.3	Aspectos clínicos macroscópicos das feridas.	51
6.4	Análise morfométrica da área da cicatriz.	52
6.5	Análise histomorfométrica da área da cicatriz.....	53
6.6	Limitações do estudo.	54
6.7	Considerações finais	54
7	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS.....	57
	APÊNDICE A - TCLE.....	66
	ANEXO A – CARTA DE ANUÊNCIA DA FUNDAÇÃO SANTA LUZIA.	70
	ANEXO B – AUTORIZAÇÃO PARA COLETA DA <i>RHIZOPHORA</i> <i>MANGLE</i>	71
	ANEXO C – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	72

1 INTRODUÇÃO

A cicatrização cutânea representa uma vantagem evolucionária não somente para mamíferos como também um passo importante para sobrevivência da maioria das espécies. A regulação fisiológica da cicatrização de feridas é um processo complexo que é dependente de muitos tipos celulares e mediadores que interagem em uma sequência altamente sofisticada (SORG et al., 2017).

O objetivo final da cicatrização cutânea é o fechamento macroscópico completo com reepitelização da pele da ferida. Esse epitélio funciona como uma barreira importante, protegendo contra ameaças potencialmente danosas ao organismo (RANDALL et al., 2006). Entre os fatores que podem alterar esse processo estão a hidratação aumentada da ferida que melhora a cicatrização (WIGGER-ALBERTI et al., 2009), e a concentração de melanina na pele que pode levar a cicatrizes hipertróficas e quelóides (SMITH et al., 2008).

O tratamento de cicatrização de feridas tem assumido lugar de destaque na ciência moderna por ser um campo muito desafiador da área médica, a qual está em evolução constante e suas modalidades de tratamento se fazem através de métodos de tentativas e erros. Assim, tratamentos modernos objetivam o fechamento da ferida de uma forma a integrar as várias especialidades médicas, provendo capacidade regenerativa ao próprio corpo sistematicamente (GARWOOD et al., 2016).

Alguns desses métodos da medicina regenerativa ainda estão em fases de estudos mas já se mostram bastante promissores, entre eles: uso de células embrionárias, fatores de crescimento e materiais bioativos. No entanto, esse arsenal é experimentalmente bem descrito mas de desempenho clínico ainda pobre. Consequentemente, métodos terapêuticos clinicamente eficientes e de baixo custo são urgentemente necessários (GUNTER et al., 2012).

Como alternativa real a esses tratamentos estão as terapias tradicionais baseadas em compostos originais naturais, oferecendo novas possibilidades ao

tratamento das doenças de pele, aumentando o acesso da população ao tratamento e possibilitando superar algumas limitações associadas às terapias com produtos modernos, como o alto custo, tempo longo de produção e aumento em resistência bacteriana (PEREIRA et al., 2014).

Como exemplo de terapia tradicional temos a *Rhizophora mangle*, uma planta do mangue, que apresenta variados usos na medicina popular brasileira (COELHO-FERREIRA, 2009) e principalmente como adjuvante na cicatrização de feridas cutâneas (FERNANDEZ et al., 2002). Estudos realizados por Araújo (2015) mostraram que a *R. mangle* apresentou efeito significativo na cicatrização de feridas cutâneas cirúrgicas em ratos quando comparada com soro fisiológico e creme de dexpanthenol 5%. Berenger et al. (2006) demonstraram os taninos como os principais compostos polifenólicos na *R. mangle*. Esses compostos parecem ser os responsáveis pelos mecanismos de reepitelização da pele e contração da ferida (TSUCHIYA et al., 1996).

Testes pré-clínicos (em animais experimentais) foram realizados previamente, produzindo, assim, a dissertação de mestrado intitulada: cicatrização de feridas através de tratamento tópico com creme de extrato de folhas de *Rhizophora mangle* L., apresentada por Araújo (2015).

Este estudo de fase 2 da pesquisa clínica teve como objetivo obter dados de segurança e iniciar a avaliação da eficácia de um novo medicamento em seres humanos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Processo de cicatrização

A ferida cutânea é caracterizada por uma lesão na pele devido a trauma, rasgadura, corte ou contusão (RANJANI et al., 2010). A cicatrização de feridas é um complexo processo que ocorre em quase todos os tecidos depois de uma lesão, objetivando o reparo do tecido perdido ou lesado. O processo de cicatrização cutânea acontece em quatro fases: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (ARAÚJO et al., 2010).

A primeira fase do processo de cicatrização, a hemostasia, começa imediatamente depois da lesão e pretende controlar o sangramento e limitar a propagação de microrganismos dentro do corpo. A hemostasia envolve vários eventos como a constrição vascular, agregação de plaquetas e formação do coágulo de fibrina com subsequente desenvolvimento de uma crosta que provem força, proteção e sustentação ao tecido lesado (GUO et al., 2010). Durante este processo, plaquetas liberam vários fatores de crescimento incluindo o fator de crescimento transformador b (TGF-b), fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento *insulin-like-1*, e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) que são responsáveis pela ativação dos fibroblastos, células endoteliais e macrófagos ao redor do local (GROEBER et al., 2011; ENOCH et al., 2007).

A fase inflamatória, ocorrendo simultaneamente com a hemostasia, é caracterizada pela liberação de várias citocinas inflamatórias, peptídeos catiônicos, proteases, espécies de oxigênio reativos e fatores de crescimento, permitindo a limpeza da ferida (GROEBER et al., 2011). As citocinas promovem cicatrização por diferentes caminhos como a estimulação da produção de componentes de membrana basal, prevenindo desidratação, aumentando inflamação e acelerando a formação do tecido de granulação (DORAI, 2012).

Os fatores de crescimento como TGF-b, PDGF, fator de crescimento fibroblástico e EGF têm uma participação importante na função da comunicação entre células e sua matriz extracelular, estimulando o recrutamento de células, proliferação, morfogênese e diferenciação (GUO et al., 2010; ENOCH et al., 2007).

Depois do sangramento, o processo de cicatrização envolve a migração e infiltração de células inflamatórias na ferida. Nesta fase, neutrófilos, macrófagos e

linfócitos são responsáveis por múltiplas funções, incluindo a promoção da resposta inflamatória, inibição da penetração de microrganismos exógenos, eliminação de micróbios e estimulação de queratinócitos, fibroblastos e angiogênese (GUO et al., 2010).

Depois que o sangramento e a inflamação são controlados, células epiteliais e fibroblastos migram até a região lesada, levando a crescimento de capilares, síntese de colágeno e formação de novo tecido. Neste estágio, células epiteliais substituem células mortas enquanto fibroblastos são responsáveis pela produção de colágeno, fibronectina, hialuronato, glicosaminoglicanos e proteoglicanos que são os maiores constituintes da matriz extracelular e conferem força à pele (ENOCH et al., 2007).

A epitelização envolve queratinócitos pela migração e proliferação das margens da ferida e por diferenciação de células tronco dos bulbos pilosos restantes (PARK et al., 2012). A epitelização é auxiliada pelo EGF, fatores de crescimento do keratinócito e TGF- α (LEE et al., 2012). Angiogênese é deflagrada pela migração, proliferação, alinhamento e formação tubular de células endoteliais brotando de vasos mãe para outros vasos. O processo de angiogênese é relacionado à expressão dos fatores angiogênicos como VEGF e PDGF. Um tecido de granulação é produzido como resultado do crescimento de capilares e vasos linfáticos a partir de vasos existentes presentes no local da lesão (PARK et al., 2012).

Finalmente, na fase de remodelamento, as células inflamatórias deixam o local e fibroblastos continuam a sintetizar colágeno e posterior ligações cruzadas covalentes de moléculas de colágeno (LEE et al., 2012). O novo tecido é continuamente remodelado até sua composição e propriedades se aproximarem àquelas do tecido sadio. O objetivo final do processo de cicatrização é a regeneração do tecido lesado sem a formação de cicatriz (GUO et al., 2010).

Quando ocorre algum tipo de alteração que perturba o desenvolvimento das fases de cicatrização é gerada uma lesão crônica que impede ou atrasa a fase de inflamação ou proliferativa (JAUL, 2009). A resposta humoral frente a essas lesões reflete um excesso na produção de metaloproteinases, fatores de crescimento e citocinas. O aumento dessas metaloproteinases leva a um aumento do processo proteolítico que produz uma degradação incontrolada do tecido e conseqüentemente a uma ferida que não cicatriza. Somado a isto, um fator comum é a presença de microrganismos que colonizam as feridas retardando a cicatrização (BJARNSHOLT et al., 2008).

A capacidade de regeneração pode ser comprometida sob condições específicas como perda de tecido extenso, queimaduras profundas, feridas crônicas, úlceras refratárias e diabetes (GUO et al., 2010; GROEBER et al., 2011). Assim, um processo de cicatrização inadequado levando a ferida a entrar em estado crônico, aumenta o risco de infecção e afeta a saúde do paciente e sua qualidade de vida (ENOCH et al., 2007).

A Figura 1 mostra as fases da cicatrização e os fatores que podem interferir neste processo, levando à cura (ferida cicatrizada) ou à ferida crônica.

2.2 Tipos de cicatrização de feridas

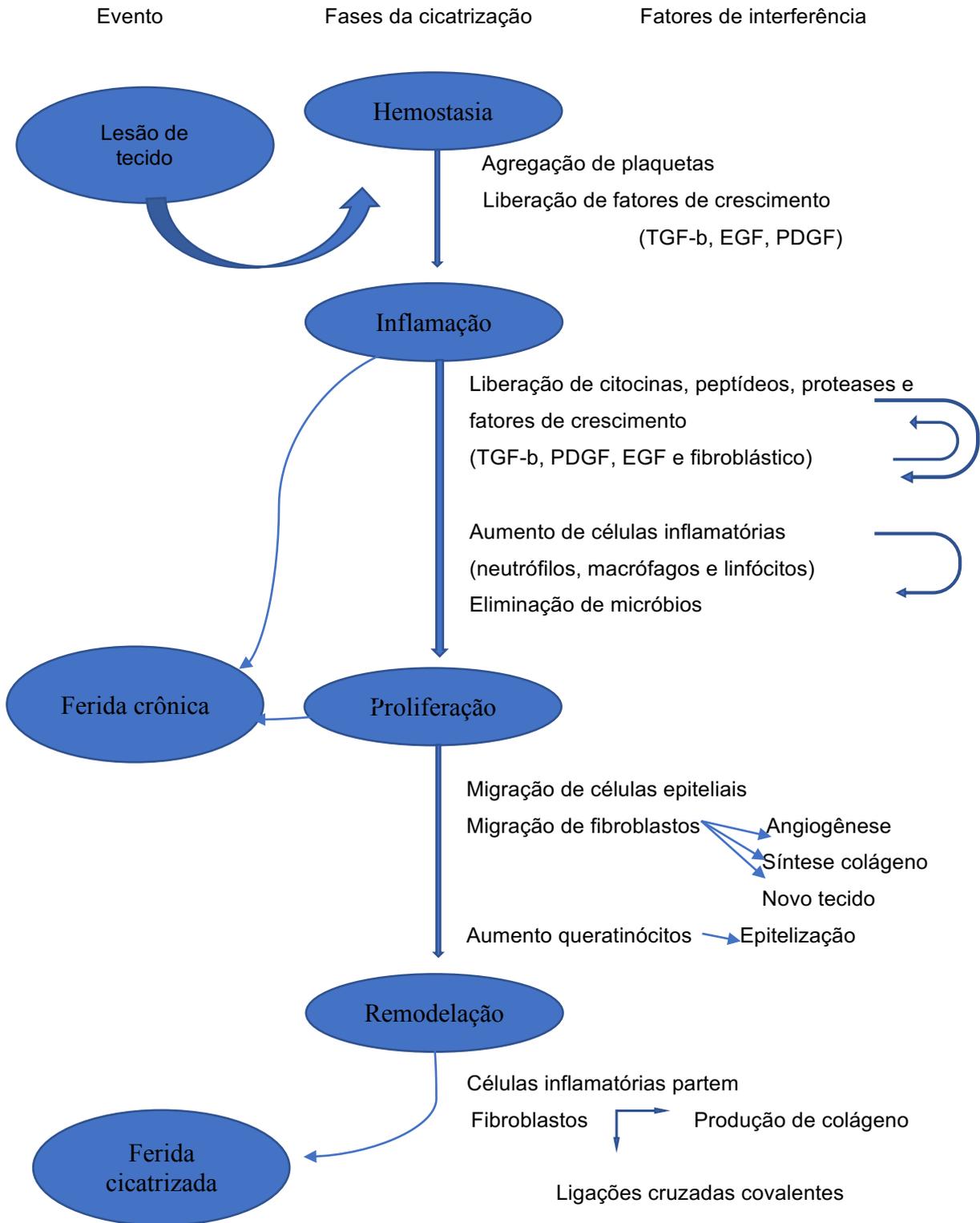
Existem três formas pelas quais uma ferida pode cicatrizar, e estas dependem da quantidade de tecido lesado ou danificado, bem como da presença ou não de infecção: primeira intenção, segunda intenção e terceira intenção (TAZIMA et al., 2008).

Primeira intenção: é o tipo de cicatrização que ocorre quando as bordas são apostas ou aproximadas, havendo perda mínima de tecido, ausência de infecção e mínimo edema. A formação de tecido de granulação não é visível. Exemplo: ferimento suturado cirurgicamente (TAZIMA et al., 2008).

Segunda intenção: neste tipo de cicatrização ocorre perda excessiva de tecido com a presença ou não de infecção. A aproximação primária das bordas não é possível. As feridas são deixadas abertas e se fecharão por meio de contração e epitelização (TAZIMA et al., 2008).

Terceira intenção: designa a aproximação das margens da ferida (pele e subcutâneo) após o tratamento aberto inicial. Isso ocorre principalmente quando há presença de infecção na ferida, que deve ser tratada primeiramente, para então ser suturada posteriormente (TAZIMA et al., 2008).

Figura 1 - Fluxograma do processo de cicatrização e os fatores de interferências.



Fonte: Próprio autor

2.3 Cicatrização étnica

Existe uma diferença na cicatrização de feridas em relação à carga genética de cada paciente e conseqüentemente em relação a sua raça. Pessoas com maior concentração de melanina na pele tem maior chance de desenvolver cicatrizes com hiperproliferação de fibroblastos, com conseqüente acúmulo de matriz extracelular, especialmente pela excessiva formação de colágeno (SMITH et al., 2008).

Na prática clínica, não se faz a medição da melanina na pele, no entanto é essencial a classificação da cor da pele para decidir tratamento de condições cutâneas. A classificação mais empregada é a de Fitzpatrick, desenvolvida para definir a resposta de tipos diferentes de pele à luz ultravioleta, através de queimaduras ou de bronzeamento (VISSCHER, 2017). No entanto, se faz a correlação das concentrações de melanina na pele com a classificação dos tipos de pele de Fitzpatrick (Tabela 1).

Tabela 1 – Correlação da concentração da medida de melanina na pele em $\mu\text{g}/\text{mg}$ com a classificação dos tipos de pele de Fitzpatrick.

Classificação de Fitzpatrick	Concentração Melanina ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
1 e 2	4,0
2,5	5,0
3 e 3,5	5,7
4	11,5
4,6-6	13,0

Fonte: TADOKORO et al, 2003

Após uma injúria da pele (como cirurgia, trauma, etc), o tecido fibroso que se desenvolve em resposta a cascata inflamatória é muito mais exagerado e quase hiper reativo em pacientes de cor de pele escura (ROSSI et al., 2011).

Esses pacientes considerados de cor de pele escura são os definidos pela classificação de Fitzpatrick em fototipos 4 a 6 e apresentam uma maior chance de desenvolver cicatriz hipertrófica ou quelóide, porém sem alteração no tempo de cicatrização (RUSSELL et al., 2010).

2.4 Hidratação de ferida x cicatrização

Estudos realizados desde a década de 60 mostraram que um ambiente úmido de ferida auxilia na cicatrização. Feridas expostas ao ar e deixadas a secar tendem a

cicatrizam lentamente comparadas com feridas que curam em um ambiente úmido. Desde então, tem havido evidências crescentes em apoio a esse conceito (DYSON, et al., 1988; BEAM, 2008).

Pesquisas vem demonstrando que um ambiente de ferida hidratada leva a uma cicatrização mais rápida por promover aumento da taxa de reepitelização (EAGLSTEIN, 2001; WIGGER-ALBERTI, et al., 2009), promover respostas de cicatrização do leito derme/ferida como proliferação celular e síntese de matriz extracelular (SVENSJO, et al., 2000; KORTING, et al., 2011), reduzir cicatriz (O'SHAUGHNESSY, et al., 2009; MUSTOE, et al., 2011), reter fatores de crescimento no sítio da ferida (HACKL, et al., 2014; POWERS, et al., 2013), diminuir a taxa de infecção de ferida (LAWRENCE, 1994; KANNON, et al., 1995), reduzir a percepção da dor (METZGER, 2004; LEAPER, et al., 2012) e melhorar o debridamento autolítico (KING, et al., 2014; GRAY, et al., 2010).

2.5 Medicina Tradicional

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a medicina tradicional, também referida como “alternativa” ou “complementar” se baseia no uso de terapias tradicionais para manutenção da saúde e prevenção, diagnóstico ou tratamento de doenças físicas ou mentais. Estas terapias compreendem práticas, produtos e conhecimentos de diferentes países, envolvendo o uso de organismos vivos e compostos naturais obtidos de uma grande variedade de fontes como exemplo: animais, plantas, fungos e minerais (WHO, 2002; WHO, 2012).

A medicina tradicional contribui para o aumento ao acesso da população à assistência à saúde, sendo uma prática comum em diferentes regiões do mundo, como África, Ásia e América Latina. Oitenta por cento da população da Ásia e África usam terapias de medicina tradicional para saúde primária, enquanto na China estas terapias representam 40% de toda assistência à saúde. O uso da medicina tradicional está também aumentando na maioria dos países desenvolvidos, sendo estimado que pelo menos 70% da população no Canadá, 42% nos Estados Unidos, 38% na Bélgica e 75% na França usam essa medicina (WHO, 2002). Dados recentes também indicam que na Austrália 69% da população usam medicina tradicional enquanto na Nova Zelândia e Singapura alcança 30% e 35% (WHO, 2012).

No entanto, não existe uma forte evidência científica do uso de algumas

terapias, sendo essas apoiadas por experiências adquiridas através dos anos. Assim, nos últimos anos, vem se intensificando atividades de pesquisa relacionadas aos mecanismos de eficácia terapêutica dos compostos de cura tradicionais, aumentando o conhecimento sobre seus mecanismos de ação e atividades biológicas (ALONSO, 1998).

De acordo com a origem, essas terapias são classificadas em compostos derivados de minerais, derivados de animais e compostos derivados de plantas (PEREIRA; BARTOLO, 2014).

O mineral prata é um agente antimicrobiano de largo espectro que é comumente usado no tratamento de lesões de pele, em particular feridas e queimaduras (NEIBERT et al., 2012). Produtos de origem animal entre eles mel, própolis e pele de rã têm sido estudados e comprovadas suas ações benéficas na reparação tecidual (TORETI et al., 2013; OLCZYK et al., 2013; MASHREGHI et al., 2013).

O interesse no uso de organismos vivos para cicatrização de feridas tem aumentado significativamente nos últimos anos, sendo larvas e sanguessugas uma alternativa para reparo de pele. (MARGOLIN et al., 2010; SINGH, 2010).

2.6 Fitoterapia

A fitoterapia é o uso de plantas visando tratar doenças, podendo ser usada com finalidade profilática, curativa, paliativa ou com fins de diagnóstico. Em 1978, a Organização Mundial de Saúde (OMS) reconheceu oficialmente a fitoterapia ao recomendar a difusão mundial dos conhecimentos necessários para seu uso (ALONSO, 1998). A OMS estima, desde então, o uso dessa terapia como importante para a assistência à saúde e valoriza essa prática medicamentosa com finalidade para controle sanitário também (WHO, 2002; WHO, 2013). A mesma, desde 2002, tem o compromisso de desenvolver e estimular programas de políticas e de saúde públicas com inserção da fitoterapia no sistema oficial de saúde dos seus 191 Estados-membros. (WHO, 2013).

Schimdt et al. (1993) definem medicamento fitoterápico aquele que mantém o constituinte ativo e as substâncias sinérgicas no produto manufaturado final, assim como em todas as etapas do seu processamento.

O Brasil está incluso na Política Nacional de Medicina Tradicional e

Regulamentação de Medicamentos Fitoterápicos, documento este publicado pela OMS desde 2005, por ter a maior diversidade genética vegetal do mundo assim como apresentar amplos conhecimentos populares e prática das plantas medicinais (BRASIL, 2006).

A Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA) classifica o medicamento fitoterápico como aquele obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais, não considerando medicamento fitoterápico aquele que inclua substâncias ativas isoladas na composição, nem as associações destas com extratos vegetais (BRASIL, 2014).

Existem duas classes de substâncias (metabólitos) nas plantas. Metabólitos primários são substâncias produzidas pela planta e que são indispensáveis à sua sobrevivência, por exemplo, glicose produzida a partir da fotossíntese. Metabólitos secundários são substâncias que as plantas produzem, mas não são essenciais para sua sobrevivência, por exemplo, os óleos voláteis auxiliam como defesa ou na atração de polinizadores. As plantas dependem dos seus compostos secundários para desenvolver suas propriedades farmacológicas e estas são essenciais para aumentar a chance de sobrevivência da espécie de forma que proteja essas plantas de patógenos e as auxiliem na sua reprodução. Os principais compostos secundários são os compostos fenólicos, terpênicos, esteróides e alcalóides (PEREIRA et al., 2012).

Segundo Rossa (2013), os compostos fenólicos pertencem a uma classe de substâncias químicas que podem ser de estruturas simples e complexas, derivadas dos aminoácidos fenilalanina e da tirosina, que possuem em sua estrutura química pelo menos um anel aromático com um ou mais grupamentos hidroxilas (-OH). Os compostos fenólicos pertencentes nos vegetais são encontrados com estruturas variadas, como os derivados da cumarina, taninos e flavonóides, que podem atuar como agentes redutores, sequestrantes de radicais livres, quelantes de metais ou desativadores do oxigênio singleto (LARCHER, 2004; TAIZ & ZEIGER, 2013). Atualmente, os compostos fenólicos têm se tornados compostos de grande interesse, devido suas propriedades benéficas a saúde, sendo alvo de muitos estudos (TAIZ & ZEIGER, 2013; ROSSA, 2013).

As cumarinas são anti-inflamatórias por levar a inibição da produção das citocinas pró-inflamatórias no local da inflamação (ALVES *et al.*, 2009). Tem sido de grande interesse atualmente em trabalhos que avaliam sua atividade anti-HIV1 (Vírus da Imunodeficiência Humana) já que inibe a transcriptase reversa. Também apresenta

atividade citotóxica, antifúngica, inseticida, vasodilatadora coronariana e anticoagulante (SCIO, 2004).

Os taninos possuem elevado peso molecular e estão associados aos mecanismos de defesa das plantas contra insetos (Pais, 1998). As plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional como remédios para o tratamento de diversas moléstias, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (HASLAM, 1996). Os prováveis mecanismos responsáveis pela atividade farmacológica dos taninos seriam: a capacidade de formar complexos com outras moléculas incluindo polissacarídeos e proteínas; formar complexos com íons e de exercer a atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres (OKUDA, 2005). Nos últimos anos, vários grupos têm investigado as atividades farmacológicas e biológicas dos taninos. Dentre essas atividades podem-se citar: atividade antimicrobiana tanto sobre bactérias Gram + quanto Gram – (KABUKI et al., 2000); atividade anti-helmíntica (COSTA et al., 2002); inibição de enzimas testadas *in vitro*. (ZUANAZZI, 2000); atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres (OKUDA, 2005).

Os taninos auxiliam no processo de cicatrização de feridas, queimaduras e inflamações através da formação de uma camada protetora (complexo taninos/proteínas e/ou polissacarídeos) sobre a pele ou mucosa danificada. Debaixo dessa camada o processo natural de cicatrização pode, então, ocorrer. Processo similar ocorre provavelmente em casos de úlcera gástrica, em que uma camada desse complexo protege a mucosa do estômago (HASLAM, 1989).

Os flavonóides têm uma estrutura polifenólica que lhes confere atividades antioxidantes, anti-inflamatória e antitumoral, poder de redução da fragilidade e permeabilidade capilares; inibição da destruição do colágeno e da agregação plaquetária. Alguns tipos de flavonóides têm mostrado efeitos protetores contra o câncer, doenças cardiovasculares, alterações gastrointestinais e síndromes relacionadas ao sistema nervoso, como depressão, epilepsia, doença de Alzheimer e doença neurodegenerativa (JUDD *et al.*, 2007).

A segunda maior classe de metabólitos secundários são os terpenóides. Um dos mais conhecidos são os triterpenos que apresentam diversas atividades biológicas como anti-inflamatória (MEDEIROS, et al., 2007), antitumoral (Braga, et

al., 2007), cardioprotetora (SUDHAHAR, *et al.*, 2007), gastroprotetora (PERTINO, *et al.*, 2007) e anti-hiperglicêmica (SATO, *et al.*, 2007).

Outra classe de metabólitos secundários são os esteroides que têm como exemplos as saponinas, as quais apresentam um amplo espectro de atividades biológicas e farmacológicas (HARUNA *et al.*, 1995). Têm sido estudadas como adjuvantes na vacina contra o HIV-1, citomegalovírus e *Toxoplasma gondi* (YANG *et al.*, 2005), já que apresenta atividade contra vírus (CHAKRABORTY *et al.*, 2002; HAMERSKI *et al.*, 2005)

Por fim, a última classe é representada pelos alcalóides que são compostos que contém um nitrogênio e derivados de aminoácidos (CORDELL, 1981). Estes são de grande importância para a sobrevivência da planta pois apresentam atividade antimicrobiana e atuam como repelentes de insetos herbívoros (MARTINEZ *et al.*, 2013).

A fitoterapia é a terapia tradicional mais comumente usada para tratamento de lesões de pele. Ela inclui a aplicação e preparação de ervas ou de produtos finais contendo compostos ativos biologicamente que estimulam o processo de cicatrização. Uma grande variedade de plantas nativas de diferentes regiões do mundo tem sido investigada e usada para tratamento de lesões de pele (SHARMA *et al.*, 2013). Produtos à base de ervas são aplicados como extratos, emulsões e pomadas, sendo comumente administrados por via tópica, sistêmica e oral. Alguns dos compostos isolados de ervas são: taninos, compostos fenólicos e saponinas, que têm sido previamente documentados na literatura como tendo um efeito positivo na cicatrização de feridas (Li *et al.*, 2011). A Tabela 2 exemplifica as plantas usadas e estudadas como cicatrizantes de ferida.

Tabela 2 – Plantas usadas na cicatrização de feridas e suas possíveis formas de ação.

PLANTA	EVIDÊNCIAS LABORATORIAIS E CLÍNICAS	REFERÊNCIAS
<i>Aloe vera</i> (Babosa)	Atividades antimicrobiana; estimula proliferação de células, síntese de colágeno e angiogênese; promove contração de ferida	(ESHGHI et al., 2010)
<i>Hippophae Rhamnoides</i> (Marfim do mar)	Atividades antioxidante e antiinflamatória; estimula o processo de cicatrização; aumenta a contração da ferida e repitelização; aumenta hidroxiprolina e conteúdo protéico na ferida	(UPADHYAY et al., 2009)
<i>Carica papaya</i> (mamão)	Atividade antimicrobiana e antioxidante; deposição de colágeno	(MIKHAL'CHIK et al., 2004)
<i>Calendula officinalis</i> (Calêndula)	Atividades antimicrobiana; estimula proliferação e migração de fibroblastos in vitro; estimula a produção de colágeno e angiogênese	(PARENTE et al., 2012)
<i>Vitis vinifera</i> (Uva)	Atividade antioxidante; regula oxidantes, TNF-a e induz secreção de VEGF em keratinócitos humanos	(KHANNA et al., 2002)
<i>Matricaria recutita</i> (Camomila)	Potencializa a agregação plaquetária; aumenta repitelização	(SRIVASTAVA et al., 2010)
<i>Panax ginseng</i> (Gengibre)	Promove a angiogênese pela expressão de fator-1a nos keratinócitos e estímulo de VEGF; aumento da IL-6 que estimula secreção de citosinas IL-6, IL-8 e PGE2.	(KIMURA et al., 2006)
<i>Rosmarinus Officinalis L.</i> (Rosmarino)	Reduz a inflamação e melhora a contração da ferida, repitelização, angiogênese e deposição de colágeno em ferida de ratos diabéticos	(ABU-AL- BASAL et al., 2010)
<i>Rhizophora Mangle</i> (mangue-vermelho)	Reepitelização de feridas cirúrgicas em ratos	(ARAÚJO et al., 2015)
<i>Symphytum officinale L.</i> (Canfôra)	Regulação das reações inflamatórias; estimula a proliferação de fibroblastos; produção de matriz extracelular	(ARAÚJO et al., 2012)

2.7 Manguezal

É um ecossistema constituído por uma vegetação predominantemente lenhosa e arbórea, que coloniza solos lodosos, pouco consolidados, ricos em matéria orgânica e com baixo teor de oxigênio. Localiza-se nas regiões costeiras tropicais e subtropicais, estabelecendo-se nas zonas entre marés, faixa de transição entre a terra e o mar quase sempre abrigado por rios e estuários (SCHAEFFER-NOVELLY, 1995). As plantas aí existentes são de ocorrência única com características particulares pouco estudadas, podendo possuir compostos de farmacocquímica nova com potencial de se tornar novas drogas naturais ou sintéticas (BANDARANAYAKE, 2002). Essas plantas, para prosperar em ambientes hostis, sofrem alterações nos seus processos fisiológicos resultando em síntese de novos compostos químicos (REYES; CISNEROS-ZEVALLOS, 2003).

Segundo o mapeamento realizado pelo MMA em 2009, os manguezais abrangem cerca de 1.225.444 hectares em quase todo o litoral brasileiro, desde o Oiapoque, no Amapá, até a Laguna em Santa Catarina, constituindo zonas de elevada produtividade biológica, uma vez que acolhem representantes de todos os elos da cadeia alimentar. Estão morfologicamente associados a costas de baixa energia ou a áreas estuarinas, lagunares, baías e enseadas que fornecem a proteção necessária ao seu estabelecimento (DIEGUES, 2002). A Figura 2 mostra a distribuição do mangue no território brasileiro.

Figura 2 – Mapa ilustrativo da distribuição dos manguezais na costa do Brasil (área em verde escuro).



Fonte: BRASIL, 2009.

2.8 *Rhizophora mangle*

A *Rhizophora mangle* é conhecida pelo nome popular mangue ou mangue-vermelho, cuja folha, caule, raízes e frutos apresentam variados usos na medicina popular (COELHO-FERREIRA, 2009). É a vegetação mais frequentemente encontrada no manguezal brasileiro (SILVA et al., 2005). A Figura 3 mostra o mangue com sua vegetação de *Rhizophora*.

Figura 3 – Planta de *Rhizophora mangle* com caule e folhas no seu habitat de mangue.



Fonte: Secretaria do meio ambiente Valença/BA

Foto: disponível em http://semavalenca.blogspot.com/2011_01_01_archive.html

Esta planta tem amplo uso na medicina tradicional, sendo as mais comuns: atividade anti-inflamatória (MARRERO et al., 2006), ação antibacteriana (MELCHOR et al., 2001), atividade antioxidante (SÁNCHEZ et al., 2006), tratamento contra úlceras gástricas (DE-FARIA et al., 2012) e também na cicatrização de feridas cutâneas (FERNANDEZ et al., 2002).

A composição química da *R. mangle* foi estudada qualitativamente por Sánchez et al. (1998) em plantas do mangue de Cuba e a presença dos compostos polifenólicos foi destacada (54,78%). A maioria destes compostos foram os taninos, representados em 80% por taninos poliméricos e em 20% por hidrolisáveis. Nestes últimos destaca-se a presença da epicatequina, catequina, ácido clorogênico, ácido gálico e ácido elágico. Os outros componentes incluem carboidratos (17,5%), ácidos graxos (4%), fitoesteróides (0,0285%) e compostos voláteis ou semivoláteis (0,0205%). Além dos taninos, outros compostos polifenólicos encontrados principalmente nas folhas da *R. mangle*, foram os flavonóides, representados principalmente pela quercetina (KANDIL et al., 2004).

De acordo com os dados levantados por Ferreira et al. (2011), a *R. mangle* apresentou potencial antibacteriano, tanto para cepas Gram-positivas quanto para Gram-negativas, dos extratos brutos da casca, folha e raiz de *R. mangle*, confirmando os relatos da família Rhizophoraceae como interessante fonte de constituintes antibacterianos. O extrato aquoso da casca de *R. mangle* e sua fração apresentaram atividade antioxidante, alcançada pela capacidade de eliminação observada contra radicais hidroxílicos e propriedades quelantes de ferro. As atividades de eliminação de oxigênio e ferro foram comparáveis, respectivamente, à de dimetilsulfóxido e mesilato de deferrioxamina. Estes resultados estão de acordo com os efeitos obtidos para outros extratos de plantas que contêm polifenóis (SÁNCHEZ et al., 2006).

De-Faria et al. (2012) confirmaram o efeito antiulcerogênico por meio de estudos em que mostrava elevação dos níveis de prostaglandina 2 (PGE₂), *up regulation* da cicloxigenase 2 (COX-2) e do fator de crescimento epidérmico (EGF), levando a um efeito antissecretório e também citoprotetor e cicatrizante da mucosa gástrica.

Quando comparada com o mercúrio-cromo, a *R. mangle* apresentou um melhor resultado no seu poder cicatrizante e antiséptico em feridas cirúrgicas (FERNANDEZ et al., 2002). O mesmo autor relata ainda a formação de uma película devido a interação de componentes da *R. mangle* com proteínas teciduais locais, levando a um isolamento desta ferida do meio ambiente e prevenindo infecção secundária, consequentemente acelerando o processo de cicatrização da ferida. Bandaranayake (2002) atribuiu essa formação de película aos taninos e polifenóis presentes no extrato da planta que interagem com estruturas peptídicas formando grandes aglomerados.

Estudos realizados por Araújo (2015) com o uso tópico de creme de extrato de folhas de *R. mangle* 5% apresentaram efeito significativo na cicatrização de feridas cutâneas cirúrgicas em ratos quando comparada com soro fisiológico e creme de dexpanthenol 5%. A autora demonstrou uma melhor taxa de reepitelização da ferida através da análise histomorfométrica da distância entre os epitélios nos ratos que usaram o creme de *R. mangle* 5% por 15 dias, quando comparados com o uso de Dexpanthenol creme 5% e soro fisiológico.

A toxicidade do extrato aquoso da *R. mangle* foi avaliada em estudo anterior e não demonstrou efeitos negativos sobre as células HeLa, demonstrando a biocompatibilidade do composto em estudo. (ARAÚJO, 2015).

2.9 Dexpantenol

O dexpantenol é um análogo alcóolico do ácido pantotênico comercializado mundialmente com um amplo uso na medicina convencional de forma tópica com benefícios: cicatrizante, hidratante e restaurador do trofismo mucocutâneo (STOZKOWSKA e PIEKOS, 2004; HEISE et al., 2012 e BIRO et al., 2003).

Quando aplicado topicamente é facilmente absorvido e rapidamente convertido enzimaticamente em ácido pantotênico, um componente da coenzima A. A coenzima A catalisa a síntese de ácidos graxos e esfingolípideos que são importantes para as camadas lipídicas do estrato córneo, levando a hidratação da pele. Portanto o ácido pantotênico é essencial para o epitélio para manter sua função fisiológica (PROKSCH e NISSEN, 2002).

Os mecanismos pelos quais o dexpantenol restaura e protege a função de barreira da pele não foram totalmente elucidados. À medida que as diferentes camadas da pele sofrem renovação contínua, os hidratantes fornecem um ambiente que promove processos fisiológicos, necessário para manter ou restaurar essa função de barreira. Além disso, essas substâncias aplicadas topicamente também podem penetrar mais profundamente na epiderme e interferir na produção de lipídios-barreira e na maturação dos corneócitos (LOD EN, 2016). De fato, sugeriu-se que o dexpantenol promove a regeneração epidérmica, aumentando a diferenciação epidérmica e a síntese lipídica (GIM ENEZ-ARNAU, 2016).

No processo de cicatrização de feridas, a remodelagem dos tecidos leva a uma maior necessidade de ácido pantotênico devido ao aumento do volume de renovação das células para reparação de feridas (WEIMANN e HERMANN, 1999). Foi sugerido que o efeito benéfico relatado do dexpantenol na cicatrização de feridas é o resultado do aumento da proliferação de fibroblastos e da epitelização acelerada, ambos os processos são importantes para a cura de feridas profundas e superficiais (OGUZ et al., 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar a eficácia do creme de *Rhizophora mangle* em cicatrização de segunda intenção de feridas cutâneas em pálpebra de seres humanos.

3.2 Específicos

- Caracterizar a população em estudo etnicamente através da medição da concentração da melanina na pele.
- Correlacionar alterações das respostas de cicatrização com o grau de hidratação na pele dos cremes de *R. mangle* (5%), dexpanthenol (5%) e placebo (veículo creme).
- Descrever aspectos macroscópicos das feridas de pálpebras superiores nos pacientes submetidos à lesão cirúrgica em cicatrização por segunda intenção tratados com cremes de *R. mangle* e de dexpanthenol.
- Analisar morfometricamente a área da cicatriz e calcular o grau de contração das feridas cirúrgicas com cicatrização por segunda intenção em grupos de pacientes submetidos ao tratamento utilizando cremes de dexpanthenol e *R. mangle*.
- Analisar histomorfometricamente a reepitelização nas feridas cirúrgicas de pálpebra superior em pacientes submetidos à lesão cirúrgica com cicatrização por segunda intenção tratados com cremes de *R. mangle* e dexpanthenol.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

Tratou-se de um estudo de intervenção (ensaio clínico), de não inferioridade, triplo cego, randomizado, sobre o efeito do creme de *R. mangle* na cicatrização de segunda intenção de feridas de pálpebra superior.

4.2 Local do estudo

Fundação Santa Luzia, Recife-PE, com a devida carta de anuência (Anexo A).

4.3 Amostra

Foi utilizada uma amostra por conveniência de dezoito pacientes, analisando ambas as pálpebras superiores, perfazendo um total de trinta e seis pálpebras.

4.4 Material vegetal

As folhas da espécie *Rhizophora mangle* foram coletadas no mangue da Ilha de Itamaracá às margens do canal de Santa Cruz e rio Paripi, em março de 2017, situado no litoral norte do Estado de Pernambuco, entre as coordenadas 07°48.716' latitude sul e 34°51.347' longitude oeste, sendo selecionadas folhas verdes de aparência vistosa, visualmente intactas, livres de danos mecânicos, pragas ou cor alterada. Uma exsicata do material botânico foi depositada no acervo do Herbário do Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e identificada sob o número UFP 69.655.

A coleta foi autorizada pela Companhia Pernambucana de Controle de Poluição Ambiental e Administração de Recursos Hídricos (CPRH) sob autorização CA DFRB N.120/2014 (Anexo B).

4.5 Obtenção de extrato aquoso das folhas de *Rhizophora mangle* e preparação do creme cicatrizante

O extrato foi preparado por infusão (40° C por 10 min) a partir de 500g de folhas frescas da espécie *Rhizophora mangle*. O material foi pesado, triturado e extraído com

água que foi removida em liofilizador. Em seguida, foi preparado extrato aquoso a 5% mediante a solubilização do pó liofilizado em água.

O creme contendo o extrato da *R. mangle* foi preparado mediante formulação abaixo descrita:

Constituintes:

EDTA	0,06%
Metilparabeno	0,01%
Propilparabeno	0,05%
Propilenoglicol	5,00%
Água destilada	q.s.p.
Cera Lanette	14,00%
Metabissulfito de sódio	1,00%
Extrato aquoso de <i>R. mangle</i>	5,00%

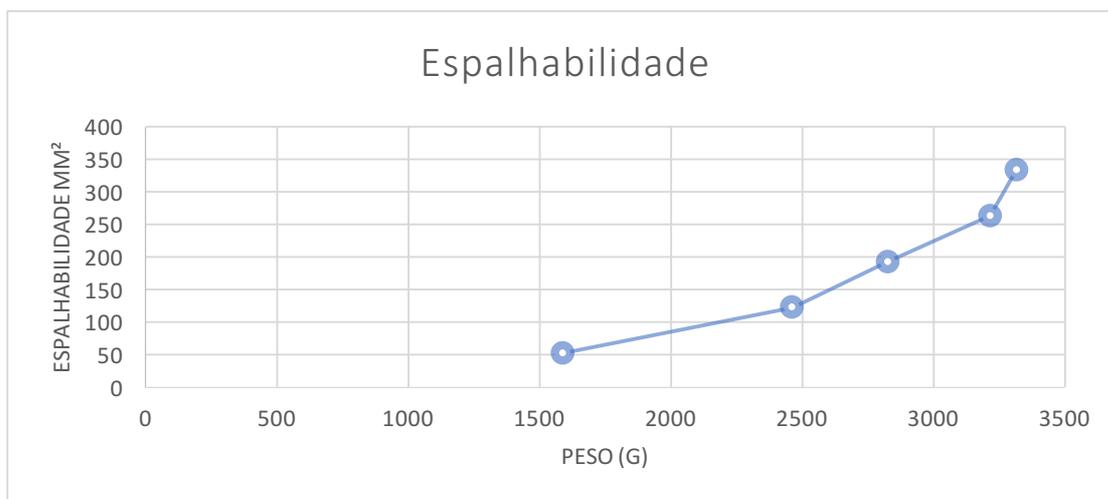
As fases oleosa e aquosa foram aquecidas separadamente, em temperatura entre 60-70°C. A fase aquosa foi em seguida vertida sob a oleosa e homogeneizada em Agitador Fisaton durante 30 minutos a uma velocidade entre 500 e 600 rpm. Durante o processo de resfriamento, foi incorporado o Extrato da *R.mangle*. Ao final da preparação, o produto emulsionado apresentou-se levemente amarelado, e foi submetido a análises de controle de qualidade descritas abaixo.

4.5.1 Avaliação das características organolépticas do creme de *R. mangle*

Determinação da espalhabilidade

Foi realizada pelo método adaptado de Borghetti & Knorst (2006). Em uma placa de vidro disposta sobre papel milimetrado, aplicou-se 0,5 g da formulação em avaliação e sobre cada uma delas foi colocada uma placa de vidro de peso conhecido. Após um minuto de espalhamento, o diâmetro foi aferido em posições opostas e o diâmetro médio calculado. Esse procedimento foi repetido até um total de 5 placas. Os resultados foram expressos em espalhabilidade da amostra em função do peso aplicado, de acordo com a equação abaixo, Figura 4.

Figura 4 – Gráfico de Espalhabilidade da formulação cremosa.



MÉDIA: 2780,799mm²

Determinação da viscosidade

Os valores de viscosidades da formulação foram verificados usando reômetro rotacional de cilindros concêntricos tipo Searle, MCR 301 (Anton Paar) e os dados foram plotados através do software Rheoplus (Anton Paar). Procederam-se às análises utilizando 15 gramas das amostras e spindle ASTM 7. Todas as medidas foram efetuadas a 25°C, sob rotação de 30 e 60 rpm.

Viscosidade

30 rpm (n=3)

13,00 Pa/s

60 rpm(n=3)

7,29 Pa/s

Estudo de estabilidade física por determinação do comportamento reológico

Para a avaliação da estabilidade física, as formulações foram preparadas 24 horas antes da primeira análise e acondicionadas em bisnagas de alumínio (30g), sendo então armazenadas a temperatura ambiente (25°C) e em estufa termostaticada a 45°C por um período de 30 dias.

Nos tempos 0 e 30 dias foram retiradas amostras das formulações que permaneceram por 24 horas em temperatura ambiente, para a determinação da viscosidade e do comportamento reológico (CAMARGO, 2006). O comportamento

reológico e valores de viscosidades da formulação foi visualizada usando reômetro rotacional de cilindros concêntricos tipo Searle, MCR 301 (Anton Paar) e os dados foram plotados através do software Rheoplus (Anton Paar).

Procederam-se às análises utilizando 15 gramas das amostras e *spindle* ASTM 7. Todas as medidas foram efetuadas a 25°C, utilizando velocidades de rotação, progressivamente maiores (10 – 100 rpm), para obtenção da curva ascendente. O procedimento foi repetido no sentido inverso com velocidades, progressivamente menores (100 – 10 rpm), para obtenção da curva descendente. Os gráficos obtidos relacionam valores de velocidade de cisalhamento (1/s) e valores de tensão de cisalhamento (N/m²). A viscosidade aparente de cada formulação foi verificada com velocidade de rotação do *spindle* a 30 rpm.

O estudo do comportamento reológico da formulação objeto de estudo foi avaliado por meio dos reogramas (Figura 5) e dos valores de viscosidade aparente (Tabela 3), obtidos ao longo do período de 30 dias.

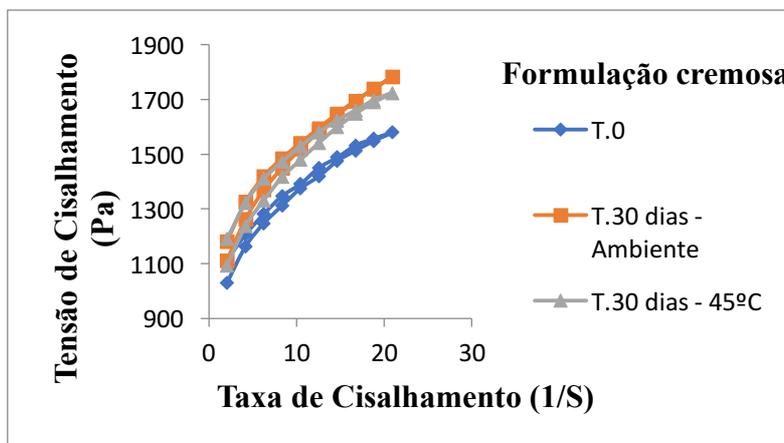
Tabela 3 – Valores médios da viscosidade aparente (Pa/s) da formulação nos tempos inicial e 30 dias sob duas diferentes condições de armazenamento.

	t ₀ ±DP (30 rpm)	30 dias a 25 °C± DP (30 rpm)	30 dias a 45°C ± DP (30 rpm)
Formulação cremosa	11,15 ±0,40	13,15 ±0,55	14,10±0,50

A manutenção da viscosidade frente ao armazenamento, principalmente na temperatura elevada (45 °C) indica boa estabilidade física da preparação no prazo estudado.

Pela análise dos reogramas obtidos da preparação avaliada, foi observado um comportamento pseudoplástico e tixotrópico, deformam-se durante a aplicação tornando-se mais fluidos, facilitando o espalhamento e recuperando a viscosidade inicial no momento em que encerra a aplicação, evitando que o creme escorra sobre a pele (AULTON, 2005). No mais, o produto tixotrópico tende a ter maior vida de prateleira (“shelf-life”), pois durante o armazenamento, este apresenta viscosidade constante, o que dificulta a separação dos constituintes da formulação (CORREA *et al.*, 2005).

Figura 5 – Gráfico da tensão de cisalhamento x taxa de cisalhamento da formulação cremosa da *R.mangle*.



A coloração final do creme de *R. mangle* era branco-creme como mostra a Figura 6.

Figura 6 – Aspecto e cor do creme do extrato aquoso da *R. mangle*.



Fonte: Próprio autor

Foram realizados testes de segurança para uso do creme próximo ao olho, o qual não apresentou irritação ou dano ocular.

4.6 Ensaio clínico

4.6.1 Critérios de inclusão e exclusão

A captação dos voluntários preencheu critérios preestabelecidos de inclusão e exclusão ao estudo, sendo os de exclusão a ocorrência de processo infeccioso no local, diagnóstico prévio de câncer de qualquer tipo etiológico, doença renal, doença hepática, doença hematológica, doenças imunes, diabetes mellitus, idade menor que 18 anos ou maior que 65 anos ou cujo valor numérico do Índice de Massa Corpórea

(IMC) evidenciasse peso fora da normalidade, com valor abaixo de 18,5 ou acima de 24,9 segundo a Organização Mundial de Saúde. Não poderiam estar fazendo uso de corticosteróides ou imunossupressores.

Foram selecionados os pacientes com diagnóstico de blefarocálaze (excesso de pele da pálpebra relacionado ao envelhecimento) que iriam se submeter à cirurgia de blefaroplastia superior (retirada do excesso de pele da pálpebra) na Fundação Santa Luzia, Recife-PE, com a devida carta de anuência, sendo incluídos todos aqueles que não tivessem preenchido quaisquer critérios excludentes, que tinham sido liberados para cirurgia pelos exames pré-operatórios de hemograma, coagulograma, glicemia de jejum, parecer cardiológico favorável e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

4.6.2 Randomização e Cegamento

A randomização foi realizada por sorteio pela secretária da Fundação Santa Luzia, registrada em documento do Word. Essa mesma secretária realizava a entrega dos cremes sem identificação externa aparente que pudesse ser percebida pelos pacientes. Os pesquisadores e o estatístico não tinham acesso a esse documento de randomização (triplo cego).

4.6.3 Medição da concentração de melanina na pele

Foi realizada a medição da concentração de melanina na pele do antebraço esquerdo (face anterior) com o equipamento Spectrophotometer CM-700d da Konica Minolta, realizando a média de três diferentes avaliações, Figura 7.

Figura 7 – Medição da concentração da melanina no antebraço.



Fonte: Próprio autor

4.6.4 Avaliação do efeito hidratante na pele humana

Os experimentos foram realizados em sala climatizada, com temperatura ambiente de $22,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar de $50 \pm 5\%$. As medidas de hidratação, expressas em unidades corneométricas, através da metodologia de capacitância, que se baseia na variação da constante dielétrica da água, onde foram obtidas com o equipamento Corneometer® (Kourage&Khazaka), Figura 8.

A unidade de medida que o equipamento fornece os resultados é em unidades arbitrárias (UA, onde 1 UA equivale aproximadamente a 0,2 - 0,9 mg de água por grama de estrato córneo).

Figura 8 – Equipamento corneometer Kourage&Khazaka.



Fonte: Próprio autor

O poder hidratante do creme de *Rhizophora mangle* 5% foi comparado com o creme de dexpanthenol e um creme veículo (mesmo usado na preparação do creme de *R. mangle* 5%). Para a realização do estudo, foi escolhida a porção inferior média dos antebraços dos pacientes que se submeteram ao estudo, onde foram efetuadas 10 medições em cada região, Figura 9. Posteriormente foi calculada a média dos valores obtidos.

Figura 9 – Esquema de colocação dos cremes no antebraço para medição da hidratação.



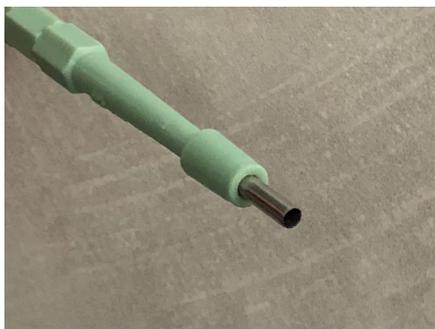
Fonte: Próprio autor

4.6.5 Realização da ferida cirúrgica e obtenção do material para estudo histológico

O estudo dispôs de 18 pacientes, sendo utilizadas as pálpebras superiores de ambos os olhos (36 pálpebras), as quais foram divididas em 2 grupos (grupo A- padrão e grupo B- intervenção) compostos por 18 pálpebras cada um, dentre os quais foram distribuídas ao acaso.

Foi realizada infiltração anestésica subcutânea de xylocaína a 2% com epinefrina 1:200.000 com posterior incisão cirúrgica com punch dermatológico (lâmina circular cortante acoplada a haste plástica) de 3 mm de diâmetro (Figura 10) na pálpebra superior, logo acima do sulco palpebral superior na região médio-pupilar, com exérese da pele (epiderme e derme) sem atingir o músculo orbicular.

Figura 10 - Punch dermatológico de 3 mm.



Fonte – Próprio autor

Feita compressão da área com gaze estéril até a completa parada do sangramento (Figura 11) e logo após curativo com gaze estéril e fita de micropore.

Figura 11 – Aspecto final da ferida após confecção cirúrgica.



Fonte: Próprio autor

O grupo A fez uso de creme a base de dexpanthenol 5% (Bepantol®), enquanto no grupo B foi empregado o creme a 5% do extrato aquoso das folhas de *Rhizophora mangle* durante 07 dias. A aplicação foi realizada 2x ao dia, num regime de administração a cada 12 horas, feita pelo próprio paciente em domicílio.

Foi deixado cicatrizar por segunda intenção e ao completar o 7º dia de utilização do creme, o paciente foi submetido à análise morfométrica e clínica da ferida.

4.6.6 Análise clínica macroscópica e avaliação morfométrica da ferida

A análise clínica da ferida foi realizada a partir de exame do aspecto da ferida e de registros fotográficos, de modo a incrementar essa avaliação. Era avaliada presença de solução de continuidade da pele, sinais inflamatórios, secreção, infecção, sangramento, crostas, sinais de cicatriz hipertrófica e quelóide.

Foi efetuada medição do comprimento e da largura da cicatriz para o aprofundamento detalhado da análise morfométrica através do uso do Paquímetro.

4.6.7 Cirurgia de blefaroplastia

Iniciou-se a marcação na pálpebra superior com caneta de retroprojektor, onde seria feito a incisão da pele, englobando toda a cicatriz a ser estudada e a mesma recebendo uma marcação retangular respeitando 2 mm de margem de segurança, Figura 12.

Figura 12 – Marcação da pele para exérese na cirurgia de blefaroplastia.



Fonte: Próprio autor.

Realizou-se a infiltração anestésica com xylocaina 2% com vasoconstrictor 1:200.000, e após 5 minutos foi feita a incisão da pele com lâmina de bisturi nº 15 em plano total da derme e posterior exérese de pele com tesoura westcot. Feito a

separação do retângulo de pele da área de cicatriz a ser estudada. Os mesmos foram fixados em solução tamponada de formaldeído a 10% e armazenado em um pote para biópsia, sendo enviados para confecção das preparações histológicas e análise histomorfométrica, Figura 13.

Figura 13 – Retirada e preparação da pele com área cicatrizada para estudos.



Fonte: Próprio autor.

Procedeu-se a cauterização da ferida para parar sangramento e sutura da pele com fio nylon 6-0. Colocação de micropore em toda ferida para proteção.

4.6.8 Confecção das preparações histológicas e análise histomorfométrica

Após a fixação dos espécimes retirados, as amostras foram encaminhadas para processamento em padrão convencional de técnica histológica para microscopia de luz, com inclusão em parafina. Cortes seriados de 5 μ m foram corados por Hematoxilina e Eosina (HE), montados com “entellan” e observados em microscópio óptico.

As secções histológicas selecionadas foram visualizadas em um scanner de lâminas (3DHISTECH) para captura de imagens. Para a avaliação da reepitelização, as distâncias não epitelizadas das feridas foram mensuradas com o programa Panoramic Viewer, com aumento de 2x, nas amostras coletadas de cada paciente. Dessa forma, foram adquiridos 4 campos por preparação sob o aumento de 40x e quantificados através do software ImageJ 1.48.

4.7 Análise Estatística

Os dados da pesquisa foram expressos através de média e desvio padrão e no caso de desvio padrão superior ao valor da média foi apresentado: média, erro padrão, mediana e percentis 25 e 75. Para a comparação entre os grupos foi utilizado teste t-Student com variâncias iguais, t-Student com variâncias desiguais ou Mann-Whitney e na comparação entre as avaliações foi utilizado o teste t-Student pareado. Na comparação entre os três grupos foi utilizado F (ANOVA). No caso de diferença significativa pelo teste F (ANOVA) foram utilizados testes de comparações múltiplas de Tukey.

A escolha dos testes t-Student, F (ANOVA) e t-Student pareado ocorreram nas situações em que foi verificada a hipótese de normalidade dos dados e teste de Mann-Whitney nas situações em que houve a rejeição da hipótese de normalidade.

A normalidade dos dados foi realizada através do teste de Shapiro-Wilk e a igualdade de variâncias foi através do teste F de Levene. A margem de erro utilizada na decisão dos testes estatísticos foi de 5%.

O programa utilizado para digitação dos dados e a obtenção dos cálculos estatísticos foi o IMB SPSS na versão 23.

4.8 Aspectos bioéticos

Os métodos utilizados neste estudo, aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) da UFPE com processo de número 69849417.6.0000.5208-CAE (Anexo C) e registrado no Registro Brasileiro de Ensaios clínicos (REBEC) com o processo RBR-37HRF2, seguem as Diretrizes éticas internacionais (Declaração de Helsinque, Diretrizes Internacionais para Pesquisas Biomédicas envolvendo Seres Humanos – CIOMS) e brasileiras (Res. CNS 466/12 e complementares).

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização étnica da população

A população foi caracterizada etnicamente através da medida da concentração de melanina na pele.

Na Tabela 4 se apresenta os resultados das variáveis sexo, idade e melanina segundo o grupo. Desta tabela se destaca que: com exceção de um paciente do grupo *R. Mangle* do sexo feminino todos os demais pacientes eram do sexo feminino; a média da idade foi aproximadamente 3,5 anos mais elevada no grupo Dexpantenol do que *R. Mangle* (57,89 x 54,44 anos); a média da concentração de melanina teve valor 0,54 mais elevado no grupo *R. Mangle* (12,18 x 11,64), entretanto não foram registradas diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$) em nenhuma das variáveis analisadas. Essa medida da concentração de melanina na pele foi correlacionada com a classificação dos tipos de pele de Fitzpatrick como mostra a Tabela 5.

Tabela 4 – Características da amostra pesquisada por grupo.

Variável	Grupo		Valor de p
	R. Mangle (n = 9)	Dexpantenol (n = 9)	
Sexo: n (%)			p (1) = 1,000
Masculino	1 (11,1)	-	
Feminino	8 (88,9)	9 (100,0%)	
Idade: média ± DP	54,44 ± 8,40	57,89 ± 6,88	p ⁽²⁾ = 0,355
Concentração de Melanina: média ± DP	12,18 ± 2,82	11,64 ± 2,93	p ⁽²⁾ = 0,694

(1) Através do teste Exato de Fisher

(2) Através do teste t-Student com variâncias iguais.

Tabela 5 – Correlação da medida da melanina na pele ($\mu\text{g}/\text{mg}$) com a classificação dos tipos de pele de Fitzpatrick.

PACIENTE	GRUPO	MELANINA	FITZPATRICK
1	<i>R. mangle</i>	11,66	4
2	<i>R. mangle</i>	14,42	4.6-6
3	<i>R. mangle</i>	14,25	4.6-6
4	<i>R. mangle</i>	8,61	3 e 3.5
5	<i>R. mangle</i>	15,79	4.6-6
6	Dexpantenol	8,96	3 e 3.5
7	Dexpantenol	11,01	4
8	Dexpantenol	10,19	4
9	Dexpantenol	9,72	4
10	<i>R. mangle</i>	7,73	3 e 3.5
11	Dexpantenol	18,07	4.6-6
12	<i>R. mangle</i>	12,95	4.6-6
13	Dexpantenol	9,06	4
14	Dexpantenol	11,31	4
15	Dexpantenol	12,12	4.6-6
16	Dexpantenol	14,31	4.6-6
17	<i>R. mangle</i>	10,13	4
18	<i>R. mangle</i>	14,10	4.6-6

5.2 Grau de hidratação na pele

A Tabela 6 mostra a média e desvio padrão do valor da hidratação cutânea. No período anterior à aplicação dos cremes, as médias variaram de 43,82 a 45,89 e no pós variaram de 52,62 a 67,40, sendo menos elevada no grupo do creme Placebo ($52,62 \pm 14,76$), valor intermediário no grupo do creme de *R. mangle* ($62,12 \pm 16,60$) e mais elevada no grupo do Dexpantenol ($67,40 \pm 9,60$). No período pós-aplicação, o grupo dexpantenol apresentou diferença significativa em relação ao grupo placebo, enquanto que o grupo de *R. mangle* não apresentou diferença significativa com relação aos grupos dexpantenol e placebo. Com relação à diferença entre os períodos pré e pós aplicação, os grupos *R. mangle* e Dexpantenol apresentaram diferenças

significativas em relação ao grupo placebo. Porém entre os grupos *R. mangle* e Dexpantenol não houve diferença significativa.

Tabela 6 – Valores de hidratação pré e pós aplicação dos cremes de *R. mangle* 5%, Dexpantenol 5% e Placebo.

Avaliação	<i>R. mangle</i> (n = 18) Média ± DP	Dexpantenol (n = 18) Média ± DP	Placebo (n = 18) Média ± DP	Valor de p
Pré-aplicação	43,93 ± 10,14	43,82 ± 10,19	45,89 ± 10,44	p ⁽¹⁾ = 0,794
Pós-aplicação	62,12 ± 16,60 (AB)	67,40 ± 9,60 (A)	52,62 ± 14,76 (B)	p ⁽¹⁾ = 0,009*
Diferença pós - pré	18,19 ± 14,35 (A)	23,57 ± 8,56 (A)	6,73 ± 16,61 (B)	p ⁽²⁾ = 0,002*
Valor de p	p ⁽²⁾ < 0,001*	p ⁽²⁾ < 0,001*	p ⁽²⁾ = 0,104	

(*) Diferença significativa a 5%

(1) Através do teste F (ANOVA) com comparações múltiplas de Tukey

(2) Através do teste t-Student pareado.

OBS. As letras distintas entre parênteses apontam diferenças significativas entre as aplicações correspondentes.

5.3 Descrição dos aspectos clínicos macroscópicos das feridas

Houve uma uniformidade dos aspectos macroscópicos das feridas apresentados em todas as 36 pálpebras estudadas dos grupos padrão e tratado após 7 dias de utilização dos cremes de Dexpantenol 5% e *R. mangle* 5% na ferida operatória. As mesmas se encontravam secas, sem sinais inflamatórios ou secreção, livres de infecção ou sangramento. A área cicatrizada não continha crostas ou solução de continuidade da pele, como mostra a Figura 14. Não foram observados sinais de cicatrização hipertrófica ou quelóide.

Figura 14 - Aspecto macroscópico da área cicatrizada da ferida de pálpebra superior.



Fonte: Próprio autor

5.4 Análise morfométrica da área da cicatriz

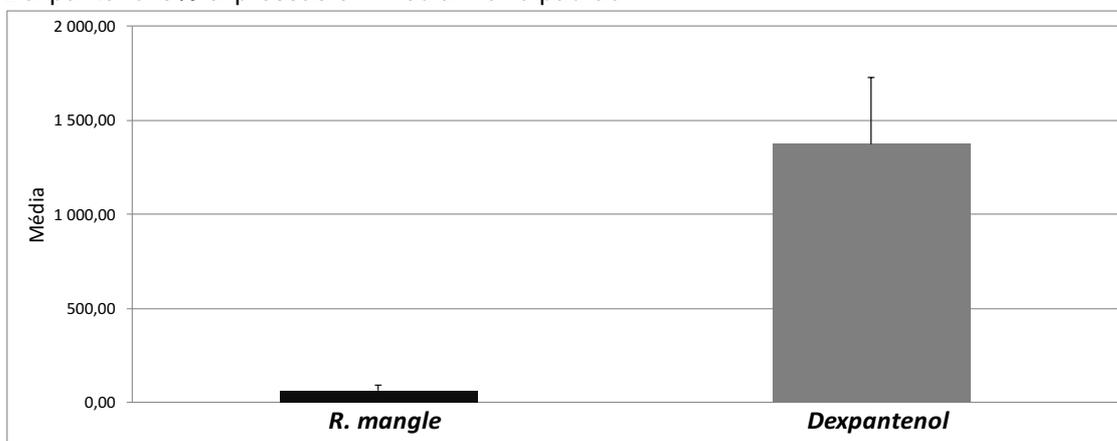
A medida da áreas das feridas após 7 dias de utilização dos cremes de Dexpanthenol e *R. mangle* nas feridas operatórias foi de zero mm² em todas as 36 pálpebras estudadas (18 pacientes).

5.5 Análise histomorfométrica da área da cicatriz

Dos 18 pacientes tratados com Dexpanthenol e *R. mangle* 6 pacientes apresentaram reepitelização completa, sendo 5 pacientes do grupo da *R. mangle* e 1 do grupo do Dexpanthenol.

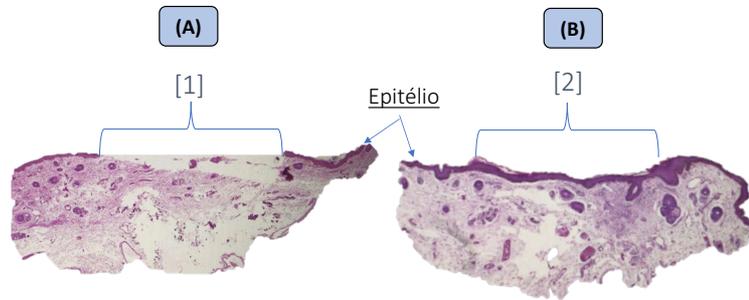
O estudo histomorfométrico demonstrou distância entre os epitélios mais baixas no grupo do creme de *R. mangle* 5% (61,27) e valores mais altos no grupo do creme de Dexpanthenol 5% (1374,27), sendo verificada diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$), como demonstra a Figura 15.

Figura 15– Distâncias entre os epitélios após 7 dias de utilização dos cremes de *R. mangle* 5% e Dexpanthenol 5% expressas em média + erro padrão.



A Figura 16 mostra seções de pele da área da cicatriz de pele da pálpebra superior dos grupos dexpanthenol (A) e *R. mangle* (B) coradas em HE.

Figura 16 - Secções histológicas de pele da área de cicatriz de ferida da pálpebra superior mostrando grupo com dexpanthenol (A) e com *R. mangle* (B). As imagens mostram o grau de reepitelização após 7 dias de tratamento: [1] distância entre os epitélios e [2] reepitelização total. Coloração HE. Aumento 2x.



Fonte: Próprio autor

6 DISCUSSÃO

6.1 Caracterização étnica da população

É importante a caracterização da população de acordo com a concentração de melanina na pele visto a possibilidade de identificar as possíveis variações de resposta da cicatrização de pele em populações com diferentes cargas genéticas.

Deu-se preferência a medida da concentração da melanina na pele, já que a classificação de Fitzpatrick (FITZPATRICK, 1988) foi desenvolvida para definir a resposta de tipos diferentes de pele à luz UV, através de queimaduras ou de bronzeamento mas nunca pretendeu definir a etnicidade (ALCHORNE, 2008). Fitzpatrick e Mosher (1983) classificaram a cor da pele como construtiva (controlada por fatores genéticos que fornecem características específicas aos melanossomas através dos genes de pigmentação) ou facultativa (dependendo da exposição solar, influências hormonais e grau de envelhecimento), mostrando a dificuldade de usar a cor da pele para estudos científicos. No entanto, fizemos a correlação entre as duas para se ter um comparativo clínico.

A população do estudo obteve uma grande variação de valores da concentração de melanina na pele, a qual leva a englobar nesse estudo a etnia mixigenada da população brasileira, sendo a mesma importante para identificar alterações ou complicações na ferida devido a respostas de cicatrização diferentes em relação a essa concentração de melanina. Estudos de Smith et al (2008) mostraram cicatrizes hipertróficas ou quelóides em pacientes com maior concentração de melanina na pele (fitzpatrick 5 a 6), devido a respostas exarcebadas de proliferação de fibroblastos e excessiva formação de matriz extracelular. Porém, não esperadas alterações no tempo de cicatrização em relação à essa concentração de melanina (ROSSI et al, 2011).

Luo et al (2013) demonstraram que pessoas de cabelos ruivos apresentam o gene responsável MC1R (melanocortin 1 receptor) e sua ativação exerce ações antagônicas sobre as respostas inflamatórias cutâneas e fibrogênicas, diminuindo a chance de cicatrizes hipertróficas e queloides (LUO et al, 2013). No entanto, na população deste estudo não foram identificados pacientes de cabelos ruivos ou também dos fototipos 1 a 2.

6.2 Grau de hidratação na pele

A avaliação do grau de hidratação da pele no antebraço mostrou que os cremes de *R. mangle* e Dexpanthenol se mostraram com efeito de hidratação da pele, fato que não foi demonstrado com o uso do creme Placebo que era o mesmo veículo creme usado para constituir o Creme de *R. mangle*.

Proksch e Nissen (2002) estudando o poder de hidratação da pele do creme de Dexpanthenol quando aplicado topicamente mostrou que é facilmente absorvido e rapidamente convertido enzimaticamente em ácido pantotênico, um componente da coenzima A. Essa coenzima catalisa a síntese de ácidos graxos e esfingolípídeos que são importantes para as camadas lipídicas do estrato córneo, levando a hidratação da pele, mantendo a função fisiológica da pele.

No entanto, não houve diferença significativa na hidratação da pele entre os cremes de *R. mangle* ($62,12 \pm 16,60$) e Dexpanthenol ($67,40 \pm 9,60$) na avaliação pós aplicação. Esses cremes demonstraram portanto efeitos semelhantes na hidratação da pele.

O aumento da hidratação da pele atingido pelo uso tópico do creme da *R. mangle* pode ser explicado pelos seus compostos de polifenóis e taninos que levam a efeitos antioxidante e sequestrador de radicais livres (OKUDA, 2005) assim como também pela formação de uma película devido a interação de componentes da *R. mangle* com proteínas teciduais locais, levando a um isolamento desta ferida do meio ambiente e conseqüentemente a um efeito de câmara úmida (FERNANDEZ et al., 2002).

Estudos realizados desde 1960 vem demonstrando que a hidratação do local de ferida é importante para a cicatrização da mesma, já que feridas expostas ao ar e deixadas a secar cicatrizam mais lentamente quando comparadas com feridas úmidas (DYSON, et al., 1988; BEAM, 2008). Essa ferida hidratada teria aumentada a taxa de reepitelização da ferida (EAGLSTEIN, 2001; WIGGER-ALBERTI et al., 2009), promoveria respostas de cicatrização do leito derme/ferida como proliferação celular e síntese de matriz extra-celular (SVENSJO, et al., 2000; KORTING, et al., 2011), iria reter fatores de crescimento no sítio da ferida (HACKL, et al., 2014; POWERS, et al., 2013) e diminuiria a taxa de infecção de ferida (LAWRENCE, 1994; KANNON, et al., 1995),

6.3 Aspectos clínicos macroscópicos das feridas

Araújo et al. (2015), obtiveram resultados semelhantes em estudos de feridas cirúrgicas de ratos no 15º dia após o uso do creme de *R. mangle* 5% e Dexpantenol, que se apresentavam sem sinais inflamatórios, crostas ou infecção.

Um dos mecanismos que corrobora para esse resultado é o efeito de película protetora que o creme da *R. mangle* apresenta devido possuir taninos e polifenóis em sua composição (BANDARANAYAKE, 2002) que interagem com estruturas peptídicas formando grandes aglomerados (FERNANDEZ et al, 2002), esses são complexos formados por taninos não hidrolisáveis com proteínas, isolando e protegendo a ferida do meio ambiente (CHEN et al, 1994). Assim também, Perera et al (2010), estudando o extrato da *R. mangle* em úlceras gástricas, verificou a presença de uma camada aderente espessa à mucosa que funcionava como uma barreira física protetora e consequentemente anti-ulcerogênica.

A atividade anti-bacteriana da *R. mangle* é um outro efeito que leva a manutenção das feridas livres de infecção. Ferreira et al (2011) levantaram dados em que a *R. mangle* apresentou potencial antibacteriano, tanto para cepas Gram-positivas quanto para Gram-negativas, confirmando estudos que colocavam a família da Rhizophora como pertencente de propriedades antibacterianas. Essas propriedades foram atribuídas à *R. mangle* devido a sua composição de polifenóis (MELCHOR et al, 2001). Ofori-Kwakye et al. (2011) atribuiu propriedades antimicrobianas e antioxidantes aos taninos e flavonoides.

O efeito antimicrobiano exibido pelo extrato impede a formação de toxinas microbianas, que tendem a inibir a regeneração de células, enquanto que a sua ação antioxidante remove o excesso de proteases e espécies reativas de oxigênio das feridas e protege os inibidores da protease do dano oxidativo (HOUGHTON et al., 2005).

Vale salientar a importância do bom aspecto das feridas em relação a ausência de sinais de hipertrofia de ferida ou quelóide já que na população do estudo, já caracterizada anteriormente, havia exemplos de pessoas de pele negra (classificação de Fitzpatrick), onde poderia se esperar respostas exacerbadas de proliferação de fibroblastos com excessiva formação de matriz extracelular e consequentemente cicatrizes hipertróficas ou até mesmo quelóides (SMITH et al, 2008).

6.4 Análise morfométrica da área da cicatriz

A análise do tamanho da ferida chama a atenção para o potencial de fechamento de ferida dos cremes de *R. mangle* e Dexpantenol. Esses resultados vão de acordo aos encontrados por Sánchez et al (2009) que realizaram estudos pré-clínicos em ratos com feridas cutâneas abertas em uso do extrato da *R. mangle*, e encontraram uma redução no tamanho das feridas no 7º dia de pós-operatório. Resultados semelhantes também foram obtidos por Araújo et al. (2015), quando avaliando feridas cirúrgicas em ratos no 10º dia após o uso de creme de *R. mangle* 5%, Dexpantenol 5% e Soro Fisiológico 0,9%, mostraram uma redução do tamanho da ferida e contração da mesma semelhantes nos grupos da *R. mangle* e Dexpantenol porém superior quando comparados ao grupo do Soro Fisiológico.

A ferida estudada neste trabalho foi a aberta que se apresenta com uma perda excessiva de tecido sem a presença de infecção. Neste tipo de cicatrização a aproximação primária das bordas não é possível. As feridas são deixadas abertas e se fecharão por meio de contração e epitelização (TAZIMA et al, 2008). A contração torna-se um aspecto importante nas feridas abertas, e a epitelização assume um papel proeminente (COELHO et al, 1999). Os dois processos parecem ser independentes, sendo uma finalidade da contração a de diminuir o tamanho da ferida e com isso levar a uma menor área para epitelização (MADDEN & AREM, 1991).

Bueno et al (2014) reforçou que os taninos influenciam na fisiologia das células da pele através das suas propriedades farmacológicas, aumentando a proliferação celular e com isso também o número de fibroblastos. Neste estágio, fibroblastos são responsáveis pela produção de colágeno, fibronectina, hialuronato, glicosaminoglicanos e proteoglicanos que são os maiores constituintes da matriz extracelular e conferem força de tensão à pele (ENOCH et al, 2007).

Taninos também, através de suas propriedades adstringentes e antimicrobianas, parecem ser responsáveis pela contração da ferida (TSUCHIYA et al, 1996). Essa contração depende do fator regeneração celular que estaria melhorado pelo efeito antimicrobiano, o qual impede a formação de toxinas microbianas que iriam danificar o processo (HOUGHTON et al., 2005).

A contração da ferida é favorecida nos locais onde a pele é mais frouxa e móvel (RAMSEY et al., 1995), como é o caso do tecido usado no estudo que foi a pele da pálpebra superior, facilitando este efeito.

6.5 Análise histomorfométrica da área da cicatriz

A análise histomorfométrica mostrou o poder de reepitelização da ferida do creme de *R. mangle*. Resultados semelhantes foram encontrados por Araújo et al. (2015) em feridas abertas de ratos quando no 15º dia de uso de cremes evidenciaram uma completa epitelização da ferida (através da medida da distância entre os epitélios) em todos os animais tratados com o creme *R. mangle* 5% ($0,00 \pm 0,00$), porém não com os demais grupos de Dexpanthenol 5% ($1,26 \pm 0,77$) e soro fisiológico 0,9% ($2,45 \pm 0,62$), com significância estatística. Estes resultados sugerem que o EAF da *R. mangle* é eficaz na epitelização da ferida, corroborando com os estudos científicos que sugerem que o extrato desta planta possui efeitos cicatrizantes. (PERERA et al., 2001 e FERNANDEZ et al, 2002).

O epitélio é importante devido a sua principal função, que é proteger a pele contra perigos ambientais e ameaças potencialmente perigosas (antimicrobianas, inatas), proporcionando barreiras imunológicas, físicas, químicas, bioquímicas e adaptativas (RANDALL et al., 2006).

O mecanismo de epitelização da pele assume papel proeminente na cicatrização de feridas por segunda intenção quando comparadas com as feridas com cicatrização por primeira intenção, devido ao fato de que a perda de tecido na cicatrização por segunda intenção impõe a necessidade de uma importante contração da ferida e epitelização da mesma para se conseguir fecha-la (COELHO et al, 1999). Seguida à lesão da pele, depois que o sangramento e a inflamação são controlados, células epiteliais migram até a região lesada, levando a crescimento de capilares, síntese de colágeno e formação de novo tecido. Epitelização envolve keratinócitos pela migração e proliferação das margens da ferida e por diferenciação de células tronco dos bulbos pilosos restantes (PARK et al, 2012).

Estudos fitoquímicos de extratos do caule da *R. mangle* L. evidenciaram a presença de taninos (DE- FARIA et al., 2012). Esses compostos presentes na formulação fitoquímica da *R. mangle* parecem ser os responsáveis pelos mecanismos de reepitelização da pele (TSUCHYIA et al, 1996). Estudos realizados por Bueno et al (2014) ajudaram a reforçar a tese de que os taninos aumentam a proliferação celular através das suas propriedades farmacológicas. Tsuchyia et al (1996) atribuíram o aumento da taxa de epitelização da ferida aos efeitos adstringentes e antimicrobianos dos taninos. Uma hipótese é que a ação antibacteriana dos taninos diminua o risco de

infecção de ferida, evitando o retardo da cicatrização. Melchor et al. (2001) estudaram o extrato aquoso do caule da *R. mangle* L. demonstrando propriedades antibacterianas atribuindo a ação aos constituintes polifenólicos presentes no extrato.

O tanino também foi sugerido como responsável pelo efeito citoprotetor da *R. mangle* em lesões ulcerosas de mucosa gástrica quando ofertada antes da ingestão de solução com ácido clorídrico e etanol em ratos *Wistar*, evidenciando lesões ulcerosas em menor quantidade e de menor tamanho no grupo que recebeu as maiores concentrações do extrato de *R. mangle* em comparação com os grupos que receberam cimetidina e água destilada (PERERA et al., 2001).

6.6 Limitações do estudo

Limitações desse estudo são aquelas inerentes a um tamanho de amostra pequeno. Foi realizada uma amostra de conveniência, devido ao limitado número de cirurgias no serviço no período do estudo. Nossos achados devem ser confirmados e expandidos com ensaios clínicos futuros.

Relata-se a ausência de um terceiro grupo (placebo). Este seria importante para averiguar se o tamanho de 3 mm e o tempo inicial da ferida foram adequados para se ter diferenças entre os grupos em relação a morfometria e análise clínica da ferida. Entretanto, o não tratamento de feridas cutâneas estaria relacionado com possíveis danos e complicações.

6.7 Considerações finais

Nesse estudo foi avaliado o extrato da folha ao invés do caule da *R. mangle*. Estudos com o extrato do caule foram mais frequentemente encontrados na literatura em relação ao efeito cicatrizante. A referida escolha foi proposital, considerando que as folhas são mais acessíveis para coleta e conseqüentemente para uso na medicina popular, seja através de infusões e/ou macerados (MEDEIROS et al, 2004). Desta forma, se está estimulando tanto a medicina tradicional quanto novos estudos em relação a utilização das folhas da planta.

Ressalta-se a importância da inclusão do estudo histomorfométrico através da análise da distância entre os epitélios para definir o potencial cicatrizante, já que pode

ser um parâmetro adicional quando a análise clínica e morfométrica da ferida se mostram incapazes de demonstrar diferenças que possam ser avaliadas e comparadas.

Baseados nestes resultados, sugere-se que este produto seja utilizado como terapêutica complementar para cicatrização de feridas agudas e crônicas de pele, por ser seguro e eficaz no processo de cicatrização.

7 CONCLUSÃO

- A população do estudo englobou a etnia mixigenada do Brasil com uma grande variação da concentração de melanina da pele.
- O creme de *R. mangle* 5% apresentou poder de hidratação da pele com diferença significativa em relação ao creme placebo (veículo) mas sem diferença significativa em relação ao creme de Dexpantenol 5%.
- Os cremes de *R. mangle* e Dexpantenol se mostraram similares em manter a ferida cutânea de pálpebra superior com bom aspecto macroscópico, sem sinais inflamatórios e livres de infecção.
- Houve equivalência dos cremes de *R. mangle* e Dexpantenol no fechamento da ferida cutânea de pálpebra superior com uma contração de ferida de 100%.
- Uso tópico do creme do extrato aquoso da *R. mangle* apresenta efeito significativo na reepitelização de feridas cutâneas de pálpebras superiores quando comparado com o uso tópico do creme de Dexpantenol.

REFERÊNCIAS

- ABU-AL-BASAL, M.A. Healing potential of *Rosmarinus officinalis* L. on full-thickness excision cutaneous wounds in alloxan-induced-diabetic BALB/c mice. **Journal of Ethnopharmacology**. 131: 443, 2010.
- ALCHORNE, M. M. A.; ABREU, M. A. M. M. Dermatologia na pele negra. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 1, p. 7-20, jan./fev. 2008.
- ALONSO, J.R.. **Tratado de Fitomedicina - bases clínicas y farmacológicas**. ISIS Ediciones S. R. L., Buenos Aires, Argentina. p. 350-354, 1998.
- ALVES, C.F. et al. Anti-inflammatory activity and possible mechanism of extract from *Mikania laevigata* in carrageenan-induced peritonitis. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.61, n.8, p.1097-104, 2009.
- ARAÚJO, L.U. et al. Profile of wound healing process induced by al- lantoin. **Acta Cirurgica Brasileira**, 2010;25:460–466.
- ARAÚJO, L.U. et al. In vivo wound healing effects of *Symphytum officinale* L. leaves extract in different topical formulations. **Pharmazie**, 2012;67:355–360.
- ARAÚJO, Jessica Guido. **Cicatrização de feridas através de tratamento tópico com creme de extrato de folhas de *Rhizophora mangle* L.** 2015. p. Dissertação (Mestrado - área de concentração em pesquisa translacional) - Centro de ciências da Saúde. Universidade Federal de Pernambuco. Recife.
- BANDARANAYAKE, W.M. Traditional and medicinal uses of mangroves. **Mangroves and Salt Marshes**, v. 2, n.3, p. 133–148, 1998.
- BANDARANAYAKE, W.M. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. **Wetlands Ecology and Management**, v.10, p.421-52, 2002.
- BARROS, H.M. et al. **Gerenciamento participativo de estuários e manguezais**. Recife: Ed. Universitária da UFPE, p. 240, 2000.
- BEAM, J.W. Occlusive dressings and the healing of standardized abrasions. **J Athl Train**. 43: 6, 600–607, 2008.
- BERENQUER, B. et al. Protective and antioxidant effects of *Rhizophora mangle* L. against NSAID-induced gastric ulcers. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 194–200, 2006.
- BIRO, K. et al. (2003) Efficacy of dexpanthenol in skin protection against irritation: a double-blind, placebo-controlled study. **Contact Dermatitis**, 49, 80–84
- BJARNSHOLT, T. et al. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. **Wound Repair and Regeneration**, 2008;16(1):2-10.

BRAGA, F. et al. Oleonic acid inhibits the activity of the multidrug resistance protein ABCB1 (MRP1) but not of the ABCB1 (P-glycoprotein): Possible use in cancer chemotherapy. **Cancer Letters**, v. 248, n.1, p. 147-152, 2007.

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

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos, Brasília**, p. 148, 2009.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medicamentos fitoterápicos.** Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Medicamentos/A assunto+de+Interesse/Medicamentos+fitoterapicos> . Acesso em 20.jul.2017.

BUENO, F.G. Hydrolyzable tannins from hydroalcoholic extract from Poincianella pluviosa stem bark and its wound-healing properties: Phytochemical investigations and influence on in vitro cell physiology of human keratinocytes and dermal fibroblasts. **Fitoterapia** 99, 252–260, 2014.

BVMABF. **Biblioteca Virtual do Meio Ambiente da Baixada Fluminense.** < <http://www.bvambientebf.uerj.br/> > Acesso em 15 mai de 2017.

CHARKRABORTY, A. et al Cancer chemopreventive activity of Achyranthes aspera leaves on Epstein–Barr virus activation and two-stage mouse skin carcinogenesis. **Cancer Letters**, v.177, p.1-5, 2002.

CHEN, Z.P, CAI, Y., PHILLIPSON, J.D. Studies on the Anti-Tumour, Anti-Bacterial, and Wound-Healing Properties of Dragon's Blood. **Planta Med**, 60, 541-545, 1994.

COELHO-FERREIRA, M. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, v.126, p.159-175, 2009.

CORDELL, G.A. Introduction to alkaloids: A Biogenetic approach. **Nova York: John-Wiley & Sons**, p. 208, 1981.

COSTA, C.T.C. et al. Efeito ovicida de extratos de sementes de Mangifera indica L. sobre Haemonchus contortus. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 11, n.2, p.57-60, 2002.

DE-FARIA, F. M. et al. Mechanisms of action underlying the gastric antiulcer activity of the *Rhizophora mangle* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 234– 243, 2012.

DIEGUES, A. C. **Povos e Águas - Inventário de áreas úmidas brasileiras**. 2 ed. São Paulo. Nupaub/USP, p 15-18, 2002.

DORAI, A. Wound care with traditional, complementary and alternative medicine. **Indian Journal of Plastic Surgery**,45:418–424, 2012.

DYSON, M., YOUNG, S., PENDLE, C.L. ET AL. Comparison of the effects of moist and dry conditions on dermal repair. **J Invest Dermatol**. 91: 5, 434–439, 1998.

EAGLSTEIN, W.H. Moist wound healing with occlusive dressings: a clinical focus. **Dermatol Surg** 2001; 27: 2, 175–182.

EDREVA, A. et al. Stress-protective role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms. **Gen Appl Plant Physiol**, v. 34, n. 1-2, p. 67-78, 2008.

ENOCH, S.; LEAPER, D.J. Basic science of wound healing. **Surgery**, 26: 31, 2007.

ESHGHI, F. et al. Effects of Aloe vera cream on posthemorrhoidectomy pain and wound healing: results of a randomized, blind, placebo-control study. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, 2010; 16: 647.

FERNANDEZ, O. et al. Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. **Fitoterapia**, v. 73, p. 564–568, 2002.

FERREIRA, F.S. et al. Atividade antibacteriana *in vitro* de extratos de *Rhizophora mangle* L. **Rev. Bras. Pl. Med.** Botucatu, v.13, n.3, p.305-310, 2011.

FITZPATRICK, T.B. The validity and practicality of sunreactive skin types I-VI. **Arch Dermatol**;124: 869–71, 1988.

FITZPATRICK, T. B.; MOSHER, D. B. Pigmentação cutânea e distúrbios do metabolismo da melanina. In: ISSELBACHER, Kurt J. et al. Medicina interna. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.276-284, 1983.

GARWOOD, C. S.; STEINBERG J.S. What's new in wound treatment: a critical appraisal. **Diabetes Metabolism Research and Review**, Jan;32 Suppl 1:268-74, 2016.

GIM ENEZ-ARNAU, A. Standards for the protection of skin barrier function. **Curr Probl Dermatol**. 2016;49:123–34.

GRAY, D. et al. Applied wound management and using the wound healing continuum in practice. **Wound Essentials** 2010; 5: 131–139.

GROEBER, F. et al. Skin tissue engineering - in vivo and in vitro applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2011; 63: 352.

GÜNTER, C. I.; MACHENS, H. G. New strategies in clinical care of skin wound healing. **European Surgical Research**, v. 49, n. 1, p. 16–23, 2012.

GUO, S.; DIPIETRO, L.A. Factors affecting wound healing. **Journal of Dental Research**, 2010; 89: 219

HACKL, F. et al. Moist dressing coverage supports proliferation and migration of transplanted skin micrografts in full-thickness porcine wounds. **Burns** 2014; 40: 2, 274–280.

HAMERSKI, L. et al. Triterpenoid saponins from *Tocoyena brasiliensis* Mart. (Rubiaceae). **Quím. Nova**, v.28, n.4, July/Aug, 2005.

HARUNA, M. et al. Alteration of Na⁺ permeability in human erythrocytes as studied by ²³Na-NMR and inhibition of the kidney Na⁺,K⁺-ATPase activities with saponins: Interaction of Gleditsia saponins with human erythrocyte membranes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.5, p.827-830, 1995.

HASLAM, E. Plant polyphenols-vegetable tannins revisited. Cambridge: **Cambridge University Press**, 1989. 214p.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v.59, n.2, p.205-15, 1996.

HEISE, R. et al. Dexpanthenol Modulates Gene Expression in Skin Wound Healing in vivo. **Skin Pharmacol Physiol**, **25**, 241–248, 2012.

HOATH SB, MAIBACH HI. **Neonatal skin: structure and function**. New York. Marcel Dekker; 2003. 760p.

HOUGHTON, P.J. In vitro tests and ethnopharmacological investigations: wound healing as an example. **Journal of Ethnopharmacology**, **22**, 100-107, 2005.

JAUL, E. Non-healing wounds. The geriatric approach. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, 2009;49(2):224-6.

JUDD, W.S. et al. **Plant Systematics: A Phylogenetic Approach**, 3rd ed. Sinauer Association, Sunderland, MA, 2007.

JUNKER, J.P. et al. Clinical impact upon wound healing and inflammation in moist, wet, and dry environments. **Adv Wound Care (New Rochelle)** 2013; 2: 7, 348–356.

KABUKI, T. et al. Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds. **Food Chemistry**, v.71, n.1, p.61-6, 2000.

KANNON, G.A., GARRETT, A.B. Moist wound healing with occlusive dressings. A clinical review. **Dermatol Surg** 1995; 21: 7, 583–590.

KHANNA, S. et al. Dermal wound healing properties of redox-active grape seed proanthocyanidins. **Free Radical Biology and Medicine**, 2002;33:1089–1096.

KIMURA, Y. et al. Effects of ginseng saponins isolated from red ginseng roots on burn

wound healing in mice. **British Journal of Pharmacology**, 2006;148:860–870.

KING, A. et al. Dressings and products in pediatric wound care. **Adv Wound Care (New Rochelle)** 2014; 3: 4, 324–334.

KIRSNER, R.S. Cicatrização de feridas. In: Bologna, J.L., Jorizzo, J.L., Rapini, R.P.(Ed), **Dermatologia**. Rio de Janeiro: Elsevier., **141**, 2147-2158, 2008.

KORTING, H.C. et al. Management of minor acute cutaneous wounds: importance of wound healing in a moist environment. **J Eur Acad Dermatol Venereol** 2011; 25: 2, 130–137.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. 1ª ed. São Carlos: RiMa. 2004. 531p.

LAWRENCE, J.C. Dressings and wound infection. **Am J Surg** 1994; 167: 1A, 21S–24S.

LEAPER, D.J. et al. Extending the TIME concept: what have we learned in the past 10 years? **Int Wound J** 2012; 9: Suppl. 2, 1–19.

LEE, Y.S. et al. Wound healing in development. Birth Defects Research part C: **Embryo Today**, 2012;96:213–222.

Li, K. et al. Tannin extracts from immature fruits of *Terminalia chebula* Fructus Retz. promote cutaneous wound healing in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 2011;11:86.

LOD EN, M. Treatments improving skin barrier function. **Curr Probl Dermatol** 2016;49:112–22.

LUO, L. F. et al. Insufficient expression of the melanocortin-1 receptor by human dermal fibroblasts contributes to excess collagen synthesis in keloid scars. **Exp. Dermatol**, 2013 Nov;22(11):764-6

MADDEN, J., AREM, A. **A cicatrização das feridas. Aspectos biológicos e clínicos**. In: SABISTON, D. Tratado de Cirurgia. 14 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 156-168, 1991.

MARRERO, E. et al. COX-2 and sPLA2 inhibitory activity of aqueous extract and polyphenols of *Rhizophora mangle* (red mangrove). **Fitoterapia**, v. 77, p. 313–315, 2006.

MARGOLIN, L.; GIALANELLA, P. Assessment of the antimicrobial properties of maggots. **International Wound Journal**, 2010; 7: 202.

MARTINEZ, S. T. et al Determinação Estrutural do Alcaloide Pirrolizidínico Monocrotalina: Exemplo dos Desafios da Química de Produtos Naturais Até os Anos Sessenta do Século XX. **Rev. Virtual Quim.**, v. 5, n.2, p. 300-311, 2013.

MASHREGHI, M. et al. Topical effects of frog “*Rana ridibunda*” skin secretions on

wound healing and reduction of wound microbial load. **Journal of Ethnopharmacology**, 2013; 145: 793.

MEDEIROS, M.F.T., FONSECA, V.S., ANDREATA, R.H.P. Plantas medicinais e seus usos pelos sítios da Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, RJ, Brasil. **Acta bot. bras.** **18** (2), 391-399, 2004.

MEDEIROS, R. et al. Mechanisms underlying the inhibitory actions of the pentacyclic triterpene [alpha]-amyrin in the mouse skin inflammation induced by phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. **European Journal of Pharmacology**, v. 559, n.2-3, p. 227-235, 2007.

MELCHOR, G. et al. Antibacterial activity of Rhizophora mangle Bark. **Fitoterapia**, v. 72, p. 689-691, 2001.

METZGER, S. Clinical and financial advantages of moist wound management. **Home Healthc Nurse** 2004; 22: 9, 586–590.

MIKHAL'CHIK, E.V. Wound-healing effect of papaya-based preparation in experimental thermal trauma. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, 2004;137:560–562.

MOLAN, P.C. Potential of honey in the treatment of wounds and burns. **American Journal of Clinical Dermatology**, 2001; 2: 13

MUSTOE, T.A., GURJALA, A. The role of the epidermis and the mechanism of action of occlusive dressings in scarring. **Wound Repair Regen** 2011; 19: Suppl 1, s16-s21.

NEIBERT, K. et al. Wound-healing with mechanically robust and biodegradable hydrogel fibers loaded with silver nanoparticles. **Advanced Healthcare Materials**, 2012; 1: 621.

OFORI-KWAKYE, K., KWAPONG, A.A., BAYOR, M.T. Wound healing potential of methanol extract of Spathodea campanulata stem bark formulated into a topical preparation. **Afr J Tradit Complement Altern Med**, **8** (3), 218-223, 2011.

OGUZ, A., et al. Topical N-acetylcysteine improves wound healing comparable to dexpanthenol: an experimental study. **Int Surg**. 2015;100:656–61.

OKUDA, T. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 66, 2012–2031, 2005.

OLCZYK, P. et al. Propolis induces chondroitin/dermatan sulphate and hyaluronic acid accumulation in the skin of burned wound. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 290675, 2013.

O'SHAUGHNESSY, K.D. et al. Homeostasis of the epidermal barrier layer: a theory of how occlusion reduces hypertrophic scarring. **Wound Repair Regen** 2009; 17: 5, 700–708.

PAIS, M.P. **Valor nutritivo e investimento em defesas em folhas de *Didymopanax vinosum* E. March e sua relação com a herbivoria em três fisionomias de Cerrado.** 1998. 106p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

PARENTE, L.M.L. et al. Wound healing and anti-inflammatory effect in animal models of *Calendula officinalis* L. growing in Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2012; 2012: 375671.

PARK, S.I. et al. Therapeutic effects of acupuncture through enhancement of functional angiogenesis and granulogenesis in rat wound healing. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2012;2012:464586.

PERERA, L.M.S. et al. Pharmacological and toxicological evaluation of *Rhizophora mangle* L., as a potential antiulcerogenic drug: Chemical composition of active extract. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 2, n.4, p. 56-63, 2010.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n.4, p.146-152, 2012.

PEREIRA, R. F.; BÁRTOLO, P. J. Traditional Therapies for Skin Wound Healing. **Advances in Wound Care**, v. 0, n. 0, p. 140131092716009, 2014.

PERERA. L.M.S. et al. Gastric antiulcer effect of *Rhizophora mangle* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 1–3, 2001.

PERTINO, M. et al. Gastroprotective effect and cytotoxicity of terpenes from the Paraguayan crude drug “yagua rova”(Jatropha isabelli). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n.3, p. 553-559, 2007.

POWERS, J.G. et al. Dressings for chronic wounds. **Dermatol Ther** , 26: 3, 197–206, 2013.

PROKSCH, E.; NISSEN, H.P. Dexpanthenol enhances skin barrier repair and reduces inflammation after sodium lauryl sulphate-induced irritation. **J Dermatolog Treat.**,13:173–8, 2002.

RAMSEY, D.T. Effects of three occlusive dressing materials on healing of full thickness skin wounds in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.56, n.7, 941-949, 1995.

Randall Wickett, R.; Visscher, M.O. Structure and function of the epidermal barrier. **Am J Infect Control**. 34:98-110, 2006.

RANJANI, M. et al. Antioxidant and antibacterial potentials of aloe vera juice extract against wound isolates. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, 4:2733–2739, 2010.

REYES, L.F.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of purple-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). **J Agric Food Chem**, v.51, n.18, p. 5296-5300, 2003.

ROSSA, U. B. **Produtividade e compostos foliares de erva-mate sob efeitos de luminosidade e fertilização**. 2013, 208f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)– Universidade Federal do Paraná, Curitiba

ROSSI, A.; ALEXIS, A.F. Cosmetic procedures in skin of color. **G Ital Dermatol Venereol**. 146(4):265-272, 2011.

RUSSELL, S. B. et al. Epigenetically altered wound healing in keloid fibroblasts. **J Invest Dermatol**. Oct;130(10):2489-96, 2010.

SÁNCHEZ, J. et al. Antioxidant activity of *Rhizophora mangle* bark. **Fitoterapia**, v. 77, p. 141–143, 2006.

SÁNCHEZ, J. et al. Propiedades antioxidantes de *Rhizophora mangle* (L.) y su relación con el proceso de curación de heridas en ratas. **Rev. Salud Anim**, 31 (3), 170-175, 2009.

SATO, H. et al. Antihyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 362, n.4, p. 793-798, 2007.

SCIO, E. Cumarinas encontradas no gênero *Kielmeyera* - Família Clusiaceae. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.85, n.1, p.27-31, 2004.

SCHIMIDT, P.C.; ORTEGA, G.G. Passionsblumenkraut: Bestimmung des Gesamtflavoidgehaltes von Passiflorae herba. **Deutscher Apotheker Zeitung**., v. 47, p. 17-26, 1993.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Manguezal ecossistema entre a terra e o mar. São Paulo: **Caribbean Ecological Research**, 1995, p. 7

SHARMA, Y. et al. Potential wound healing agents from medicinal plants: a review. **Pharmacologia**, 4: 349, 2013.

SMITH, J.C. et al. Gene profiling of keloid fibroblasts shows altered expression in multiple fibrosis-associated pathways. **J Invest Dermatol**; 128:1298–310, 2008.

SILVA, M.A.B. et al. Características estruturais de bosques de mangue do estuário do rio São Mateus, ES, Brasil. **Acta bot. Bras**, v.19, n.3, p. 465-471, 2005.

SINGH, A.P. Medicinal leech therapy (hirudotherapy): a brief overview. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, 16: 213, 2010.

SORG, H. et al. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. **European Surgical Research**, v. 58, n. 1–2, p. 81–94, 2017.

SRIVASTAVA, J.K. et al. Chamomile: a herbal medicine of the past with bright future. **Molecular Medicine Reports**, 3:895–901, 2010.

STOZKOWSKA, W., PIEKOS, R. Investigation of some topical formulations containing dexpanthenol. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, 61 (6), 433-437, 2000.

SUDHAHAR, V. et al. Protective effect of lupeol and its ester on cardiac abnormalities in experimental hypercholesterolemia. **Vascular Pharmacology**, v. 46, n.6, p. 412-418, 2007.

SVENSJÖ, T. et al. Accelerated healing of full-thickness skin wounds in a wet environment. **Plast Reconstr Surg**. 106: 3, 602–612, 2000.

TADOKORO, T. et al. UV-induced DNA damage and melanina contente in human skin differing in racial/ethnic origin. **FASEB J**. 17: 1177-9, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 4. ed. Porto Alegre: Artmed. 820p, 2013.

TAZIMA, M.F.G.S. et al. **Biologia da ferida e cicatrização**. Medicina (Ribeirão Preto), 41 (3): 259-64, 2008.

TORETI, V.C. et al. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013: 697390, 2013.

TSUCHIYA, H. et al. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillinresistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Ethnopharmacology**. 50, 27-34, 1996.

UPADHYAY, N.K. et al. Safety and healing efficacy of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil on burn wounds in rats. **Food and Chemical Toxicology**, 47: 1146, 2009.

WEIMANN, B.I.; HERMANN, D. Studies on wound healing: effects of calcium D-pantothenate on the migration, proliferation and protein synthesis of human dermal fibroblasts in culture. **Int J Vitam Nutr Res**.69:113–19, 1999.

WHO: Traditional Medicine Strategy 2002–2005. **World Health Organization**, 2002.

WHO: The Regional Strategy for Traditional Medicine in the Western Pacific (2011–2020). **World Health Organization**, 2012.

WHO. World Health Organization. **WHO traditional medicine strategy: 2014-2023**. Geneva, Switzerland, p. 1-78, 2013.

WIGGER-ALBERTI, W. et al. Using a novel wound model to investigate the healing properties of products for superficial wounds. **J Wound Care**. 18: 3, 123–131, 2009.

WOOD, F. M. Skin regeneration: The complexities of translation into clinical practise.

International Journal of Biochemistry and Cell Biology, v. 56, p. 133–140, 2014.

VISSCHER, M. O. Skin color and pigmentation in ethnic skin. **Facial Plast Surg Cir North Am**. Feb; 25(1): 119-125, 2017.

YANG, Z,G. et al. Haemolytic activities and adjuvant effect of Astragalus membranaceus saponins (AMS) on the immune responses to ovalbumin in mice. **Vaccine**, v.23, p.5196-5203, 2005.

APÊNDICE A – TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa CREME DE *RHIZOPHORA MANGLE* NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador JERRAR JANEDSON XAVIER SILVA, endereço rua Jerônimo de Albuquerque 44 Casa forte Recife – PE CEP 52070-000, fone (81)999773676 e-mail jerarx@hotmail.com. E está sob a orientação do Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira Telefone: (81) 996370060, e-mail jeymesson@gmail.com.

Caso este Termo de Consentimento contenha informações que não lhe sejam compreensíveis, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados, caso concorde com a realização do estudo pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Caso não concorde, não haverá penalização, bem como será possível retirar o consentimento a qualquer momento, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Esta pesquisa experimental tem como objetivo avaliar a eficácia do creme de *Rhizophora mangle* em feridas cutâneas em seres humanos. A *Rhizophora mangle* é uma planta de manguezal do litoral muito comum na nossa região que é usada na medicina popular como anti-inflamatório, prevenir infecções e como cicatrizante de feridas. Estamos pesquisando o efeito cicatrizante desta planta e vamos compara-la com o efeito de uma medicação já bem conceituada no mercado, o dexpanthenol (Bepantol®). Para isso, os pacientes que irão se submeter a cirurgia plástica das pálpebras, deverão ir à fundação Santa Luzia 07 (sete) dias antes da cirurgia marcada para que seja realizada uma ferida de 3 mm (do tamanho de uma cabeça de fósforo) na pálpebra superior. Esse procedimento é feito com anestesia local e o paciente não sente dor. Será doado o creme que o paciente usará duas vezes ao dia durante 07 dias quando será realizada a cirurgia plástica das pálpebras para remoção do excesso de pele, sem levar a nenhum problema de função ou estética para a pálpebra. Esse creme pode ser o Dexpanthenol (Bepantol®) ou o creme de *Rhizophora mangle* que foi manipulado na farmácia escola da UFPE, e essa separação em dois grupos não será conhecida nem pelo pesquisador e nem pelo paciente. Neste mesmo dia, serão realizados a medição da concentração de melanina da pele e o poder de hidratação dos cremes, os mesmos são realizados com máquina que é indolor e muito rápida a tomada. No dia da cirurgia, será fotografada e realizadas medições da ferida, processo rápido e indolor. Após a cirurgia, irá continuar usando o creme prescrito na ferida da pálpebra por mais 14 dias, quando será acompanhado no ambulatório de plástica ocular da Fundação Santa Luzia, onde irá para duas consultas nos 7º e 14º dia de pós-operatório, perfazendo um total de 4 idas à Fundação, contando com procedimento, cirurgia e pós-operatório. O risco deste procedimento é a infecção da ferida com sintomas de vermelhidão, dor e secreção esverdeada. Esta infecção pode ser rapidamente debelada com antibióticos pomada e até oral, se necessário, e as despesas estarão por conta do pesquisador. Não há

nenhum prejuízo para pacientes que sofrem de doenças oculares como glaucoma ou que usam colírios para tratamento de afecções oculares, os quais deverão ser usados normalmente. Essas cirurgias fazem parte de um número extra de cirurgias, não prejudicando a lista de espera da mesma pelos pacientes do SUS mas o paciente que participar desta pesquisa terá sua cirurgia assegurada, tanto funcional quanto estética, e não entrará na lista de espera.

Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (fotos e informações) ficarão armazenados em pastas de arquivos sob a responsabilidade do pesquisador, no endereço no endereço informado, pelo período mínimo de 5 anos. Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação).

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu,

_____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo CREME DE RHIZOPHORA MANGLE NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo pesquisador sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção do meu acompanhamento.

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

<p>Impressão digital (opcional)</p>

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

ANEXO A – CARTA DE ANUÊNCIA DA FUNDAÇÃO SANTA LUZIA**CARTA DE ANUÊNCIA**

Declaramos para os devidos fins, que aceitaremos o pesquisador JERRAR JANEDSON XAVIER SILVA, a desenvolver o seu projeto de pesquisa CREME DE RIZOPHORA MANGLE NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, que está sob a orientação do Prof. JEYMESSON RAPHAEL CARDOSO VIEIRA cujo objetivo é Avaliar a eficácia do creme de *Rizophora mangle* em feridas cutâneas em seres humanos na Fundação Santa Luzia .

Esta autorização está condicionada ao cumprimento do (a) pesquisador (a) aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se utilizar os dados pessoais dos participantes da pesquisa, exclusivamente para os fins científicos, mantendo o sigilo e garantindo a não utilização das informações sem prejuízo das pessoas e/ou das comunidades.

Antes de iniciar a coleta de dados o pesquisador deverá apresentar a esta Instituição o Parecer Consubstanciado devidamente aprovado, emitido por Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, credenciado ao Sistema CEP/CONEP.

RECIFE , em 29 de maio de 2017.

Maria Amélia Ribeiro
Ortopedia e Estrabismo
CRM/PE 7439

MARIA AMÉLIA RIBEIRO

RESPONSÁVEL ACADÊMICO DA FUNDAÇÃO SANTA LUZIA

SLS 24

ANEXO B – AUTORIZAÇÃO PARA COLETA DA RHIZOPHORA MANGLE

CPRH Agência
Estadual de
Meio Ambiente 
GOVERNO DE PERNAMBUCO

CA DRFB N° 120/2014 24 de outubro de 2014.

Ao Senhor
JEYMESSON RAPHAEL CARDOSO VIEIRA

Prezado Senhor,

~~Cumprimentando Vossa Senhoria, nos reportamos ao Processo CPRH n° 013520/2014, referente ao requerimento para realização de atividades de pesquisa na APA de Santa Cruz e na APA Estuarina de Santa Cruz, sendo o local de coleta às margens do Canal de Santa Cruz e Rio Paripe, próximo a Vila Velha, Ilha de Itamaracá - PE.~~

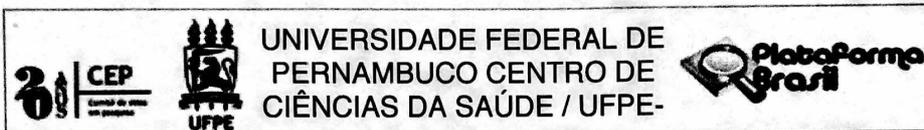
Após análise da documentação apresentada vimos informar que o projeto **"Tecnologia Morfológica Aplicada à Inovação Terapêutica: Uma Perspectiva de Investigação de Produtos Naturais da Região de Mangue"** foi aprovado, estando autorizada a realização da citada pesquisa. No entanto, em caso de realização de atividades em áreas particulares, estas somente poderão ocorrer mediante a anuência do proprietário das terras. Salientamos ainda, que esta autorização permite as atividades de campo e coleta de material para estudo, entretanto, o acesso ao patrimônio genético deverá ser autorizado pelos órgãos competentes.

Informamos que a Unidade de Conservação APA de Santa Cruz possui sede e administração local, desta forma, caso haja necessidade de apoio para a realização das atividades de campo, faz-se necessário contato prévio com a equipe de gestão da Unidade.

Atenciosamente,


CINTHIA RENATA VIEIRA DE LIMA
Diretoria de Recursos Florestais e Biodiversidade

ANEXO C – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Creme de Rhizophora mangle na cicatrização de feridas cutâneas: ensaio clínico randomizado.

Pesquisador: JERRAR JANEDSON XAVIER SILVA

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 69849417.6.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.576.185

Apresentação do Projeto:

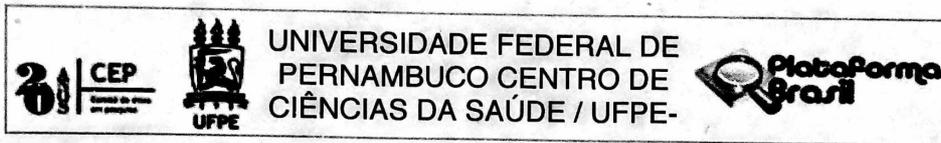
O projeto "Creme de Rhizophora mangle na cicatrização de feridas cutâneas: ensaio clínico randomizado" tem como responsável Jerrar Janedson Xavier Silva, médico oftalmologista, aluno de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, como orientador o Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira, Professor Adjunto da UFPE, do Centro de Biociências / Departamento de Histologia e Embriologia e como outro membro Victor Almeida Costa, aluno de Graduação em Medicina da UFPE. Trata-se de uma pesquisa que busca colaborar com o estudo dos efeitos de um fitofármaco a base de Rhizophora mangle, que apresenta uso tradicional para cicatrização de feridas. Neste projeto os pesquisadores exploram o potencial cicatrizante de creme do extrato aquoso de folhas de Rhizophora mangle em feridas cirúrgicas de pálpebras superiores através de estudo morfométrico e histomorfométrico das feridas, como também avaliação macroscópica da evolução da reparação tecidual. A concentração de melanina na pele e o poder de hidratação dos cremes serão medidos para avaliar possíveis correlações com a resposta de cicatrização.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral

Avaliar a eficácia do creme de Rhizophora mangle em feridas cutâneas em seres humanos.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE **E-mail:** cepccs@ufpe.br
Telefone: (81)2126-8588



Continuação do Parecer: 2.576.185

Objetivo Específicos

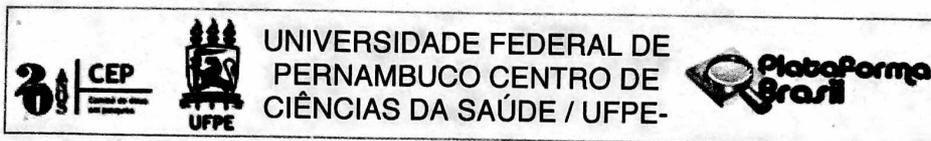
- Descrever aspectos macroscópicos das feridas de pálpebras superiores nos pacientes submetidos à lesão cirúrgica tratados com creme de R. mangle a 5% e de dexpanthenol 5% em creme.
- Analisar morfometricamente a área da cicatriz e calcular o grau de contração das feridas cirúrgicas em grupos de pacientes submetidos ao creme de dexpanthenol a 5% e ao creme de R. mangle a 5%.
- Analisar histomorfometricamente a reepitelização das feridas cirúrgicas de pálpebra superior em pacientes submetidos à lesão cirúrgica tratados com creme de R. mangle a 5% e de dexpanthenol 5% em creme.
- Correlacionar alterações das respostas de cicatrização com o grau de hidratação na pele do creme de R. mangle e do creme de dexpanthenol.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Todos os riscos possíveis são bem detalhados pelos pesquisadores, sendo o principal risco deste procedimento a possível infecção da ferida com sintomas de vermelhidão, dor e secreção esverdeada. Esta infecção pode ser rapidamente debelada com antibióticos, pomada e até por via oral, se necessário, e as despesas serão por conta do pesquisador. O paciente também poderá sentir-se constrangido por estar sendo fotografado e por estar sendo medida a concentração de melanina na pele, mas o pesquisador o deixará a vontade e o explicará bem detalhadamente sobre a necessidade da fotografia e que os valores dessa concentração de melanina serão mantidos em segredo. Em relação a medida da hidratação da pele, há o inconveniente de durar em torno de 1 hora mas que será otimizado esse tempo para no intervalo entre a colocação e leitura, aproveitarmos para dar as orientações necessárias de pré e pós-operatórios. As reações alérgicas são possíveis mas por ser realizado no antebraço são menos graves e já funcionam como um teste alérgico para o procedimento posterior. Quanto ao procedimento referente ao uso do creme na ferida operatória, poderão ocorrer efeitos secundários desagradáveis, esperados ou não (alergia ou inflamação), devido ao novo tratamento. O creme poderá se mostrar menos eficaz que o tratamento já existente de Dexpanthenol e não prevenir infecção ou não acelerar a cicatrização. Caso aconteça alguns desses efeitos colaterais, o paciente deverá entrar em contato com o pesquisador responsável que tomará as medidas de controle e amenização. O fato de estar participando num ensaio clínico poderá ocupar mais tempo que o habitual, devido aos deslocamentos normalmente

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.576.185

mais frequentes à Fundação Santa Luzia, num total de quatro entre procedimento, cirurgia e consultas de acompanhamento. Não há nenhum prejuízo para pacientes que sofrem de doenças oculares como glaucoma ou que usam colírios para tratamento de afecções oculares, os quais deverão ser usados normalmente. Essas cirurgias fazem parte de um número extra de cirurgias, não prejudicando a lista de espera da mesma pelos pacientes do SUS mas o paciente que participar desta pesquisa terá sua cirurgia assegurada, tanto funcional quanto estética, e não entrará na lista de espera.

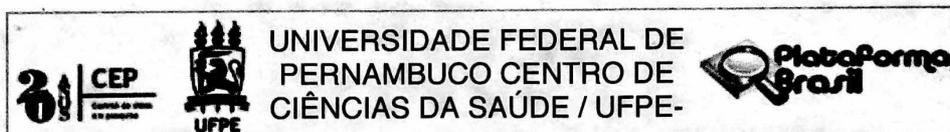
Benefícios:

O paciente que participar desta pesquisa irá se beneficiar com o acesso à cirurgia de blefaroplastia para tratamento da sua blefarocálaze com melhora do campo visual superior, não entrando na lista de espera do SUS a qual vai correr paralelamente e sem prejuízos. Terá um acompanhamento médico regular por uma equipe qualificada para exercer a atividade de investigação. Comprovando-se a eficácia do creme de R. mangle, o mesmo poderá ser utilizado no Serviço Público de Saúde, de forma gratuita, bem como ser disponibilizado em farmácias com baixo custo para a população para tratamento no processo de cicatrização de feridas cutâneas em geral.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo irá dispor de 30 pacientes que irão se submeter à cirurgia de blefaroplastia superior, sendo utilizadas as pálpebras superiores de ambos os olhos (60 pálpebras), as quais serão divididos em 2 grupos (grupo A- padrão e grupo B- tratado) compostos por 30 pálpebras cada um, dentre os quais serão distribuídos ao acaso. O grupo A fará uso de creme a base de Dexpantenol 5% (Bepantol®), o qual é conhecido medicamento como bom cicatrizante de feridas), enquanto no grupo B será efetivamente empregado o creme a 5% do extrato aquoso das folhas de Rhizophora mangle durante 07 dias. A aplicação será realizada 2x ao dia, num regime de administração a cada 12 horas, feita pelo próprio paciente em domicílio. Para isso, os pacientes que irão se submeter a cirurgia plástica das pálpebras, deverão ir à fundação Santa Luzia 07 (sete) dias antes da cirurgia marcada para que seja realizada uma ferida de 3 mm (do tamanho de uma cabeça de fósforo) na pálpebra superior. Esse procedimento é feito com anestesia local e o paciente não sente dor. Será doado o creme que o paciente usará. A aferição da distância entre os epitélios na cicatrização durante o processo de reepitelização será realizada através do software Panoramic Viewer versão 1.15.4 ano 2014. Serão incluídos na pesquisa pacientes com diagnóstico de dermatocálaze superior que irão se submeter à cirurgia de blefaroplastia superior

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.576.185

na Fundação Santa Luzia, Recife-PE. Que tenham sido liberados para cirurgia pelos exames pré-operatórios de hemograma, coagulograma, glicemia de jejum e parecer cardiológico favorável, com idade de 18 a 65 anos. Não poderão participar da pesquisa pacientes que apresentem processo infeccioso no local, diagnóstico prévio de câncer de qualquer tipo etiológico, doença renal, doença hepática, doença hematológica, doenças imunes, diabetes mellitus, idade menor que 18 anos ou maior que 65 anos ou cujo valor numérico do Índice de Massa Corpórea (IMC) evidencie peso fora da normalidade, com valor abaixo de 18,5 ou acima de 24,9, segundo a Organização Mundial de Saúde. Não poderão estar fazendo uso de corticoides ou imunossupressores. O orçamento financeiro desta pesquisa será de inteira responsabilidade do pesquisador principal.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador responsável anexou folha de rosto assinada pelo Coordenador da Pós-Graduação em Ciências da Saúde, projeto de pesquisa, Carta de anuência da Fundação Santa Luzia, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para maiores de 18 anos ou emancipados, Declaração de vínculo da Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Termo de Compromisso e Confidencialidade assinado pelo pesquisador responsável e os currículos dos três pesquisadores envolvidos no projeto.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma.

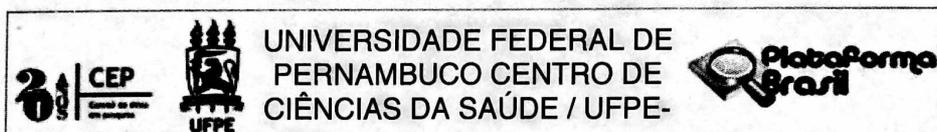
Considerações Finais a critério do CEP:

A emenda foi avaliada e APROVADA pelo colegiado do CEP.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1097246_E2.pdf	19/03/2018 20:49:06		Aceito
Outros	Justificativa19032108.docx	19/03/2018 20:47:12	JERRAR JANEDSON XAVIER	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE19032018.doc	19/03/2018 20:45:16	JERRAR JANEDSON XAVIER SILVA	Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.576.185

Ausência	TCLE19032018.doc	19/03/2018 20:45:16	JERRAR JANEDSON XAVIER	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_cepnovo.doc	19/03/2018 20:34:57	JERRAR JANEDSON XAVIER SILVA	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto2.pdf	07/09/2017 14:01:21	JERRAR JANEDSON XAVIER	Aceito
Outros	carta_de_resposta_as_pendencias.pdf	11/07/2017 19:07:11	JERRAR JANEDSON XAVIER	Aceito
Outros	declarracao_mestrado.pdf	14/06/2017 07:41:55	JERRAR JANEDSON XAVIER	Aceito
Outros	Lattes_Victor_Costa.pdf	13/06/2017 20:49:16	JERRAR JANEDSON XAVIER	Aceito
Outros	Lattes_Jerrar_Silva.pdf	13/06/2017 20:48:33	JERRAR JANEDSON XAVIER	Aceito
Outros	CV_Lattes_Jeymesson_Vieira.pdf	13/06/2017 20:16:42	JERRAR JANEDSON XAVIER	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termo_confidencialidade.pdf	13/06/2017 19:37:29	JERRAR JANEDSON XAVIER	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta_anuencia.pdf	13/06/2017 19:36:48	JERRAR JANEDSON XAVIER SILVA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 03 de Abril de 2018

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador)

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br