

Análise da ação do gel da *Bryophyllum calycinum* Salisb (folha santa) associado ao ultrassom na cicatrização de feridas cutâneas

Analysis of the action of Bryophyllum calycinum Salisb (holy sheet) gel associated with ultrasound in skin wound healing

João Lenon de Sousa¹; Pablo Diêgo Leal Costa¹; Antônio Luiz Martins Maia Filho²; Nelson Jorge Carvalho Batista³; Valdiléia Teixeira Uchoa⁴; Wellington dos Santos Alves⁵

¹Graduandos do curso de Fisioterapia – Faculdade Santo Agostinho – FSA. Teresina, PI – Brasil.

²Doutor em Engenharia Biomédica – Universidade do Vale do Paraíba – Univap, Professor Adjunto do Departamento de Fisiologia – Universidade Estadual do Piauí – Uespi. Teresina, PI – Brasil.

³Doutorando em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde – Universidade Luterana do Brasil – Ulbra, Professor de Biologia Celular – Faculdade Santo Agostinho – FSA. Teresina, PI – Brasil.

⁴Doutora em Ciências e Biotecnologia – Universidade Federal de Alagoas – Ufal. Professora Adjunta do Departamento de Química – Universidade Estadual do Piauí – Uespi. Teresina, PI – Brasil.

⁵Doutor em Ciências da Reabilitação – Universidade Nove de Julho – Uninove, Professor Adjunto do Departamento de Fisioterapia – Universidade Estadual do Piauí – Uespi. Teresina, PI – Brasil.

Endereço para correspondência

Wellington dos Santos Alves
R. Desembargador João Pereira, 4277. Cond. Monte Olimpo, Bl. Poseidon, Ap. 102. Bairro Santa Isabel
64053-040 – Teresina – PI [Brasil]
wellingtonsanalves@gmail.com

Resumo

Introdução: A cicatrização é uma cascata de eventos celulares que interagem para que ocorra a reconstrução do tecido. **Objetivo:** Analisar a ação do gel da *Bryophyllum calycinum* Salisb, associado ao ultrassom pulsado, na cicatrização de feridas. **Métodos:** Vinte ratos foram feridos, divididos em quatro grupos, tratados e observados diariamente. O Grupo 1 não recebeu nenhum tratamento; o 2 foi tratado com ultrassom (modo pulsado 10%, frequência de 1 MHz, intensidade de 0,5 W/cm², método de acoplamento direto com movimentos oscilatórios numa ERA de 1 cm², durante dois minutos) + gel da *B. calycinum* Salisb a 2%; o 3, com gel da *B. calycinum* Salisb a 2%; o 4, com ultrassom. **Resultados:** O Grupo 2 teve maior redução das áreas feridas, diminuição do colágeno tipo III e aumento do tipo I, quando comparado ao controle. **Conclusões:** O gel da folha santa associado ao ultrassom é capaz de acelerar o processo de cicatrização tecidual.

Descritores: Cicatrização; Plantas medicinais; Ultrassom.

Abstract

Introduction: Healing is a cascade of cellular events that interact to occur replenish the tissue. **Objective:** To analyze the action of the *Bryophyllum calycinum* Salisb gel associated with the pulsed ultrasound in wound healing. **Methods:** Twenty rats were wounded and divided into four groups. After this, they were treated and observed daily. Group 1 did not receive any treatment; Group 2 was treated with ultrasound (10% pulsed mode, frequency of 1 MHz intensity of 0.5 W / cm², direct coupling method with an oscillatory motion was 1 cm² for two minutes) + Gel *B. calycinum* Salisb 2%; Group 3, with *B. calycinum* Salisb gel 2%; and Group 4, with ultrasound. **Results:** Group 2 had a greater reduction in wound areas, a decrease of type III collagen and an increase of the type I when compared to the control group. **Conclusions:** The gel of the holy sheet associated with ultrasound is able to accelerate the wound healing process.

Keys words: Medicinal herbs; Ultrasonics; Wound healing.

Introdução

O uso de plantas com efeitos medicinais visando a tratamento, cura ou prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. A utilização destes vegetais por meio de um conhecimento empírico de alguns indivíduos simboliza, muitas vezes, o único recurso terapêutico de várias comunidades e grupos étnicos^{1,2}.

Bryophyllum calycinum Salisb é uma espécie vegetal pertencente à família Crassulácea, e conhecida vulgarmente por folha santa, santa quitéria, folha da fortuna, pirarucu, coirama, além de outras denominações. Dentre as várias plantas medicinais conhecidas ela se destaca devido a seus efeitos curativos, observados pelos usuários, o que tornam pesquisas a seu respeito de grande relevância científica. Suas folhas são usadas para tratamento de feridas, abscessos, furúnculos, tosse, dor de garganta, glaucoma, além de serem empregadas como diuréticas, anti-inflamatórias e antiulcerogênicas^{3,4}.

A pele é um dos principais órgãos do homem, exercendo funções sensoriais e de proteção. A análise histológica desta estrutura mostra a presença de um tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado na epiderme, associado a fibras colágenas na derme ricamente vascularizada. Lesões cutâneas podem ser ocasionadas por diversos fatores, desde ações de microrganismos, fatores físicos, químicos e, até mesmo, por mecanismos genéticos. Nesses casos, a tentativa de reverter a ferida envolve vários tipos de tratamentos que podem ser medicamentosos, homeopáticos e com utilização de recursos eletroterapêuticos, todos visando à cicatrização que é um processo biológico que compreende uma série de mediadores químicos que recrutam células objetivando revitalizar os tecidos lesionados⁵, uma vez que as citocinas e espécies reativas de oxigênio (ERO) podem provocar efeitos nocivos sobre os tecidos da pele⁶. Diante disso, tratar feridas diminui os danos estéticos deixados por uma cicatrização mal su-

cedida, promovendo o bem-estar do paciente no aspecto dermatofuncional⁷.

O mecanismo biológico da cicatrização é um dos fenômenos mais estudados atualmente, pois é um evento que, quando ocorrem falhas, deixa sequelas que podem levar, até mesmo, à perda de membros e funções⁸. Em muitos estudos, vários métodos têm sido explorados na tentativa de reduzir o processo inflamatório que antecede a cicatrização e otimizar o remodelamento tecidual. Nessas tentativas, tem sido bastante utilizada, em atividades experimentais, a formação de feridas cutâneas em ratos, posteriormente, tratadas com ultrassom pulsado ou fonoforese, ou ainda, associando o ultrassom pulsado com medicamentos tópicos para promover uma melhor reabilitação dermatofuncional.

Assim, objetivou-se neste trabalho analisar o efeito da utilização do gel fitoterápico a base da planta *Bryophyllum calycinum* Salisb, conhecida popularmente como folha santa, associada às propriedades do ultrassom terapêutico, com o intuito de promover uma aceleração do processo de cicatrização de feridas cutâneas, bem como uma melhor qualidade ao tecido cicatricial.

Metodologia

Aspectos éticos

O experimento foi realizado no Laboratório de Fisiologia da Faculdade Santo Agostinho (FSA), Teresina, PI, Brasil. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Integral Diferencial (FACID), pelo protocolo nº 018/13.

Obtenção e processamento da planta

As folhas da *Bryophyllum calycinum* Salisb foram coletadas na localidade Nova Laguna (25 km da capital Teresina), sempre retiradas do mesmo endereço e por apenas um pesquisador, em horário fixado. Em seguida, as amostras foram submetidas à secagem ao sol em tempera-

tura ambiente, durante duas semanas e, após a retirada de toda a umidade, elas passaram por um processo de trituração, por meio de um triturador industrial modelo JBM 30, capacidade de 2 L, resultando em um pó de coloração esverdeada.

Produção do extrato alcoólico da folha santa

O pó resultante da trituração, aproximadamente 200 g, foi introduzido em um funil de decantação com capacidade de 500 ml, logo após, foi administrado 400 ml de álcool etílico a 99,5% e 0,5% de água, em seguida, o funil foi agitado por cerca de 10 segundos, misturando o soluto ao solvente. A mistura permaneceu em decantação por dez dias, transcorrido esse tempo, a solução foi retirada do recipiente decantador e filtrada, passando a ser armazenado em balões volumétricos por 24 horas.

Obtenção do extrato concentrado da folha santa

O extrato alcoólico filtrado foi encaminhado ao Laboratório de Ciências Farmacêuticas da Faculdade Santo Agostinho, sendo submetido ao aparelho de rota-evaporador, em temperatura de 75 °C a 80 °C e rotação de 120 a 140 rpm, no intuito de retirar todo o solvente, resultando em um soluto concentrado em forma de pasta, que estava sujeita a remoção da umidade remanescente através da capela de exaustão de gases, durante 48 h, finalizando o processo com um composto concentrado da folha santa. Esse extrato foi misturado a um gel inerte à base de água na proporção de 2 g de extrato para cada 100 g de gel. Esta concentração foi determinada conforme o resultado do teste para toxicidade *Allium cepa*.

Seleção, contenção e anestesia dos animais

Para a experimentação animal, foram utilizados 20 ratos da espécie *Rattus norvegicus* variedade Wistar (200 a 250 g), sexo masculino, com idade de 90 dias, provenientes do biotério da Faculdade Santo Agostinho (FSA). A amostra foi dividida em quatro grupos experimentais de cinco animais em cada grupo, sendo acondicionados aleatoriamente em caixas específicas para ratos, mantidos desde o nascimento em um ciclo claro-escuro de 12/12 horas, com alimentação e água *ad libitum*.

Todos os animais receberam, por via subcutânea, um pré-tratamento com atropina (relaxante muscular), na dose de 0,04 ml para cada 100 g de peso corpóreo, aguardando-se 15 minutos para o procedimento anestésico⁹. Subsequentemente, foram submetidos à anestesia dissociativa com xilazina e quetamina na proporção de 1:1, na dose de 0,1 ml, para cada 100 g do peso do animal. Foi realizada uma tricotomia na região dorsal 24 horas antes do procedimento cirúrgico. Após a anestesia, selecionou-se a região média sagital no dorso dos ratos, e efetuou-se a desinfecção da área.

Posterior à recuperação anestésica, os ratos foram transferidos para gaiolas, observados e tratados diariamente até o término dos dez dias.

Divisão dos grupos experimentais

Os animais foram divididos em quatro grupos que continham cinco ratos escolhidos mediante sorteio, sendo os roedores tratados de acordo com as especificações de seu grupo, a saber:

- Grupo 1: controle.
- Grupo 2: ultrassom pulsado (fonoforese) + gel da *Bryophyllum calycinum* Salisb (folha santa) a 2%.
- Grupo 3: gel da *Bryophyllum calycinum* Salisb (folha santa) a 2%, uso tópico.
- Grupo 4: ultrassom pulsado.

No Grupo 1, foi produzida apenas a lesão tecidual, ficando os ratos somente sob observa-

ção durante os dez dias de pesquisa, ou seja, não receberam qualquer tipo de tratamento, sendo assim, o grupo controle.

No Grupo 2, os ratos sofreram lesão tecidual e foram tratados o gel da *Bryophyllum calycinum* Salisb (folha santa) a 2%, associado ao ultrassom modo pulsado 10%, frequência de 1 MHz, pulsátil a 10% com intensidade de 0,5 W/cm², método de acoplamento direto com movimentos oscilatórios numa área efetiva de radiação (ERA) de 1 cm², durante dois minutos. Esse protocolo obedece à literatura; pois, para lesões superficiais com área pequena, usa-se o protocolo acima^{10,11}. O aparelho foi devidamente calibrado por empresa especializada, antes e após o tratamento proposto, com o intuito de verificar se não tinha havido perda de intensidade durante a terapia¹². Foi aplicado ultrassom nos animais desse grupo diariamente no decorrer dos dez dias de tratamento.

No Grupo 3, os animais sofreram a lesão tecidual e receberam tratamento apenas com uso do gel tópico da *Bryophyllum calycinum* Salisb (folha santa) a 2%, aplicado diariamente durante dez dias de tratamento.

No Grupo 4, os roedores foram submetidos à lesão tecidual e receberam tratamento somente com o ultrassom modo pulsado 10%, frequência de 1 MHz, pulsátil a 10%, com intensidade de 0,5 W/cm², método de acoplamento direto com movimentos oscilatórios numa ERA de 1 cm², por dois minutos, diariamente, ao longo dos dez dias da terapia.

Efetuuou-se aplicação dos agentes de cada grupo após 24 horas do ato cirúrgico, uma vez ao dia sempre no mesmo horário. Para tais aplicações, os ratos, por estarem em estado ativo, tiveram de ser imobilizados manualmente por um dos pesquisadores, enquanto outro pesquisador executava a aplicação sempre da mesma forma padronizada no primeiro dia de tratamento. Na aplicação do gel da folha santa sobre a ferida no dorso dos ratos (Grupo 3), utilizou-se um frasco dosador feito de material plástico e uma espátula de madeira, de forma a preencher toda a superfície da lesão e suas extremidades.

Repetiu-se o referido processo para ministrar, nos componentes do Grupo 2, o gel da folha santa, quando esse era utilizado associado ao ultrassom, em que o cabeçote do aparelho era movimentado de forma circular em volta da ferida de maneira lenta e delicada. Esse modo de manejo do cabeçote do ultrassom, usado no segundo grupo, também foi praticado nos ratos tratados com o ultrassom pulsátil (Grupo 4). Nesse grupo, para uma melhor acoplagem e diminuição da impedância na transmissão da onda sonora, utilizou-se um gel inerte à base de água. Os três grupos de intervenção foram tratados e observados diariamente, sendo o controle somente observado, até transcorrerem os dez dias previstos para a experiência.

Registro das áreas das feridas

Para o registro das feridas, os ratos foram contidos manualmente, uma vez que se encontravam em estado de alerta, exceto no dia 0 (ato cirúrgico), no qual os animais foram fotografados ainda sob o efeito do anestésico. A contenção era feita sempre pelo mesmo pesquisador durante todo o experimento, enquanto outro pesquisador ficava responsável pelas fotografias registradas por meio de uma câmera com captura de imagens, Fujifilm (Finepix L50), com resolução de 12 megapixels. Todas as fotos foram padronizadas com a mesma luminosidade e altura, a câmera foi fixada a 30 cm em relação à ferida no dorso do animal, utilizando um suporte metálico para apoio da câmera.

As feridas foram registradas no dia 0 (imediatamente após o ato cirúrgico); no 8º dia de pós-cirúrgico e 11º dia pós-cirúrgico, todas as fotos foram registradas com um paquímetro universal posicionado ao lado dos animais.

Para análise da área de lesão e verificação do tecido cicatricial, usou-se o programa Image-Pro-Plus (The Proven Solution), versão 4.5.0.29 for Windows 98/NT/200 de domínio público. Após a coleta dos dados, foi utilizado o programa Graph Pad Prism, versão 5.0, para análise estatística da variação da área da fe-

rida cutânea e do colágeno por área de tecido cicatricial, procedimento realizado para todos os grupos estudados.

Preparo do tecido para microscópica

Após o período destinado ao tratamento das feridas, procedeu-se à coleta do tecido para análise microscópica. Todos os animais foram eutanasiados recebendo uma superdose do anestésico tilpentol sódico 1 g, pó estéril. Para a coleta do tecido, utilizou-se um bisturi e tesoura Íris, retirando o tecido cerca de um centímetro além da borda da ferida, o material coletado foi estocado em frascos que continham formol a 10% e encaminhado para histologia. Cada amostra de tecido retirado foi, então, corada por picrossírius, para análise dos colágenos tipo I e III.

Para identificação de colágenos maduro (tipo I) e imaturo (tipo III), analisaram-se os cortes histológicos por meio de microscópio óptico Labomed TCM400 (Culver City, CA, USA), com fonte de luz polarizada. As imagens foram captadas por uma câmera e transmitidas a monitor colorido, congeladas e digitalizadas por meio de placas. Depois de digitalizadas, foram analisadas utilizando-se o programa Image-Pro-Plus (The Proven Solution), versão 4.5.0.29 for Windows 98/NT/200 de domínio público.

Após fazer uma máscara, usando o programa Image-Pro-Plus, as imagens foram analisadas, clicando na caixa *count/size*, depois em *count*, então, tudo foi marcado em colorido, vermelho e verde. Nesta mesma caixa, clicou-se em *view* e, em seguida, em *range statistic*. Na sequência, apareceu uma tabela com a porcentagem em área, vermelho (tipo I, colágeno maduro) e verde (tipo III, colágeno imaturo). Estes dados, bem como os da análise da área, foram avaliados quanto ao coeficiente de variação, e a distribuição amostral usando-se análise de variância (ANOVA), seguida do teste Tukey, considerando o nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

Neste trabalho, compararam-se três modalidades de tratamento diferentes para aceleração do reparo tecidual de feridas cutâneas produzidas cirurgicamente nos dorsos de ratos, sendo a divisão e características de cada grupo expressas detalhadamente na metodologia da pesquisa. Os grupos foram avaliados de acordo com a metodologia no momento do ato cirúrgico, no 8º e no 11º dia pós-cirúrgico (Figura 1).

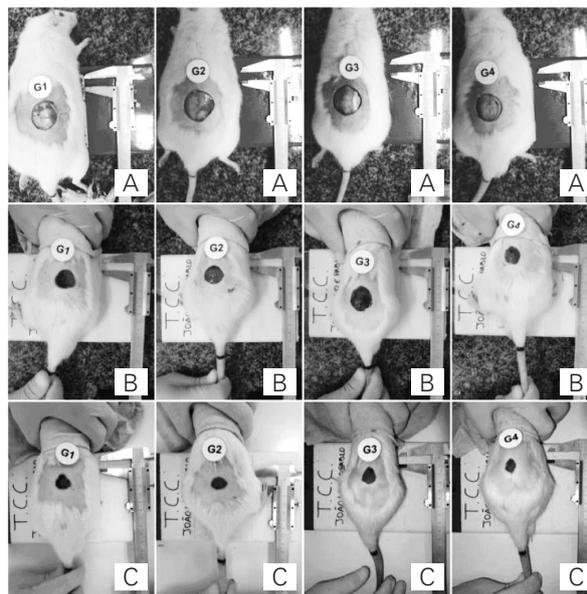


Figura 1: Avaliação macroscópica da cicatrização das feridas. A – Dia 0, pós-cirúrgico imediato, G1, G2, G3, G4; B – 8º dia pós-cirúrgico, G1, G2, G3, G4; C – 11º dia pós-cirúrgico, G1, G2, G3, G4

No oitavo dia pós-cirúrgico, a relação da diminuição da área da lesão cirúrgica (diminuição da ferida = maior eficiência do reparo tecidual), foi estatisticamente significativa com $P < 0,05$, no G2 ultrassom, em relação ao grupo controle G1 e entre os grupos G3 e G4. O G3 e o G4 não apresentaram diferença significativa em relação ao G1 e entre si.

Os resultados encontrados estão de acordo com os achados em outros estudos em que também se obtiveram melhor cicatrização tecidual nos grupos nos quais o ultrassom era associado

a um gel de propriedades também cicatriciais. Uma pesquisa em se que analisou o efeito do US associado com hidrocortisona 10%, no tratamento de lesões realizadas em tendões de ratos, a fonoforese influenciou positivamente o processo de reparo desses tendões, quando comparada com os tratamentos de US e hidrocortisona isolados^{13,14}.

A realização de um trabalho experimental com aplicação do ultrassom associado ao dexameteno em feridas tegumentares produzidas em ratos, também mostrou estímulo à reepitelização da área lesada, com aumento do número de fibroblastos, além de melhor organização no tecido cicatricial aos sete dias de tratamento numa análise qualitativa¹⁵.

No 11º dia pós-cirúrgico, por meio de análise macroscópica não se observou diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$) entre os grupos estudados, apesar de os três grupos testados terem apresentado diminuição das áreas lesionadas em relação ao grupo controle G1, sendo o G2 o que mostrou maior diminuição da área em relação ao controle, quando comparado ao G3 e ao G4 (Figura 2).

Os resultados encontrados no 11º dia pós-cirúrgico mostram que continuou havendo redução da área lesada, apesar de essa diminuição não ter sido tão significativa como se observou no oitavo dia pós-cirúrgico. Diante disso, pode-se supor que, caso tivesse sido mantido o tratamen-

to por mais dias, esses achados poderiam ter sido mais expressivos, tornando-se estatisticamente significativos. Os grupos estudados mantiveram o mesmo padrão encontrado no oitavo dia pós-cirúrgico, com G2 portador de maior diminuição de área lesada seguido de G3 e G4.

Outro método de avaliar a regeneração tecidual é pela mensuração das fibras colágenas existentes nas bordas da ferida. O colágeno é o responsável pela força e integridade de todos os tecidos, e a força e a integridade do tecido de reparação residem no tipo e na quantidade de fibras colágenas¹⁶.

A avaliação microscópica para contagem das proteínas de colágeno tipo I e III do tecido tratado foi feita de acordo com o descrito na metodologia deste estudo, demonstrando que no 11º dia pós-cirúrgico, os grupos G2, G3 e G4 apresentaram diferença estatística altamente significativa ($P < 0,001$) para colágeno tipo III em comparação ao grupo controle G1, e o G2 apresentou a menor porcentagem de colágeno tipo III, quando comparado ao G3 e ao G4 (Figura 3).

Na contagem das proteínas de colágeno tipo I, observou-se diferença estatística altamente significativa ($P < 0,001$) entre os grupos G2, G3 e G4 em relação ao controle G1, e o G2 mostrou a maior porcentagem de colágeno tipo I em comparação ao G3 e ao G4 (Figura 4).

O aumento da quantidade de colágenos do tipo I sobre o tipo III em lesões teciduais se mostra

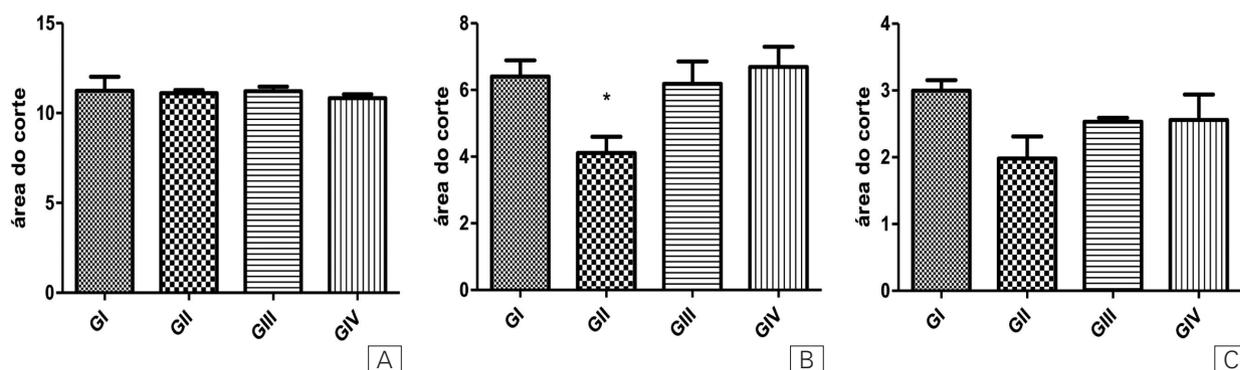


Figura 2: Área das feridas nos grupos estudados. A – dia 0 pós-operatório, B – 8º dia pós-operatório e C – 11º dia pós-operatório. Os valores mostrados representam a média ± erro padrão de média (EPM) dos experimentos realizados (n=5).*, estatisticamente significativo, $p < 0,005$. Anova seguida de Tukey

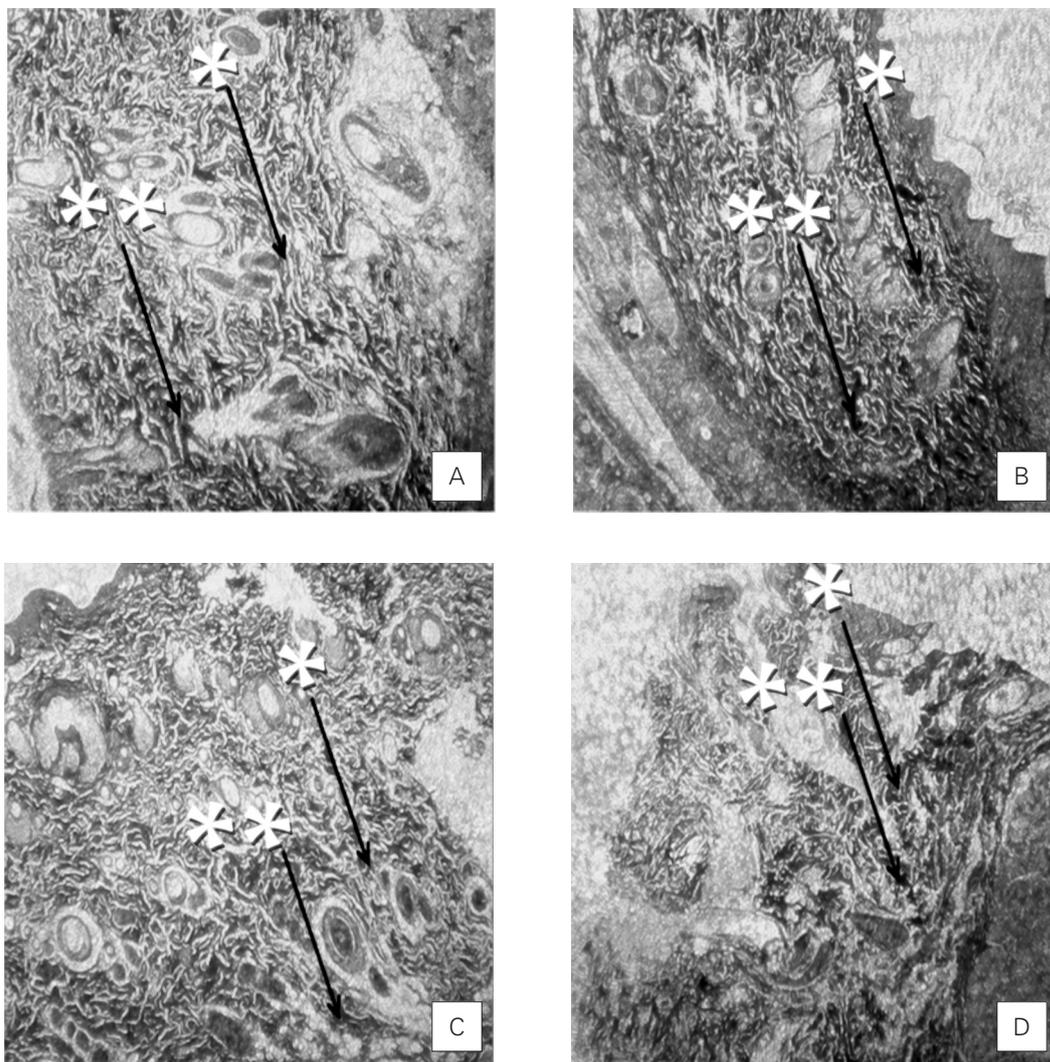


Figura 3: Imagens da pele, coloração picrosirius. Microscopia de luz polarizada microscópio óptico Labomed TCM400. Aumento, 10x4. A – G1, Rato I; B – G2, Rato I; C – G3, Rato I; D – G4, Rato I; *Colágeno Tipo I; ** Colágeno Tipo III

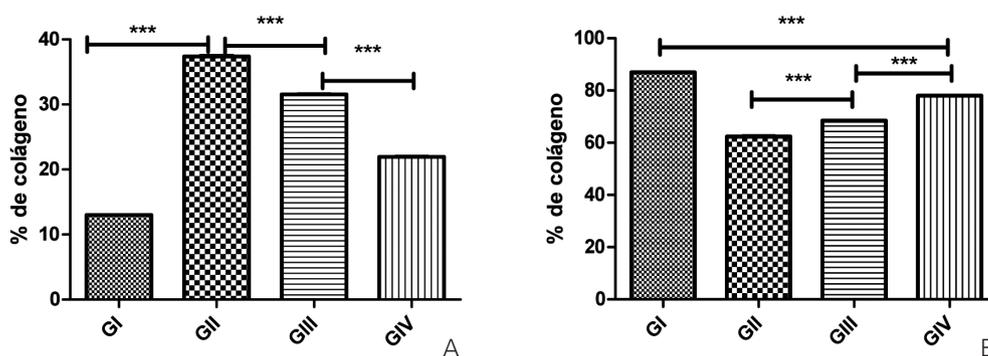


Figura 4: Colágeno tipo 1 (A) e tipo 3 (B) nos grupos estudados. Os valores mostrados representam a média \pm erro padrão de média (EPM) dos experimentos realizados (n=5).***, estatisticamente significativo, $p < 0,001$. Anova seguida de Tukey

mais vantajoso, pois essas fibras tornam o tecido mais denso e resistente. Mediante a presença de maior número de colágenos do tipo I, as células fagocitárias vão desaparecendo e o tecido de granulação passa a ser constituído por um tecido conjuntivo progressivamente mais denso e menos vascularizado, situados logo abaixo da epiderme caracterizando uma regeneração tecidual¹⁷.

A eficiência do ultrassom no tratamento fisioterápico tem um efeito biológico que depende dos parâmetros empregados no aparelho¹⁸. São esses parâmetros que aumentam a capacidade de transporte por via cutânea de medicamentos transdérmicos, facilitando a penetração destes no uso tópico, pois o ultrassom altera a permeabilidade da membrana celular, promove também o aumento do cálcio iônico, funcionando como um sinal intracelular para a resposta metabólica¹⁹. Todos esses fatores atuam na ativação de fibroblastos, aumentando a síntese de colágeno bem como o ganho de força tensil²⁰, melhorando, assim, a eficiência no processo de cicatrização.

Considerações finais

Este estudo experimental possibilitou a análise macroscópica e histológica da cicatrização de feridas cutâneas experimentais produzidas em ratos, quando utilizado o gel da *Bryophyllum calycinum* Salisb a 2%, associados ao ultrassom pulsátil para acelerar esse reparo tecidual. Analisando os dados da pesquisa verificou-se que foi positivo o uso desses dois agentes para esse tratamento. Observou-se que os resultados obtidos coincidem com outras pesquisas na literatura que também utilizaram o ultrassom pulsátil em conjunto com um potente fitoterápico.

O trabalho demonstrou a possibilidade do uso do gel da *Bryophyllum calycinum* Salisb a 2% associada ao ultrassom pulsátil nas clínicas de fisioterapia como uma alternativa eficaz de acelerar o processo de cicatrização de feridas cutâneas, diminuindo o tempo de tratamento e, conseqüentemente, o sofrimento dos pacientes.

Contudo, algumas questões podem ser levantadas para melhor caracterizar a ação cicatrizante e também melhorar seu efeito, tais como: “Qual a melhor concentração do extrato?”; “Qual a melhor dose?”; “Qual o melhor parâmetro do ultrassom?”; “Qual o melhor tempo de tratamento para se obter maior rapidez da cicatrização?”.

Esta investigação incentiva novas pesquisas que, ao elucidarem os questionamentos expostos, poderão dar mais embasamento e credibilidade científica ao que este e outros trabalhos já sinalizam sobre o tema aqui apresentado.

Referências

1. Amorozo MCM, Gély A. Uso de plantas medicinais por caboclos do baixo Amazonas Barcarena, PA, Brasil. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Nova Série, Belém. 1988;4(1):47-131.
2. Akerele O. Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines. HerbalGram. 1993. Chapter 28. p.13-9.
3. Correa PM, Coutinho DF. Dicionário de plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional; 1984.
4. Van Den Berg ME. Plantas medicinais da Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi; 1996.
5. Mandelbaum SH, Di Santis EP, Mandelbaum MHS-A. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. Parte I. An Bras Dermatol. 2003;78(4):393-410.
6. Silveira PCL, Silva LA, Tuon T, Freitas TP, Streck EL, Pinho RA. Efeitos da laserterapia de baixa potência na resposta oxidativa epidérmica induzida pela cicatrização de feridas. Rev Bras Fisioter, São Carlos. 2009;13(4): 281-7.
7. Mendonça RJ, Coutinho-Neto J. Aspectos celulares da cicatrização. Artigo de Revisão. An Bras Dermatol. 2009;84(3):257-62.
8. Abreu JAC, Sousa ALS, Alves CLGF, Nunes JT. Análise histológica da cicatrização de feridas cutâneas experimentais sob ação do laser de baixa potência. Scientia Medica. 2011;21(3):96-100.

9. Yasukawa A, Hrui H, Koyama Y, Nagai M, Takakuda K. The effect of low reactive-level laser therapy (LLLT) with helium-neon laser on operative wound healing in rat model. *J Vet Med Sci.* 2007; 68(8):799-806.
10. da Cunha A, Parizotto NA, Vidal Bde C. The effect of therapeutic ultrasound on repair of the achilles tendon (tendon calcaneus) of the rat. *Ultrasound Med Biol.* 2001;27(12):1691-6.
11. Maia Filho AL, Villaverde AB, Munin E, Aimbire F, Albertini R. Comparative study of the topical application of *Aloe vera* gel, therapeutic ultrasound and phonophoresis on the tissue repair in collagenase-induced rat tendinitis. *Ultrasound Med Biol.* 2010;36(10):1682-90.
12. Ng GY, Fung DT. The effect of therapeutic ultrasound intensity on the ultrastructural morphology of tendon repair. *Ultrasound Med Biol.* 2007;33(11):1750-4.
13. Oliveira ST, Leme SC, Pipi NL, Raiser AG, Mafron MP. Formulações de confrei (*Symphytum officinale* L.) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. *Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia.* 2000/01;7/8:61-5.
14. Koeke PU, Parizotto NA, Carrinho PM, Solate ACB. Comparative study of the efficacy of the topical application of hydrocortisone, therapeutic ultrasound and phonophoresis on the tissue repair process in rat tendons. *Ultrasound Med Biol.* 2005 Mar;31(3):345-50.
15. Polacow MLO, Dib-Giusti HHK, Leonardi GR, Vieira CEC, Guirado GN, Zague V et al. Efeito do ultra-som e do d-pantenol na regeneração tegumentar. *Rev Bras Fisioter.* 2005;9(3):365-71.
16. Kleiman I, Simões MJ, Goldenberg S. Aspectos atuais do processo de reparação tecidual. *Acta Cir Bras.* 1995;10:2-8.
17. Modolin M, Bevilacqua RG, Ruy G. Cicatrização das feridas. Síntese das aquisições recentes. *Rev Bras Clin Terap.* 1985;14(6):208-13.
18. Freitas LBS, Freitas TP, Rocha LG, Silveira P, Pinho RA, Streck EL. Effect of therapeutic pulsed ultrasound on parameters of oxidative. *Cell Biol Int.* 2007;31:482-8.
19. Yang JH, Kim DK, Kim TY, Kim GY, Shin SC. Anti-inflammatory effects by transdermal application of triamcinolone acetonide gel using phonophoresis in rats. *Int J Pharm.* 2005;302:39-46.
20. Fujimura T, Moriwaki S, Imokawa G, Takema Y. Crucial role of fibroblast integrins alpha2 and beta1 in maintaining the structural and mechanical properties of the skin. *J Dermatol Sci.* 2007 Jan;45(1):45-53. Epub 2006 Nov 21.