



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Doutorado

PRISCYLLA GOUVEIA MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO EXTRATO DAS FOLHAS DE
Persea americana Mill. NA REGENERAÇÃO DE FRATURA
ÓSSEA**

SÃO LUÍS - MA

2025

PRISCYLLA GOUVEIA MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO EXTRATO DAS FOLHAS DE
Persea americana Mill. NA REGENERAÇÃO DE FRATURA
ÓSSEA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal do
Maranhão (UFMA), como requisito para obtenção do
título de Doutor em Ciências da Saúde

Orientadora: Prof^a Dr^a. Maria do Socorro de Sousa
Cartágenes

Co-orientador: Prof. Dr. João Batista dos Santos
Garcia

SÃO LUIS - MA

2025

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a). Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Gouveia Mendonça, Priscylla.

Avaliação da ação do extrato das folhas de *Persea americana* Mill, na regeneração de fratura óssea: avaliação da ação do extrato de *Persea americana* Mill/Priscylla Gouveia Mendonça. -2025.

112f.

Coorientador 1: João Batista dos Santos Garcia.

Orientadora: Maria do Socorro de Sousa Cartagenes.

Tese (Doutorado)-Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, 2025

1.Tíbia. 2. Fratura. 3.*Persea americana*. I Batista dos Santos Garcia, João.II do Socorro de Sousa Cartagenes, Maria. III Titulo

PRISCYLLA GOUVEIA MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO EXTRATO DAS FOLHAS DE
Persea americana Mill. NA REGENERAÇÃO DE FRATURA
ÓSSEA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Vitor Soeiro Pereira
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dra Daniele Ribeiro de Araujo
Universidade Federal de São Paulo -UNIFESP

Profa. Dr^a. Joicy Cortez de Sá Sousa
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho
Universidade Federal do Maranhão
Memória

Prof. Dr^a Maria do Socorro de Sousa Cartágenes
Universidade Federal do Maranhão
Orientadora

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, meus Pais que
sempre foram o meu alicerce. Minhas
irmãs por todo carinho e respeito. E a
minha orientadora por toda ajuda e
paciência.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de reencar e evoluir.

Ao meu pai Raimundo (*in memorian*) e minha Mãe Iracema, por todo amor, carinho e doçura na minha criação. Por me ensinarem o sentido da vida em família.

A minha sobrinha e afilhada Maria Laura por alegrar minha vida.

Ao meu amigo Francisco pela parceria nessa caminhada de mestrado e doutorado.

A minha orientadora prof Dra Socorro, por ter me aceito no grupo de pesquisa, por toda a ajuda. E aos animais que se sacrificaram para execução deste trabalho.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Plantas medicinais como fontes de compostos bioativos.....	16
2.2 Fraturas ósseas: desafios clínicos, fisiológicos e terapêuticos na consolidação.....	18
2.3 Compostos bioativos e regeneração óssea: avanços recentes	25
2.4 A espécie <i>Persea americana</i> Mill.	26
2.5 Estudos experimentais com <i>Persea americana</i> Mill.....	27
2.6 <i>Persea americana</i> na consolidação óssea.....	31
2.7 Prática de natação como exercício aeróbico de baixo impacto.....	32
3 OBJETIVOS	35
3.1 Objetivo geral	35
3.2 Objetivos específicos	35
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1 Coleta e preparação do extrato vegetal	36
4.2 Animais	36
4.3 Protocolo Experimental	37
4.4 Análise por Cromatografia Líquida Acoplada por Espectrometria de Massas ...	40
4.5 Atividade enzimática da COX 1 e COX 2.....	40
4.6 Análise bioquímica do sangue	41
4.7 Avaliação Clínica	42
4.8 Análise radiográfica	43
4.9 Análise histológica do tecido ósseo	44
4.10 Análise estatística	45
5 RESULTADOS	45
CAPÍTULO I.....	47
Introdução	49
Material e Métodos	50
<i>Coleta e preparação do extrato vegetal</i>	50
<i>Animais experimentais</i>	51
<i>Protocolo experimental</i>	51
<i>Intervenção com exercício aeróbico crônico</i>	52

<i>Indução da fratura</i>	52
<i>Análise cromatográfica (HPLC-MS/MS)</i>	52
<i>Inibição enzimática da ciclooxigenase</i>	53
<i>Análise histológica do tecido ósseo</i>	53
Resultados	54
<i>Análise cromatográfica (HPLC-MS/MS)</i>	54
<i>Atividade inibitória das enzimas COX</i>	54
<i>Análise histológica do tecido ósseo</i>	54
Discussão	56
Conclusão.....	58
Referências.....	59
Agradecimentos.....	62
Legendas	63
CAPÍTULO II	68
Introdução	85
Material e métodos.....	86
<i>Teste de deambulação forçada (RotaRod)</i>	89
<i>Teste de distribuição de peso (Weight Bearing)</i>	89
Resultados	90
Discussão	95
Conclusão.....	97
Referências.....	98
Legendas das figuras e tabelas	99
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	106
7 CONCLUSÃO	106
REFERÊNCIAS.....	108
INFORMAÇÕES SUPLEMENTARES	118
ANEXOS	121

LISTA DE ABREVIACÕES

LEED	Laboratório Experimental de Estudo da Dor-LEED
EHPA	Extrato Hidroetanólico das folhas de <i>Persea americana</i> Mill.
COX-1	Ciclooxigenase 1
F.PaAcet	Fração Acetato de Etila
F.Pa.But	Fração Butanólica
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
(HPLC-MS),	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa
GC-MS	Espectrometria de Massa de Cromatografia Gasosa
GC-FID	Cromatografia em fase gasosa com detector de ionização em chama
MC	Macho controle
MS	Macho suplementado
S	Sádio
FE	Fratura extrato
FEN	Fratura extrato natação
FN	Fratura natação
F	Fratura

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1. Descrição esquemática das quatro fases da consolidação da fratura

Figura 2. Copa frutífera de *Persea americana* Mill. (abacateiro) em ambiente rural do município de Paço do Lumiar, Estado do Maranhão, Brasil.

Figura 3. Representação gráfica do levantamento etnofarmacológico e científico dos usos medicinais da espécie *Persea americana* Mill. no período de 1980 a 2025.

Figura 4. Primeiro momento de adaptação.

Figura 5. Segundo momento de adaptação.

Figura 6. Terceiro momento de adaptação.

Figura 7. A-Imagem de fratura realizada em um dos animais. B-Imagem do membro suturado.

Figura 8. Animal em aparelho RotaRod.

Figura 9. Animal em aparelho Weight Bearing.

Figura 10. Posicionamento dos animais no Raio X.

CAPÍTULO I

Figura 1. Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill.

Figura 2. Percentual de inibição da ciclooxigenase-2 (COX-2) in vitro induzido pelo extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill.

Figura 3. Análise histológica da tíbia em diferentes grupos experimentais.

CAPÍTULO II

Figura 1. Radiografias de fratura de tíbias em ratos Wistar nos dias 21 (D21) e 28 (D28) após indução da fratura.

Figura 2. No D28, o grupo FE apresenta consolidação completa e união óssea sem deformidades.

Figura 3. Efeito da administração do extrato hidroetanólico de *Persea americana* Mill. (EHPA) no teste de Atividade Motora/Deambulação Forçada (RotaRod), em modelo de fratura de tíbia em ratos.

Figura 4. Imagem NIRF *ex vivo* e correlação com PET.

Figura 5. Cortes histológicos exemplares do baço (A), fígado (B) e rim (C).

RESUMO

Introdução: Nos últimos anos, os tratamentos para fraturas ósseas têm avançado, porém alguns ainda exibem problemas de consolidação. As fraturas expostas mais comuns ocorrem nas tíbias em 20 a 40% dos casos. O aumento do uso de produtos naturais, especialmente os medicinais, e substâncias ligadas a pesquisas fitofarmacêuticos, indicam que há um grande potencial para o desenvolvimento de novos remédios para tratar doenças e condições relacionadas. **Objetivos:** Avaliar a ação do extrato de *Persea americana* Mill., no processo de reparo da fratura óssea. **Metodologia:** Cinco grupos experimentais com 6 animais. Grupo Saudável (H): Sem intervenção; Fratura + Extrato (FE): Fratura induzida e EHPA oral; Fratura + Extrato + Natação (FEN): Fratura induzida, EHPA e 30 min de natação diária; Fratura + Natação (FN): Fratura induzida, natação por 30 min; e Fratura (F): Fratura induzida. A dose de 750 mg/kg de EHPA administrada por gavagem oral 28 dias. **Resultados:** Por meio da caracterização pela cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa do extrato de *Persea americana* Mill. apresentou 24 substâncias, ionizadas de modo positivo e negativo, 17 já descritas na literatura. Por meio de Raio x confirmado a indução e consolidação da fratura no D0 e no D28. A porcentagem de inibição da (COX-2) *in vitro*, induzida pelo EHPA, foi de até 55% sendo proporcional ao aumento da dose. Os parâmetros comportamentais, os efeitos radiológicos e a histologia do tecido ósseo corado com hamatoxilina eosina são melhores em grupos tratados com EHPA (750 mg/kg)

Palavras-chave: *Persea americana* Mill, Procianidinas, Fratura óssea; Reparo ósseo

ABSTRACT

Introduction: In recent years, treatments for bone fractures have advanced, but some still exhibit consolidation problems. The most common open fractures occur in the tibia in 20 to 40% of cases. The increased use of natural products, especially medicinal ones, and substances linked to phytopharmaceutical research indicate that there is great potential for the development of new medicines to treat related diseases and conditions. **Objetives;** To evaluate the action of the extract from the leaves of *Persea americana* Mill. the bone fracture repair process. **Methodology:** Five experimental groups with 6 animals. Healthy Group (H): no intervention; Fracture+Extract (EF): Induced fracture and oral EHPA; Fracture +Extract+Swimming (FEN): Induced fracture, EHPA and 30 min of daily swimming; Fracture +Swimming (FN): Induced fracture, swimming for 30 min; and Fracture (F): Induced fracture. A dose of 750mg/kg of EHPA administered by oral gavage de 28 days **Results:** Through characterization using the liquid chromatographyy dereplication technique coupled to the mass spectrometry of the extract of *Persea americana* Mill. we identified 24 substances, ionized in positive and negative mode, 17 already described in the literature X-Ray confirming fracture induction on D0 and on D28 confirming bone union. The percentage of inhibition of (COX-2) in vitro, induced by EHPA, was up to 55% and was proportional to the increase in dose. Behavioral parameters, radiological effects and histology of bone tissue stained with hamatoxylin and eosin are better in groups treated with EHPA (750mg/kg).

Keywords: *Persea americana* Mill, Procyanidins, Bone fracture; Bone repair

1 INTRODUÇÃO

Nas primícias da civilização pré-histórica, os seres humanos buscavam alívio e tratamento de suas dores usando produtos naturais, como plantas, animais. No Brasil, a biodiversidade e o potencial econômico da flora brasileira, demonstra a riqueza em plantas produtoras dos mais diferentes insumos, bem como o potencial medicinal de várias espécies (SHARMA, 2024).

A indústria de plantas medicinais e de fitoterápicos torna-se uma excelente alternativa ao acesso a medicamentos seguros, eficazes, de qualidade e a preços acessíveis (ATANASOV; ZOTCHEV; DIRSCH; SUPURAN, 2021). Representa a possibilidade de ampliação de opções terapêuticas ofertadas aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS) na perspectiva de melhoria da atenção à saúde e de inclusão social.

Dentro da prática para tratamentos não invasivos, foi pactuada na Comissão Intergestores Tripartite, aprovada pelo Conselho Nacional de Saúde no ano de 2005 e publicada por meio de Portaria GM nº 971, de 03 de maio de 2006, a Política Nacional de Práticas Complementares e Integrativas do SUS (PNPIC) que propôs a inclusão das Plantas Medicinais e dos Fitoterápicos como opções terapêuticas no Sistema Público de Saúde (SANTANA; ASSIS; ARAUJO-JORGE, 2025).

A PNPIC contempla diretrizes e responsabilidades institucionais para oferta de serviços e produtos de homeopatia, plantas medicinais e fitoterapia entre outros. Em março de 2017, a PNPIC foi ampliada em 14 outras práticas a partir da publicação da Portaria GM nº 849/2017 ampliando as abordagens de cuidado e as possibilidades terapêuticas para os usuários, garantindo maiores integralidade e resolutividade da atenção à saúde (FIGUEREDO; GURGEL; GURGEL JUNIOR, 2014).

Essa política traz dentre suas diretrizes a elaboração da relação nacional de plantas

medicinais de interesse ao SUS (RENISUS), em 2009. Uma lista com 71 diferentes espécies vegetais de interesse ao SUS visando o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápico pela população (SAÚDE, 2009). Ressalta-se que a espécie estudada, *Persea americana* Mill, encontra-se listada na posição 48, conhecida popularmente como abacateiro.

Tem sido utilizada na medicina recente e tradicional na prevenção e tratamento de doenças crônicas (GIOVANNINI; HOWES; EDWARDS, 2016; YASIR; DAS; KHARYA, 2010).

No Maranhão, o Laboratório Experimental de Estudo da Dor-LEED já estuda a *Persea americana* Mill. na dor neuropática, osteoartrite e nos seus mecanismos de ação. Considerando o emprego popular e a comprovação do efeito analgésico mostrado por esta espécie vegetal, optou-se por uma nova linha de pesquisa no referido laboratório, utilizando-se da fratura como objeto de estudo. A hipótese estabelecida para este projeto é: O extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill. (EHPA) possui eficácia em modelo experimental na consolidação de fraturas de tíbias em ratos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Plantas medicinais como fontes de compostos bioativos

O uso de produtos naturais como base terapêutica se sustenta em práticas empíricas milenares e continua relevante em países em desenvolvimento, onde o acesso à medicina convencional pode ser limitado. No Brasil, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (Decreto nº 5.813/2006) visa integrar esse conhecimento à saúde pública, promovendo uso sustentável da biodiversidade e base tecnológica segura (FIGUEREDO; GURGEL; GURGEL JUNIOR, 2014). A prescrição racional de fitoterápicos, baseada em eficácia, qualidade, segurança e acesso, é condição essencial para sua integração ao sistema de

saúde (MELO; CASTRO, 2017).

Produtos naturais permanecem fundamentais para a descoberta de fármacos: entre 1981 e 2010, cerca de 69 % dos antimicrobianos foram derivados de substâncias naturais ou inspiradas nelas (ATANASOV; ZOTCHEV; DIRSCH; SUPURAN, 2021). Apesar disso, apenas estimados 15 % das espécies vegetais foram estudadas quanto aos seus constituintes químicos, e apenas 6 % quanto aos seus efeitos biológicos (CHACHOUAY; ZIDANE, 2024).

Em termos de regeneração óssea, estudos recentes destacam que extratos vegetais podem acelerar a união de fraturas e a formação de calo ósseo. Um estudo com *Persicae semen* (*Prunus persica*) mostrou promoção da diferenciação osteoblástica e união óssea em ratos, associado à ativação de RUNX2 e via BMP-2/Wnt10b (JUN; KIM; KIM; HONG *et al.*, 2023). Revisões sistemáticas também confirmam que extratos vegetais em modelos animais promovem proliferação de osteoblastos, formação de calo e reparo da fratura, embora muitas vezes faltem dados completos sobre metodologia e toxicidade (MIRANDA; GUIMARAES-LOPES; ALTOE; SARANDY *et al.*, 2019; PENG; KO; SIU; KOON *et al.*, 2010).

Outros artigos de revisão apontam que plantas mediterrâneas tradicionais como *Glycyrrhiza glabra*, *Salvia officinalis* e *Silybum marianum*, têm compostos capazes de mitigar osteoporose e apoiar a consolidação de fraturas (AL-AJALEIN; IBRAHIM; FAUZI; MOKHTAR *et al.*, 2024). Além disso, a integração da medicina herbal à engenharia de tecido ósseo mostra-se promissora, com potencial de fortalecer a regeneração óssea.

A seleção de plantas para investigação farmacológica pode basear-se em diferentes estratégias: o uso etnofarmacológico oferece alta probabilidade de sucesso, enquanto abordagens quimiotaxonômicas e aleatórias abrem espaço para descobertas inovadoras. Compostos bioativos frequentemente apresentam toxicidade em altas doses, mas isso pode ser explorado terapeuticamente com segurança (VILAS-BOAS; PINTADO; OLIVEIRA, 2021).

2.2 Fraturas ósseas: desafios clínicos, fisiológicos e terapêuticos na consolidação

As fraturas ósseas representam um dos principais desafios clínicos e de saúde pública em todo o mundo, especialmente no que diz respeito à tíbia, um dos ossos mais frequentemente acometidos em traumas fechados. Lesões do sistema musculoesquelético representam cerca de 85% dos atendimentos ortopédicos de emergência, e fraturas da diáfise tibial foram, durante anos, as mais prevalentes nesses cenários (VIEIRA JUNIOR; AGUIAR JÚNIOR; SOMBRA; CASTRO et al., 2017; WU; BISIGNANO; JAMES; ABADY et al., 2021). Conforme a classificação da OTA/AO (Orthopaedic Trauma Association/Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen), tais fraturas são divididas em três tipos: tipo A (simples), tipo B (com cunha) e tipo C (multifragmentares complexas), com implicações terapêuticas importantes e associação frequente a lesões de partes moles.

Em fraturas expostas de ossos longos, como as da tíbia, possuem alta incidência, variando de 11,5 a 30,7 por 100 mil pessoas por ano (COURT-BROWN; BUGLER; CLEMENT; DUCKWORTH et al., 2012; GÜMBEL; MATTHES; NAPP; LANGE et al., 2016). Além de representarem risco aumentado de complicações, essas lesões geram elevados custos hospitalares e sociais. Estima-se que, nos Estados Unidos, o custo anual para o tratamento dessas fraturas seja superior a 230 milhões de dólares (ARRUDA; SILVA; MALERBA; FERNANDES et al., 2009), o que reforça seu impacto socioeconômico (WU; BISIGNANO; JAMES; ABADY et al., 2021).

Não obstante, as fraturas são classificadas em fechadas e expostas. Nas fraturas fechadas, não há rompimento do tecido cutâneo, e o deslocamento ósseo é mínimo. Por outro lado, nas fraturas expostas ocorre perfuração dos tecidos moles e ruptura da pele, com exteriorização da extremidade óssea, o que aumenta o risco de infecção, necrose e complicações cicatriciais (ALJUHANI; ALSHABI; ALANAZI; ALOTHRI et al., 2024; JOHNSON;

O'HARA; REIDER; GARY et al., 2024).

O desbridamento cirúrgico imediato é considerado essencial no tratamento de fraturas expostas para prevenção de infecção e consolidação adequada. Estudos recentes indicam que a fixação intramedular precoce, aliada ao desbridamento meticuloso, reduz significativamente complicações como infecção e retardo de consolidação (ASSUNÇÃO; OLIVEIRA, 2020; VON RUEDEN; WUNDER; SCHIRDEWAHN; AUGAT et al., 2024). Protocolos institucionais (GIGLIO; CRISTANTE; PÉCORÁ; HELITO et al., 2015; SILVA; DE OLIVEIRA; PIMENTEL; DUARTE, 2025) reforçam a abordagem integrada emergencial. Estudos clínicos, incluindo casos brasileiros, mostram que o desbridamento em até 6 horas após o trauma está associado a menor risco de infecção em fraturas expostas (FERNANDES; PERES; QUEIROZ NETO; LIMA NETO et al., 2015).

Apesar dos avanços terapêuticos na ortopedia moderna, aproximadamente 5% a 10% das fraturas ainda evoluem com atraso na consolidação ou se desenvolvem em pseudoartroses, condições que podem causar dor crônica, deformidades estruturais e comprometimento funcional significativo. Esses distúrbios estão frequentemente associados a fatores sistêmicos como tabagismo, diabetes mellitus, idade avançada, além de características da fratura, como sua localização, grau de exposição e suprimento vascular reduzido (BOWERS; ANDERSON, 2024; MILLS; AITKEN; SIMPSON, 2017).

A cicatrização óssea é um dos processos regenerativos mais estudados na atualidade, sendo alvo de terapias que visam acelerar o reparo tecidual e restaurar a integridade biomecânica do osso fraturado. O tecido ósseo, por sua natureza altamente especializada e vascularizada, apresenta notável capacidade de regeneração, superando em eficiência outros tecidos conjuntivos, como o tendíneo, o nervoso e o muscular esquelético. No entanto, a falência desse processo natural pode resultar em complicações clínicas duradouras e elevado

custo socioeconômico para os sistemas de saúde pública (MICK; FISCHER, 2022; YANG; ZHANG; LIANG; CHEN et al., 2022).

A consolidação óssea é um processo biológico dinâmico e altamente regulado, que se desenvolve por meio de quatro fases interdependentes: inflamatória, formação do calo mole, formação do calo duro e remodelação (Figura 01) (SHEEN; MABROUK; GARLA, 2019).

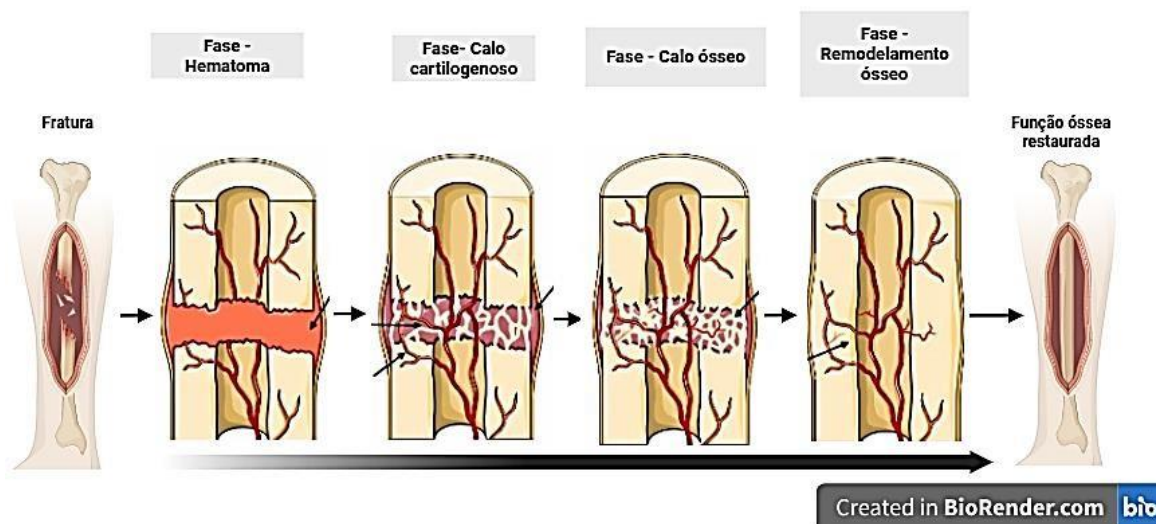


Figura 1. Descrição esquemática das quatro fases da consolidação da fratura: A primeira fase é caracterizada pela formação do hematoma da fratura e uma inflamação local. Na fase seguinte, as células condroprogenitoras se diferenciam em condroblastos e começam a construir uma área de ponte fibrocartilaginosa precoce, enquanto os processos angiogênicos também são mantidos. A terceira fase é caracterizada pela ossificação endocondral, substituindo assim a cartilagem por tecido ósseo primitivo. Na última fase, a estrutura e a função óssea são completamente restauradas pela interação restrita das células formadoras e reabsorventes ósseas. Adaptado de: (PFEIFFENBERGER; DAMERAU; LANG; BUTTGEREIT et al., 2021).

A sequência de eventos inicia-se com a formação do hematoma no local da fratura, o qual atua como matriz provisória rica em citocinas e fatores de crescimento, promovendo o recrutamento de células progenitoras mesenquimais. Estas células, sob influência de estímulos moleculares e biomecânicos, diferenciam-se em condrócitos e osteoblastos, contribuindo para os processos de ossificação endocondral e intramembranosa (BAHNEY; ZONDERVAN;

ALLISON; THEOLOGIS et al., 2019; EINHORN; GERSTENFELD, 2015; GHIASI; CHEN; RODRIGUEZ; VAZIRI et al., 2019).

O calo ósseo, estrutura transitória formada entre os fragmentos ósseos, desempenha papel essencial na restauração da integridade estrutural e funcional do osso fraturado. A etapa final de remodelação envolve a substituição progressiva do calo primário por osso lamelar organizado, devolvendo ao tecido sua arquitetura original e propriedades biomecânicas (EINHORN; GERSTENFELD, 2015).

A fase final da consolidação óssea, conhecida como remodelação, envolve a substituição progressiva do calo ósseo primário por tecido lamelar altamente organizado, restaurando não apenas a anatomia, mas também a resistência biomecânica do osso (FROST, 2003; RODRÍGUEZ-MERCHÁN, 2021). Este processo é mediado por uma interação complexa entre osteoblastos e osteoclastos, regulados por estímulos mecânicos locais e sinalizações bioquímicas, como o sistema RANK/RANKL/OPG (BOYCE; XING, 2008).

Adicionalmente, terapias não invasivas têm sido amplamente investigadas como alternativas ou complementares ao tratamento cirúrgico, particularmente em pacientes com contraindicações clínicas ou alto risco de infecção. Entre essas abordagens, destacam-se o uso de proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), ultrassom pulsado de baixa intensidade (LIPUS), campos eletromagnéticos pulsáteis (PEMF) e agentes eletrofísicos avançados.

As BMPs recombinantes — especialmente BMP-2 e BMP-7 — têm aprovação clínica para uso em fraturas expostas de ossos longos, pseudoartroses e fusões vertebrais, exercendo influência osteoindutora comprovada em manifestações clínicas selecionadas (DARWICHE; KACZMAREK; SCHWARZENBERG; INGLIS et al., 2023b; KRISHNAKUMAR; ROFFI; REALE; KON et al., 2017). No entanto, evidências clínicas conclusivas ainda são limitadas, com resultados mistos em ensaios randomizados.

O LIPUS mostrou benefícios em fraturas atrasadas e pseudoartrose, com aumento significativo da densidade mineral óssea e aceleração visível na consolidação

óssea em ensaios controlados, embora resultados em fraturas frescas permaneçam inconsistentes (BUSSE; BHANDARI; EINHORN; SCHEMITSCH et al., 2016; SCHOFER; BLOCK; AIGNER; SCHMELZ, 2010).

Os campos eletromagnéticos pulsáteis (PEMF) demonstraram eficácia moderada na meta-análise de ensaios clínicos controlados, com melhora moderada nas taxas de consolidação e alívio da dor, embora os efeitos sobre a funcionalidade ainda requerem evidência de melhor qualidade (ALEEM; ALEEM; EVANIEW; BUSSE et al., 2016; DARWICHE; KACZMAREK; SCHWARZENBERG; INGLIS et al., 2023b; PENG; FU; XIONG; ZHANG et al., 2020).

Tecnologias emergentes, como estímulos eletromagnéticos combinados (CEMF), também têm demonstrado promessa ao potencializar a estrutura do calo ósseo e melhorar as propriedades biomecânicas em modelos experimentais (DARWICHE; KACZMAREK; SCHWARZENBERG; INGLIS et al., 2023a).

Estudos experimentais com ratos demonstram que a combinação de reposição de testosterona e atividade física pode promover melhorias marcantes na microestrutura e resistência óssea. Modelos controlados mostram que os dois estímulos atuam de maneira sinérgica: a testosterona melhora parâmetros como densidade mineral trabecular e conectividade, enquanto o exercício incrementa aspectos relacionados à densidade mineral geral e da medula (JOTA-BAPTISTA; FAUSTINO-ROCHA; FARDILHA; FERREIRA et al., 2022). Estudos anteriores indicaram ainda que a testosterona pode atuar diretamente sobre as células do calo ósseo, mesmo em animais hipofisectomizados (TARSOLY; JÁNOSSY; KOSZTURA, 1979), sugerindo um efeito periférico direto sobre os processos

osteorregenerativos (FRANKLE; BORRELLI, 1990).

Quanto às modalidades de exercício, atividades como corrida, salto e natação têm efeitos distintos sobre o tecido ósseo. A natação, embora caracteristicamente de baixo impacto, tem demonstrado ser benéfica especialmente em populações com fragilidade

óssea, podendo manter ou até melhorar a densidade mineral óssea em mulheres pós-menopáusicas quando realizada por tempo prolongado (GOMEZ-BRUTON; GONZALEZ-AGUEERO; GOMEZ-CABELLO; CASAJUS et al., 2013), ainda que

estudos sistemáticos indiquem que não é tão eficaz quanto exercícios com impacto direto (ALBUQUERQUE; GERALDES; RANGOUSSIS; FONSECA et al., 2020; SCHINZEL; KAST; KOHL; VON STENGEL et al., 2023).

O exercício físico exerce papel fundamental na promoção da saúde óssea por meio da ativação de mecanismos de mecanotransdução que regulam a formação e a reabsorção óssea. Contrações musculares geram tensões mecânicas na junção osteotendinosa e nos tecidos trabeculares e corticais, induzindo respostas celulares osteogênicas em osteócitos, osteoblastos e células-tronco mesenquimais (BURR; FORWOOD; FYHRIE; MARTIN et al., 1997; ROBLING; TURNER, 2009).

Esses estímulos ativam cascatas intracelulares como a via Wnt/ β -catenina, a produção de óxido nítrico e o IGF-1, promovendo diferenciação osteoblástica e aumento da deposição mineral (BONEWALD, 2011). Consequentemente, há melhora na densidade mineral óssea (DMO), na geometria óssea e na resistência biomecânica geral do esqueleto, reduzindo o risco de fraturas (NIKANDER; SIEVÄNEN; HEINONEN; DALY et al., 2010; SEEMAN; DELMAS, 2006).

Modelos experimentais em roedores e humanos mostram que diferentes tipos de exercício, como saltos de impacto, corrida, caminhada com carga e treinamento resistido que

resultam em respostas osteogênicas distintas, sendo os exercícios de maior impacto mecânico os mais eficazes para ganho de massa óssea (TURNER; ROBLING, 2003; VAINIONPÄÄ; KORPELAINEN; SIEVÄNEN; VIHRIÄLÄ et al., 2007).

No entanto, para indivíduos com limitação funcional ou fragilidade óssea, exercícios de menor impacto como a natação podem ser alternativas viáveis. Apesar de apresentarem menor capacidade osteogênica, estudos demonstram que, quando realizados com frequência, esses exercícios são capazes de preservar a arquitetura óssea e modular positivamente os marcadores ósseos (MOREIRA; FRONZA; DOS SANTOS; ZACH et al., 2014; SIMAS; HING; POPE; CLIMSTEIN, 2017).

A escolha da natação como modalidade de exercício fundamenta-se em sua compatibilidade com o comportamento natural dos roedores, além de proporcionar estímulo fisiológico com mínima sobrecarga articular e impacto no solo. Isso reduz variáveis externas que poderiam interferir na interpretação biomecânica e histológica dos resultados, favorecendo maior controle experimental e reprodutibilidade dos dados (FALCAI; VOLPON, 2014; GUNDUZ; SENTURK; KURU; AKTEKIN et al., 2004).

Diante do exposto, a realização deste experimento torna-se particularmente relevante, considerando que, apesar da ampla literatura sobre terapias farmacológicas e físicas na consolidação de fraturas ósseas, não há, até o presente momento, estudos publicados que investiguem especificamente os efeitos do extrato hidrossolúvel das folhas de *Persea americana* (EHPA) no processo de osteorregeneração pós-fratura.

Sabe-se, no entanto, que o EHPA já tem sido amplamente documentado na literatura científica por suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e analgésicas, com efeitos promissores em modelos experimentais de dor neuropática, osteoartrite e doenças inflamatórias sistêmicas (AGUNLOYE; OWU; ONAADEPO; BISONG et al., 2025).

Considerando que a fratura óssea inicia-se com uma resposta inflamatória aguda, a qual desencadeia e regula etapas subsequentes da regeneração tecidual, é biologicamente plausível supor que compostos bioativos presentes no EHPA possam modular esse processo, promovendo um ambiente microcelular mais propício à formação e remodelação óssea. A presente investigação, portanto, busca preencher uma lacuna importante na literatura ao integrar abordagens farmacobotânicas e fisioterapêuticas no contexto da consolidação óssea.

2.3 Compostos bioativos e regeneração óssea: avanços recentes

A cicatrização óssea é um processo dinâmico, envolvendo fases bem conhecidas (inflamação, calo mole, calo duro e remodelação) (DELACURE, 1994; KALFAS, 2001). Nas últimas décadas, cresceu o interesse por terapias naturais que possam acelerar esse processo com menor custo e riscos reduzidos.

Um panorama sistemático de estudos pré-clínicos com extratos vegetais demonstrou que essas substâncias estimulam a proliferação osteoblástica e favorecem a formação de calo ósseo em modelos animais (ASHTIANI; HADI; NOURI; RAHIMI et al., 2022). Contudo, muitos estudos carecem de padronização metodológica e validação toxicológica adequada.

Entre os compostos promissores, destaca-se o extrato etanólico de *Rhizoma Musae*, que mostrou ação terapêutica significativa em fraturas, envolvendo alvos moleculares como AKT1, IL-6 e EGFR, sinalização via PI3K-Akt e MAPK, conforme evidenciado por análises integradas de farmacologia de rede e docking molecular (ZHANG; SHEN; LIU; HE et al., 2025).

Um exemplo recente de fitoterápico com efeitos claros na consolidação de fraturas é o extrato de *Marantodes pumilum* var. *alata* (MPva). Em modelo animal, doses de 20 e 100 mg/kg/dia aumentaram os níveis séricos de osteocalcina (indicativo de formação óssea) e

modulam a expressão de genes envolvidos no reparo ósseo, como IGF1 e RANKL (GIAZE; MOHAMED; SYED HASHIM; SHUID et al., 2025).

Além disso, estudos clínicos e pré-clínicos sobre *Moringa oleifera* apontam potencial terapêutico relevante em cicatrização óssea, com melhora dos marcadores inflamatórios e aumento na taxa de recuperação pós-fratura (HAIRI; JUSOH; SADIKAN; HASAN et al., 2025).

Em relação à *Persea americana*, embora ainda não haja estudos diretamente focados na consolidação de fraturas, alguns avanços científicos refletem seu potencial biológico. Um estudo de 2025 demonstrou que extrato foliar promove cicatrização de feridas comparável à iodopovidona, através da inibição do NF-KB1 e ação de compostos como epicatequina, catequina e quercetina (ROSA; RIYANTO; SUSANTI; SETIAWANSYAH et al., 2025).

2.4 A espécie *Persea americana* Mill.

O gênero *Persea* contém aproximadamente 50 espécies, dentre as quais se destaca a *Persea americana* Mill., amplamente conhecida como abacateiro. Originária das Américas, a espécie foi descrita pela primeira vez entre 1526 e 1554, durante expedições pela Mesoamérica e pelo território onde hoje se localiza a Colômbia. O botânico sueco Carolus Linnaeus classificou inicialmente o abacateiro no gênero *Laurus*, sendo posteriormente realocado ao gênero *Persea* por Philip Miller em 1754 (YAHIA; WOOLF, 2011).

Arqueologicamente, há evidências do uso da planta há mais de 10 mil anos. Três principais variedades botânicas são reconhecidas: mexicana (*P. americana* var. *drymifolia*), da Índia Ocidental (*P. americana* var. *americana*) e guatemalteca (*P. nubigena* var. *guatemalensis*), sendo as variedades comerciais modernas resultantes de hibridizações entre essas raças (ISHAM; BARRIENTOS-PRIEGO; CASTAÑEDA-VILDOZOLA; GAZIT, 1999). Do ponto de vista botânico, a árvore pode atingir de 10 a 15 metros de altura, possui copa ampla, que pode

ser reta, espalhada ou arredondada. As folhas são grandes, entre 9 e 18 cm de comprimento, lisas, cerosas, de coloração verde-escura, com margens inteiras e forma oval-oblongada, brilhantes na face superior e opacas na inferior (SCORA; BERGH, 1989). A seguir, apresenta-se um registro fotográfico da copa frutífera da *Persea americana* Mill (Figura 02).



Fonte: MENDONÇA, P.G., 2019.

Figura 2. Copa frutífera de *Persea americana* Mill. (abacateiro) em ambiente rural do município de Paço do Lumiar, Estado do Maranhão, Brasil.

2.5 Estudos experimentais com *Persea americana* Mill

Os extratos das folhas da *Persea americana* Mill. têm sido amplamente investigados por suas atividades farmacológicas, com destaque para os efeitos anti-inflamatório, antinociceptivo, hipoglicemiante, antioxidante e vasorelaxante (ABD ELKADER; LABIB; TAHA; ALTHOBAITI et al., 2022; DEUSCHLE; BRUSCO; PIANA; FACCIN et al., 2019; OVALLE MARÍN; PARRA RUIZ; RIVAS ZAMBRANO; ORELLANA et al., 2020).

Em modelo animal, observou-se que os extratos aquoso e metanólico administrados intravenosamente induzem efeito hipotensor de curta duração, provavelmente em razão do metabolismo acelerado dos roedores (JUMA, 2024).

O extrato aquoso apresentou efeito vasorelaxante em anéis de aorta isolados, sugerindo inibição dos canais de cálcio voltagem-dependentes e influência de fatores endoteliais (ANAKA; OZOLUA; OKPO, 2009). Também foram evidenciadas ações hipoglicemiantes (redução de até 16% da glicemia) e hipocolesterolemiantes (redução de até 8% dos níveis séricos de colesterol total) em ratos alimentados com dieta hiperlipídica (MOKHELE; ABOYADE; KATERERE, 2024).

No Brasil, a etnofarmacologia popular associa o uso da planta ao tratamento de distúrbios renais, reumatismo, helmintíases, anemia, e até mesmo como agente preventivo contra o câncer (AMADO; HELMANN; DETONI; CARVALHO et al., 2019). As partes mais utilizadas são as folhas, casca, sementes e frutos, devido à presença de metabólitos como taninos, flavonoides, esparagina, metileugenol, dopamina e carotenóides (MACENA; SOUZA; CAMILLOTO; CRUZ, 2020).

Estudos do grupo de pesquisa do LEED (Laboratório de Estudo em Dor e Inflamação) demonstraram que o extrato hidroetanólico das folhas (EHPA) possui efeito anti-inflamatório significativo. Os testes evidenciaram inibição das enzimas COX-2, modulação de histamina e serotonina, além de possível atuação central sobre receptores NMDA. A dose de 500 mg/kg reduziu o edema de pata induzido por carragenina em até 70% (LIMA, 2018).

Estudos recentes também apontaram que o EHPA modula marcadores inflamatórios como IL-1 β , TNF- α e COX-2 e apresenta capacidade de promover a cicatrização tecidual por ação antioxidante e regenerativa, envolvendo compostos como epicatequina, catequina e quercetina (ROSA; RIYANTO; SUSANTI; SETIAWANSYAH et al., 2025).

Esses achados reforçam a justificativa biológica e botânica para investigar o extrato hidroetanólico das folhas de *P. americana* como modulador potencial da consolidação óssea, + especialmente considerando seu efeito anti-inflamatório e antioxidante.

A Figura 3 a seguir sintetiza os principais usos medicinais associados a diferentes partes da planta, com base em estudos científicos e etnofarmacológicos publicados entre 1980 e 2025:

O uso etnofarmacológico e científico da espécie *Persea americana* Mill. (abacateiro) tem sido amplamente investigado e relatado em diferentes culturas ao redor do mundo, destacando-se por uma significativa diversidade de partes da planta utilizadas e condições de saúde tratadas. O levantamento atualizado dos estudos entre os anos de 1980 e 2025 revela uma predominância do uso das folhas e sementes da planta, com registros expressivos também envolvendo frutos, cascas e raízes (Figura 3).

Estudos mais recentes, têm consolidado cientificamente aplicações tradicionalmente reconhecidas, particularmente no tratamento de diabetes, hiperglicemia, hiperlipidemia, hipertensão e inflamação (ONYEDIKACHI; NKWOCHA; EJIOFOR; NNANNA, 2024; ZHANG; SHEN; LIU; HE et al., 2025). Destaca-se a comprovação científica recente do extrato foliar de *Persea americana* no tratamento do diabetes por meio da ativação da via de sinalização PKB/Akt.

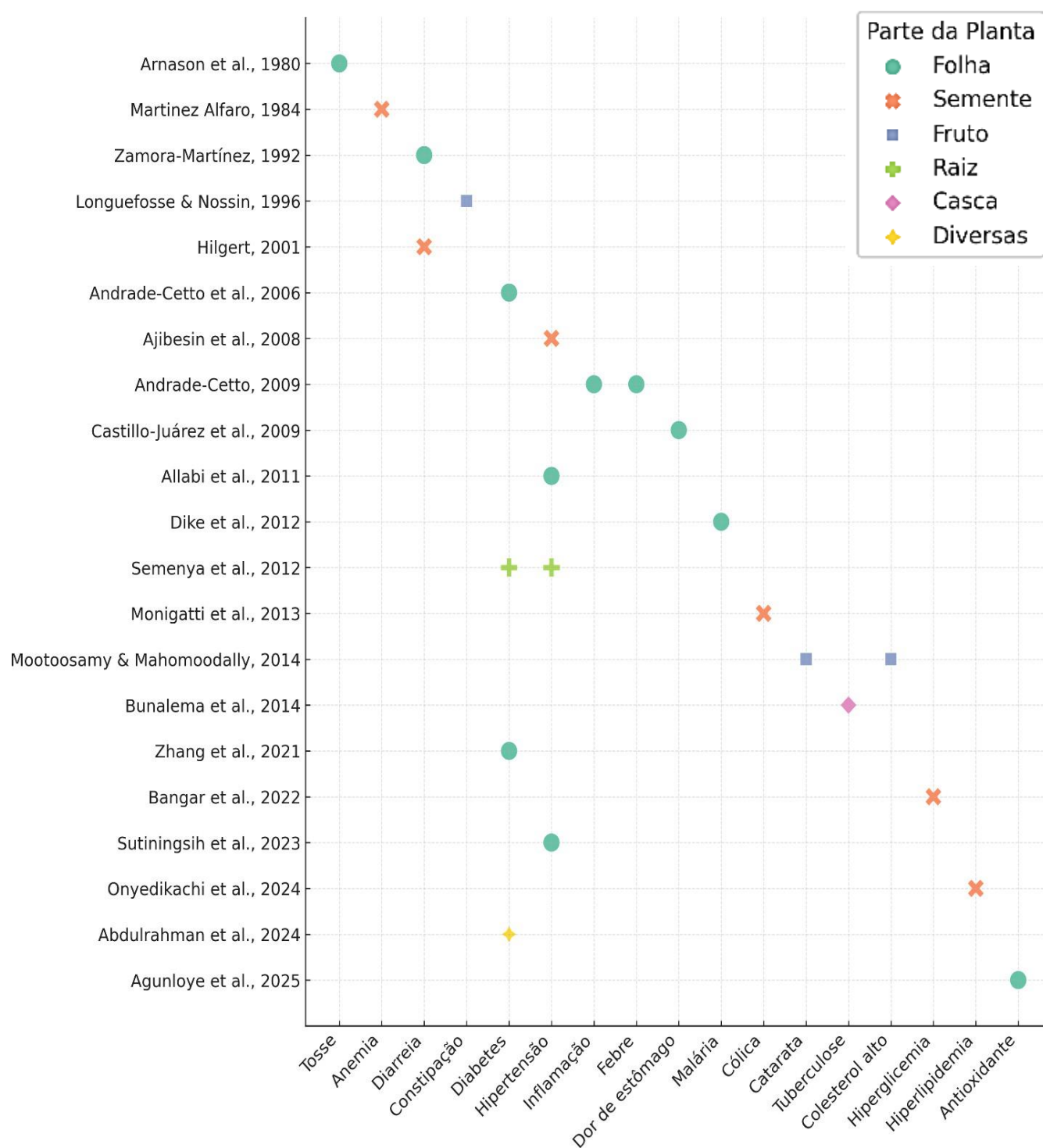


Figura 3. Representação gráfica do levantamento etnofarmacológico e científico dos usos medicinais da espécie *Persea americana* Mill. no período de 1980 a 2025. Cada ponto representa uma condição tratada associada a uma parte específica da planta, conforme relatado pelas referências bibliográficas listadas no eixo vertical. As cores indicam as diferentes partes da planta utilizadas tradicionalmente ou estudadas cientificamente.

Ademais, levantamentos etnobotânicos realizados antes de 2015, forneceram informações valiosas sobre os usos tradicionais, revelando consistência histórica na aplicação da planta para tratamento de febre, tosse, inflamações gastrointestinais e malária, além das mencionadas condições metabólicas (Figura 03).

A análise integrada desses estudos permite identificar um padrão recorrente de aplicações medicinais, fundamentado em uma combinação de saberes populares e evidências científicas contemporâneas. Isso sugere um forte potencial terapêutico ainda pouco explorado do ponto de vista clínico, especialmente nas áreas metabólicas e inflamatórias.

Dessa forma, *Persea americana* se mantém como uma espécie de interesse relevante tanto para a etnobotânica quanto para o desenvolvimento futuro de fitoterápicos e medicamentos à base de compostos naturais.

2.6 *Persea americana* na consolidação óssea

A consolidação de fraturas é um processo complexo, que envolve cascatas inflamatórias, angiogênese, recrutamento celular e remodelação óssea. Considerando que a fase inflamatória inicial é essencial para o sucesso da osteogênese, torna-se justificável investigar substâncias com propriedades anti-inflamatórias moduladoras, como é o caso do EHPA.

Estudos pré-clínicos demonstraram que plantas com ação antioxidante e anti-inflamatória, como *Moringa oleifera* e *Panicum miliaceum*, são capazes de acelerar a regeneração óssea, promovendo maior formação de calo e deposição mineral (HAIRI; JUSOH; SADIKAN; HASAN et al., 2025; ZHANG; WANG; PAN; XU et al., 2024). Além disso, compostos naturais com atividade sobre a via de sinalização Wnt/ β -catenina, BMP-2 e PI3K/Akt vêm sendo associados ao estímulo osteogênico e à remodelação (SHARIFI; MOGHADDAM; ABEDI; MALEKI DIZAJ et al., 2020).

Com base no potencial já demonstrado pelo EHPA na inibição da COX-2, redução de edema inflamatório, estímulo antioxidante e modulação de mediadores bioativos, levanta-se a hipótese de que o extrato possa auxiliar na fase inicial da consolidação óssea, promovendo um ambiente mais favorável à regeneração tecidual.

Portanto, investigar os efeitos do extrato hidroetanólico de folhas de *Persea americana* Mill. na consolidação de fratura óssea em ratos, em dose de 750 mg/kg, é fundamentado na lacuna identificada na literatura científica, associada ao potencial já validado da planta em processos inflamatórios e cicatriciais.

2.7 Prática de natação como exercício aeróbico de baixo impacto

A natação é amplamente recomendada por seus benefícios cardiorrespiratórios e metabólicos, sendo considerada uma modalidade de baixo impacto mecânico por reduzir a carga axial direta sobre as articulações e o esqueleto. Exatamente por essa característica, persiste a controvérsia sobre seu potencial osteogênico, uma vez que os estímulos mecânicos clássicos associados ao aumento de massa e força óssea (impacto e tração com sustentação de peso) são atenuados no meio aquático. A literatura recente, contudo, indica que os efeitos da natação sobre o tecido ósseo não são uniformes e variam segundo duração, intensidade e volume do treino, além do sítio esquelético avaliado, sexo/estado hormonal e condições clínicas ou experimentais.

No âmbito clínico, uma meta-análise publicada por SU et al. (2020) reuniu estudos com adultos e idosos e apontou que a natação pode aumentar a densidade mineral óssea (DMO) da coluna lombar, sobretudo quando o volume semanal acumulado de prática situa-se entre 3 e 6 horas e os programas são mantidos por períodos prolongados. Entre os mecanismos propostos para um efeito positivo mesmo sem impacto axial direto, os autores discutem o papel da

estimulação muscular e da pressão hidrostática (sinalizando osteoblastos), modulação hormonal e melhora da perfusão tecidual/absorção de cálcio — fatores que, combinados, podem atenuar a perda óssea. Ainda assim, a qualidade metodológica dos ensaios impõe cautela e reforça a necessidade de estudos mais robustos e a análise de outros sítios esqueléticos além da coluna (SU et al., 2020).

Em modelos de roedores, a revisão de PORTIER; BENAITREAU; PALLU (2020) comparou diferentes protocolos de exercício (esteira, roda voluntária, natação, resistência e vibração) e mostrou que os ganhos ósseos não são uniformes entre modalidades. Protocolos com carga/impacto tendem a respostas mais consistentes, enquanto a natação exibe efeitos dependentes do protocolo e do fenótipo, com resultados favoráveis em determinados contextos (p. ex., microarquitetura vertebral, estados de hipoestrogenismo) e benefícios menos evidentes em ossos longos (fêmur e tíbia), que são mais responsivos a estímulos de impacto/tração (PORTIER; BENAITREAU; PALLU, 2020).

Esse padrão “dependente do sítio” foi ilustrado por FREITAS et al. (2025): após oito meses de natação em ratos Wistar, observou-se melhora da conectividade trabecular nas vértebras lombares; em contrapartida, houve redução de massa e espessura cortical e piora de parâmetros trabeculares em fêmur e tíbia. Em outra direção, HART et al. (2001) relataram maior massa, DMO e resistência mecânica em ratas treinadas cronicamente em natação, sugerindo que diferenças metodológicas (duração, intensidade, temperatura da água, uso de sobrecarga, flutuação assistida) podem explicar resultados aparentemente discrepantes na literatura. Em fêmeas ovariectomizadas, JU et al. (2015) mostraram que a natação melhora a microarquitetura trabecular e reduz a reabsorção óssea, reforçando um possível efeito protetor em condições de perda óssea induzida por desequilíbrio hormonal.

Por outro lado, a exposição repetida à água (especialmente água fria) e a natação

forçada podem representar estressores fisiológicos capazes de modular negativamente o osso por vias neuroendócrinas. Em ratos submetidos a “swim stress”, SEFEROS et al. (2016) observaram queda da DMO em fêmur e mandíbula; o tratamento com *Hypericum perforatum* (rico em compostos com ação neuroendócrina/antioxidante) reverteu parte desses efeitos e atenuou alterações do eixo HPA, sugerindo que o estresse crônico é um moderador relevante da resposta óssea à natação. Em linha com a importância de coadjuvantes, BALTACI et al. (2024) mostraram que, em ratos epiléticos, a natação crônica não restaurou isoladamente os níveis de Ca, Mg e Zn no osso; entretanto, a associação com vitamina E melhorou o metabolismo elementar ósseo, apontando que estratégias antioxidantes podem potencializar os efeitos do exercício em cenários de maior estresse oxidativo ou disfunção sistêmica.

Tomadas em conjunto, as evidências sustentam duas diretrizes práticas:

1. Quando a natação é adotada como estratégia principal para a saúde óssea, volume e consistência ($\geq 3\text{--}6$ h/semana, por períodos prolongados) parecem aumentar a probabilidade de benefício, especialmente em coluna.
2. E quando o objetivo terapêutico envolve ossos longos (fêmur/tíbia) e propriedades corticais/geométricas, convém combinar a natação com exercícios com sustentação de peso/impacto (p. ex., resistência, saltos) e/ou com coadjuvantes farmacológicos/nutricionais (antioxidantes, fitocompostos com ação osteogênica), respeitando o princípio de compatibilidade de mecanismos.

Essa leitura integrativa posiciona a natação como recurso útil e seguro dentro de programas multimodais de saúde óssea e, ao mesmo tempo, explica por que seus efeitos não são universalmente positivos, variando conforme o contexto biológico e o alvo esquelético.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a ação do extrato das folhas de *Persea americana* Mill e exercício aeróbico crônico no processo de reparo da fratura óssea.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o EHPA por meio de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa identificando compostos.
- Determinar a inibição enzimática da ciclooxigenase 1 (COX 1) e ciclooxigenase 2 (COX 2) no extrato hidroetanólico das folhas da *Persea americana* Mill.
- Avaliar parâmetros bioquímicos e hematológicos nos animais submetidos ao uso da *Persea americana* Mill e exercício aeróbico crônico.
- Avaliar o efeito do extrato hidroetanólico das folhas da *Persea americana* Mill. e exercício aeróbico crônico na consolidação de fraturas, a partir de parâmetros clínicos.
- Analisar histologicamente o extrato hidroetanólico das folhas da *Persea americana* Mill. e exercício aeróbico crônico nas fases de evolução do processo de cicatrização óssea.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta e preparação do extrato vegetal

Foram coletadas 4,225kg de folhas da espécie *Persea americana* em setembro de 2022 no município de Paço do Lumiar nas coordenadas geográficas 2°28'21.6"S44°09'14.3"W levadas ao Laboratório Experimental do Estudo da Dor (LEED) da UFMA onde foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar em temperatura máxima de 38°C e posteriormente trituradas em moinho de facas (tipo Willey, DeLeo®, EBD-5), resultando em 1,665kg de matéria prima pulverizada. O rendimento do extrato foi de 38%, apresentou coloração verde, cheiro adocicado e características físico-químicas com aspecto turvo e pH de 5,0.

Submetido o pó seco ao processo de extração por maceração com etanol 70%, na proporção de 1:3(p/v). Maceração ocorreu por 15 dias, em seguida submetido à filtração. Reservada uma parte para análise química. O restante submetido à concentração em rota evaporador rotativo, sobre pressão reduzida a 40°C originando o extrato hidroetanólico (Farmacopéia Brasileira, 2010).

4.2 Animais

Utilizados 30 ratos da linhagem Wistar, espécie *Rattus norvegicus*, adultos, machos com variação de peso entre 200 a 300g fornecidos pelo Biotério Central da UFMA. Os animais foram mantidos no Biotério Setorial do Prédio de Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (UFMA), sob condições controladas de luz (ciclo claro/escuro de 12 horas) a uma temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade de ar de 40 a 60%, com gaiolas coletivas com 6 animais e ração comercial da marca Labina® e água *ad libitum*. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Maranhão sob processo número n. 23115.000750/2022-11.

4.3 Protocolo Experimental

Adotou-se cinco (5) grupos experimentais de animais, todos com seis (6) ratos machos. No dia 1º todos os animais foram avaliados clinicamente e coletado amostra de sangue. Uma semana antes da realização das fraturas, os animais assinalados para compor o grupo treinado em natação (grupo FEN e FN), foram adaptados no meio aquático de forma padronizada. Segue figuras 4,5 e 6.

Utilizou-se uma caixa d'água medindo 60 cm de diâmetro por 120 cm de profundidade, método adaptado de MARANGON et al. (2002). A temperatura da água foi mantida a $31\pm 1^{\circ}\text{C}$ do método de HARRI e KUUSELA (1986). A adaptação ocorreu por um período de 7 dias. Primeiro, os animais foram mergulhados em água rasa por 5 minutos durante 2 dias. Posteriormente, no terceiro e quarto dias, o nível da água foi aumentado e o tempo de permanência (GOBATTO et al., 2010). Assim, no quinto dia os ratos já estavam nadando por 5 minutos. E no sexto e sétimo dias, nadando por 10 minutos, com propósito de adaptação e para reduzir o estresse do animal decorrentes do treinamento físico.



Fonte: MENDONÇA, P.G. Abril 2019.

Figura 4. Primeiro momento de adaptação.



Fonte: MENDONÇA, P.G. Abril 2019.

Figura 5. Segundo momento de adaptação.



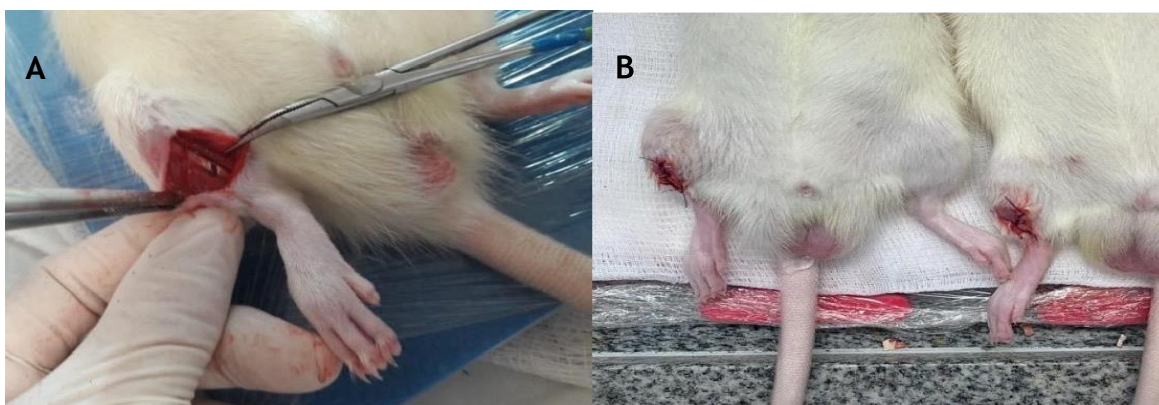
Fonte: MENDONÇA, P.G. Abril 2019.

Figura 6. Terceiro momento de adaptação.

O protocolo anestésico realizado com administração de cloridrato de midazolam (1mg/kg) e cloridrato de tramadol (5mg/kg), administrado por via intraperitoneal. Os animais foram mantidos em plano anestésico em máscara de isoflurano a 2%. Após a perda de reflexos motores e do reflexo de retirada da pata, os animais foram posicionados em decúbito ventral, com membros torácicos e pélvicos estendidos.

Em seguida, submetidos à tricotomia e assepsia com solução de clorexidina a 2%, com realização de incisão. A fratura ocorreu na região diafisária da tíbia, membro pélvico inferior direito. Foi confeccionado por uma microretífica, aparelho excelente para pequenos cortes, furos e desbastes.

A fratura foi realizada de forma aberta, com uma velocidade de 15.000 rotações por minuto. Para esse procedimento foi utilizada uma broca fina de 0.5mm. Durante todo processo irrigamos manualmente com soro fisiológico. O membro inferior direito foi apoiado na bancada e após um deslocamento da musculatura e partes moles de maneira manual, o osso recebeu o corte (Figura 6). A incisão na região frontal da pata foi suturada com fios absorvíveis. Este modelo de fratura é adaptado, tem a vantagem de mimetizar as fraturas ósseas clinicamente (URABE et al., 2003), (OGASAWARA et al., 2008). Após alguns testes pilotos, optamos por usar a microretífica, aparelho de fácil manuseio.



Fonte: MENDONÇA, P.G. Abril 2019.

Figura 7. A-Imagem de fratura realizada em um dos animais. B-Imagem do membro suturado.

A fratura foi induzida no canal medular da diáfise média tibial, com aproximadamente 5mm de comprimento por 2,5 mm de largura e com profundidade suficiente até chegar ao canal medular.

4.4 Análise por Cromatografia Líquida Acoplada por Espectrometria de Massas

O EHPA foi analisado por cromatógrafo líquido (LC-20AD Shimadzu) em uma coluna Phenomenex Luna C-18 (250x4,6mm-5µm). As fases móveis consistiram em água ultrapura contendo 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila (B). O gradiente linear a seguir foi aplicado: 0 min, 5% de B; 1 a 60 minutos, 5 a 100% de B; 60-70 min, 100% de B no fluxo de 1 mL/min.

O HPLC foi acoplado a um espectrômetro de massa (Amazon Speed ETD, Bruker, Massachusetts, EUA) equipado com ionização por electropulverização (ESI) e uma analisador do tipo armadilha de íons (IT) nos modos negativo e positivo, nas seguintes condições: tensão capilar de 4,5kV, temperatura capilar 325° C, fluxo de gás de arraste (N₂) 12L/min, pressão do nebulizador de nitrogênio a 27psi. O intervalo de aquisição foi de m/z 100 a 1500, com dois ou mais eventos.

4.5 Atividade enzimática da ciclooxigenase 1 (COX 1) e ciclooxigenase 2 (COX 2)

O ensaio foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante (Cox Colorimetric Inhibitor Screening - Cayman chemical®). A placa de 96 poços foi inicialmente identificada, sendo os testes de inibição realizados em triplicata, para cada concentração testada (2, 10 e 50 µg/mL) do EHPA e para os controles da reação: BW – controle sem enzima; A- com enzima somente, sem inibidor. Os 3 poços “BW” receberam 160 µL do tampão Tris-HCl, 10 µL do Heme e 10 µL do solvente – etanol 70%, utilizados para diluir as amostras. Os 3 poços “A” receberam 150 µL do tampão Tris-HCl, 10 µL do Heme, 10 µL da enzima (COX-1 ou Cox-2) e 10 µL do solvente – etanol 70%.

Os poços com o EHPA receberam 150 µL do tampão Tris-HCl, 10 µL do heme, 10 µL da enzima (COX-1 ou Cox-2) e 10 µL da amostra do EHPA diluído com solvente – etanol 70%,

nas concentrações 2, 10 e 50 ug/mL. Após a mistura de todos estes reagentes em cada poço, a placa foi agitada cuidadosamente por alguns segundos, sendo incubada por 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 20 µL da solução com substrato colorimétrico, em cada poço da placa e após isso, foram adicionados 20 µL do ácido araquidônico, substrato da reação enzimática, catalisada pela COX. A placa foi novamente agitada, e incubada por 2 minutos a 25°C e foi lida em leitor Elisa (EPOCH) e então sendo lida a 590 n.

4.6 Análise bioquímica do sangue

Antes de iniciar o tratamento no D0 e no D28 após tratamento com EHPA foi coletado amostras de sangue. O sangue coletado foi colocado em tubos de plástico de 4ml da marca BD com EDTA a vácuo para realização do hemograma completo e tubos Gel a vácuo de 3,5ml com gel separador e ativador de coagulo para dosagens bioquímicas. Submetidos a centrifugação para obtenção do soro, sendo em seguida separados e acondicionados em fracos tipo Eppendorf®. Os parâmetros bioquímicos foram determinados em analisador semiautomático Bioplus® utilizando-se kits comerciais da LABTEST.

Foram determinados por métodos enzimáticos: glicose, colesterol total, triglicerídeos, uréia, creatinina, ALT (alanina aminotransferase), AST (aspartato aminotransferase) e fosfatase alcalina. No hemograma completo foram utilizados dados dos leucócitos, linfócitos e hemoglobina.

4.7 Avaliação Clínica

4.7.1 Avaliação de Atividade Motora/Deambulação Forçada (RotaRod Test)

Os animais foram colocados no Rotarod (modelo IITC Life Science, Califórnia, Estados Unidos) Figura 8, na velocidade de 16 rpm por um período de tempo de 300 segundos nos D7, D14, D21 e D28. A utilização do membro afetado foi avaliada pela deambulação forçada. O uso do membro pélvico inferior direito foi graduado em uma escala numérica que varia de 5 a 1, em que: 5= uso normal do membro; 4= claudicação leve; 3= claudicação grave; 2= intermitente desuso do membro afetado; 1= completo desuso do membro afetado (KALFF et al.,2010).



Fonte: MENDONÇA, P.G. Abril 2019.

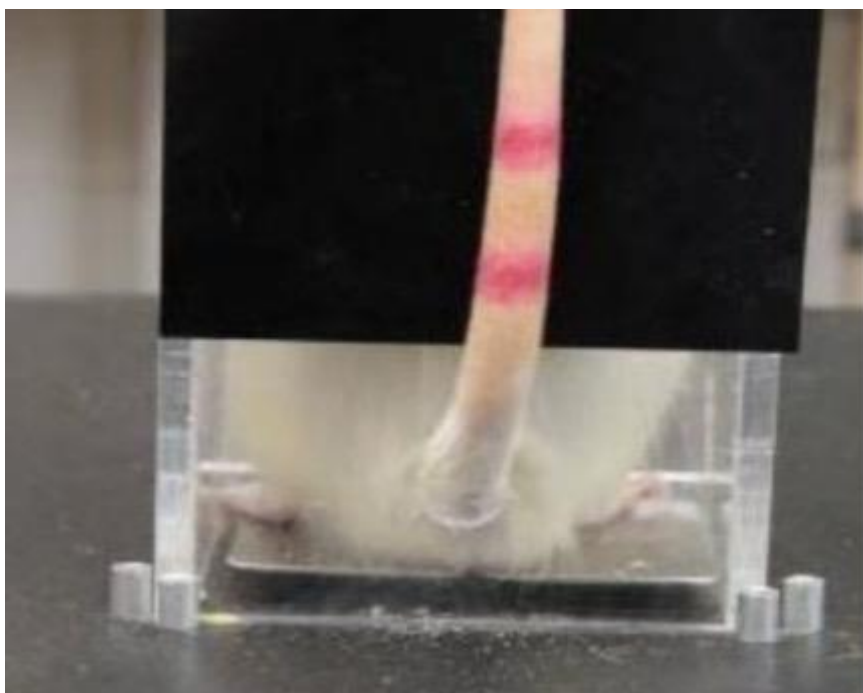
Figura 8. Animal em aparelho RotaRod.

4.7.2 Teste de Incapacitância/ Distribuição do Peso nos membros traseiros (Weight Bearing)

Os animais foram colocados em uma câmara de vidro angulada e posicionados, de modo que cada pata traseira repousasse sobre plataformas diferentes. O peso exercido sobre cada pata traseira (mensurado em gramas) foi avaliado em um período de cinco segundos. A

aferição final da distribuição do peso foi dada por uma média de três aferições.

Esse teste foi realizado nos D7, D14, D21 e D28. Os animais foram colocados em uma câmara de vidro angulada e posicionados (Figura 9), de modo que cada membro traseiro repouse sobre plataformas diferentes. O peso exercido sobre cada membro traseiro (mensurado em gramas) será avaliado em um período de cinco segundos. A aferição final da distribuição do peso será dada por uma média de três aferições (SCHOTT et al. 1994).



Fonte: MENDONÇA, P.G. Abril 2019.

Figura 9. Animal em aparelho Weight Bearing.

4.8 Análise radiográfica

As radiografias do membro inferior dos animais foram obtidas através de aparelho de raios-X PHILIPS Medical Systems Ltda, unidade seladora Rotax, KVP 125, #Série PADXJL.10.001. Equipamento de raios-X com proteção radiológica de acordo com a NBR IEC 60601-1-3-2001. Modelo KL.90.30/50. Reveladora DIRECT DIGITIZER, Model DRYPRO

SIGMA S/N 002650, P/N 9G9001, REF A4A9.

As imagens foram realizadas no D7 após a fratura e nos D21 e D28 para acompanhamento. Os animais foram submetidos à anestesia superficial por meio da combinação Ketamina e Xilazina nas doses (1:1; 0,05ml/100g), respectivamente. No D28 já haviam sido eutanasiados e apenas o membro foi levado para raio x. Posicionados em decúbito ventral com membros posteriores em abdução e flexão de quadril e joelhos (90°) sobre o chassi a uma distância de 115cm do foco de acordo com as Figuras 10..



Fonte: MENDONÇA, P.G. Abril 2019.

Figura 10. Posicionamento dos animais no Raio X.

4.9 Análise histológica do tecido ósseo

As tíbias foram coletadas após eutanásia e fixadas em formol tamponado a 10% (pH 7,2) por 48 horas. Seguiu-se o processo de descalcificação por 15 dias, à temperatura ambiente, em solução contendo EDTA (0,7 g), tartarato de sódio e potássio (8 g), tartarato de sódio (0,14 g), HCl (120 mL) e água destilada (900 mL). Após descalcificação, os espécimes foram processados histologicamente conforme protocolos padrão: desidratação em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanização em xilol e inclusão em parafina (BEHMER; TOLOSA, 2003; LUNA, 1968).

Foram obtidos cortes histológicos de 5 a 8 μm , corados com Hematoxilina & Eosina (HE), Tricrômio de Masson e Picrosirius. As lâminas foram avaliadas por microscopia óptica de luz (Leica ICC50), com oculares 10 $\times$ e objetivas 4 $\times$, 10 $\times$ e 40 $\times$. A análise foi realizada às cegas, com observação das regiões do defeito ósseo para avaliação do periósteo, tecido ósseo imaturo, calo ósseo e grau de remodelação.

4.10 Análise estatística

A comparação das médias dos diferentes grupos experimentais foi realizada pelo teste t de Student ou análise bivariada (ANOVA de duas vias), seguida do teste de Tukey. Na avaliação das duas fontes de variabilidade, utilizou-se a análise de variância bivariada (ANOVA de duas vias). O valor de $p < 0,05$ foi considerado indicativo de significância e os dados obtidos foram analisados com o software GraphPad Prism 10® (GraphPad San Diego, CA).

5 RESULTADOS

A tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), com título: Avaliação da ação do extrato das folhas de *Persea americana* mill. na regeneração de fratura ÓSSEA como requisito para obtenção do título de doutor em Ciências da Saúde foi dividida em dois capítulos:

Capítulo I: Efeitos do extrato das folhas de *Persea americana* Mill. e do exercício aeróbico crônico sobre a consolidação de fratura óssea em ratos

Artigo a ser submetido no periódico *Pharmaceutical Biology*

- **Qualis CAPES – Medicina I:** Classificação A1;
- **Fator de impacto:** 4.8;

Capítulo II: Efeitos do extrato das folhas de *Persea americana* Mill. sobre a consolidação de fratura óssea em ratos por meio da avaliação clínica.

Artigo a ser submetido no periódico *American Journal of Translational Research*

- **Qualis CAPES – Medicina I:** Classificação A1;
- **Fator de impacto:** 4.060;

CAPÍTULO I

Efeitos do extrato das folhas de *Persea americana* Mill. e do exercício aeróbico crônico sobre a consolidação de fratura óssea em ratos

Priscylla Gouveia Mendonça^{a*} & Maria do Socorro de S. Cartágenes^a

^aDepartamento de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil

* Autora correspondente: priscyllagouveia@yahoo.com.br

Efeitos do extrato das folhas de *Persea americana* Mill. e do exercício aeróbico crônico sobre a consolidação de fratura óssea em ratos

Introdução Apesar dos avanços no tratamento de fraturas ósseas, muitos casos ainda apresentam dificuldades na consolidação, especialmente nas fraturas abertas da tíbia. Produtos naturais com propriedades osteogênicas e anti-inflamatórias tem sido investigados como fonte potencial para novas terapias. **Objetivo:** Avaliar o(s) efeito(s) do extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill. (EHPA) e/ou do exercício aeróbico crônico sobre a consolidação de fraturas de tíbia em ratos. **Métodos:** Ratos Wistar (n = 30) foram randomizados em cinco grupos (n = 6): saudável (H), fratura + extrato (FE), fratura + extrato + natação (FEN), fratura + natação (FN) e fratura sem tratamento (F). Os grupos FE e FEN receberam 750 mg/kg de EHPA por via oral durante 28 dias. A consolidação óssea foi avaliada por histologia com colorações específicas. O potencial anti-inflamatório foi avaliado por testes de inibição das enzimas COX-1 e COX-2. A análise fitoquímica foi realizada no laboratório central analítica IQ-USP e determinada por HPLC-MS/MS. **Resultados:** O tratamento somente com EHPA resultou em consolidação óssea mais avançada, com melhora funcional e formação de calo bem organizado, rico em colágeno tipo I. O grupo com EHPA + natação apresentou padrão intermediário, enquanto o exercício isolado teve efeito limitado. A análise química identificou 24 compostos bioativos, com inibição seletiva e dose-dependente da COX-2 (até 55%). Dentre os principais metabólitos, destacam-se procianidinas, flavonoides como orientina, rutina e quercetina, além de derivados fenólicos e glicosídeos. **Conclusão:** O EHPA demonstrou potencial terapêutico na regeneração óssea, com perfil de segurança favorável e superioridade em relação ao exercício físico isolado.

Palavras-chave: Reparo ósseo, Exercício aeróbico, Compostos fenólicos, Osteogênese.

Introdução

As fraturas ósseas representam uma das lesões mais comuns do sistema musculoesquelético, com impacto significativo na qualidade de vida dos pacientes e custos crescentes para os sistemas de saúde. Estima-se que, globalmente, milhões de pessoas sofram fraturas anualmente, com risco aumentado de consolidação inadequada, especialmente em ossos longos como a tíbia distal, cuja vascularização limitada e anatomia favorecem o aparecimento de complicações como a não união e a consolidação tardia (Murray et al. 2020; Efrima and Khoury 2024; Bhattoa et al. 2025; Tan et al. 2025).

As não uniões ósseas podem ser hipertróficas, quando há formação excessiva de calo ósseo, ou atróficas, quando há ausência de formação óssea e predominância de tecido fibroso. Estas últimas representam um desafio terapêutico considerável, exigindo intervenções que vão além das abordagens cirúrgicas convencionais (Wellings et al. 2024; Ghanem et al. 2025).

Nesse contexto, estratégias terapêuticas complementares têm ganhado destaque, especialmente aquelas que aliam abordagens farmacológicas e não farmacológicas com menor toxicidade. Entre essas abordagens, destaca-se o uso de produtos naturais com propriedades farmacológicas relevantes, como os extratos vegetais ricos em flavonoides, triterpenos, saponinas e procianidinas, compostos associados a efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e osteogênicos (Barbalho et al. 2019; Kumari et al. 2023).

Persea americana Mill., conhecida popularmente como abacateiro, é uma planta da família Lauraceae amplamente distribuída em regiões tropicais. Diversos estudos já demonstraram a presença de compostos bioativos em suas folhas, como flavonoides, saponinas, triterpenos e

procianidinas, os quais apresentam efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes reconhecidos, propriedades que podem contribuir de forma significativa para o reparo ósseo (Yasir et al. 2010; Ashande et al. 2019; Contreras et al. 2022).

Além das abordagens fitoterápicas, intervenções não farmacológicas como o exercício aeróbico crônico têm sido estudadas por seu potencial modulador da regeneração óssea (Chen et al. 2022; Duda et al. 2023). Atividades como a natação, quando praticadas de forma controlada, promovem estímulos mecânicos leves que favorecem o metabolismo ósseo, aumento da vascularização e expressão de fatores osteogênicos, podendo atuar (Jung et al. 2004; Guo et al. 2020).

Considerando a relevância do controle da inflamação e da estimulação da osteogênese na consolidação óssea, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill. (EHPA) e do exercício aeróbico crônico (natação) sobre a regeneração óssea em modelo experimental de fratura de tíbia em ratos. A investigação envolveu análises comportamentais, bioquímicas, radiológicas, histológicas e cromatográficas, buscando elucidar o potencial terapêutico integrado dessas duas abordagens.

Material e Métodos

Coleta e preparação do extrato vegetal

Foram coletados 4,225 kg de folhas de *Persea americana* Mill. no município de Paço do Lumiar – MA (2°28'21.6"S, 44°09'14.3"W), em setembro de 2022. O material vegetal foi seco em estufa com circulação de ar (máx. 38 °C) e triturado em moinho tipo Willey, resultando em 1,665 kg de pó. A extração foi realizada por maceração com etanol 70% (1:3 p/v) durante 15 dias. Após filtração, parte do extrato foi reservado para análise química e o

restante concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40 °C, obtendo-se o extrato hidroetanólico bruto (EHPA), com rendimento de 38%. O extrato apresentou coloração verde, odor adocicado e pH 5,0.

Animais experimentais

Foram utilizados 30 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com peso entre 200 e 300 g, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Os animais foram mantidos sob temperatura controlada (22 ± 2 °C), ciclo claro/escuro de 12 horas, com livre acesso à água e ração. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMA (nº 23115.000750/2022-11).

Protocolo experimental

Os animais foram distribuídos em cinco grupos (n = 6 por grupo):

Grupo H: saudável, sem qualquer intervenção;

Grupo FE: fratura induzida + tratamento com EHPA;

Grupo FEN: fratura + EHPA + natação diária (30 min);

Grupo FN: fratura + natação (30 min);

Grupo F: fratura, sem intervenção.

A dose de 750 mg/kg de EHPA foi administrada por gavagem oral durante 28 dias. A natação foi realizada em tanque com água a 31 ± 1 °C, com adaptação prévia de sete dias.

Intervenção com exercício aeróbico crônico

Uma semana antes da fratura, os animais dos grupos FEN e FN foram submetidos a protocolo de adaptação à natação para reduzir o estresse e garantir segurança durante o exercício. O procedimento foi realizado em tanque cilíndrico (60 cm × 120 cm), com temperatura da água mantida a $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Harri and Kuusela 1986; Marangon et al. 2002).

Nos dois primeiros dias, os animais foram imersos em água rasa por 5 minutos. Nos dias seguintes, o nível da água e o tempo de natação foram gradualmente aumentados, atingindo 10 minutos contínuos no sétimo dia (Manchado-Gobatto et al. 2010).

Indução da fratura

A fratura foi realizada sob anestesia com midazolam (1 mg/kg) e tramadol (5 mg/kg) por via intraperitoneal, associada à manutenção com isoflurano a 2%. Após preparo asséptico, realizou-se fratura aberta diafisária da tíbia direita com microretífica (broca 0,5 mm, 15.000 rpm), conforme modelo adaptado (Urabe et al. 2003; Ogasawara et al. 2008). A incisão foi suturada com fio absorvível e aplicado iodo tópico.

Análise cromatográfica (HPLC-MS/MS)

A análise foi realizada no laboratório central analítica IQ-USP. O EHPA foi analisado por HPLC acoplado a espectrômetro de massas (Amazon Speed ETD, Bruker), com ionização por electrospray (ESI) e modo de aquisição positivo e negativo. Utilizou-se coluna Phenomenex Luna C-18 (250 × 4,6 mm, 5 μm), com fase móvel: (A) água + 0,1% ácido fórmico, (B)

acetonitrila, fluxo de 1 mL/min. Gradiente linear: 0–60 min (5–100% B), 60–70 min (100% B).

Inibição enzimática da ciclooxigenase

A atividade inibitória do EHPA sobre COX-1 e COX-2 foi avaliada in vitro (Cayman Chemical®, kit colorimétrico). Foram testadas as concentrações de 2, 10 e 50 µg/mL, em triplicata. A absorbância foi lida a 590 nm (Moraes et al. 2023).

Análise histológica do tecido ósseo

As tíbias foram coletadas após eutanásia e fixadas em formol tamponado a 10% (pH 7,2) por 48 horas. Seguiu-se o processo de descalcificação por 15 dias, à temperatura ambiente, em solução contendo EDTA (0,7 g), tartarato de sódio e potássio (8 g), tartarato de sódio (0,14 g), HCl (120 mL) e água destilada (900 mL). Após descalcificação, os espécimes foram processados histologicamente conforme protocolos padrão: desidratação em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanização em xilol e inclusão em parafina (Luna 1968; Behmer and Tolosa 2003).

Foram obtidos cortes histológicos de 5 a 8 µm, corados com Hematoxilina & Eosina (HE), Tricrômio de Masson e Picrosirius. As lâminas foram avaliadas por microscopia óptica de luz (Leica ICC50), com oculares 10× e objetivas 4×, 10× e 40×. A análise foi realizada às cegas, com observação das regiões do defeito ósseo para avaliação do periósteo, tecido ósseo imaturo, calo ósseo e grau de remodelação.

Resultados

Análise cromatográfica (HPLC-MS/MS)

A análise do extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill., realizada por HPLC-ESI-IT-MS/MS, permitiu a identificação de 24 compostos nos modos de ionização positivo e negativo (Tabela 1). Dentre os principais metabólitos, destacam-se procianidinas, flavonoides como orientina, rutina e quercetina, além de derivados fenólicos e glicosídeos. Dezesete dessas substâncias apresentaram perfis compatíveis com dados previamente descritos na literatura, reforçando o potencial farmacológico do extrato, especialmente pelas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Figura 1).

Atividade inibitória das enzimas COX

O EHPA não apresentou inibição significativa da COX-1 nas concentrações testadas. Em contrapartida, demonstrou inibição da COX-2: 37,94% (2 µg/mL; $p < 0,005$), 44,93% (10 µg/mL; $p < 0,0005$) e 55,94% (50 µg/mL; $p < 0,0001$). Os resultados indicam seletividade para a isoforma COX-2, relacionada à inflamação e dor (Figura 2).

Análise histológica do tecido ósseo

A análise histológica evidenciou diferentes estágios de reparo ósseo entre os grupos experimentais (Figura 3). No grupo saudável (H), observou-se estrutura óssea preservada, com perióstio contínuo, osso cortical maduro com organização lamelar e canal medular contendo tecido hematopoético. As colorações de Tricrômio de Masson e Picrosirius revelaram colágeno tipo I bem organizado, sem sinais de regeneração ativa evidenciando um padrão de normalidade.

No grupo FE, tratado com o extrato, verificou-se consolidação óssea avançada, com formação de calo bem delimitado, presença de tecido ósseo imaturo em remodelação e matriz rica em colágeno tipo I. Osteócitos distribuídos irregularmente estavam presentes nas lacunas, e o canal medular permaneceu funcional, com periósteo preservado (Figura 3).

O grupo FN, submetido apenas à natação, apresentou consolidação secundária por ossificação mista (endocondral e intramembranosa), com calo fibroso vascularizado e presença de osteoblastos e condrócitos hipertróficos formando molde de cartilagem hialina. A matriz colágena mostrou-se desorganizada, conforme evidenciado pelas colorações histoquímicas (Figura 3).

No grupo FEN, que recebeu extrato e exercício, os achados indicaram estágio intermediário de reparo. Houve predomínio de ossificação intramembranosa, com áreas residuais de ossificação endochondral (Figura 3). Osteócitos e osteoblastos mostraram organização parcial em lamelas, e a linha de fratura ainda era discretamente visível em algumas amostras.

Por fim, no grupo fraturado sem tratamento (F), observou-se reparo ósseo inicial, com calo volumoso e desorganizado, presença de tecido fibroso com intensa vascularização e linha de fratura bem definida. Também foram identificados condrócitos hipertróficos e colágeno distribuído de forma irregular, sugerindo início da ossificação endochondral (Figura 3).

As colorações de Tricrômio de Masson e Picrosirius confirmaram a predominância de colágeno tipo I nos grupos submetidos à fraturas (Figura 3), reforçando a imaturidade da matriz óssea nos diferentes estágios de regeneração analisados. As análises histopatológicas do baço, fígado e rim não mostraram alterações patológicas, na dose administrada do EHPA (750 mg / kg).

Discussão

O presente estudo demonstrou que tanto o extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill. (EHPA), quanto o exercício aeróbico crônico, promovem efeitos sobre a consolidação de fraturas ósseas em ratos. No entanto, os dados funcionais e histológicos indicam que a intervenção com EHPA isoladamente foi mais eficaz que o exercício ou a combinação de ambos.

O grupo tratado com EHPA (FE) apresentou consolidação óssea avançada, evidenciada por calo ósseo bem delimitado, colágeno tipo I predominante e reorganização lamelar em curso. Tais achados são consistentes com os efeitos osteogênicos descritos para flavonoides, procianidinas e outros compostos fenólicos presentes nas folhas de *P. americana*, os quais estimulam a diferenciação osteoblástica e a mineralização da matriz óssea (Weaver et al. 2012; Shen and Chyu 2016; Ramesh et al. 2021; Taleuzzaman et al. 2025).

Além disso, a inibição seletiva da COX-2 demonstrada pelo extrato reforça seu perfil anti-inflamatório sem os efeitos adversos típicos de AINEs, uma vez que a COX-1 foi preservada. A modulação da COX-2 na fase inicial do reparo ósseo pode favorecer a formação e a remodelação do calo, como já descrito em modelos experimentais (Simon et al. 2002; Mahmoud et al. 2021).

O grupo submetido à associação entre extrato e natação (FEN) apresentou resultados intermediários. A ossificação intramembranosa predominou, mas persistiram sinais de reparo incompleto, como a presença de áreas de ossificação endocondral e linha de fratura discretamente visível. Embora o exercício físico esteja associado à estimulação da regeneração óssea por meio de microcargas e aumento da perfusão local (Volpon et al. 2015; Kang et al. 2017), os achados não indicam efeito sinérgico ou aditivo entre EHPA e natação.

Ao contrário do esperado, a introdução precoce da carga mecânica leve por meio da natação pode ter interferido negativamente na formação e estabilidade do calo primário, prejudicando a progressão ideal da consolidação óssea. Esse achado está em consonância com a literatura (Freitas et al. 2025), que demonstraram que a natação prolongada em ratos Wistar promove efeitos divergentes na qualidade óssea conforme a região anatômica. Embora tenha favorecido a conectividade trabecular em vértebras, a natação reduziu a massa óssea, a espessura cortical e a microarquitetura trabecular de ossos longos como o fêmur e a tíbia — regiões diretamente implicadas na consolidação de fraturas (Figura 3).

Adicionalmente, uma revisão recente reforça essa evidência ao demonstrar que, entre os diferentes protocolos de exercício físico avaliados em modelos animais, a natação, por ser uma atividade sem sustentação de peso, está mais frequentemente associada a efeitos ósseos negativos, especialmente quando comparada a exercícios de impacto ou resistência (Portier et al. 2020).

No presente estudo, o grupo FN (fratura + natação) refletiu essa limitação, apresentando padrão de consolidação mais lento, com calo fibroso desorganizado, ossificação predominantemente endocondral e matriz frouxa (Figura 3). Apesar de o exercício físico ativar vias osteogênicas, seus efeitos isolados, especialmente em ossos longos submetidos a fratura instável, mostraram-se insuficientes para garantir uma regeneração eficaz. Isso reforça a hipótese de que a intervenção farmacológica, como o EHPA, exerça papel determinante na indução e estabilização do processo regenerativo.

No grupo fraturado sem tratamento (F), a persistência da linha de fratura, a formação de calo volumoso e a imaturidade da matriz óssea evidenciaram um processo reparativo limitado,

ressaltando a importância de intervenções para acelerar e qualificar o processo de consolidação (Figura 3).

As colorações de Tricrômio de Masson e Picrosirius reforçaram os achados histológicos, evidenciando predomínio de colágeno tipo I imaturo nos grupos fraturados, especialmente nos grupos sem tratamento ou com consolidação incompleta (Figura 3). A organização progressiva da matriz nos grupos FE e FEN sugere transição para osso lamelar, conforme descrito (Pape et al. 2010), ainda que com maior eficiência no grupo tratado apenas com EHPA.

Portanto, os resultados deste estudo indicam que o extrato de *Persea americana* exerce papel dominante na modulação da regeneração óssea, com efeitos superiores aos observados com o exercício físico isolado. A combinação entre extrato e exercício não promoveu benefícios adicionais significativos, o que sugere ausência de efeito sinérgico ou aditivo entre as intervenções nas condições avaliadas. Ainda assim, o potencial translacional do EHPA como agente promissor na consolidação de fraturas é evidente, especialmente em contextos clínicos nos quais o reparo ósseo encontra-se comprometido.

• Conclusão

Os resultados deste estudo demonstram que o extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill. (EHPA), administrado na dose de 750 mg/kg, favorece significativamente a consolidação óssea em modelo experimental, promovendo formação de calo bem organizado, predomínio de colágeno tipo I e sinais evidentes de remodelação ativa. Além disso, o extrato apresentou inibição seletiva da enzima COX-2, indicando potencial anti-inflamatório com perfil de segurança.

A associação com exercício aeróbico crônico (natação), no protocolo utilizado, não resultou em efeito aditivo quando comparada ao tratamento com EHPA isolado, sugerindo que o extrato desempenha papel principal no processo regenerativo.

Investigações futuras, incluindo estudos moleculares e ensaios clínicos, são recomendadas para validar esses achados e aprofundar a compreensão dos mecanismos envolvidos.

Referências

- Ashande C, Lufuluabo GL, Mukiza J, Mpiana PT. 2019. A mini-review on the Phytochemistry and Pharmacology of the medicinal plant species *Persea americana* Mill.(Lauraceae). J Nat Prod Res Ethnopharmacol. 6:102-111.
- Barbalho SM, Araújo AC, Detregiachi CRP, Buchaim DV, Guiguer ÉL. 2019. The potential role of medicinal plants in bone regeneration. drugs (Figure 1). 7:11.
- Behmer OA, Tolosa EMCd. 2003. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. p. 331-331.
- Bhattoa HP, Vasikaran S, Trifonidi I, Kapoula G, Lombardi G, Jørgensen NR, Pikner R, Miura M, Chapurlat R, Hiligsmann M. 2025. Update on the role of bone turnover markers in the diagnosis and management of osteoporosis: a consensus paper from The European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (ESCEO), International Osteoporosis Foundation (IOF), and International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). Osteoporosis International.1-30.
- Chen J, Zhou R, Feng Y, Cheng L. 2022. Molecular mechanisms of exercise contributing to tissue regeneration. Signal Transduction and Targeted Therapy. 7(1):383.
- Contreras MDM, García-Vargas MC, Gómez-Cruz I, Castro E. 2022. Phytochemistry and Pharmacology of *Persea americana* Mill.(Family: Lauraceae): A Review. Bioactives and Pharmacology of Medicinal Plants.347-356.
- Duda GN, Geissler S, Checa S, Tsitsilonis S, Petersen A, Schmidt-Bleek K. 2023. The decisive early phase of bone regeneration. Nature Reviews Rheumatology. 19(2):78-95.
- Efrima B, Khoury A. 2024. Diaphyseal Tibial Fractures. Orthopaedics and Trauma: Current Concepts and Best Practices. Springer; p. 545-555.

- Freitas L, Bezerra A, Resende-Coelho A, Maciel L, Gomez-Lazaro M, Amorim T, Fernandes R, Fonseca H. 2025. Effect of Eight Months of Swimming on Bone Quality of Different Anatomical Regions: A Study on Wistar Rat Models. *Calcified Tissue International*. 116(1):29.
- Ghanem W, Ezzeddine H, Saad R, Kiwan E, Dahdouh R, Fakih O, Sakhat G, Alam E, Najjar J, Assaf F. 2025. State of the Nonunion: A review of the latest literature. *Orthopedic Reviews*. 17:129085.
- Guo S, Huang Y, Zhang Y, Huang H, Hong S, Liu T. 2020. Impacts of exercise interventions on different diseases and organ functions in mice. *Journal of sport and health science*. 9(1):53-73.
- Harri M, Kuusela P. 1986. Is swimming exercise or cold exposure for rats? *Acta Physiologica Scandinavica*. 126(2):189-197.
- Jung K, Kim I-H, Han D. 2004. Effect of medicinal plant extracts on forced swimming capacity in mice. *Journal of ethnopharmacology*. 93(1):75-81.
- Kalff K-M, El Mouedden M, van Egmond J, Veening J, Joosten L, Scheffer GJ, Meert T, Vissers K. 2010. Pre-treatment with capsaicin in a rat osteoarthritis model reduces the symptoms of pain and bone damage induced by monosodium iodoacetate. *European journal of pharmacology*. 641(2-3):108-113.
- Kang Y-S, Kim S-H, Kim J-C. 2017. Effects of swimming exercise on high-fat diet-induced low bone mineral density and trabecular bone microstructure in rats. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 21(2):48.
- Kumari S, Singh M, Nupur, Jain S, Verma N, Malik S, Rustagi S, Priya K. 2023. A review on therapeutic mechanism of medicinal plants against osteoporosis: effects of phytoconstituents. *Molecular Biology Reports*. 50(11):9453-9468.
- Luna LG. 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. p. xii, 258-xii, 258.
- Mahmoud AH, Samy MN, Wanas AS, Kamel MS. 2021. Gas chromatography-mass spectrometry profiling and analgesic, anti-inflammatory, antipyretic, and antihyperglycemic potentials of *Persea americana*. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 24(5):641.

- Manchado-Gobatto FdB, Gobatto CA, Ribeiro C, Mota CSdA, Araujo GGd, Araújo MBd, Mello MARd. 2010. Anaerobic threshold in running and swimming rats: Determination using two mathematical methods.
- Marangon L, Gobatto CA, de Mello MA, Kokubun E. 2002. UTILIZATION OF AN HYPERBOLIC MODEL FOR THE DETERMINATION OF THE CRITICAL LOAD IN SWIMMING RATS. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 34(5):S149.
- Morais SVd, Mendonça PG, Vasconcelos CC, Lopes PLA, Garcia JBS, Calzerra NTM, Queiroz TMD, Lima STdJRM, Silva GEB, Lopes AJO. 2023. Cuminaldehyde effects in a MIA-induced experimental model osteoarthritis in rat knees. *Metabolites*. 13(3):397.
- Murray CJ, Aravkin AY, Zheng P, Abbafati C, Abbas KM, Abbasi-Kangevari M, Abd-Allah F, Abdelalim A, Abdollahi M, Abdollahpour I. 2020. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The lancet*. 396(10258):1223-1249.
- Ogasawara A, Nakajima A, Nakajima F, Goto K-i, Yamazaki M. 2008. Molecular basis for affected cartilage formation and bone union in fracture healing of the streptozotocin-induced diabetic rat. *Bone*. 43(5):832-839.
- Ozolua R, Anaka O, Okpo S, Idogun S. 2009. Acute and sub-acute toxicological assessment of the aqueous seed extract of *Persea americana* Mill (Lauraceae) in rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 6(4).
- Pape H-C, Marcucio R, Humphrey C, Colnot C, Knobe M, Harvey EJ. 2010. Trauma-induced inflammation and fracture healing. *Journal of orthopaedic trauma*. 24(9):522-525.
- Portier H, Benaitreau D, Pallu S. 2020. Does physical exercise always improve bone quality in rats? *Life*. 10(10):217.
- Ramesh P, Jagadeesan R, Sekaran S, Dhanasekaran A, Vimalraj S. 2021. Flavonoids: classification, function, and molecular mechanisms involved in bone remodelling. *Frontiers in Endocrinology*. 12:779638.
- Schött E, Berge O-G, Ängeby-Möller K, Hammarström G, Dalsgaard C-J, Brodin E. 1994. Weight bearing as an objective measure of arthritic pain in the rat. *Journal of pharmacological and toxicological methods*. 31(2):79-83.
- Shen C-L, Chyu M-C. 2016. Tea flavonoids for bone health: from animals to humans. *Journal of Investigative Medicine*. 64(7):1151-1157.

- Simon AM, Manigrasso MB, O'Connor JP. 2002. Cyclo-oxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. *Journal of bone and mineral research*. 17(6):963-976.
- Taleuzzaman M, Anupam, Verma M, Bhatia M, Singh R. 2025. Role of Food Bioactives in Promoting Bone Health. *Food Bioactives and Nutraceuticals: Dietary Medicine for Human Health and Well-Beings*. Springer; p. 329-342.
- Tan ACW, Rayner A, Robertson A. 2025. Tibial shaft fractures: current concepts. *Orthopaedics and Trauma*.
- Urabe K, Kim HJ, Sarkar G, Bronk JT, Bolander ME. 2003. Determination of the complete cDNA sequence of rat type II collagen and evaluation of distinct expression patterns of types IIA and IIB procollagen mRNAs during fracture repair in rats. *Journal of orthopaedic science*. 8(4):585-590.
- Volpon JB, Silva AV, Falcai MJ, Louzada MJQ, Zamarioli A, Kotake BGDS, Issa JPM. 2015. The osteogenic effects of swimming on bone mass, strength, and microarchitecture in rats with unloading-induced bone loss. *Microscopy research and technique*. 78(9):784-791.
- Weaver CM, Alekel DL, Ward WE, Ronis MJ. 2012. Flavonoid intake and bone health. *Journal of nutrition in gerontology and geriatrics*. 31(3):239-253.
- Wellings EP, Moran SL, Tande AJ, Hidden KA. 2024. Approach to tibial shaft nonunions: diagnosis and management. *JAAOS-Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 32(6):237-246.
- Yasir M, Das S, Kharya M. 2010. The phytochemical and pharmacological profile of *Persea americana* Mill. *Pharmacognosy reviews*. 4(7):77.

Agradecimentos

Acknowledgements, avoiding identifying any of the authors prior to peer review

1. This is a note. The style name is Footnotes, but it can also be applied to endnotes.

- **Declaração de divulgação / Conflito de interesses**

Fonte de financiamento

Legendas

Tabela 1. Constituintes químicos identificados no extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill., por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS). A identificação foi realizada com base em massas moleculares, tempos de retenção e fragmentação por espectrometria.

Figura 1. Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill. obtido por LC-MS/MS, evidenciando os principais picos de compostos identificados. Abaixo, estruturas químicas representativas dos principais fitoquímicos detectados no extrato.

Figura 2. Percentual de inibição da ciclooxygenase-2 (COX-2) in vitro induzido pelo extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill. (EHPA), testado nas concentrações de 2 µg/mL, 10 µg/mL e 50 µg/mL. Pontos e barras representam média ± SEM (One way Anova Newman Tukey). 2 µg/mL (**p < 0,005) quando comparado com 10 µg/mL, 10 µg/mL (***p < 0,0005) quando comparado com 50 µg/mL e 2 µg/mL (****p < 0,0001) quando comparado com 50 µg/mL.

Figura 3. Análise histológica da tíbia em diferentes grupos experimentais. Cortes corados com Hematoxilina & Eosina (HE), Tricrômio de Masson e Picrosirius. Presença de calo ósseo, grau de organização da matriz e padrão de ossificação variando entre os grupos. Asterisco: perióstio; seta: calo ósseo. Escala: 500 µm.

Tabela 1: Constituintes químicos identificados no extrato hidroetanólico de *Persea americana* Mill., por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC- MS)

Número	TRa	[M+H] ⁺ b [M+Na] ⁺ c	Fragmentos	Substâncias Propostas
1	28	385	193, 157, 139	Ácido acetil hexosil caféico
2	17.1	449	303, 285, 257	Orientina
3	16.3	525	479, 317	Verbascosídeo
4	24.8	308	291, 236	n.i*
5	25.2	318	256	Crinamidina
6		33.1	439*	416, 257, 147 Pulmatina
7		36.1	353	261, 163 n.i
8		36.1	569	285, 185 Luteína
9		37.8	701	539 n.i
10		40.2	353	335, 261 n.i
11		42.0	573	287, 269 n.i
12		46.3	577	289, 253 Dimero de catequina

Número	TR	[M-H] ⁻ d	Fragmentos	Substâncias Propostas
1a	3.7	317	191, 165	Derivado de ácido químico
2a	7.3	583	537, 315	n.i
3a	7.3	315	153	Isorhamentina
4a	8.6	583	537	n.i
5a	10.3	563	281	Vicenina I
6a	12.8	563	517, 191	Apigenina-6,8-C pentosídeo hexosídeo
7a	14.7	609	301	Rutina
8a	17.1	447	301	Quercetrina
9a	18.9	431	281, 167	Vitexina
10a	21.6	593	547, 447, 285	kaempferol 7-O- neohesperidosídeo
11a	31.5	739	593, 301	Apigenina-C-hexosídeo-O- rhamnosil- hexosídeo
12a	39.4	1027	983, 773, 513	Derivado de Procianidina

Figura 01

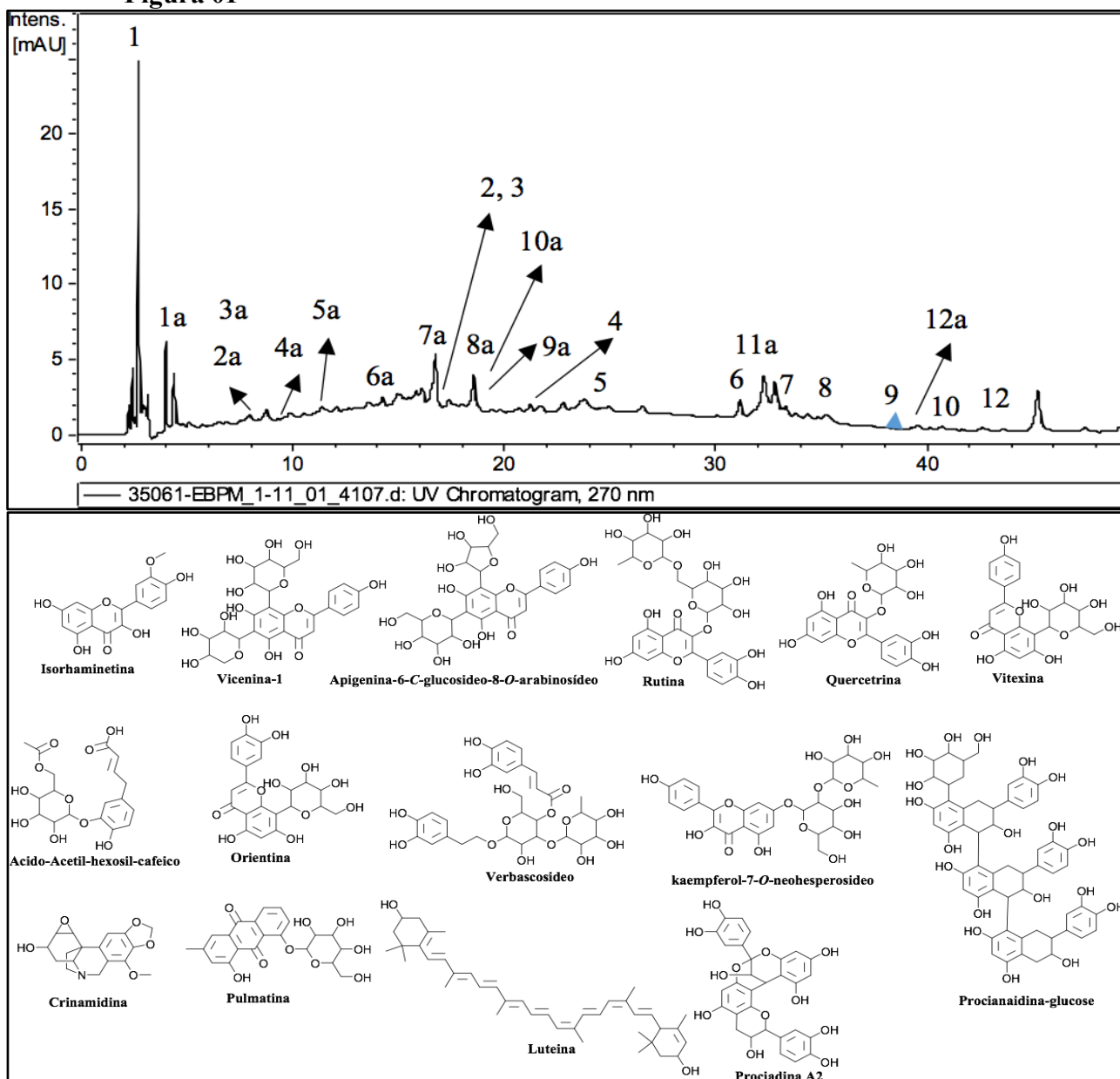


Figura 2

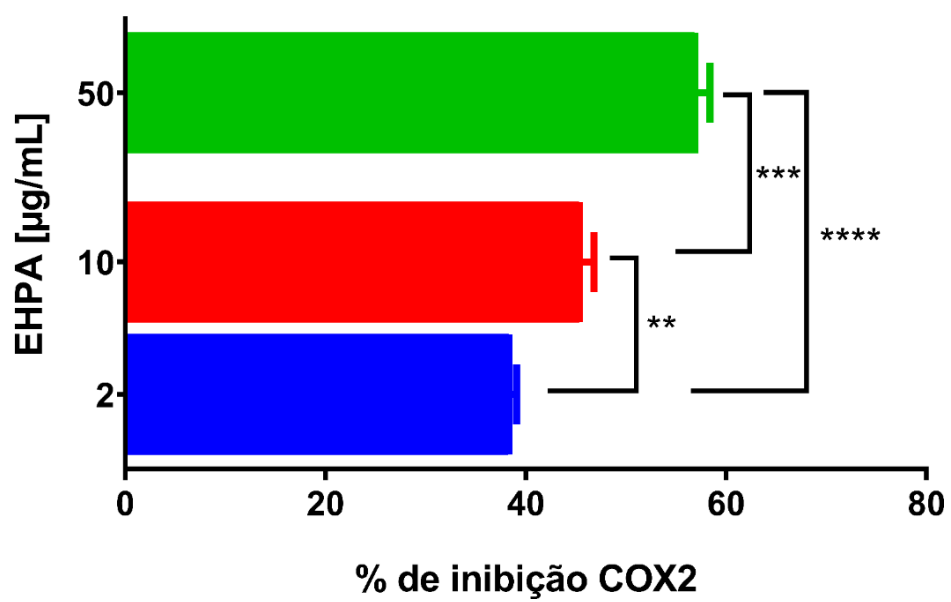
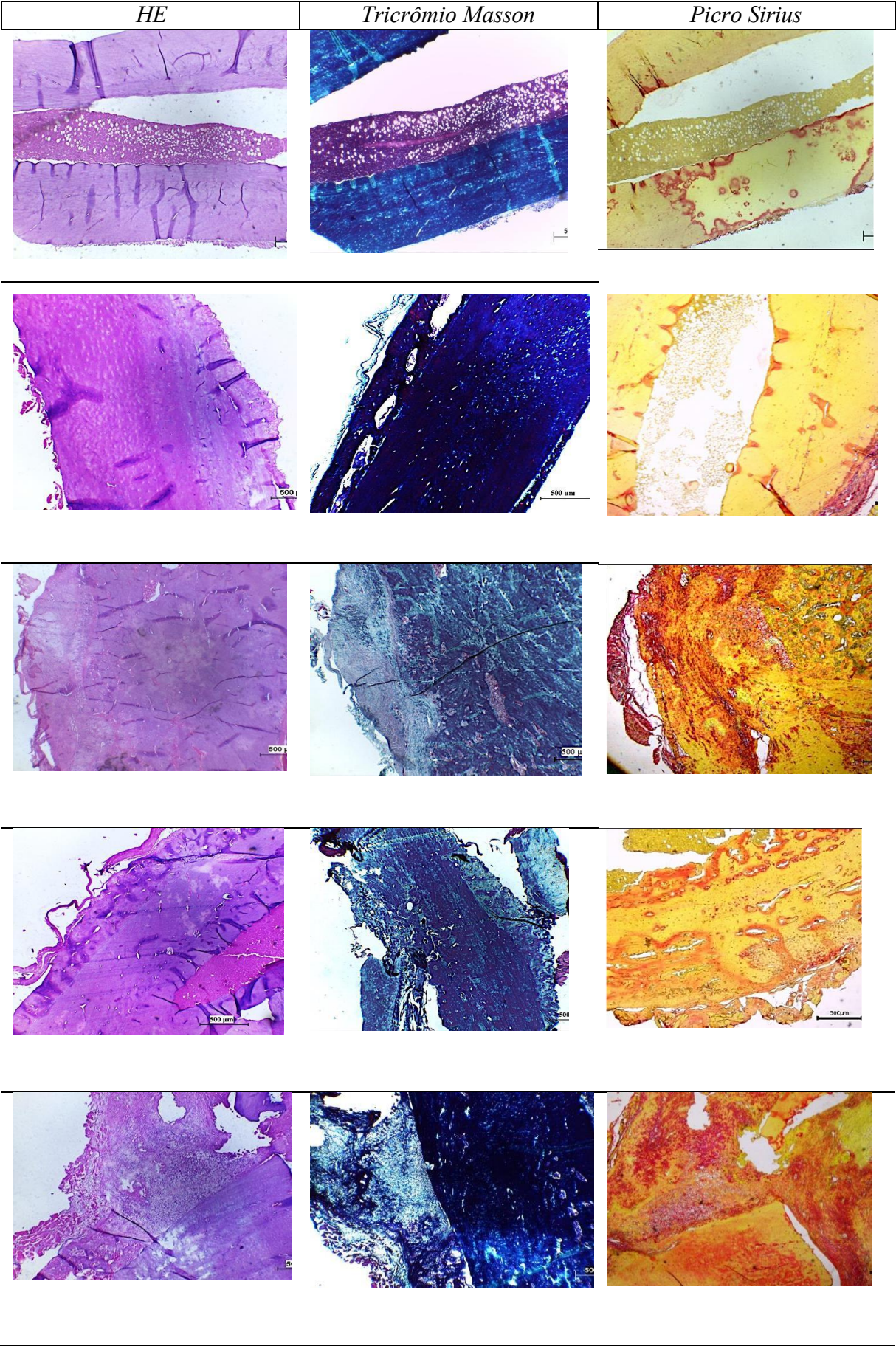


Figura 3



CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *PERSEA AMERICANA* MILL., sobre CONSOLIDAÇÃO DE FRATURA ÓSSEA EM RATOS POR MEIO AVALIAÇÃO CLÍNICA.

Avaliação dos efeitos do extrato das folhas de *Persea americana* Mill sobre consolidação de fratura óssea em ratos por meio da avaliação clínica

Priscylla G. Mendonça,^{1*} Maria S. S. Cartágenes,¹

¹ Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil

Solicitações de reimpressões:

Priscylla G. Mendonça, MSc, Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão - São Luís, Av. dos Portugueses 1966, MA, 65080-805, Brasil,

Email: priscyllagouveia@yahoo.com.br

Resumo: Nos últimos anos, os métodos de tratamento para fraturas ósseas têm avançado significativamente, porém alguns ainda mostram problemas na cicatrização. As fraturas expostas mais comuns são observadas nas tíbias em 20 a 40% das situações. O aumento do uso de artigos naturais, especialmente os de cunho medicinal, fitofármacos abrangem uma ampla gama de possibilidades para a criação de novos fármacos destinados ao tratamento de doenças e condições relacionadas. Analisar o efeito do extrato de *Persea americana* Mill. na recuperação de fraturas ósseas. Metodologia: Ratos Wistar (n = 30) foram randomizados em cinco grupos (n = 6): saudável (H), fratura + extrato (FE), fratura + extrato + natação (FEN), fratura + natação (FN) e fratura sem tratamento (F). Os grupos FE e FEN receberam 750 mg/kg de EHPA por via oral durante 28 dias. Resultados: A radiografia validando a formação da fratura no D21 e no D28 assim como aspectos comportamentais (análise clínica) e os achados bioquímicos e hematológicos apontam a recuperação do tecido ósseo nos grupos tratados com extrato, sendo o grupo tratado com extrato isolado com melhor resultado.

Palavras-chave: *Persea americana* Mill, Análise clínica, Fratura óssea; Cicatrização óssea

Introdução

A indústria de plantas medicinais e fitoterápicos tem se consolidado como uma alternativa promissora para o desenvolvimento de medicamentos seguros, eficazes e de qualidade [1]. Essa abordagem representa uma oportunidade estratégica para ampliar o leque de tratamentos ofertados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), contribuindo para o aprimoramento da atenção à saúde e para a promoção da inclusão terapêutica da população.

O uso terapêutico de produtos naturais é baseado em práticas tradicionais de longa data, e permanece relevante especialmente em países em desenvolvimento, onde o acesso à medicina convencional pode ser limitado. No Brasil, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (Decreto nº 5.813/2006) tem como objetivo integrar esse conhecimento à saúde pública, promovendo o uso sustentável da biodiversidade nacional e assegurando uma base tecnológica confiável [2]. Para sua efetiva incorporação ao sistema de saúde, é essencial que os fitoterápicos sejam prescritos com base em critérios rigorosos de eficácia, segurança, qualidade e acessibilidade [3].

Entre as condições clínicas que podem se beneficiar de novas abordagens terapêuticas está a fratura óssea, uma das lesões mais prevalentes do sistema musculoesquelético. Essas lesões impactam significativamente a qualidade de vida dos pacientes e representam uma demanda crescente para os serviços de saúde.

Estima-se que milhões de pessoas sofram fraturas anualmente em todo o mundo, com risco elevado de cicatrização inadequada, especialmente em ossos longos como a tíbia distal, cuja anatomia e vascularização limitada favorecem complicações como não união e retardo na consolidação [4–7].

As fraturas que evoluem para não união podem ser classificadas como hipertróficas, caracterizadas pela formação excessiva de calo ósseo, ou atróficas, marcadas pela ausência de regeneração adequada e predomínio de tecido fibroso. Esta última representa um desafio terapêutico significativo, frequentemente exigindo estratégias além das intervenções cirúrgicas convencionais [8,9].

Diante desse cenário, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill. sobre a consolidação de fraturas ósseas em ratos, por meio de análises clínicas, funcionais, bioquímicas e radiográficas, bem como investigar possíveis efeitos tóxicos sistêmicos associados ao seu uso.

Material e métodos

Coleta e preparação do extrato vegetal

Foram coletadas 4.225 kg de folhas de *Persea americana* Mill. na região de Paço do Lumiar – MA (2°28'21.6"S, 44°09'14.3"W), em setembro de 2022. As folhas foram submetidas a secagem em estufa com ventilação (temperatura máxima de 38 °C) e, em

seguida, moídas em um moinho do tipo Willey, resultando em 1,665 kg de pó. O processo de extração foi feito através da maceração em etanol a 70% (relação 1:3 p/v) por um período de 15 dias. Depois da filtração, uma parte do extrato foi separada para análises químicas, enquanto o restante foi concentrado em um evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40 °C, resultando no extrato hidroetanólico bruto (EHPA), com um rendimento de 38%. O extrato apresentou uma coloração verde, um aroma doce e um pH de 5,0.

Animais experimentais

Trinta ratos machos da raça Wistar (*Rattus norvegicus*), pesando entre 200 e 300 g, foram utilizados, os quais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Os animais foram mantidos em um ambiente com temperatura regulada (22 ± 2 °C) e um ciclo de luz e escuridão de 12 horas, tendo acesso livre a água e ração. O protocolo da pesquisa recebeu aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMA (nº 23115.000750/2022-11).

Protocolo experimental

Os animais foram distribuídos em cinco grupos (n = 6 por grupo):

Grupo H: saudável, sem qualquer intervenção;

Grupo FE: fratura induzida + tratamento com EHPA;

Grupo FEN: fratura + EHPA + natação diária (30 min);

Grupo FN: fratura + natação (30 min);

Grupo F: fratura, sem intervenção.

A dose de 750 mg/kg de EHPA foi administrada por gavagem oral durante 28 dias. A natação foi realizada em tanque com água a 31 ± 1 °C, com adaptação prévia de sete dias.

Indução da fratura

A fratura foi realizada sob anestesia com midazolam (1 mg/kg) e tramadol (5 mg/kg) por via intraperitoneal, associada à manutenção com isoflurano a 2%. Após preparo asséptico, realizou-se fratura aberta diafisária da tíbia direita com microretífica (broca 0,5 mm, 15.000 rpm), conforme modelo adaptado [10,11]. A incisão foi suturada com fio absorvível e aplicado iodo tópico.

Análise bioquímica e hematológica

Coletas sanguíneas foram realizadas nos dias 0 e 28 para dosagens bioquímicas (glicose, colesterol, triglicerídeos, uréia, creatinina, ALT, AST e fosfatase alcalina) e hemograma (leucócitos, linfócitos, hemoglobina), utilizando kits LABTEST® em analisador semiautomático Bioplus®.

Análise radiográfica

As radiografias dos membros inferiores dos animais foram obtidas por meio de um aparelho de raios-X PHILIPS Medical Systems Ltda (unidade seladora Rotax, KVP 125, série PADXJL.10.001), com proteção radiológica de acordo com a norma NBR

IEC 60601-1-3-2001. O modelo utilizado foi o KL.90.30/50, acoplado à reveladora DIRECT DIGITIZER (Model DRYPRO SIGMA, S/N 002650, P/N 9G9001, REF A4A9).

As imagens foram realizadas no sétimo dia após a indução da fratura (D7) e novamente nos dias 21 (D21) e 28 (D28), com o objetivo de acompanhar a progressão da consolidação óssea. Para a aquisição das radiografias nos dias D7 e D21, os animais foram submetidos à anestesia superficial, por via intraperitoneal, com a combinação de cetamina e xilazina (1:1; 0,05 mL/100 g). No D28, os animais já haviam sido eutanasiados, e apenas os membros isolados foram radiografados.

Durante a aquisição das imagens, os animais foram posicionados em decúbito ventral, com os membros posteriores abduzidos e as articulações do quadril e joelho em flexão de 90°. O foco do aparelho foi mantido a uma distância de 115 cm do chassi.

Avaliação clínica

Teste de deambulação forçada (RotaRod)

Os animais foram submetidos ao aparelho RotaRod (IITC Life Science®, EUA), a 16 rpm por 300 segundos nos dias 7, 14, 21 e 28. O uso do membro fraturado foi avaliado por escala numérica de 1 a 5 [12].

Teste de distribuição de peso (Weight Bearing)

Os animais foram posicionados em câmara de vidro com apoio separado das patas traseiras. A média de três medições (em gramas) foi registrada nos dias 7, 14, 21 e 28, com avaliação da distribuição do peso [13].

Análise histológica de órgãos

Análise de cortes histológicos de órgãos como baço, fígado e rim após administração do EHPA (750 mg / kg) por 28 dias foram avaliadas por coloração em Hematoxilina-eosina.

Análise estatística

A comparação das médias dos diferentes grupos experimentais foi realizada pelo teste t de Student ou análise bivariada (ANOVA de duas vias), seguida do teste de Tukey. Na avaliação das duas fontes de variabilidade, utilizou-se a análise de variância bivariada (ANOVA de duas vias). O valor de $p < 0,05$ foi considerado indicativo de significância e os dados obtidos foram analisados com o software GraphPad Prism 7® (GraphPad San Diego, CA).

Resultados

Parâmetros bioquímicos e hematológicos

Não foram observadas alterações significativas nos parâmetros bioquímicos e hematológicos entre os grupos tratados com EHPA ou submetidos ao exercício

aeróbico crônico, em comparação ao grupo saudável (H). Os valores de glicemia, colesterol, triglicerídeos, ureia, creatinina, ALT, AST, fosfatase alcalina, hemoglobina, leucócitos e linfócitos mantiveram-se dentro da faixa fisiológica de referência, considerando o animal controle desse estudo. Esses achados sugerem ausência de toxicidade sistêmica do extrato na dose administrada, bem como ausência de efeitos adversos decorrentes do exercício físico. Os dados completos estão apresentados na **Tabela 1**.

Avaliação radiográfica

As imagens radiográficas revelaram diferenças no padrão de consolidação óssea entre os grupos experimentais. No grupo FE, observou-se formação de calo ósseo bem definido e ausência da linha de fratura já no 21º dia, indicando consolidação avançada (**Figura 1**). O grupo FEN apresentou calo ósseo moderado, com sinais evidentes de remodelação progressiva. Em contraste no 28º dia, os grupos FN e F exibiram calo irregular ou ausente, com persistência da linha de fratura, sugerindo atraso no processo de consolidação (**Figura 3B**). Como esperado, o grupo saudável (H) manteve a integridade óssea estrutural, sem alterações radiográficas (**Figura 2**).

Avaliação clínica

Deambulação forçada (RotaRod)

A avaliação funcional pelo teste de deambulação forçada (RotaRod) revelou melhora progressiva nos grupos tratados com EHPA (FE) e EHPA associado à natação (FEN), com pontuações entre 4 e 5 até o 28º dia, indicando recuperação do uso do membro

fraturado (**Figura 3**). O grupo FEN apresentou leve variação nos primeiros dias, mas evoluiu de forma semelhante ao grupo FE. Em contraste, os grupos FN (natação) e F (controle fraturado) mantiveram escores baixos durante todo o experimento, sendo o grupo F o mais comprometido, sem sinais de recuperação funcional até o final do estudo.

No D7, houve redução significativa de desempenho funcional ($p < 0,0001$) nos grupos FE, FEN, FN e F em comparação ao grupo saudável (H), confirmando a eficácia da indução da fratura. Ainda no D7, o grupo FEN apresentou melhora significativa em relação ao grupo FE ($p < 0,0001$), sugerindo efeito benéfico da atividade física prévia.

No D14, as comparações entre o grupo H e os demais mantiveram-se significativas ($p < 0,0001$). Entre os grupos tratados, observaram-se diferenças significativas entre FE vs FEN ($p = 0,0020$), FE vs FN ($p < 0,0001$), FEN vs F ($p < 0,0001$), FEN vs FN e F ($p < 0,0001$), e FN vs F ($p < 0,0001$).

No D21, os grupos tratados continuaram a demonstrar melhor desempenho em relação ao grupo controle, com significância estatística mantida nas comparações entre H vs demais grupos ($p < 0,0001$), FE vs FN e F ($p < 0,0001$), FEN vs FN e F ($p < 0,0001$), e FN vs F ($p < 0,0001$).

No D28, observou-se melhora nos grupos FE e FEN, com diferenças significativas entre H vs FE ($p = 0,0020$) e H vs FN e F ($p < 0,0001$). Também foram observadas

diferenças entre FE vs FEN ($p = 0,0020$), FEN vs FN e F ($p < 0,0001$), e FN vs F ($p < 0,0001$).

Durante todo o período, apenas os grupos FE, FEN e FN demonstraram melhora funcional, com início mais evidente a partir do D14. O grupo F não apresentou evolução significativa em nenhum dos pontos avaliados.

Distribuição de peso (Weight Bearing)

A avaliação da incapacidade funcional por meio do teste de suporte de peso evidenciou diferenças significativas entre os grupos (Figura 4). Os animais dos grupos FE e FEN apresentaram recuperação progressiva na distribuição de peso no membro fraturado, com valores próximos aos do grupo saudável (H) ao final dos 28 dias.

O grupo FEN apresentou leves variações nos primeiros dias, mas com evolução positiva. Já os grupos FN e F mantiveram padrão assimétrico de suporte de peso, com sobrecarga compensatória no membro contralateral, indicando comprometimento funcional persistente, especialmente no grupo F, que obteve os piores resultados ao longo do experimento.

A análise considera a diferença percentual entre os membros contralateral e ipsilateral à fratura, sendo que maiores valores no membro oposto indicam déficit funcional. No D7, observou-se redução significativa no suporte de peso nos grupos FE, FEN, FN e

F em comparação ao grupo H ($p < 0,0001$), confirmando a eficácia da indução da fratura. Além disso, houve melhora significativa no grupo FEN em relação ao FE ($p < 0,0001$), sugerindo efeito positivo da atividade física prévia. Comparações entre FEN e os grupos FN e F também apresentaram significância ($p < 0,0001$).

No D14, as comparações entre o grupo H e os grupos FN e F mantiveram significância ($p < 0,0001$), assim como em H vs FE ($p = 0,0031$) e H vs FEN ($p = 0,0042$). As comparações entre FE vs FN e F, e FEN vs FN e F, também mostraram diferenças estatísticas ($p < 0,0001$). O grupo F diferiu significativamente dos demais ($p < 0,0001$). No D21, o grupo H apresentou diferença significativa em relação aos grupos FN, F e FE ($p < 0,0001$), e também em relação ao FEN ($p = 0,0001$). Comparações entre FE e os grupos FN e F, e entre FEN e os mesmos grupos, mantiveram significância ($p < 0,0001$). FN e F diferiram entre si com $p = 0,0031$.

No D28, observaram-se diferenças entre H e F ($p < 0,0001$), H e FN ($p = 0,0007$) e H e FE ($p = 0,0006$). As comparações entre FE, FEN e FN com o grupo F também apresentaram significância ($p < 0,0001$).

A partir do D14, os animais tratados com EHPA passaram a demonstrar melhora progressiva, com distribuição de peso mais equilibrada entre os membros. No D28, os grupos tratados atingiram padrão funcional semelhante ao normal, enquanto o grupo F permaneceu com déficit evidente até o final do protocolo.

Análises histológica de órgãos

O baço, fígado e rim, foram avaliados por cortes histológicos em coloração por hematoxilina-eonina não mostraram alterações patológicas, na dose administrada do EHPA (750 mg / kg), demonstrando assim que o extrato não induziu toxicidade. **(Figura 5).**

Discussão

A administração do extrato hidroetanólico de *Persea americana* Mill. (EHPA), isoladamente ou em combinação com exercício físico, demonstrou efeitos positivos no processo de consolidação óssea em modelo experimental de fratura de tíbia em ratos. Os resultados radiográficos, funcionais e clínicos evidenciaram melhora significativa nos grupos tratados, especialmente no grupo que recebeu apenas o extrato, sugerindo que os componentes bioativos presentes nas folhas da planta exercem ação benéfica sobre os mecanismos de regeneração óssea.

A melhora observada nos testes de deambulação forçada (RotaRod) e de suporte de peso (Weight Bearing) indicou recuperação funcional progressiva dos membros afetados, sobretudo a partir do 14º dia, coincidindo com o início da fase de consolidação óssea. O grupo tratado exclusivamente com EHPA (FE) apresentou desempenho superior ao grupo que combinou o extrato com exercício físico (FEN), o que pode estar relacionado à possível interferência de sobrecarga mecânica durante a fase inflamatória inicial, ou à ausência de sinergismo entre as abordagens.

Esses achados corroboram estudos anteriores que demonstraram propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e regenerativas associadas a compostos fenólicos, flavonoides e ácidos graxos presentes em extratos de *Persea americana* [14,15]. Esses constituintes atuam tanto na modulação da resposta inflamatória quanto na estimulação de vias osteogênicas, favorecendo a formação de calo ósseo e a remodelação estrutural.

A ausência de alterações nos parâmetros bioquímicos, hematológicos e histológicos confirma o perfil de segurança do EHPA na dose administrada (750 mg/kg), em concordância com relatos prévios que também não observaram toxicidade hepática, renal ou hematológica em modelos animais tratados com extratos da planta [14]. Esse aspecto reforça o potencial translacional do extrato como candidato fitoterápico seguro para intervenções clínicas voltadas à regeneração óssea.

No entanto, a associação entre tratamento fitoterápico e exercício físico não resultou em efeitos aditivos ou sinérgicos expressivos. Embora o grupo FEN tenha apresentado evolução funcional, o desempenho ficou abaixo do grupo FE em diversos parâmetros. Isso sugere que, nas condições analisadas, o esforço físico pode ter limitado os efeitos anabólicos do extrato durante fases críticas da reparação óssea.

Além disso, os grupos FN (exercício isolado) e F (sem tratamento) mantiveram atraso significativo na recuperação, confirmando que o estímulo físico, sem suporte farmacológico, não foi suficiente para promover consolidação adequada da fratura

dentro do período experimental. Este achado também reforça a importância da modulação bioquímica no microambiente ósseo como fator determinante para a regeneração eficaz.

Por fim, apesar dos resultados promissores, é importante considerar limitações do estudo, como o tamanho amostral reduzido, a ausência de avaliação molecular dos marcadores de regeneração e a necessidade de testes em modelos mais complexos ou com comorbidades. Estudos futuros deverão abordar essas lacunas para validar e expandir o uso clínico de compostos derivados de *Persea americana* na ortopedia regenerativa.

Conclusão

Este estudo revelou que o extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill. (EHPA) e o exercício aeróbico crônico influenciam positivamente a consolidação de fraturas ósseas em ratos. Contudo, os resultados funcionais, radiográficos e clínicos apontam que o uso isolado do EHPA apresentou maior eficácia em comparação tanto ao exercício quanto à abordagem combinada.

Sob a perspectiva toxicológica, a ausência de mudanças relevantes nos parâmetros bioquímicos e hematológicos observada nos grupos tratados reafirma a segurança do EHPA na dose administrada, em alinhamento com pesquisas anteriores [16]. Na análise histológica de órgãos não houve necrose, isquemia, inflamação ou qualquer tipo de lesão celular.

Os achados deste estudo demonstram que o extrato de *Persea americana* possui um efeito predominante na modulação da regeneração óssea, superando os resultados obtidos com o exercício físico realizado isoladamente. A combinação entre o uso do extrato e a prática de exercício não gerou benefícios adicionais relevantes, indicando ausência de interação sinérgica ou aditiva entre as intervenções nas condições analisadas. Contudo, o potencial translacional do EHPA como um agente promissor para a consolidação de fraturas é evidente, sobretudo em cenários clínicos onde o processo de reparo ósseo está prejudicado.

Referências

1. Atanasov AG, Zotchev SB, Dirsch VM, Supuran CT. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat Rev Drug Discov*. 2021;20(3):200–216.
2. Figueredo C A D, Gurgel I G D, & Gurgel Junior G D (2014). A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. *Physis: Revista de Saúde Coletiva*, 24, 381-400.
3. Mesquita A P. (2025). Inserção da biodiversidade na saúde pública: um estudo sobre a fitoterapia no SUS (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
4. McMahon S E, Little Z E, Smith T O, Trompeter A, & Hing C B. (2016). The management of segmental tibial shaft fractures: a systematic review. *Injury*, 47(3), 568-573.
5. Ehnert S, & Histing T. (2024). Advances in fracture Healing Research. *Bioengineering*, 11(1), 67.
6. Wildemann B, Ignatius A, Leung F, Taitzman L A, Smith R M, Pesántez R, ... & Jupiter J B. (2021). Non-union bone fractures. *Nature reviews Disease primers*, 7(1), 57.
7. Keramaris N C, Calori G M, Nikolaou V S, Schemitsch E H, & Giannoudis P V. (2008).

Fracture vascularity and bone healing: a systematic review of the role of VEGF. *Injury*, 39, S45-S57.

8. Marsh D R, & Li G. (1999). The biology of fracture healing: optimising outcome. *British medical bulletin*, 55(4), 856-869.

9. Schlundt C, Bucher C H, Tsitsilonis S, Schell H, Duda G N, & Schmidt-Bleek K. (2018). Clinical and research approaches to treat non-union fracture. *Current osteoporosis reports*, 16(2), 155-168.

10. Ozolua RI, Anaka ON, Okpo SO, Idogun SE. Acute and sub-acute toxicological assessment of the aqueous seed extract of *Persea americana* Mill (Lauraceae) in rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2009;6(4):573–578.

11. Adeyemi O O, Okpo S O, & Ogunti O O. (2002). Analgesic and anti-inflammatory effects of the aqueous extract of leaves of *Persea americana* Mill (Lauraceae). *Fitoterapia*, 73(5), 375-380.

12. Apel P J, Crane D, Northam C N, Callahan M, Smith T L, & Teasdall R D. (2009). Effect of selective sensory denervation on fracture-healing: an experimental study of rats. *JBJS*, 91(12), 2886-2895.

13. Modi A D, Parekh A, & Pancholi Y N. (2023). Evaluating pain behaviours: Widely used mechanical and thermal methods in rodents. *Behavioural brain research*, 446, 114417.

14. Menger M M, Manuschewski R, Ehnert S, Rollmann M F, Maisenbacher T C, Tobias A L, ... & Histing T. (2023). Radiographic, biomechanical and histological characterization of femoral fracture healing in aged CD-1 mice. *Bioengineering*, 10(2), 275.

15. Namkung-Matthai H, Appleyard R, Jansen J, Lin J H, Maastricht S, Swain M, ... & Diamond T. (2001). Osteoporosis influences the early period of fracture healing in a rat osteoporotic model. *Bone*, 28(1), 80-86..

Legendas das figuras e tabelas

Figura 1. Radiografias de fratura de tíbias em ratos Wistar nos dias 21 (D21) e 28 (D28) após indução da fratura. São apresentados os grupos experimentais: fratura + extrato (FE), fratura + extrato + natação (FEN), fratura + natação (FN) e fratura sem

tratamento (F). No D21, o grupo FE já exibe consolidação óssea adequada, sem sinais de má formação. O grupo FEN mostra início de consolidação com pequeno espaço residual. Os grupos FN e F mantêm a linha de fratura visível, sendo o grupo FN com pequeno calo e o grupo F com fratura completa, mesmo sem sobrecarga mecânica.

Figura 2. No D28, o grupo FE apresenta consolidação completa e união óssea sem deformidades. O grupo FEN exibe calo bem definido, porém com deformidade residual. Os grupos FN e F continuam com deformidades e sinais de não união, sendo o grupo F com fratura não consolidada e linha visivelmente nítida.

Figura 3. Efeito da administração do extrato hidroetanólico de *Persea americana* Mill. (EHPA) no teste de Atividade Motora/Deambulação Forçada (RotaRod), em modelo de fratura de tíbia em ratos. As linhas representam a média dos valores obtidos (n = 6 por grupo) com barras de erro indicando o desvio padrão. A análise estatística foi realizada por ANOVA de duas vias (Two-way ANOVA) seguida do teste de Tukey. A fratura foi induzida no dia 0 (D0). A deambulação forçada foi avaliada nos dias 3, 7, 9, 14, 21 e 28, classificando o uso do membro fraturado em leve, grave ou total incapacidade. Os grupos FE e FEN receberam EHPA (750 mg/kg, via oral) a partir do D3, por 28 dias consecutivos. O grupo saudável (H) não foi submetido à fratura nem ao tratamento. Símbolos como ****, ####, &&&&, °°°° indicam diferenças estatísticas significativas entre os grupos nas respectivas comparações ($p < 0,05$). (C)

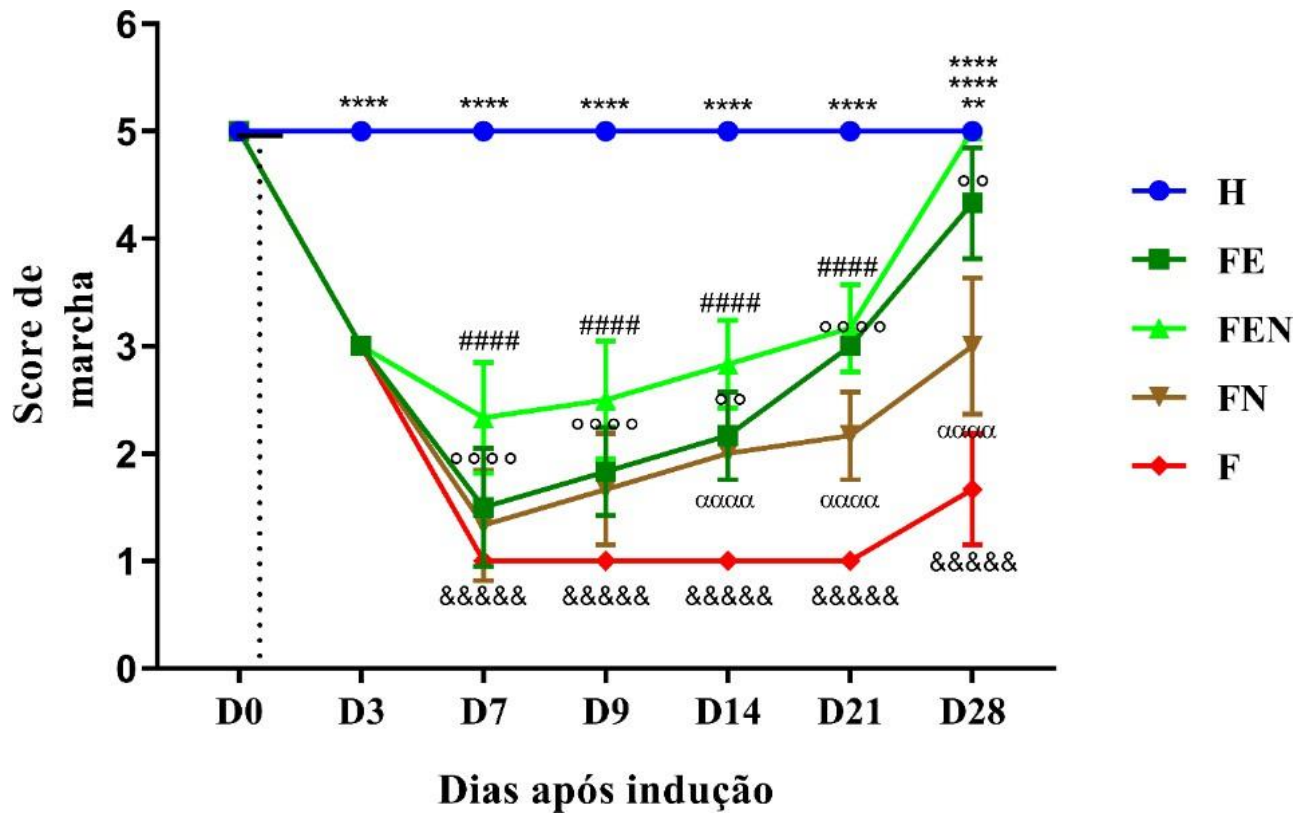
Figura 4. Imagem NIRF *ex vivo* e correlação com PET. Efeito da administração do

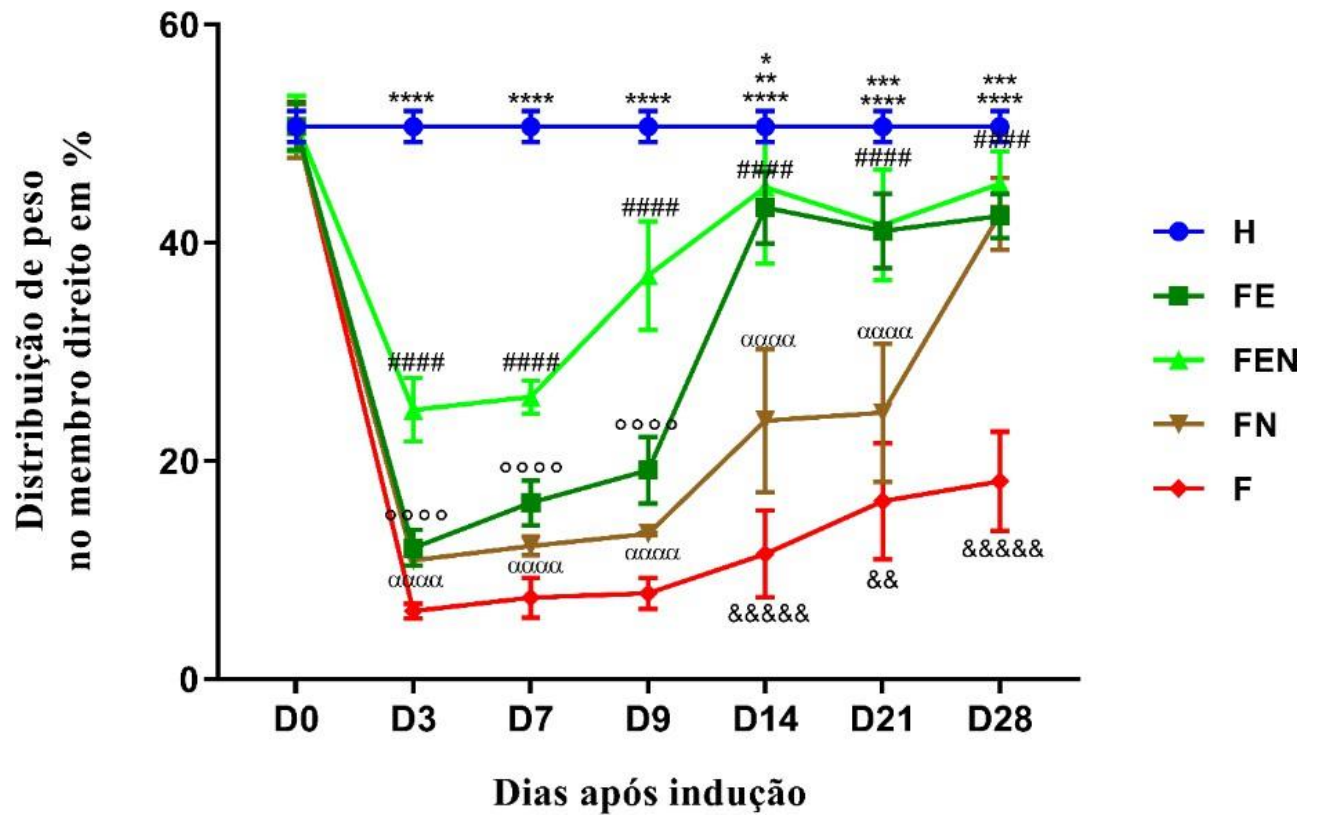
extrato hidroetanólico de *Persea americana* Mill. (EHPA) no teste de incapacidade funcional (Weight Bearing) em modelo de fratura de tíbia em ratos. As linhas representam a média da distribuição de peso no membro posterior direito ($n = 6$ por grupo), com barras de erro indicando o desvio padrão. A análise estatística foi conduzida por ANOVA de duas vias (Two-way ANOVA) com pós-teste de Tukey. A fratura foi induzida no dia 0 (D0), e a avaliação da incapacidade funcional foi realizada nos dias 3, 7, 9, 14, 21 e 28 após a fratura, por meio do teste de Suporte de Peso. A administração do EHPA (750 mg/kg, via oral) foi iniciada no D3 para os grupos FE e FEN, sendo mantida por 28 dias. O grupo saudável (H) não foi submetido à fratura nem ao tratamento. Símbolos como ****, ####, &&&, ⁰⁰⁰⁰ indicam diferenças estatísticas significativas entre os grupos nas respectivas comparações ($p < 0,05$).

Figura 5. Cortes histológicos exemplares do baço (A), fígado (B) e rim (C). Cortes histológicos exemplares do baço (A), fígado (B) e rim (C). As imagens não mostram sinais de isquemia, necrose, lesão celular e / ou inflamação. (Hematoxilina- Eosina - coloração HE, Bar = 100 μ m, 100 $\times$).

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos e hematológicos dos grupos experimentais e valores de referência para ratos Wistar. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos tratados com EHPA e os controles. Dados expressos como média.







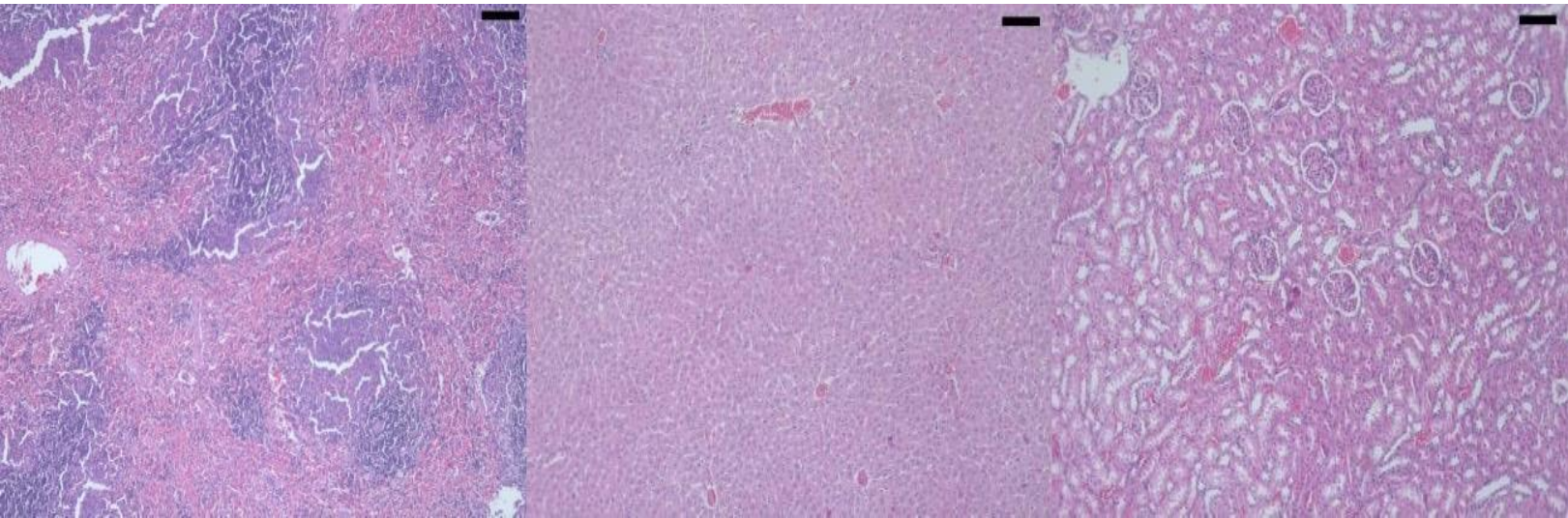


Tabela 1. Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos.

B

C

PARÂMETROS	H	FE	FEN	FN	F
<i>Glic mg/dl</i>	143±3,0	133,3±3,06	133,7±2,52	149,00±2,0	139,67±2,52
<i>ColT mg/dl</i>	61,3±2,1	52,0±2,0	54,3±2,52	60,33±1,53	68,33±153
<i>Trig md/dl</i>	50,3±2,5	48,0±2,0	45,3±2,08	48,33±2,52	53,67±1,53
<i>CR mg/dl</i>	0,6 ±0,1	0,63±0,06	0,6±0,10	0,63±0,06	0,63±0,06
<i>UR mg/dl</i>	43± 2,0	43±3,0	44±1,0	42,67±2,52	42,33±2,52
<i>ALP U/l</i>	94,0±3,6	92,33±2,52	90,3±1,53	94,33±2,08	90,33±2,52
<i>AST U/l</i>	131,3±2,5	135,3±3,06	137,3±2,08	135,00±2,65	138,00±1
<i>ALT U/l</i>	61,3±2,1	58,0±2,0	58,7±1,53	59,33±1,53	57,33±3,21
<i>Hb g/dl</i>	15,2±0,2	15,5±0,46	15,6±0,20	15,90±0,10	15,63±0,25

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tese, estruturada no formato de artigos científicos, integrou investigações complementares sobre os efeitos terapêuticos e a segurança do extrato hidroetanólico de *Persea americana* Mill. no processo de consolidação de fraturas ósseas. Ao reunir evidências experimentais obtidas por meio de diferentes metodologias, foi possível construir um panorama robusto sobre a atuação do extrato nas diversas fases da regeneração óssea e suas implicações funcionais.

O conjunto dos artigos apresentados reafirma o papel da fitoterapia como uma alternativa viável e segura para o tratamento de condições clínicas complexas, especialmente em contextos de difícil acesso à medicina convencional. Os achados aqui descritos reforçam a importância da valorização do conhecimento tradicional associado à biodiversidade brasileira e da sua incorporação qualificada às práticas de saúde baseadas em evidências.

Espera-se que os resultados obtidos nesta tese estimulem novas pesquisas com foco em modelos translacionais e clínicos, a fim de validar os efeitos terapêuticos do extrato em diferentes contextos patológicos. Além disso, a abordagem interdisciplinar adotada contribui para o fortalecimento de uma ciência mais integrada, crítica e voltada às necessidades reais da saúde pública brasileira.

7 CONCLUSÃO

A presente tese teve como objetivo investigar os efeitos do extrato hidroetanólico das folhas de *Persea americana* Mill. (EHPA) sobre o processo de consolidação de fraturas ósseas,

utilizando modelo experimental em ratos, e avaliar a possível toxicidade sistêmica decorrente de seu uso prolongado. Por meio da articulação entre estudos clínicos, funcionais, bioquímicos, hematológicos, histológicos e radiográficos, os resultados obtidos demonstraram que a administração oral do extrato promoveu melhora significativa na recuperação funcional e na distribuição de carga sobre o membro fraturado, além de evidências claras de regeneração óssea eficiente, especialmente a partir do 14º dia pós-fratura.

Observou-se ainda que o uso isolado do extrato resultou em desempenho superior quando comparado à sua associação com exercício físico. Essa constatação sugere que a prática de atividade física, quando iniciada precocemente após o trauma, pode interferir negativamente no processo de consolidação, possivelmente por intensificar a resposta inflamatória inicial. Além disso, os grupos submetidos apenas ao exercício físico ou mantidos sem intervenção apresentaram evolução clínica e funcional significativamente inferior, o que reforça a importância da atuação fitoterápica no contexto de fraturas complexas.

Importante destacar que, em todas as análises de toxicidade sistêmica realizadas, não foram observadas alterações relevantes nos parâmetros bioquímicos, hematológicos ou histopatológicos dos órgãos vitais, o que evidencia um bom perfil de segurança do extrato na dose e tempo utilizados. Esses achados indicam o potencial do EHPA como agente terapêutico complementar no tratamento de fraturas, especialmente em situações clínicas onde a consolidação óssea apresenta maior risco de complicações, como no caso de fraturas atróficas.

Dessa forma, os objetivos propostos nesta tese foram plenamente alcançados. Os resultados obtidos ampliam o conhecimento sobre o potencial terapêutico de *Persea americana* e fornecem subsídios para futuras pesquisas translacionais e aplicações clínicas no campo da ortopedia regenerativa.

REFERÊNCIAS

- AGUNLOYE, M. O.; OWU, D. U.; ONAADEPO, O.; BISONG, S. A. *et al.* The role of avocado plant and its derivatives in the management of diabetes mellitus: a natural approach to glycemic control. **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, 24, n. 1, p. 34, 2025.
- ALBUQUERQUE, R. B. d.; GERALDES, A. A. R.; RANGOUSSIS, B.; FONSECA, F. d. S. *et al.* Swimming and bone mineral density: a sport without osteogenic stimulation? **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 26, n. 2, p. 113-116, 2020.
- ALEEM, I. S.; ALEEM, I.; EVANIEW, N.; BUSSE, J. W. *et al.* Efficacy of electrical stimulators for bone healing: a meta-analysis of randomized sham-controlled trials. **Scientific reports**, 6, n. 1, p. 31724, 2016.
- ALJUHANI, W. S.; ALSHABI, Y. A.; ALANAZI, A. M.; ALOTHRI, M. A. *et al.* Risk of infection and conversion time from external to definitive fixation in open tibial fracture. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, 19, n. 1, p. 867, 2024.
- ARRUDA, L. R. P.; SILVA, M. A. d. C.; MALERBA, F. G.; FERNANDES, M. d. C. *et al.* Fraturas expostas: estudo epidemiológico e prospectivo. **Acta Ortopédica Brasileira**, 17, p. 326-330, 2009.
- ASSUNÇÃO, A. L. F. d.; OLIVEIRA, S. T. d. Clinical audit of primary treatment of open fractures: antibiotic treatment and tetanus prophylaxis. **Revista Brasileira de Ortopedia**, 55, n. 3, p. 284-292, 2020.
- BAHNEY, C. S.; ZONDERVAN, R. L.; ALLISON, P.; THEOLOGIS, A. *et al.* Cellular biology of fracture healing. **Journal of Orthopaedic Research®**, 37, n. 1, p. 35-50, 2019.
- BONEWALD, L. F. The amazing osteocyte. **Journal of bone and mineral research**, 26, n. 2, p. 229-238, 2011.
- BOWERS, K. M.; ANDERSON, D. E. Delayed union and nonunion: current concepts, prevention, and correction: a review. **Bioengineering**, 11, n. 6, p. 525, 2024.
- BOYCE, B. F.; XING, L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. **Archives of biochemistry and biophysics**, 473, n. 2, p. 139-146, 2008.
- BURR, D. B.; FORWOOD, M. R.; FYHRIE, D. P.; MARTIN, R. B. *et al.* Bone microdamage and skeletal fragility in osteoporotic and stress fractures. **Journal of Bone and Mineral Research**, 12, n. 1, p. 6-15, 1997.
- BUSSE, J. W.; BHANDARI, M.; EINHORN, T. A.; SCHEMITSCH, E. *et al.* Re-evaluation of low intensity pulsed ultrasound in treatment of tibial fractures (TRUST): randomized clinical trial. **bmj**, 355, 2016.
- COURT-BROWN, C. M.; BUGLER, K. E.; CLEMENT, N. D.; DUCKWORTH, A. D. *et al.* The epidemiology of open fractures in adults. A 15-year review. **Injury**, 43, n. 6, p. 891-897, 2012.

DARWICHE, S. E.; KACZMAREK, A.; SCHWARZENBERG, P.; INGLIS, B. J. *et al.* Combined electric and magnetic field therapy enhances bone repair and regeneration in two tibia osteotomy models in sheep. 2023a.

DARWICHE, S. E.; KACZMAREK, A.; SCHWARZENBERG, P.; INGLIS, B. J. *et al.* Combined electric and magnetic field therapy for bone repair and regeneration: an investigation in a 3-mm and an augmented 17-mm tibia osteotomy model in sheep. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, 18, n. 1, p. 454, 2023b.

EINHORN, T. A.; GERSTENFELD, L. C. Fracture healing: mechanisms and interventions. **Nature Reviews Rheumatology**, 11, n. 1, p. 45-54, 2015.

FALCAI, M. J.; VOLPON, J. B. Atividades de natação, salto ou vibração na prevenção da osteopenia secundário à hipoatividade no rato. 2014.

FERNANDES, M. d. C.; PERES, L. R.; QUEIROZ NETO, A. C. d.; LIMA NETO, J. Q. *et al.* Open fractures and the incidence of infection in the surgical debridement 6 hours after trauma. **Acta ortopedica brasileira**, 23, p. 38-42, 2015.

FRANKLE, M.; BORRELLI, J. The effects of testosterone propionate and methenolone enanthate on the healing of humeral osteotomies in the Wistar rat. **Journal of Investigative Surgery**, 3, n. 2, p. 93-113, 1990.

FROST, H. M. Bone's mechanostat: a 2003 update. **The Anatomical record part a: discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology: an official publication of the american association of anatomists**, 275, n. 2, p. 1081-1101, 2003.

GHIASI, M. S.; CHEN, J. E.; RODRIGUEZ, E. K.; VAZIRI, A. *et al.* Computational modeling of human bone fracture healing affected by different conditions of initial healing stage. **BMC musculoskeletal disorders**, 20, n. 1, p. 562, 2019.

GIGLIO, P. N.; CRISTANTE, A. F.; PÉCOR, J. R.; HELITO, C. P. *et al.* Avanços no tratamento das fraturas expostas. **Revista Brasileira de Ortopedia**, 50, p. 125-130, 2015.

GOMEZ-BRUTON, A.; GONZALEZ-AGUEERO, A.; GOMEZ-CABELLO, A.; CASAUS, J. A. *et al.* Is bone tissue really affected by swimming? A systematic review. **PloS one**, 8, n. 8, p. e70119, 2013.

GÜMBEL, D.; MATTHES, G.; NAPP, M.; LANGE, J. *et al.* Current management of open fractures: results from an online survey. **Archives of orthopaedic and trauma surgery**, 136, n. 12, p. 1663-1672, 2016.

GUNDUZ, F.; SENTURK, U.; KURU, O.; AKTEKIN, B. *et al.* The effect of one year swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats. **Physiological Research**, 53, n. 2, p. 171-176, 2004.

JOHNSON, D. J.; O'HARA, N. N.; REIDER, L.; GARY, J. L. *et al.* Risk factors for infection in severe open tibial shaft fractures. **Injury**, 55, n. 11, p. 111822, 2024.

- JOTA-BAPTISTA, C.; FAUSTINO-ROCHA, A. I.; FARDILHA, M.; FERREIRA, R. *et al.* Effects of testosterone and exercise training on bone microstructure of rats. **Veterinary world**, 15, n. 3, p. 627, 2022.
- KRISHNAKUMAR, G. S.; ROFFI, A.; REALE, D.; KON, E. *et al.* Clinical application of bone morphogenetic proteins for bone healing: a systematic review. **International orthopaedics**, 41, n. 6, p. 1073-1083, 2017.
- MICK, P.; FISCHER, C., 2022, **Delayed fracture healing**. Thieme Medical Publishers, Inc. 329-337.
- MILLS, L. A.; AITKEN, S. A.; SIMPSON, A. H. R. The risk of non-union per fracture: current myths and revised figures from a population of over 4 million adults. **Acta orthopaedica**, 88, n. 4, p. 434-439, 2017.
- MOREIRA, L. D. F.; FRONZA, F. C. A.; DOS SANTOS, R. N.; ZACH, P. L. *et al.* The benefits of a high-intensity aquatic exercise program (HydROS) for bone metabolism and bone mass of postmenopausal women. **Journal of bone and mineral metabolism**, 32, n. 4, p. 411-419, 2014.
- NIKANDER, R.; SIEVÄNEN, H.; HEINONEN, A.; DALY, R. M. *et al.* Targeted exercise against osteoporosis: a systematic review and meta-analysis for optimising bone strength throughout life. **BMC medicine**, 8, n. 1, p. 47, 2010.
- PENG, L.; FU, C.; XIONG, F.; ZHANG, Q. *et al.* Effectiveness of pulsed electromagnetic fields on bone healing: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Bioelectromagnetics**, 41, n. 5, p. 323-337, 2020.
- PFEIFFENBERGER, M.; DAMERAU, A.; LANG, A.; BUTTGEREIT, F. *et al.* Fracture healing research—shift towards in vitro modeling? **Biomedicines**, 9, n. 7, p. 748, 2021.
- ROBLING, A. G.; TURNER, C. H. Mechanical signaling for bone modeling and remodeling. **Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression**, 19, n. 4, 2009.
- RODRÍGUEZ-MERCHÁN, E. C. A review of recent developments in the molecular mechanisms of bone healing. **International Journal of Molecular Sciences**, 22, n. 2, p. 767, 2021.
- SCHINZEL, E.; KAST, S.; KOHL, M.; VON STENGEL, S. *et al.* The effect of aquatic exercise on bone mineral density in older adults. A systematic review and meta-analysis. **Frontiers in physiology**, 14, p. 1135663, 2023.
- SCHOFER, M. D.; BLOCK, J. E.; AIGNER, J.; SCHMELZ, A. Improved healing response in delayed unions of the tibia with low-intensity pulsed ultrasound: results of a randomized sham-controlled trial. **BMC musculoskeletal disorders**, 11, n. 1, p. 229, 2010.
- SEEMAN, E.; DELMAS, P. D. Bone quality—the material and structural basis of bone strength and fragility. **New England journal of medicine**, 354, n. 21, p. 2250-2261, 2006.
- SHEEN, J. R.; MABROUK, A.; GARLA, V. V. Fracture healing overview. 2019.

- SILVA, E. R.; DE OLIVEIRA, D. R. S.; PIMENTEL, F. L.; DUARTE, E. A. A. Fratura Exposta: classificação, complicações e manejo. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, 17, n. 6, p. e8692-e8692, 2025.
- SIMAS, V.; HING, W.; POPE, R.; CLIMSTEIN, M. Effects of water-based exercise on bone health of middle-aged and older adults: a systematic review and meta-analysis. **Open access journal of sports medicine**, p. 39-60, 2017.
- TARSOLY, E.; JÁNOSSY, J.; KOSZTURA, L. Effect of testosterone on fracture healing in hypophysectomized rats. **Acta Histochemica**, 65, n. 1, p. 25-33, 1979.
- TURNER, C. H.; ROBLING, A. G. Designing exercise regimens to increase bone strength. **Exercise and sport sciences reviews**, 31, n. 1, p. 45-50, 2003.
- VAINIONPÄÄ, A.; KORPELAINEN, R.; SIEVÄNEN, H.; VIHRIÄLÄ, E. *et al.* Effect of impact exercise and its intensity on bone geometry at weight-bearing tibia and femur. **Bone**, 40, n. 3, p. 604-611, 2007.
- VIEIRA JUNIOR, S. T.; AGUIAR JÚNIOR, A. P.; SOMBRA, L. P.; CASTRO, J. O. A. *et al.* Epidemiologia das fraturas diafisárias de tíbia em um hospital municipal de referência em traumatologia. 2017.
- VON RUEDEN, C.; WUNDER, J.; SCHIRDEWAHN, C.; AUGAT, P. *et al.* Initial treatment of severe soft-tissue injuries in closed and open fractures to prevent fracture-related infection. **Injury**, 55, p. 111935, 2024.
- WU, A.-M.; BISIGNANO, C.; JAMES, S. L.; ABADY, G. G. *et al.* Global, regional, and national burden of bone fractures in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet Healthy Longevity**, 2, n. 9, p. e580-e592, 2021.
- YANG, J.; ZHANG, X.; LIANG, W.; CHEN, G. *et al.* Efficacy of adjuvant treatment for fracture nonunion/delayed union: a network meta-analysis of randomized controlled trials. **BMC Musculoskeletal Disorders**, 23, n. 1, p. 481, 2022.
- ABD ELKADER, A. M.; LABIB, S.; TAHA, T. F.; ALTHOBAITI, F. *et al.* Phytogetic compounds from avocado (*Persea americana* L.) extracts; antioxidant activity, amylase inhibitory activity, therapeutic potential of type 2 diabetes. **Saudi journal of biological sciences**, 29, n. 3, p. 1428-1433, 2022.
- AL-AJALEIN, A. A.; IBRAHIM, N. I.; FAUZI, M. B.; MOKHTAR, S. A. *et al.* Evaluating the anti-osteoporotic potential of Mediterranean medicinal plants: a review of current evidence. **Pharmaceuticals**, 17, n. 10, p. 1341, 2024.
- AMADO, D. A. V.; HELMANN, G. A. B.; DETONI, A. M.; CARVALHO, S. L. C. d. *et al.* Antioxidant and antibacterial activity and preliminary toxicity analysis of four varieties of avocado (*Persea americana* Mill.). **Brazilian Journal of Food Technology**, 22, p. e2018044, 2019.

- ANAKA, O. N.; OZOLUA, R. I.; OKPO, S. O. Effect of the aqueous seed extract of *Persea americana* Mill (Lauraceae) on the blood pressure of Sprague-Dawley rats. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 3, n. 10, p. 485-490, 2009.
- ASHANDE, C.; LUFULUABO, G. L.; MUKIZA, J.; MPIANA, P. T. A mini-review on the Phytochemistry and Pharmacology of the medicinal plant species *Persea americana* Mill.(Lauraceae). **J. Nat. Prod. Res. Ethnopharmacol**, 6, p. 102-111, 2019.
- ASHTIANI, R. E.; HADI, A.; NOURI, F.; RAHIMI, S. *et al.* The role of current herbal extracts in bone regeneration through dental implants: in vitro/in vivo/clinical studies. **Archives of Medical Science: AMS**, 19, n. 6, p. 1653, 2022.
- ATANASOV, A. G.; ZOTCHEV, S. B.; DIRSCH, V. M.; SUPURAN, C. T. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature reviews Drug discovery**, 20, n. 3, p. 200-216, 2021.
- BARBALHO, S. M.; ARAÚJO, A. C.; DETREGIACHI, C. R. P.; BUCHAIM, D. V. *et al.* The potential role of medicinal plants in bone regeneration. **drugs (Figure 1)**, 7, p. 11, 2019.
- BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C. d. Manual de técnicas para histología normal e patológica. *In: Manual de técnicas para histología normal e patológica*, 2003. p. 331-331.
- BHATTOA, H. P.; VASIKARAN, S.; TRIFONIDI, I.; KAPOULA, G. *et al.* Update on the role of bone turnover markers in the diagnosis and management of osteoporosis: a consensus paper from The European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (ESCEO), International Osteoporosis Foundation (IOF), and International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). **Osteoporosis International**, p. 1-30, 2025.
- CHAACHOUAY, N.; ZIDANE, L. Plant-derived natural products: a source for drug discovery and development. **Drugs and Drug Candidates**, 3, n. 1, p. 184-207, 2024.
- CHEN, J.; ZHOU, R.; FENG, Y.; CHENG, L. Molecular mechanisms of exercise contributing to tissue regeneration. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, 7, n. 1, p. 383, 2022.
- CONTRERAS, M. D. M.; GARCÍA-VARGAS, M. C.; GÓMEZ-CRUZ, I.; CASTRO, E. Phytochemistry and Pharmacology of *Persea americana* Mill.(Family: Lauraceae): A Review. **Bioactives and Pharmacology of Medicinal Plants**, p. 347-356, 2022.
- DELACURE, M. D. Physiology of bone healing and bone grafts. **Otolaryngologic Clinics of North America**, 27, n. 5, p. 859-874, 1994.
- DEUSCHLE, V. C.; BRUSCO, I.; PIANA, M.; FACCIN, H. *et al.* *Persea americana* Mill. crude extract exhibits antinociceptive effect on UVB radiation-induced skin injury in mice. **Inflammopharmacology**, 27, n. 2, p. 323-338, 2019.
- DUDA, G. N.; GEISLER, S.; CHECA, S.; TSITSILONIS, S. *et al.* The decisive early phase of bone regeneration. **Nature Reviews Rheumatology**, 19, n. 2, p. 78-95, 2023.
- EFRIMA, B.; KHOURY, A. Diaphyseal Tibial Fractures. *In: Orthopaedics and Trauma: Current Concepts and Best Practices*: Springer, 2024. p. 545-555.

- FIGUEREDO, C. A. d.; GURGEL, I. G. D.; GURGEL JUNIOR, G. D. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, 24, p. 381-400, 2014.
- FREITAS, L.; BEZERRA, A.; RESENDE-COELHO, A.; MACIEL, L. *et al.* Effect of Eight Months of Swimming on Bone Quality of Different Anatomical Regions: A Study on Wistar Rat Models. **Calcified Tissue International**, 116, n. 1, p. 29, 2025.
- GHANEM, W.; EZZEDDINE, H.; SAAD, R.; KIWAN, E. *et al.* State of the Nonunion: A review of the latest literature. **Orthopedic Reviews**, 17, p. 129085, 2025.
- GIAZE, T. R.; MOHAMED, N.; SYED HASHIM, S. A.; SHUID, A. N. *et al.* Marantodes pumilum var. alata Enhances Fracture Healing Through Gene Regulation in a Postmenopausal Rat Model. **Pharmaceuticals**, 18, n. 5, p. 736, 2025.
- GIOVANNINI, P.; HOWES, M.-J. R.; EDWARDS, S. E. Medicinal plants used in the traditional management of diabetes and its sequelae in Central America: A review. **Journal of ethnopharmacology**, 184, p. 58-71, 2016.
- GUO, S.; HUANG, Y.; ZHANG, Y.; HUANG, H. *et al.* Impacts of exercise interventions on different diseases and organ functions in mice. **Journal of sport and health science**, 9, n. 1, p. 53-73, 2020.
- HAIRI, H. A.; JUSOH, R. R.; SADIKAN, M. Z.; HASAN, W. N. W. *et al.* Exploring the potential of moringa oleifera in managing bone loss: insights from preclinical studies. **International Journal of Medical Sciences**, 22, n. 4, p. 819, 2025.
- HARRI, M.; KUUSELA, P. Is swimming exercise or cold exposure for rats? **Acta Physiologica Scandinavica**, 126, n. 2, p. 189-197, 1986.
- ISH-AM, G.; BARRIENTOS-PRIEGO, F.; CASTAÑEDA-VILDOZOLA, A.; GAZIT, S. Avocado (*Persea americana* Mill.) pollinators in its region of origin. **Revista Chapingo Serie Horticultura**, 5, p. 137-143, 1999.
- JUMA, I. Nature's pharmacy: Avocado (*Persea americana* Mill.) leaves as a novel therapeutic agent for diabetes, hypertension, high cholesterol, gastric ulcers, kidney stones, and gout. **Int Res J Biol Sci**, 13, n. 3, p. 27-32, 2024.
- JUN, J.-Y.; KIM, J.-H.; KIM, M.; HONG, S. *et al.* Persicae semen promotes bone union in rat fractures by stimulating osteoblastogenesis through BMP-2 and Wnt signaling. **International Journal of Molecular Sciences**, 24, n. 8, p. 7388, 2023.
- JUNG, K.; KIM, I.-H.; HAN, D. Effect of medicinal plant extracts on forced swimming capacity in mice. **Journal of ethnopharmacology**, 93, n. 1, p. 75-81, 2004.
- KALFAS, I. H. Principles of bone healing. **Neurosurgical focus**, 10, n. 4, p. 1-4, 2001.
- KALFF, K.-M.; EL MOUEDDEN, M.; VAN EGMOND, J.; VEENING, J. *et al.* Pre-treatment with capsaicin in a rat osteoarthritis model reduces the symptoms of pain and bone damage induced by monosodium iodoacetate. **European journal of pharmacology**, 641, n. 2-3, p. 108-113, 2010.

- KANG, Y.-S.; KIM, S.-H.; KIM, J.-C. Effects of swimming exercise on high-fat diet-induced low bone mineral density and trabecular bone microstructure in rats. **Journal of exercise nutrition & biochemistry**, 21, n. 2, p. 48, 2017.
- KUMARI, S.; SINGH, M.; NUPUR; JAIN, S. *et al.* A review on therapeutic mechanism of medicinal plants against osteoporosis: effects of phytoconstituents. **Molecular Biology Reports**, 50, n. 11, p. 9453-9468, 2023.
- LIMA, N. d. F. M. Mecanismo de ação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória da *Persea americana*. 2018.
- LUNA, L. G. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. In: **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**, 1968. p. xii, 258-xii, 258.
- MACENA, J. F. F.; SOUZA, J. C. A. d.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S. Physico-chemical, morphological and technological properties of the avocado (*Persea americana* Mill. cv. Hass) seed starch. **Ciência e Agrotecnologia**, 44, p. e001420, 2020.
- MAHMOUD, A. H.; SAMY, M. N.; WANAS, A. S.; KAMEL, M. S. Gas chromatography-mass spectrometry profiling and analgesic, anti-inflammatory, antipyretic, and antihyperglycemic potentials of *Persea americana*. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, 24, n. 5, p. 641, 2021.
- MANCHADO-GOBATTO, F. d. B.; GOBATTO, C. A.; RIBEIRO, C.; MOTA, C. S. d. A. *et al.* Anaerobic threshold in running and swimming rats: Determination using two mathematical methods. 2010.
- MARANGON, L.; GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A.; KOKUBUN, E. UTILIZATION OF AN HYPERBOLIC MODEL FOR THE DETERMINATION OF THE CRITICAL LOAD IN SWIMMING RATS. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, 34, n. 5, p. S149, 2002.
- MELO, D. O. d.; CASTRO, L. L. C. d. Pharmacist's contribution to the promotion of access and rational use of essential medicines in SUS. **Ciencia & saude coletiva**, 22, p. 235-244, 2017.
- MIRANDA, L. L.; GUIMARAES-LOPES, V. d. P.; ALTOE, L. S.; SARANDY, M. M. *et al.* Plant extracts in the bone repair process: A systematic review. **Mediators of Inflammation**, 2019, n. 1, p. 1296153, 2019.
- MOKHELE, S.; ABOYADE, O.; KATERERE, D. R. Obesity Prevention Effects of Avocado (*Persea americana*) Seed Powder in High-Fat Diet-Induced Obesity in Rats. **Nutraceuticals**, 4, n. 3, p. 417-429, 2024.
- MORAIS, S. V. d.; MENDONÇA, P. G.; VASCONCELOS, C. C.; LOPES, P. L. A. *et al.* Cuminaldehyde effects in a MIA-induced experimental model osteoarthritis in rat knees. **Metabolites**, 13, n. 3, p. 397, 2023.
- MURRAY, C. J.; ARAVKIN, A. Y.; ZHENG, P.; ABBAFATI, C. *et al.* Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The lancet**, 396, n. 10258, p. 1223-1249, 2020.

- OGASAWARA, A.; NAKAJIMA, A.; NAKAJIMA, F.; GOTO, K.-i. *et al.* Molecular basis for affected cartilage formation and bone union in fracture healing of the streptozotocin-induced diabetic rat. **Bone**, 43, n. 5, p. 832-839, 2008.
- ONYEDIKACHI, U. B.; NKWOCHA, C. C.; EJIOFOR, E.; NNANNA, C. C. Investigation of chemical constituents, antioxidant, anti-inflammatory and nutritional properties of oil of *Persea americana* (Avocado) seeds. **Food Chemistry Advances**, 5, p. 100770, 2024.
- OVALLE MARÍN, A.; PARRA RUIZ, C.; RIVAS ZAMBRANO, F.; ORELLANA, J. *et al.* Characterization of *Persea americana* Mill. peels and leaves extracts and analysis of its potential in vitro anti-inflammatory properties. 2020.
- OZOLUA, R.; ANAKA, O.; OKPO, S.; IDOGUN, S. Acute and sub-acute toxicological assessment of the aqueous seed extract of *Persea americana* Mill (Lauraceae) in rats. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, 6, n. 4, 2009.
- PAPE, H.-C.; MARCUCIO, R.; HUMPHREY, C.; COLNOT, C. *et al.* Trauma-induced inflammation and fracture healing. **Journal of orthopaedic trauma**, 24, n. 9, p. 522-525, 2010.
- PENG, L. H.; KO, C. H.; SIU, S. W.; KOON, C. M. *et al.* In vitro & in vivo assessment of a herbal formula used topically for bone fracture treatment. **Journal of Ethnopharmacology**, 131, n. 2, p. 282-289, 2010.
- PORTIER, H.; BENAÏTREAU, D.; PALLU, S. Does physical exercise always improve bone quality in rats? **Life**, 10, n. 10, p. 217, 2020.
- RAMESH, P.; JAGADEESAN, R.; SEKARAN, S.; DHANASEKARAN, A. *et al.* Flavonoids: classification, function, and molecular mechanisms involved in bone remodelling. **Frontiers in Endocrinology**, 12, p. 779638, 2021.
- ROSA, Y.; RIYANTO, R.; SUSANTI, G.; SETIAWANSYAH, A. *et al.* *Persea americana* leaf extract promotes wound healing by inhibiting NF-KB1. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, 15, n. 3, p. 160-173, 2025.
- SANTANA, L. M.; ASSIS, S. S. d.; ARAUJO-JORGE, T. C. d. Práticas integrativas e complementares: institucionalização, perspectivas e desafios para a formação. **Trabalho, Educação e Saúde**, 23, p. e02900277, 2025.
- SAÚDE, M. d. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). : Ministério da Saude Brazil 2009.
- SCHÖTT, E.; BERGE, O.-G.; ÄNGEBY-MÖLLER, K.; HAMMARSTRÖM, G. *et al.* Weight bearing as an objective measure of arthritic pain in the rat. **Journal of pharmacological and toxicological methods**, 31, n. 2, p. 79-83, 1994.
- SCORA, R. W.; BERGH, B., 1989, **The origins and taxonomy of avocado (*Persea americana*) Mill. Lauraceae.** 387-394.

- SHARIFI, S.; MOGHADDAM, F. A.; ABEDI, A.; MALEKI DIZAJ, S. *et al.* Phytochemicals impact on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. **BioFactors**, 46, n. 6, p. 874-893, 2020.
- SHARMA, D. Traditional Ethnomedicinal Plants: A Rich Source of Bioactive Molecules Used in Drug Discovery and Development. *In: Ethnomedicinal Plants for Drug Discovery: Current Developments*: Springer, 2024. p. 161-183.
- SHEN, C.-L.; CHYU, M.-C. Tea flavonoids for bone health: from animals to humans. **Journal of Investigative Medicine**, 64, n. 7, p. 1151-1157, 2016.
- SIMON, A. M.; MANIGRASSO, M. B.; O'CONNOR, J. P. Cyclo-oxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. **Journal of bone and mineral research**, 17, n. 6, p. 963-976, 2002.
- TALEUZZAMAN, M.; ANUPAM; VERMA, M.; BHATIA, M. *et al.* Role of Food Bioactives in Promoting Bone Health. *In: Food Bioactives and Nutraceuticals: Dietary Medicine for Human Health and Well-Beings*: Springer, 2025. p. 329-342.
- TAN, A. C. W.; RAYNER, A.; ROBERTSON, A. Tibial shaft fractures: current concepts. **Orthopaedics and Trauma**, 2025.
- URABE, K.; KIM, H. J.; SARKAR, G.; BRONK, J. T. *et al.* Determination of the complete cDNA sequence of rat type II collagen and evaluation of distinct expression patterns of types IIA and IIB procollagen mRNAs during fracture repair in rats. **Journal of orthopaedic science**, 8, n. 4, p. 585-590, 2003.
- VILAS-BOAS, A. A.; PINTADO, M.; OLIVEIRA, A. L. Natural bioactive compounds from food waste: Toxicity and safety concerns. **Foods**, 10, n. 7, p. 1564, 2021.
- VOLPON, J. B.; SILVA, A. V.; FALCAI, M. J.; LOUZADA, M. J. Q. *et al.* The osteogenic effects of swimming on bone mass, strength, and microarchitecture in rats with unloading-induced bone loss. **Microscopy research and technique**, 78, n. 9, p. 784-791, 2015.
- WEAVER, C. M.; ALEKEL, D. L.; WARD, W. E.; RONIS, M. J. Flavonoid intake and bone health. **Journal of nutrition in gerontology and geriatrics**, 31, n. 3, p. 239-253, 2012.
- WELLINGS, E. P.; MORAN, S. L.; TANDE, A. J.; HIDDEN, K. A. Approach to tibial shaft nonunions: diagnosis and management. **JAAOS-Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, 32, n. 6, p. 237-246, 2024.
- YAHIA, E.; WOOLF, A. Avocado (*Persea americana* Mill.). *In: Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits*: Elsevier, 2011. p. 125-186e.
- YASIR, M.; DAS, S.; KHARYA, M. The phytochemical and pharmacological profile of *Persea americana* Mill. **Pharmacognosy reviews**, 4, n. 7, p. 77, 2010.
- ZHANG, J.; SHEN, W.; LIU, F.; HE, H. *et al.* Fracture-healing effects of Rhizoma Musae ethanolic extract: An integrated study using UHPLC-Q-Exactive-MS/MS, network pharmacology, and molecular docking. **Plos one**, 20, n. 1, p. e0313743, 2025.

ZHANG, Y.; WANG, Q.; PAN, H.; XU, H. *et al.* Panicum miliaceum L. and bone healing properties in rat model of femur fracture by activating phosphate stimulating macrophages via BMP2 and RANK signaling pathway. **Pharmacognosy Magazine**, 20, n. 1, p. 16-29, 2024.

Informações suplementares

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA - CCBS HERBÁRIO DO
MARANHÃO - MAR

São Luís, 25 de Fevereiro de 2022.

CONFIRMAÇÃO DE IDENTIFICAÇÃO

Segue abaixo a confirmação da identificação realizada. Desde já agradecemos o envio do material e informamos que o mesmo estará, em breve, devidamente catalogado no acervo do Herbário MAR.

Nº tombo MAR	Coletor (número)	Família	Espécie
12502	MENDONÇA, P. G. (01)	Lauraceae	<i>Persea americana</i> Mill.

Atenciosamente,

Assinatura manuscrita de Eduardo B. de Almeida Jr.

Prof. Dr. Eduardo B. de Almeida Jr.

Curador do Herbário MAR



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO
GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A03157B

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada noSisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro	A03157B
Usuário	Priscylla Gouveia Mendonça
CPF/CNPJ	98427431368
Objetivo do Acesso	Patrimônio Genético/CTA
Finalidade do Acesso	Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico

Espécie

Persea americana
 Já existe Pesquisa na ÁREA
 Fonte do CTA
 CTA de origem não identificável

Título da atividade Estudo ação *Persea americana* Mill. Na consolidação de fratura
 Equipe
 Priscylla Gouveia Mendonça UFMA
 Parceiras Nacionais
 06.279.103/0001-19/FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
 Resultados Obtidos
 Outros resultados

Data do Cadastro 14/03/2022 11:50:02

Situação do Cadastro: Concluído

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 11:52 de 14/03/2022.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CIAEP: 02.0341.2019 UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO



CERTIFICADO

(09/2022)

Certificamos que a proposta intitulada: "**Avaliação da ação do extrato das folhas de *Persea americana* Mill. na modulação dos componentes da matriz extracelular e na regeneração de fratura óssea**" Processo n. 23115.000750/2022-11, sob a responsabilidade da **Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 19 de janeiro de 2022.

We certify that the proposal: "**Evaluation of the action of *Persea americana* Mill. leaves extract in the modulation of extracellular matrix components and in bone fracture regeneration**", Process n. 23115.000750/2022-11, under the responsibility of **Prof. Dr. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes**, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11,794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of January 19, 2022.

PROPOSTA

Finalidade: Pesquisa **Área:** Ciências da Saúde

Vigência: 03/02/2022 a 31/01/2025

ANIMAIS

Origem: Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão

Espécie: *Rattus norvegicus* var. Wistar **Sexo:** Machos **Idade:** 60 dias **Peso:** 250g

AMOSTRA
30

Local do experimento: Biotério Setorial da Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão – CCBS/UFMA.

São Luís, 02 de fevereiro de 2022

Bruno Araújo Serra Pinto



Documento assinado digitalmente
Bruno Araújo Serra Pinto
Data: 02/02/2022 20:25:07-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

ANEXOS: Artigos publicados no período de vigência do Doutorado



Article

Cuminaldehyde Effects in a MIA-Induced Experimental Model Osteoarthritis in Rat Knees

Sebastião Vieira de Moraes ^{1,*}, Priscylla Gouveia Mendonça ¹, Cleydienne Costa Vasconcelos ¹,
 Paloma Larissa Arruda Lopes ¹, João Batista Santos Garcia ¹, Natalia Tabosa Machado Calzetta ²,
 Thyago Moreira de Queiroz ³, Sílvia Tereza de Jesus Rodrigues Moreira Lima ¹, Gyl Eanes Barros Silva ^{1,4},
 Alberto Jorge Oliveira Lopes ⁵, Maria do Socorro de Sousa Cartágenes ^{1,*} and Gerson Ricardo de Souza Domingues ⁶

¹ Biological and Health Sciences Center, Federal University of Maranhão, Av. dos Portugueses 1866, São Luís 65085-780, MA, Brazil

² Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235—Cidade Universitária, Recife 50670-903, PE, Brazil

³ Laboratory of Nutrition, Physical Activity and Phenotypic Plasticity, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235—Cidade Universitária, Recife 50670-903, PE, Brazil

⁴ Hospital Universitário Presidente Dutra, HUPD, Federal University of Maranhão, R. Baitão de Itapari, 227—Centro, São Luís 65020-070, MA, Brazil

⁵ Federal Institute of Science Education and Technology of Maranhão—Campus Monte Castelo, Chemistry Postgraduate Program, Av. Getúlio Vargas, 04—Monte Castelo, São Luís 65030-605, MA, Brazil

⁶ State University of Rio de Janeiro School of Medicine, Av. Prof. Manoel de Abreu, 444, Vila Isabel—Rio de Janeiro 20550-370, RJ, Brazil

* Correspondence: svcartagenes@gmail.com (S.V.d.M.); scartagenes@gmail.com (M.d.S.d.S.C.)



Citation: Moraes, S.V.; Mendonça, P.; Vasconcelos, C.C.; Lopes, P.L.A.; Garcia, J.B.S.; Calzetta, N.T.M.; Queiroz, T.M.; Lima, S.T.J.; Silva, G.E.B.; Lopes, A.J.O.; et al. Cuminaldehyde Effects in a MIA-Induced Experimental Model Osteoarthritis in Rat Knees. *Metabolites* **2023**, *13*, 397. <https://doi.org/10.3390/metabo13030397>

Academic Editor: Daniel Górecki

Received: 15 February 2023

Revised: 1 March 2023

Accepted: 7 March 2023

Published: 8 March 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Osteoarthritis (OA) is a chronic degenerative disease that has a significant global impact. It is associated with aging and characterized by widespread joint destruction. Cuminaldehyde is a biologically active component of essential oils that has shown promise in the treatment of nociceptive and inflammatory diseases. This study investigated the effects of cuminaldehyde on an experimental model of osteoarthritis induced in rat knees. Cuminaldehyde was found to be as effective as indomethacin in reducing pain in all evaluated tests, including forced walking, functional disability of weight distribution on the legs, and spontaneous pain in animals with osteoarthritis. The knees of animals treated with cuminaldehyde had significantly higher radiographic and histopathological scores than those of animals that did not receive the treatment. Cuminaldehyde also modulated the production of pro-inflammatory cytokines. *In vitro* assays showed that cuminaldehyde preferentially inhibits COX-2 enzyme activity. *In silico* studies demonstrated that cuminaldehyde has satisfactory energy affinity parameters with opioid receptors and COX-2. These findings suggest that cuminaldehyde's anti-inflammatory activity is multifactorial, acting through multiple pathways. Its nociceptive activity occurs via central and peripheral mechanisms. Cuminaldehyde modulates the immune response of the inflammatory process and may be considered a leading compound for the development of new anti-inflammatory and analgesic drugs.

Keywords: new drugs agents; natural products; medicinal chemistry; biological activity

1. Introduction

Osteoarthritis (OA) is the most common joint disease worldwide, affecting about 10% of men and 18% of women over the age of 60. Due to its progressive nature, it is irreversible in most cases, resulting in severe and recurrent inflammatory and painful symptoms, with a reduction or total loss of functional capacity of the affected joint. OA also leads to loss of productivity due to time off work and produces high financial costs for health services, mainly related to pain control and arthroplasties. These costs can range between 10% and 25% of the gross domestic product [1–5].

Original Article

The importance of marginal sclerosis in the recovery of mechanical strength after curettage of bone lesions

Francisco de AS Balma Filho¹, Priscylla G Mendonça², Giuliano F Morganti¹, Alice C Silva-Sousa³, Leonardo R Battaglion⁴, Ramon SYRC Silva⁵, Maria do S de S Cartágenes², Edgard E Engels²

¹Wibeirão Preto Medical School, University of São Paulo (FMRP-USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil; ²Federal University of Maranhão (UFMA), Maranhão, Brazil; ³Wibeirão Preto Dental School, University of São Paulo (FOP-USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil; ⁴University of Brasília (UNB), Brasília, Brazil

Received January 22, 2025; Accepted July 5, 2025; Epub July 25, 2025; Published July 30, 2025

Abstract: Objectives: This study investigated the role of marginal sclerosis in the recovery of mechanical strength following curettage and grafting of osseous lesions. To date, it remains unclear as to whether marginal sclerosis fully or partially restores the mechanical resistance of the affected bone to compressive, flexural, and torsional loads. Methodology: Adult male *Rattus norvegicus* rats (Wistar albino strain) aged approximately 90 days were used. Bone defects were created in the tibiae, and the animals were subsequently euthanized at different time points for outcome analysis. Various assessment methods were employed, including radiography, histology, immunohistochemistry, microcomputed tomography (micro-CT), mechanical bending and torsion tests. Results: This study revealed a progressive thickening of the osseous window borders before complete closure and a significant correlation between the intensity of marginal sclerosis that was radiographically observed, the rate of bone formation on histology, and the newly formed bone volume on micro-CT. Radiographs revealed thin marginal sclerosis at seven days post surgery, with a significant increase in sclerosis thickness being observed at ten days, whereas micro-CT revealed proportions of new bone formation of 44.80% at seven days and 105.70% at ten days. Additionally, at seven days, the mechanical resistance of the operated bones to torsion and bending was comparable to that of the non-operated bones, thereby indicating a complete recovery of mechanical strength. Conclusion: This study revealed that the appearance of marginal sclerosis around bone defects (as identified by radiography) is associated with the complete recovery of mechanical strength in rat tibiae under both bending and torsion.

Keywords: Rat, bone sclerosis, radiography, mechanical test, microtomography

Introduction

The loss of mechanical stability in bone structures occurs in cases of macroscopic alterations in bone anatomy, often resulting from fractures or bone defects; moreover, the successful healing of a fracture is referred to as consolidation. During this process, the bone gradually regains its stiffness and strength as mineralization occurs, thereby leading to a stable and pain-free fracture site. Radiographic examinations have revealed the presence of trabecular or cortical bone, which crosses the fracture site [1, 2].

In the case of bone defects, such as those caused by surgical biopsies, bone graft harvesting, benign bone tumor curettage, and debridement of osteomyelitis, the initial natural

response of the bone is not to completely fill the defect and restore its original conformation. Instead, the bone tends to elicit thickening of the walls of the defect, which is a phenomenon known as marginal sclerosis. This thickening has been identified in plain radiographs and appears to be associated with the recovery of the bone's mechanical strength. Therefore, the successful healing of a bone defect initially depends on the remodeling of the bone window.

Bone modeling and remodeling are fundamental processes for reducing the risk of fractures. Remodeling involves the renewal of bone tissue by removing old bone and forming new bone, thereby aiming to maintain the mechanical properties of the bone. In contrast, modeling refers to the addition or removal of bone tissue in

New perspectives on the use of ambroxol hydrochloride: a recent bibliometric analysis in experimental models

Novas perspectivas de uso do cloridrato de ambroxol: uma recente análise bibliométrica em modelos experimentais

Nuevas perspectivas para el uso del clorhidrato de ambroxol: um reciente análisis bibliométrico en modelos experimentales

DOI: 10.54033/cadpedv22n7-222

Originals received: 4/21/2025

Acceptance for publication: 5/14/2025

Gustavo Medeiros Frota

PhD candidate in Biotechnology

Institution: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Address: São Luís, Maranhão, Brazil

E-mail: gustavo.frota@discente.ufma.br

Tamira Mendes Cunha

Graduated in Medicine

Institution: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Address: São Luís, Maranhão, Brazil

E-mail: tamirael@hotmail.com

Amanda Tissore Forwille Reis

Graduated in Pharmacy

Institution: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Address: São Luís, Maranhão, Brazil

E-mail: amanda.forwille@discente.ufma.br

Rafael França Lima

Master's candidate in Adult Health

Institution: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Address: São Luís, Maranhão, Brazil

E-mail: rafael.franca@discente.ufma.br

Priscylla Gouveia Mendonça

PhD candidate in Health Sciences

Institution: Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Address: São Luís, Maranhão, Brazil

E-mail: priscylla.gouveia@discente.ufma.br

***Lonomia obliqua* (Caterpillar)–Related Kidney Failure: A Rare Histopathology Register**

Marcos Adriano Garcia Campos, Bruno Rafael Santos Brito, Priscylla Gouveia Mendonça, Natalino Salgado Filho, and Gyl Eanes Barros Silva



A 50-year-old man with an significant medical history presented to the emergency department 1 week after envenomation by multiple caterpillars (*Lonomia obliqua*) (Fig 1). A week prior, immediately following envenomation, he developed a papular, pruritic eruption, followed several hours later by fatigue, abdominal pain, and bruising. He subsequently developed anuria. On presentation, he had melena and epistaxis. The laboratory values showed serum creatinine of 11.5 mg/dL and blood urea nitrogen of 181 mg/dL, and hemodialysis was initiated. Antivenom serum was administered directly thereafter. He remained dialysis-dependent 1 month after the lonomia accident; accordingly, a kidney biopsy was performed. This revealed glomeruli with marked ischemic changes and global glomerulosclerosis, massive fibrosis, severe acute tubular necrosis, acute interstitial nephritis, hyperplastic arteriosclerosis, hematoxylin deposition on Papanicolaou staining, and myoglobin deposition on immunohistochemistry (Figs 2 and 3). Abdominal computed tomography showed kidneys with regular dimensions and contours. One year later, he remains dialysis-dependent.

Beyond cutaneous dermatitis, pain, and swelling after contact with the caterpillar bristles, blood dyscrasias and hemorrhagic manifestations may appear, leading to mucosal or potentially fatal intracavitary bleeding.¹ Acute kidney injury (AKI) is present in 12% of cases.² The venom components interact with the coagulation

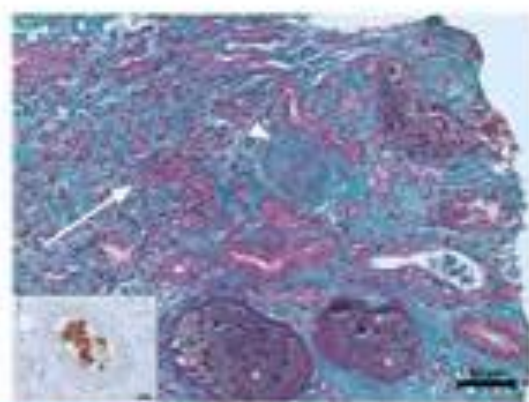


Figure 2. Kidney biopsy performed because of kidney failure induced by a lonomia accident reveals (A) multicompartmental involvement with intense fibrosis in green on Masson's trichrome staining, acute tubular necrosis (white asterisk), inflammatory infiltrate (white arrow), and hyperplastic arteriosclerosis (white arrowhead). (B) Immunohistochemistry shows intratubular myoglobin deposits in the kidney tubule.

cascade, fibrinolysis, and platelet hypoaggregation, leading to a consumption coagulopathy. Because of the risk of bleeding, conducting an early kidney biopsy in human patients is difficult; this case is a unique and highly illustrative kidney biopsy related to lonomia accident-induced kidney failure.³ In an animal model, lonomia accident-induced AKI is caused by hypotension, fibrin deposition, kidney hypoperfusion, and tubular necrosis, leading to loss of kidney function. Intense inflammation, tissue injury, heme-induced oxidative stress, coagulation, and complement system activation contribute to the kidney damage.⁴

Caterpillars are key constituents of many terrestrial ecosystems. With deforestation, they are invading urban areas. Data from the Brazilian Ministry of Health show 4,211 cases of lonomia accidents in the last 5 years,⁵ but the number of cases is probably underreported.

ARTICLE INFORMATION

Author: Full Names and Academic Degrees: Marcos Adriano Garcia Campos, MD, Bruno Rafael Santos Brito, MD, Priscylla Gouveia Mendonça, MSc, Natalino Salgado Filho, MD, PhD, and Gyl Eanes Barros Silva, MD, PhD



Figure 1. Group of *Lonomia obliqua* found in the same region where the patient had the accident. Photo taken by the authors.

Comprovante de submissão 01- Revista Pharmaceutical Biology

25/09/2025, 17:13

Author Dashboard



Taylor & Francis Group
an **informa** business



Hi, Priscylla ▾

My Articles

SUBMIT NEW MANUSCRIPT

	SUBMISSION	TITLE	JOURNAL	STATUS	CHARGES
	ON 2572768 13	Effects of Persea...	Pharmaceut ical Biology	Manuscript Submitted	Quote Accepted

1 SUBMISSION ▴

25 September
2025 **Submission Created**

25 September
2025 **Submission Incomplete**

25 September
2025 **Manuscript Submitted**

CONTACT

With Journal
Administrator

Comprovante de submissão 02- Revista American Journal of translational Research

Home (intranet.php)
Account Update (user_account_update.php)
Submit Manuscript (app.php)
My Manuscripts (app_customer_order_own.php) 1
Sign Out (user_logout.php)

My Manuscripts

ID	Tracking ID	Status	Payment Status	Time Added	Journal	Contact Name	Email	Title
168998	AJTR0168998 (app_customer_order_review.php?ID=168998)	Under Review	⚠ Unpaid	2025-09-24 13:51:09	American Journal of Translational Research	Priscylla Mendonça	priscylla.gouveia@discente.ufma.br (mailto:priscylla.gouveia@discente.ufma.br)	THE EFFECTS OF PERSEA AMERICANA MILL. LEAF EXTRACT ON BONE FRACTURE HEALING IN RATS THROUGH CLINICAL EVALUATION