

A UTILIZAÇÃO DA *Pfaffia glomerata* NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS DA PELE

Pfaffia glomerata in the process of healing of skin wounds

Marileide Inacio da **SILVA**, Jurandir Marcondes **RIBAS-FILHO**, Osvaldo **MALAFAIA**,
Paulo Afonso Nunes **NASSIF**, Mauricio Marcondes **RIBAS**, Michelle **VARASCHIM**, Letícia Elizabeth **CZECZKO**

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba/Faculdade Evangélica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

RESUMO – Racional - Quando ocorre perda tecidual na pele surge a necessidade de reconstituir-se o tecido lesionado e atualmente cada vez mais surgem artifícios que se propõem neoformá-lo. O uso de fitoterápicos, como a *Pfaffia glomerata*, tem a finalidade de buscar nestes produtos princípios ativos que desempenhem efetivo papel no processo de cicatrização. **Objetivo** - Avaliar os resultados da utilização da *Pfaffia glomerata* na cicatrização de feridas cirúrgicas em ratos. **Métodos** - Foram utilizados 40 ratos, nos quais realizaram-se feridas cirúrgicas com punch de 3 mm de diâmetro no dorso da parte superior direita onde nenhuma substância foi aplicada e nesses mesmos animais foram também realizadas feridas cirúrgicas na região inferior, onde foi aplicado o extrato do fitoterápico. Foram divididos em quatro subgrupos de 48 horas, uma, duas e três semanas em relação ao sacrifício. Foram tomadas as medidas na circunferência para analisar a contração da ferida macroscopicamente. Microscopicamente os resultados foram analisados utilizando-se a coloração de Hematoxilina-Eosina, para verificar o processo inflamatório; imunohistoquímica, fator VIII, para observar a densidade vascular; e tricrômio de Masson para estudar a fibrose. **Resultados** - Macroscopicamente o grupo planta obteve resultados superiores ao grupo controle. A análise da variável fator VIII mostrou significância estatística no grupo de uma semana do fitoterápico. Na variável fibrose, constatou-se que no período de 48 horas o grupo controle apresentou 70% de casos com fibrose mínima, ao passo que o da planta, 90%. Em uma semana, o grupo controle apresentou 10% de casos com ausência de fibrose, 60% com fibrose mínima e 30% com fibrose moderada, enquanto que o grupo planta apresentou 70% de casos com fibrose mínima e 30% com fibrose moderada. Já no período de duas semanas, o grupo controle manteve 60% dos casos com fibrose mínima e aumentou para 40% os com fibrose moderada, enquanto que o grupo planta manteve sua média apresentada no grupo anterior. No período de três semanas ambos os grupos, controle e planta, mantiveram as porcentagens apresentadas no período anterior. **Conclusão** - Macroscopicamente em relação à contração da ferida o grupo planta apresentou resultados superiores ao grupo controle. Com relação à análise histológica: a coloração de HE mostrou que houve a maior presença de processo inflamatório nos animais do grupos controle. A técnica de imunohistoquímica avaliada mostrou densidade vascular superior no grupo planta no período de uma semana sendo que na coloração de tricrômio de Masson as alterações estudadas não se apresentaram significativas.

DESCRITORES - Cicatrização de feridas.
Ratos. Fitoterapia.

Correspondência:

Marileide Inacio da Silva,
e-mail: mari_inacio70@hotmail.com

Fonte de financiamento: não há
Conflito de interesses: não há

Recebido para publicação: 08/06/2010
Aceito para publicação: 25/10/2010

HEADINGS - Wound healing. Rats.
Phytotherapy.

ABSTRACT - Background - When tissue loss occurs in the skin comes the need for reconstruction and many devices and medication are proposed to increase the healing process. The use of herbal medicine, such as *Pfaffia glomerata*, aims to play an active role in the scar formation. **Aim** - To evaluate the results of the use of *Pfaffia glomerata* on healing process of surgical wounds in rats. **Methods** - A total of 40 rats, which were held surgical wounds with a punch of 3 mm in diameter at the upper right back where no substance was applied and another in the lower region, where the herbal extract was used. They were divided into four subgroups of 48 hours, one, two and three weeks in relation to sacrifice. Measures were taken on the circumference to analyze the macroscopic contraction of the wound. Microscopic data were analyzed using the hematoxylin-eosin staining to verify the inflammatory process; immunohistochemistry, factor VIII, to observe the vascular density, and Masson trichrome to study fibrosis. **Results** - Macroscopic plant group achieved better results than the control group. The analysis of factor VIII showed statistical significance in a week of herbal medicine. In fibrosis, it was found that during the 48 hours the control group showed 70% of cases with minimal

fibrosis, whereas the plant, 90%. In one week, the control group showed 10% of cases with no fibrosis, 60% with minimal fibrosis and 30% with moderate fibrosis, while the group plant showed 70% of cases with minimal fibrosis and 30% with moderate fibrosis. In the period of two weeks, the control group maintained 60% of cases with minimal fibrosis and increased to 40% of those with moderate fibrosis, while the plant maintained its group average presented in the previous group. In three weeks both groups, control and plant, kept the percentages presented in the previous period. **Conclusion** - In relation to wound contraction, plant group showed better results than the control group. In regard to histological analysis, HE staining showed a greater presence of inflammation in the animals of control groups. The immunohistochemical technique showed a vascular density, higher in the plant during the period of one week and Masson's trichrome staining showed no significant changes

INTRODUÇÃO

Pesquisadores e estudiosos antigos já se dedicaram à compreensão da cicatrização que ainda hoje não está bem esclarecida, pois os mecanismos envolvidos são muitos e se interrelacionam. Uma pequena alteração vascular ou a insuficiência do funcionamento de algumas células geram alterações significativas na cicatrização de tecidos. O processo da cicatrização teve seu estudo iniciado na Antiguidade⁷. O registros mais antigos falam sobre manuscritos egípcios que datam de 3000-2500 AC. Nestes são mencionados curativos à base de mel, graxa, fios de linho e diversos tipos de excrementos, que faziam parte dos princípios da farmacopéia egípcia.

O uso de fitoterápicos na cicatrização de feridas cirúrgicas tem sido incrementado nos últimos anos da nossa era com a busca de princípios ativos que desempenhem efetivo papel neste processo acelerando a recuperação tecidual.

Não há na literatura muitos artigos que estudam a ação da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen no processo de cicatrização. É espécie pertencente à família *Amaranthaceae*, conhecida como fafia, corango-sempré-viva e ginseng brasileiro⁹. É arbustiva alta, encontrada em parte do território brasileiro, principalmente em São Paulo, Paraná, Mato Grosso e Goiás.

Neto AG, et al.⁸ estudaram os efeitos do extrato de *Pfaffia glomerata* em diferentes animais e obtiveram efeitos anti-inflamatórios e analgésicos semelhantes aos que eles puderam observar com drogas não esteróides como a indometacina. Declararam também estes autores que isto sugere um mecanismo de ação desta planta associado com a inibição da síntese de prostaglandina, como é observado em muitas drogas não esteróides, por também possuir entre seus princípios ativos o sitosterol, alantóina e estigmasterol.

A propriedade antiedematogênica desta planta foi também estudada por Teixeira CGL, et al.¹¹ em 2006, sendo que eles confirmaram esta habilidade e acrescentaram que seus resultados revelaram que o óxido nítrico estimulado por algum componente

presente no extrato da planta, ativa a guanilato ciclase solúvel, que tem papel no mecanismo envolvido no efeito anti-inflamatório do extrato hidroalcoólico da *Pfaffia glomerata*, característica esta que os autores consideraram como fator importante para reforçar sua qualidade terapêutica.

Este trabalho tem por objetivo avaliar os resultados da utilização da *Pfaffia glomerata* na cicatrização de feridas cirúrgicas em ratos.

MÉTODO

Este estudo foi realizado no Instituto de Pesquisas Médicas - IPEM do Programa de Pós-graduação em Princípios da Cirurgia do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba e Faculdade Evangélica do Paraná. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba.

A obtenção do extrato hidroalcoólico da *Pfaffia glomerata* foi realizado no laboratório de Farmacognosia da Universidade Federal do Paraná.

Após a obtenção do extrato, seguiu-se a realização do experimento nos animais para avaliação do teste de toxicidade a fim de averiguar se a concentração obtida era tóxica.

Foram utilizados 40 ratos, da linhagem Wistar, machos, procedentes do biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), com idade de 120 dias e peso médio de 230 g.

As feridas cirúrgicas foram realizadas em 40 ratos com punch de 3 mm de diâmetro. No dorso da parte superior do animal nenhuma substância foi aplicada e na região inferior foi usado o extrato de *Pfaffia glomerata*, para que o mesmo não escoasse para as feridas cirúrgicas de controle e alterasse, desta maneira o resultado do grupo controle. Assim sendo o grupo controle e o grupo planta foram realizados nos mesmos animais

Procedimento cirúrgico

Os animais foram pesados e submetidos à anestesia geral com administração intramuscular de ketamina

(Ketalar® Ache) na dose de 50 mg/kg e xilazina (Virbaxyl 2%® Virbac) na dose de 10 mg/kg. Os ratos permaneceram em plano anestésico profundo até o final da operação e depois posicionados em decúbito ventral para a realização da tricotomia na região dorsal, feita com lâmina de aço inoxidável e sabão líquido. Foi preparado um modelo em folha de transparência com 8 mm de largura e no seu centro uma circunferência de 3 mm que coincidia com o tamanho da lesão; as demarcações foram realizadas com caneta preta própria para a pele. Procedeu-se a antisepsia com solução alcoólica de clorexidina 2% antes da realização da ferida cirúrgica.

Após a operação, os animais foram acondicionados em suas respectivas caixas, em temperatura ambiente, com ciclo claro-escuro e com livre acesso à água potável e ração padrão comercial (Nuvilab® Nuvital). Todas as gaiolas foram limpas e a ração e água trocadas diariamente. Os animais não receberam curativos no pós-operatório e permaneceram sob este regime até a data prevista para as aferições do experimento.

Conforme o cronograma estabelecido, os ratos foram mortos por inalação letal de éter sulfúrico em 48 horas, uma semana, duas semanas e três semanas após o procedimento cirúrgico.

Depois de constatada a morte do animal, ele era posicionado em decúbito ventral e primeiramente aferida a medida do diâmetro central da ferida. Posteriormente com bisturi, incisava-se a pele na demarcação anteriormente feita e a peça era depositada em frascos contendo formol a 10% e encaminhada para a análise histológica.

Avaliação macro e microscópica

Macroscopicamente, em cada dia da morte dos animais eram tomadas as medidas no centro para analisar a contração da ferida macroscopicamente e anotadas em uma tabela para posterior avaliação.

Microscopicamente os resultados foram analisados utilizando-se a coloração de Hematoxilina-Eosina, para verificar o processo inflamatório; imunohistoquímica, fator VIII, para observar a densidade vascular; e tricrômio de Masson para estudar a fibrose.

Análise estatística

Os dados, os quais foram medidos em milímetros, foram organizados em planilha Excel e analisados através do programa computacional Statistica, versão 8.0. Quando da comparação dos grupos, adotou-se o teste não paramétrico de Wilcoxon em função do pareamento. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística.

RESULTADOS

Avaliação macroscópica

Grupo Controle

Como mostra a Tabela 1, não houve diferença estatística entre os subgrupos no grupo controle e valores de p .

TABELA 1 - Comparação dos subgrupos dentro do grupo controle e valores de p

Subgrupo	n	média	mediana	mínimo	máximo	desvio-padrão
48 horas	10	2,9	3	2,5	3	0,2
1 sem.	10	2,6	3	2	3	0,5
2 sem.	10	2,1	2	2	3	0,3
3 sem.	10	2	2	2	2	0
Comparação efetuada		Valor de p				
48 horas x 1 semana		0,116				
1 semana x 2 semanas		0,043				
2 semanas x 3 semanas		---				

Grupo Planta

Como mostra a Tabela 2, a menor média desta variável ocorreu no subgrupo de três semanas, porém a diferença não foi estatisticamente significativa.

TABELA 2 - Comparação dos subgrupos dentro do grupo planta e valores de p

Subgrupo	n	média	mediana	mínimo	máximo	desvio-padrão
48 horas	10	2,7	2,75	2	3	0,3
1 sem.	10	2,4	2,25	2	3	0,4
2 sem.	10	2,2	2	2	3	0,4
3 sem.	10	1,8	2	1	2	0,4
Comparação efetuada		Valor de p				
48 horas x 1 semana		0,050				
1 semana x 2 semanas		0,418				
2 semanas x 3 semanas		0,109				

Comparação entre os grupos

A menor média do grupo controle foi no tempo de três semanas, cujo valor se apresentou de 2,0; no grupo planta, o menor valor da média foi de 1,8 neste mesmo tempo não havendo, no entretanto, diferença estatisticamente significativa.

Avaliação microscópica

Avaliação do processo inflamatório através da coloração HE

Como pode ser observado na Tabela 3 os grupos tiveram maior número de variáveis com alterações histológicas no subgrupo 48 horas. No subgrupo uma semana, o grupo que apresentou maior número de casos com alterações foi o da planta. Já no subgrupo duas semanas esta relação foi distinta. Quanto ao subgrupo três semanas, o grupo controle apresentou um caso com granulomas e um de epitélio ulcerado com células polimorfonucleares, enquanto que o grupo planta apresentou apenas um caso com granulomas.

Avaliação imunohistoquímica do fator VIII

Comparação dos subgrupos dentro de cada grupo

Grupo Controle

Como pode ser observado na Tabela 4, a diferença estatisticamente significativa ocorreu quando comparados os subgrupos 48 horas com uma semana ($p=0,011$) e uma com duas semanas ($p=0,035$).

TABELA 3 - Apresentação das alterações observadas através da coloração HE nos grupos controle e planta

Grupo Controle	48 horas	Semanas		
		1	2	3
Edema	3 casos			
Presença de células polimorfonucleares		1 caso		
Edemas e células polimorfonucleares	1 caso			
Edemas, células polimorfonucleares, abscessos e granulomas	1 caso			
Granulomas				1 caso
Granuloma devido à reação a corpo estranho focal		1 caso	1 caso	
Úlcera rasa	1 caso			
Úlcera profunda	4 casos			
Reação gigantocelular		2 casos		
Epitélio de repitalização			2 casos	
Epitélio ulcerado com células polimorfonucleares e reação gigantocelular			1 caso	1 caso
Grupo Planta	48 horas	Semanas		
		1	2	3
Edema	4 casos sendo que 2 eram discretos e 2 moderados			
Presença de células polimorfonucleares		1 caso		
Edemas e células polimorfonucleares				
Edemas, células polimorfonucleares, abscessos e granulomas				
Granulomas	1 caso	2 casos, sendo que em 1 só havia 1 granuloma	1 caso	
Úlcera rasa	1 caso			
Úlcera profunda	4 casos			
Granulomas e células polimorfonucleares				1 caso
Epitélio ulcerado		1 caso		
Epitélio ulcerado com presença de células polimorfonucleares		2 casos		
Epitélio ulcerado com células polimorfonucleares e reação gigantocelular		2 casos		

TABELA 4 - Comparação dos subgrupos dentro do grupo controle e valores de p

Subgrupo	n	média	mediana	mínimo	máximo	desvio-padrão
48 horas	10	9,9	9,5	7	17	2,88
1 sem.	10	12,9	11	10	17	2,81
2 sem.	10	9,5	8	7	17	3,31
3 sem.	10	8,9	7	5,5	15	3,13
Comparação efetuada		Valor de p				
48 horas x 1 semana		0,011				
1 semana x 2 semanas		0,035				
2 semanas x 3 semanas		0,631				

Grupo Planta

Neste grupo a diferença estatisticamente significativa ocorreu na comparação dos subgrupos uma com duas semanas, onde o valor de p foi menor que 0,001 (Tabela 5).

TABELA 5 - Comparação dos subgrupos dentro do grupo planta e valores de p

Subgrupo	n	média	mediana	mínimo	máximo	desvio-padrão
48 horas	10	11,8	13	8	14	2
1 sem.	10	14,1	13	11	19	3,11
2 sem.	10	9,4	9	7	13	1,78
3 sem.	10	9	9	7	15	2,39
Comparação efetuada					Valor de p	
48 horas x 1 semana					0,247	
1 semana x 2 semanas					< 0,001	
2 semanas x 3 semanas					0,436	

Comparação dos grupos dentro dos subgrupos

O grupo controle teve maior média no tempo em uma semana (valor = 12,9). O grupo planta, apresentou sua maior média também no tempo de uma semana com o valor de 14,1, porém, não houve diferença significativa (Tabela 6).

TABELA 6 - Valores de p nas comparações dos subgrupos entre os grupos

Subgrupos	Planta X Controle
48 horas	0,093
1 semana	0,374
2 semanas	0,726
3 semanas	0,933

Avaliação da fibrose

A análise da fibrose consistiu de observação microscópica da maior ou da menor presença de fibras colágenas, comparando com o tecido normal e baseando-se nisto constatou-se que no subgrupo 48 horas o grupo controle apresentou 70% de casos com fibrose mínima, ao passo que o grupo planta, 90%. No subgrupo uma semana, o grupo controle apresentou 10% de casos com ausência de fibrose, 60% com fibrose mínima e 30% com fibrose moderada; enquanto que o grupo planta apresentou 70% de casos com fibrose mínima. Já no subgrupo duas semanas, o grupo controle manteve 60% dos casos com fibrose mínima e aumentou para 40% o número de casos com fibrose moderada, enquanto que o grupo planta manteve sua média apresentada no subgrupo anterior. E finalmente no subgrupo três semanas, os grupos controle e planta mantiveram suas porcentagens apresentadas no subgrupo anterior.

DISCUSSÃO

O animal escolhido, o rato da linhagem Wistar^{2,3,4,5,10} é de aquisição simples em nosso meio, seu alojamento não ocupa muito espaço, é de fácil manipulação experimental, grande resistência a infecções e tem sua anatomia conhecida. Além disso, permite padronização no que diz respeito à idade, ao peso, ao sexo e à

alimentação, porém sua pele apresenta diferença importante em relação à pele humana, que é a ausência de limite definido entre derme papilar e reticular, o que pode falsear resultados de trabalhos experimentais.

A técnica cirúrgica realizada com punch é precisa, de fácil reprodução e padronização⁵.

A avaliação macroscópica que constou da verificação da contração da ferida tendo como referência as medidas demarcadas no dia do procedimento cirúrgico, corrobora com o estudo desenvolvido por Araújo LRR³. Essa verificação se fez necessária, uma vez que o processo de contração da ferida é a quarta fase do processo de cicatrização e consiste no movimento centrípeto das bordas⁷. A fase que antecede a contração da ferida é a proliferação, responsável pelo "fechamento" da lesão propriamente dita e encontra-se dividida em três subfases, que são a repitelização, a fibroplasia e a angiogênese. Por fim, a fase de remodelação segue a de contração da ferida e é a última da cicatrização.

Na avaliação histológica uma das técnicas de coloração utilizada foi a de HE para avaliação do processo inflamatório. Ela é considerada como o principal meio de análise quando o objeto de estudo é o tecido epitelial. Por meio dela pode-se diferenciar partes basófilas, através da hematoxilina e acidófilas pela eosina. Isto se deve ao fato de a hematoxilina ter atração por substâncias básicas componentes dos tecidos, as proteínas ricas em radicais amina e os núcleos, assim como o retículo endoplasmático rugoso. Já a eosina, sendo acidófila, cora substâncias com caráter ácido⁴. Neste estudo foi encontrado um caso com a presença destas células no período de uma semana, tanto no grupo controle quanto no planta.

Outro achado importante é a presença de macrófagos, responsáveis pela reação gigantocelular⁷. Os linfócitos, por suas linfocinas, têm grande influência sobre os macrófagos. Estas células aparecem na ferida em aproximadamente uma semana, e dentro deste período, neste estudo, foi observado um caso apresentando esta manifestação no grupo controle e também um caso neste mesmo grupo no período de duas semanas. Já no grupo planta, houve dois casos no subgrupo uma semana, inclusive com o acometimento do epitélio que se apresentava ulcerado. Foram observados dois casos no período de duas semanas no grupo controle. Entretanto, no grupo planta esta propriedade não foi constatada durante o tempo avaliado.

Outra técnica utilizada para a avaliação da pesquisa realizada foi a imunohistoquímica; o anticorpo usado para a verificação da neovascularização foi o fator de von Willebrand ou fator VIII, que é uma glicoproteína produzida unicamente pelas células endoteliais e megacariócitos e, por este motivo, é rotineiramente utilizada para identificar vasos em cortes de tecidos. Xavier RLF¹², relata ser este um anticorpo monoclonal capaz de reagir com células endoteliais, exibindo reatividade em padrão granular ao nível do citoplasma

das células marcadas positivamente.

A angiogênese, essencial para o suprimento de oxigênio e nutrientes para a cicatrização, teve melhor resultado no grupo planta no período de uma semana.

Quanto à formação de fibras colágenas, a coloração recomendada para uso no tecido conjuntivo é o tricrômio de Masson, A formação do tecido de granulação depende do fibroblasto, célula crítica na formação da matriz. Longe de ser apenas produtor de colágeno, o fibroblasto produz elastina, fibronectina, glicosaminoglicana e proteases, responsáveis pelo desbridamento e remodelamento fisiológico. Dentro desta análise, os grupos estudados não apresentaram diferenças significativas entre eles.

CONCLUSÃO

Em relação à contração da ferida o grupo planta apresentou resultados superiores ao controle. Com relação à análise histológica houve presença de processo inflamatório nos grupos estudados, sendo que ao final somente o grupo controle apresentou maior número de casos inflamatórios. Quanto à densidade vascular, ela foi superior no grupo planta no período de uma semana. A fibrose não apresentou diferenças entre os grupos.

REFERÊNCIAS

1. Araújo CAA, Aguiar JLA, Lima FP, Azevedo IM, Medeiros AC. Influência do corticóide na cicatrização da anastomose traqueal sob tensão em cães. *Acta Cir Bras*. 2003; 18(suppl.1):33-9.
2. Araújo URMF, Czezko NG, Ribas-Filho JM, Malafaia O, Budel VM, Balderrama CMSR, Zimmermann E, Dietz UA. Reparo intraperitoneal de defeitos da parede ventral do abdome com telas de poliéster com colágeno e polipropileno com ácido poliglicólico. *Rev Col Bras Cir*. 2009; 36(3): 241-249
3. Araújo LRR. Estudo comparativo dos efeitos induzidos pela aplicação do laser de CO₂ ultrapassado e do laser de Erbium: Yttrium Aluminum Garnet, em pele de ratos. [Dissertação de mestrado] Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia da Faculdade Evangélica do Paraná / Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, 2001.
4. Bittencourt LM. Avaliação das alterações histológicas e da aderência decorrentes da colocação de implantes de silicone revestido com espuma de poliuretano e com espuma de silicone no dorso de ratos. [Dissertação de Mestrado] Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia do Instituto de Pesquisas Médicas da Faculdade Evangélica do Paraná, Curitiba, 2008.
5. Carneiro MIS, Ribas-Filho JM, Malafaia O, Ribas CAPM, Santos CAM, Cavalcanti TCS, Czezko LEA. Estudo comparativo do uso de extrato de *pfaffia glomerata* e do laser de baixa potência (hélio-neônio) na cicatrização de feridas em ratos. *ABCD Arq Bras Cir Dig*. 2010;23(3):163-167
6. Júnior JB. Laser de baixa potência no reparo de feridas em mucosa bucal de coelhos (*Oryctolagus Cuniculus*). [Tese de Doutorado] Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2005.
7. Mandelbaum SH, Di Santis EP, Mandelbaum MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *An Bras Dermatol*. 2003; 78(4):393-408.
8. Neto AG, Costa JMLC, Belati CC, Vinhóis AHC, Possebom LS, Silva-Filho AA, Cunha WR, Carvalho JCT, Bastos JK, Silva MLA. Analgesic and anti-inflammatory activity of a crude root extract of *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. *J Ethnopharmacology* 2005; 96:87-91.

9. Nicoloso FT, Erig AC, Martins CF, Russowski D. Micropropagação do ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. Rev Bras Plant Med. 2001; 3(2):11-8.
10. Rodrigues RG. Efeitos do laser de CO2 ultrapulsado na viabilidade, contração e fibroplasia de retalho cutâneo dorsal de ratos. [Tese de Doutorado] Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.
11. Teixeira CG, Piccoli A, Costa P, Soares L, da Silva-Santos JE. Involvement of the nitric oxide/soluble guanylate cyclase pathway in the anti-oedematogenic action of *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen in mice. J Pharm Pharmacol. 2006 May;58(5):667-75.
12. Xavier RLF. Estudo da angiogênese pelo CD 105 e FvW no carcinoma epidermóide oral e sua relação com o estadiamento clínico do tumor. [Dissertação de mestrado] Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte/ Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Odontologia, Natal, 2008.