

Artigo Original

Autores:

Caroline da Silva Alves Palheta^{1,2}
 Wesley Miguel Pereira da Silva²
 Rodrigo Paracampo Couteiro²
 Paulo Ricardo Garcia da Silva²
 Raíra Martins Trindade Souza²
 Daniela Vale Dias²
 Bianca Caroline do Nascimento Alho²
 Andressa Miléo Ferraioli Silva²
 Nara Macedo Botelho³
 Francisca Regina Oliveira Carneiro⁴

- ¹ Ambulatório de Cosmiatria do Serviço de Dermatologia da Universidade do Estado do Pará (UEPA) – Belém (PA), Brasil.
- ² Laboratório de Cirurgia Experimental (LCE) da Universidade Estadual do Pará (Ueapa) – Belém (PA), Brasil.
- ³ Disciplina do Mestrado em Cirurgia e Pesquisa Experimental da Universidade do Pará (Ueapa) – Belém (PA), Brasil.
- ⁴ Serviço de Dermatologia da Univerdade do Estado do Pará (UEPA) – Belém (PA), Brasil.

Correspondência:

Caroline da Silva Alves Palheta
 Avenida Serzedelo Correia, nº 805, sala 1304
 Nazaré
 6633-770 Belém, PA
 Brasil
E-mail: dracarolinealves@yahoo.com.br

Data de recebimento: 09/10/2017

Data de aprovação: 09/12/2017

Trabalho realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade do Estado do Pará (Ueapa) - Belém(PA), Brasil.

Suporte financeiro: Nenhum.

Conflito de interesse: Nenhum.

Efeito do óleo de copaíba associado ao microagulhamento na pele de ratos: um estudo comparativo

Effect of copaiba oil associated with microneedling on the skin of rats: a comparative study

DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.2017941102>

RESUMO

Introdução: O microagulhamento é técnica cuja finalidade é o estímulo do colágeno, bem como de *drug delivery*. O óleo de copaíba apresenta efeitos cicatrizantes e anti-inflamatórios que já foram demonstrados em vários modelos animais.

Objetivo: Avaliar o efeito do óleo de copaíba associado ao microagulhamento na pele de ratos.

Métodos: Foram utilizados 30 ratos distribuídos em seis grupos com cinco animais cada, submetidos a: microagulhamento isolado, microagulhamento associado a óleo mineral e microagulhamento associado a óleo de copaíba. Foram realizadas biópsias em todos os animais 14 dias e 30 dias após. Os parâmetros avaliados foram presença de colágeno, fibroblastos e vasos, classificada em ausente (0), leve (1), moderada (2) ou intensa (3).

Resultados: Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação ao colágeno com 14 ($p = 0,0091$) e 30 dias ($p = 0,0357$) e fibroblastos com 30 dias ($p = 0,0357$). O grupo que utilizou microagulhamento e óleo de copaíba, apresentou, após 30 dias, maior produção de colágeno e de fibroblastos.

Conclusões: o óleo de copaíba associado ao microagulhamento foi capaz de estimular maior produção de colágeno e de fibroblastos na pele de ratos.

Palavras-chave: dermatologia; plantas medicinais; cicatrização; colágeno

ABSTRACT

Introduction: Microneedling is a technique aiming at stimulating the production of collagen as well as serving as *drug delivery*. Copaiba oil has healing and anti-inflammatory effects that have already been demonstrated in several animal models.

Objective: To evaluate the effect of copaiba oil associated with microneedle removal on the skin of rats.

Methods: Thirty rats were distributed in six groups of five animals each, subsequently undergoing: isolated microneedling, microneedling associated to mineral oil, and microneedling associated with copaiba oil. Biopsies were carried out in all animals at 14 and 30 days after the procedure. The parameters evaluated were: presence of collagen, fibroblasts and vessels, according to the following ratings: absence (0), mild (1), moderated (2) or intense (3).

Results: There was a statistically significant difference between the groups regarding the production of collagen at 14 days ($p = 0.0091$) and 30 days ($p = 0.0357$); and fibroblasts at 30 days ($p = 0.0357$). the group that used microneedling and copaiba oil, presented, after 30 days, a greater production of collagen and fibroblasts.

Conclusions: Copaiba oil associated with microneedling was capable of stimulating a greater production of collagen and fibroblasts in the skin of rats.

Keywords: dermatology; plants medicinal; wound healing; collagen

INTRODUÇÃO

As técnicas ablativas tais como *peelings* químicos e cirúrgicos têm sido empregadas para o tratamento de cicatrizes; observa-se, contudo, atualmente uma tendência à indicação de procedimentos menos invasivos, isolados ou associados, objetivando redução do risco de complicações e retorno mais precoce às atividades laborais, levando em conta a relação custo/benefício.^{1,2} Nesse contexto, novas técnicas para o tratamento de cicatrizes, como o microagulhamento, que pode estimular produção de colágeno sem causar total retirada do epitélio, tem ganhado destaque.^{3,4}

O microagulhamento realizado com o aparelho adequado alcançou popularidade como uma técnica capaz de tratar cicatrizes, em particular as sequelas de acne.⁴ Esse aparelho surgiu a partir de conceitos descritos em 1995 por Orentreich e Orentreich, que relataram o efeito restaurador da subcisão ou agulhamento dérmico em cicatrizes.⁵ Em 1997, Camirand e Doucet utilizaram uma “pistola de tatuagem” para o tratamento de cicatrizes.⁶ Só em 2005, entretanto, Desmond Fernandes desenvolveu a terapia de indução percutânea de colágeno (IPC) com o aparelho de microagulhamento.⁷

Cada vez mais têm-se utilizado drogas ou ativos associados ao microagulhamento (*drug delivery*), as quais atuam na pele por meio dos canais gerados pelo trauma tecidual produzido pelas microagulhas, com o intuito de tratar diferentes tipos de queixas dermatológicas, tais como melasma, melanose periorbital, cicatrizes faciais atróficas e outras manifestações.⁸⁻¹³ Entre as substâncias mais utilizadas, está a vitamina C, por sua ação antioxidante.³ Na literatura, no entanto, não se tem relato de nenhum estudo que utilize o óleo de copaíba como *drug delivery*, associado à técnica de microagulhamento.

O óleo de copaíba, extraído de árvores do gênero *Copaifera*, família *Leguminosae-Caesalpinioideae*, se destaca por sua importância na medicina natural brasileira. Seus efeitos cicatrizantes e anti-inflamatórios já foram demonstrados em vários modelos animais. Um desses estudos observou aumento da crosta da lesão, do tecido de granulação e do número de vasos sanguíneos ao estudar os aspectos morfológicos e morfométricos do processo cicatricial de feridas cutâneas abertas em ratos, tratados com óleo da *Copaifera reticulata*.^{14,15}

Apesar de apresentar, entre tantas atividades já comprovadas cientificamente, poder anti-inflamatório, bactericida, antitumoral e cicatrizante,¹⁵⁻¹⁸ o uso do óleo de copaíba associado à técnica de microagulhamento com avaliação dos seus efeitos sobre a pele de rato ainda não foi estudado.

Dessa forma, objetiva-se realizar a avaliação histopatológica do efeito do óleo de copaíba associado ao microagulhamento em pele de rato da espécie *Rattus norvegicus*.

MÉTODOS

Tipo de estudo e seleção da amostra

O estudo caracterizou-se como experimental, prospectivo, longitudinal e comparativo. Foram utilizados 30 ratos da espécie *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, machos, com peso entre 350g e 400g, com aproximadamente 120 dias.

Aspectos éticos

Os animais da presente pesquisa foram estudados segundo a legislação nacional em vigor para a criação e uso de animais (Lei federal n. 11.794, de 2008) e as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (Ceua) do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade do Estado do Pará (Uepa) em 12/08/2015, sob protocolo n. 18/2015.

Os animais foram distribuídos randomicamente em seis grupos.

- **Grupo microagulha 14 dias (grupo MAG14)**, contendo cinco animais que foram submetidos ao microagulhamento no D0 e eutanásia no 14º dia (D14).
- **Grupo microagulha 30 dias (grupo MAG30)**, contendo cinco animais que foram submetidos ao microagulhamento no D0 e eutanásia no 30º dia (D30).
- **Grupo microagulha + copaíba 14 dias (grupo MAOC14)**, contendo cinco animais que foram submetidos à técnica do microagulhamento no D0 e aplicação de 1ml de óleo de copaíba, com eutanásia no 14º dia (D14).
- **Grupo microagulha + copaíba 30 dias (grupo MAOC30)**, contendo cinco animais que foram submetidos à técnica do microagulhamento no D0 e aplicação de 1ml de óleo de copaíba, com eutanásia no 30º dia (D30).
- **Grupo microagulha + óleo mineral 14 dias (grupo MAOM14)**, contendo cinco animais que foram submetidos à técnica do microagulhamento no D0 e aplicação de 1ml de óleo mineral, com eutanásia no 14º dia (D14).
- **Grupo microagulha + óleo mineral 30 dias (grupo MAOM30)**: contendo cinco animais que foram submetidos à técnica do microagulhamento no D0 e aplicação de 1ml de óleo mineral, com eutanásia no 30º dia (D30).

Procedimento operatório

O procedimento foi iniciado por anestesia com injeção pela via intraperitoneal de cetamina e xilazina nas doses de 70mg/kg e 7mg/kg, respectivamente. Os ratos foram colocados em decúbito ventral. Procedeu-se, então, à tricotomia de uma área de 5 X 10cm da região lateral esquerda e antisepsia com clorexidina alcoólica.

Em seguida, realizou-se o microagulhamento com cilindro contendo 192 agulhas de 1,5mm (Dr. Roller® MTO, Porto Alegre, RS, Brasil), que foi posicionado entre os dedos indicador e polegar, exercendo força moderada e aplicado em movimentos de vai e vem dez vezes em quatro direções (vertical, horizontal e oblíquas) até que se obtivesse um padrão uniforme de petéquias.

Nos grupos Maoc foi realizada, imediatamente após o microagulhamento, também a aplicação tópica de 1ml de óleo de copaíba (*Copaifera reticulata*), que foi fornecido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).

Os animais foram mantidos com ração e água *ad libitum*, em gaiolas individuais com tela de proteção no fundo, para que pudessem passar pelo tempo anestésico de recuperação.

De conformidade com o protocolo da pesquisa, foram coletadas amostras de pele de cada animal, para análise histopa-

tológica, por meio de biópsia com *punch* de 5mm 14 (D14) e 30 (D30) dias após o microagulhamento.

A morte induzida indolor ocorreu pela administração por via intraperitoneal de cloridrato de cetamina (210mg/kg) e cloridrato de xilazina (21mg/kg).

Análise histopatológica

O material coletado foi condicionado em frasco contendo formaldeído a 10%, encaminhado para o processamento histológico, tendo sido corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) e pela coloração com tricrômico de Masson (TM) para avaliação das fibras colágenas. As lâminas foram processadas e analisadas por dermatopatologista experiente utilizando microscopia óptica para observação e classificação dos achados. Os parâmetros analisados foram fibras colágenas, proliferação de vasos e de fibroblastos (Figuras 1 e 2) que foram preconizados por Vieira e colaboradores em 2008; classificando-se, assim, esses parâmetros como ausente (0), leve (1), moderado (2) e intenso (3)¹⁹.

Análise estatística

Os dados obtidos pelo estudo foram armazenados em planilha no Microsoft Excel 2010® e posteriormente submetidos à análise estatística. Para a análise dentro dos grupos 14 e 30 dias, foi utilizado o teste G. Já para a comparação entre os três grupos de

tratamento MAG, Maom e Maoc foi utilizado o teste qui-quadrado partição, adotando-se como nível de significância $\alpha = 0,05$ para ambos. Para tanto, foi utilizado o *software* BioEstat 5.3®.

RESULTADOS

Nos exames histológicos, todos os grupos apresentaram algum grau de produção de colágeno, fibroblasto e vasos após o procedimento pesquisado.

Em relação à produção de colágeno (Gráfico1) foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos MAG, Maom e MAO com 14 dias ($p = 0,0091$) e 30 dias ($p = 0,0357$).

Comparando-se os grupos de 14 dias, dois a dois, observou-se diferença entre MAG e Maom ($p = 0,0365$) e MAG e Maoc ($p = 0,0154$) e entre os grupos de 30 dias foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre MAG e Maoc ($p = 0,0036$). O grupo submetido ao microagulhamento e aplicação de óleo de copaíba com coleta de biópsia em 30 dias apresentou a presença mais significativa de colágeno, considerada intenso.

Em relação aos fibroblastos (Gráfico 2) foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos MAG, Maom e MAO após 30 dias ($p = 0,0357$).

Comparando-se os grupos de 30 dias, dois a dois, observou-se diferença entre Maom e Maoc ($p = 0,0033$). O grupo submetido ao microagulhamento seguido da aplicação de óleo de copaíba com coleta de biópsia em 30 dias apresentou a maior frequência de fibroblastos, tendo sido considerado intenso.

Ao se avaliar a neovascularização (Gráfico 3), não se encontrou diferença estatisticamente significativa nos vasos entre os grupos de 14 dias ($p = 0,2873$) e de 30 dias ($p = 0,4060$).

DISCUSSÃO

O microagulhamento ou indução percutânea de colágeno (IPC) tem-se mostrado eficaz no estímulo da produção de colágeno e por isso tem sido utilizado no tratamento de cicatrizes de acne, rejuvenescimento e estrias.^{4,8,11,13} Entre as suas vantagens estão: rápida execução, baixo custo e fácil abordagem em áreas de difícil acesso.⁷

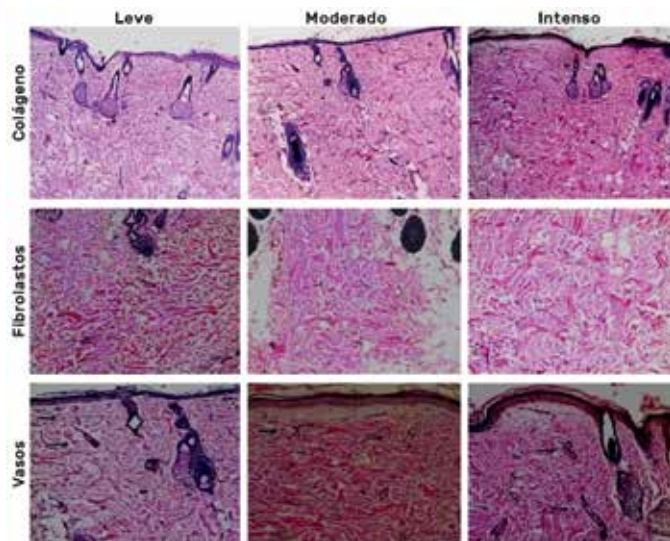


FIGURA 1: Intensidade de proliferação de fibras colágenas, fibroblastos e vasos Imagem 1. Coloração utilizada hematoxilina-eosina; colágeno aumento 40x, fibroblastos 100x e vasos 100x

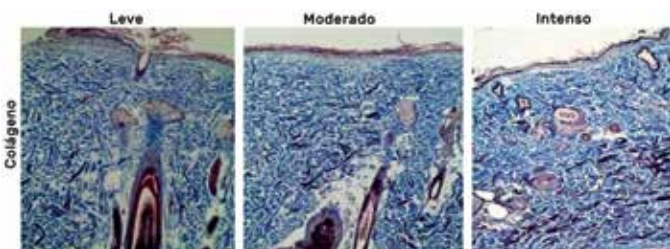


FIGURA 2: Coloração utilizada tricrômico de Masson; aumento 100x

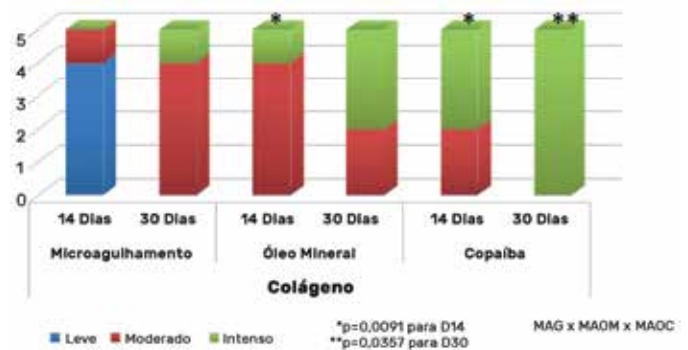


GRÁFICO 1: Proliferação de fibras colágenas. Proliferação de fibras colágenas nos grupos Microagulhamento (MAG), Microagulhamento e óleo mineral (Maom), Microagulhamento e óleo de copaíba (Maoc) nos grupos de 14 e 30 dias

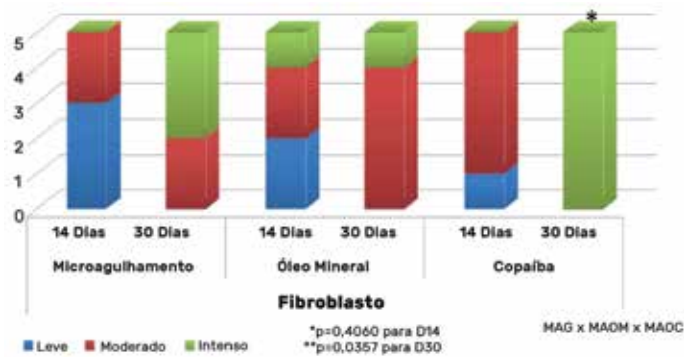


GRÁFICO 2: Proliferação de fibroblastos. Proliferação de fibroblastos nos grupos Microagulhamento (MAG), Microagulhamento e óleo mineral (Maom), Microagulhamento e óleo de copaíba (Maoc) nos intervalos de 14 e 30 dias

Além disso, o microagulhamento tem sido associado à aplicação de medicamentos com o objetivo de aumentar a permeação de pele e a penetração de diversos ativos com o objetivo de melhorar o resultado do procedimento.^{4,8}

Nessa perspectiva, um estudo experimental observou aumento da expressão de colágeno tipo I e da espessura da epiderme na pele de ratos após o microagulhamento com *roller* de 1mm, tendo sido os achados mais evidentes nos grupos submetidos também à aplicação tópica de retinol 1% e vitamina C 10%.²⁰

O comprimento das microagulhas também já foi alvo de pesquisa. Uma delas utilizou microagulhas de 0,25mm para aumentar a penetração epidérmica de fatores secretores de células precursoras endoteliais diferenciadas a partir de células embrionárias humanas (hESC-EPC) em 25 mulheres asiáticas, observando-se melhora global da pigmentação e rugas em comparação ao microagulhamento isolado.²¹

O óleo de copaíba (*Copaifera reticulata*) tem sido estudado em diversas áreas, e seus efeitos cicatrizantes e anti-inflamatórios já foram demonstrados em vários modelos animais; seu efeito associada a IPC¹⁴⁻¹⁷, entretando, não foi avaliado.

No presente estudo, observou-se aumento de fibras colágenas, fibroblastos e vasos na pele de ratos de todos os grupos estudados, o que provavelmente está relacionado à injúria provocada pelas microagulhas que são capazes de desencadear um processo de reparação com liberação de fatores de crescimento, resultando em proliferação de fibroblastos, formação de capilares e aumento da síntese de colágeno.^{4,8,11,22}

O grupo em que foi realizado o microagulhamento com aplicação de óleo de copaíba e que foi submetido à biópsia após 30 dias apresentou maior produção de colágeno e fibroblastos. Tal achado corrobora o demonstrado pelo estudo de Estevão e colaboradores publicado em 2013 sobre aplicação tópica de copaíba em enxerto de pele, quando foram observados fibroblastos volumosos e mais fibras colágenas em retalhos cutâneos em ratos tratados com pomada contendo óleo de copaíba a 10% em comparação ao controle.²³

Giesbrecht e cols. em estudo experimental com 31 ratos analisou o efeito de pomada de óleo de copaíba 1% em quei-

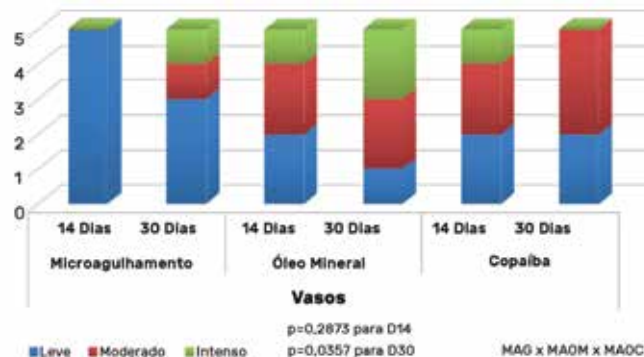


GRÁFICO 3: Proliferação de vasos. Proliferação de vasos nos grupos Microagulhamento (MAG), Microagulhamento e óleo mineral (Maom), Microagulhamento e óleo de copaíba (Maoc) nos intervalos de 14 e 30 dias

madura e demonstrou a presença intensa de fibroblastos e fibras colágenas mais organizadas.²⁴

Em relação à neovascularização não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados, apesar de todos terem mostrado algum grau de neoangiogênese. Esse achado vai de encontro com o trabalho de Brito *et al.* que em um experimento de cicatrização de feridas cutâneas em ratos utilizando óleo de copaíba (*C. multijuga*), informaram que o óleo era capaz de aumentar a rede vascular.²⁵

Eurides e cols. também observaram aumento na formação de tecido de granulação e vasos sanguíneos durante o processo de reparação tecidual na cicatrização de feridas em ratos, demonstrando que o óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) é capaz de aumentar a vascularização.²⁶

O microagulhamento propõe um estímulo de colágeno, sem provocar a retirada do epitélio total observada nas técnicas ablativas, já que mantém uma área de pele preservada que vai colaborar no processo de reparação.⁴ Em contrapartida, os estudos publicados com óleo de copaíba e cicatrização frequentemente avaliam feridas cirúrgicas que por si só causam maior dano à pele com formação de tecido de granulação e sobre o qual o óleo de copaíba se mostra capaz de estimular a neovascularização.^{17,19,26}

O mecanismo de ação dos ingredientes ativos no óleo de copaíba ainda não está totalmente esclarecido. A maior parte de suas propriedades terapêuticas é atribuída aos diterpenos. Acredita-se que, a partir das características químicas de um ou mais dos componentes do óleo, e através de sua ação sinérgica, sejam evidenciados os efeitos encontrados pelo uso do óleo de copaíba.^{23,27}

CONCLUSÃO

O óleo de copaíba associado ao microagulhamento foi capaz de estimular maior produção de colágeno e de fibroblastos na pele de ratos, embora não tenha mostrado influência na neovascularização em comparação com o microagulhamento isolado.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a contribuição técnico-científica da dermatologista Maraya de Jesus Semblano Bittencourt na elaboração das imagens do histopatológico deste trabalho. ●

PARTICIPAÇÃO DOS AUTORES:**Caroline Da Silva Alves Palheta:**

Concepção e delineamento, aquisição de dados, interpretação de dados, procedimentos dermatológicos, análise estatística, preparação e redação do artigo

Wesley Miguel Pereira Da Silva:

Auxílio na realização dos procedimentos dermatológicos, na aquisição de dados, na interpretação de dados, na análise estatística e na redação do artigo

Rodrigo Paracampo Couteiro:

Auxílio na realização dos procedimentos dermatológicos, na aquisição de dados, na interpretação de dados, na análise estatística e na redação do artigo

Paulo Ricardo Garcia Da Silva:

Auxílio na realização dos procedimentos dermatológicos, na aquisição de dados, na interpretação de dados, na análise estatística e na redação do artigo

Raíra Martins Trindade Souza:

Auxílio na realização dos procedimentos dermatológicos, na aquisição de dados, na interpretação de dados, na análise estatística e na redação do artigo

Daniela Vale Dias:

Auxílio na realização dos procedimentos dermatológicos, na aquisição de dados, na interpretação de dados, na análise estatística e na redação do artigo

Bianca Caroline Nascimento Alho:

Auxílio na realização dos procedimentos dermatológicos, na aquisição de dados, na interpretação de dados, na análise estatística e na redação do artigo

Andressa Miléo Ferraioli Silva:

Auxílio na realização dos procedimentos dermatológicos, na aquisição de dados, na interpretação de dados, na análise estatística e na redação do artigo

Nara Macedo Botelho:

Contribuição científica e intelectual efetiva para o estudo, concepção e delineamento, avaliação dos treinamentos, revisão crítica e aprovação final

Francisca Regina Oliveira Carneiro:

Contribuição científica e intelectual efetiva para o estudo, concepção e delineamento, avaliação dos treinamentos, revisão crítica e aprovação final

REFERÊNCIAS

- Mandebbaum SH, Di Santis EP, Mandelbaum MHS. Cicatrization: current concepts and auxiliary resources - Part I. *An Bras Dermatol*. 2003; 78(4):393-410
- Lima AA, Souza TH, Grignoli LCE. The benefits of microneedling in the treatment of aesthetic dysfunction. *Revista Científica da FHO-Uniarias*. 2015; 3(1):92-9.
- Doddaballapur S. Microneedling with dermaroller. *J Cutan Aesthet Surg*. 2009; 2(2): 110-1.
- Lima EVA, Lima MA, Takano D. Microneedling experimental study and classification of the resulting injury. *Surg Cosmet Dermatol*. 2013; 5(2): 110-4.
- Orentreich DS, Orentreich N. Subcutaneous incisionless (subcision) surgery for the correction of depressed scars and wrinkles. *Dermatol Surg*. 1995; 21(6):543-9.
- Camirand A, Doucet J. Needle dermabrasion. *Aesthetic Plast Surg*. 1997; 21(1):48-51
- Fernandes D. Minimally invasive percutaneous collagen induction. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2005; 17(1):51-63
- Kalil CLPV, Frainer RH, Dexheimer LS, Tonoli RE, Boff AL. Treatment of acne scars using the microneedling and drug delivery technique. *Surg Cosmet Dermatol*. 2015; 7(2): 144-8.
- Budamakintla L, Loganathan E, Suresh DH, Shanmugam S, Suryanarayn S, Dongare A, et al. A randomised, open-label, comparative study of Tranexamic Acid microinjections and Tranexamic Acid with microneedling in patients with melasma. *J Cutan Aesthet Surg*. 2013; 6(3): 139-43.
- Sahni K, Kassir M. DermaFract™: an innovative new treatment for periorbital melanosis in a dark skinned male patient. *J Cutan Aesthet Surg*. 2013; 6 (3): 158-60.
- Majid I. Microneedling therapy in atrophic facial scars: an objective assessment. *J Cutan Aesthet Surg*. 2009; 2(1): 26-30.
- Liebl H, Kloth LC. Skin Cell Proliferation Stimulated by Microneedles. *J Am Coll Clin Wound Spec*. 2012; 4(1):2-6.
- El-Domyati M, Barakat M, Awad S, Medhat W, El-Fakahany H, Farag H. Microneedling therapy for atrophic acne scars: an objective evaluation. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2015; 8(7):36-42.
- Brito NMB, Kulay JR. L, Simões MJ, Mora AO, Ramalho LNZ, Novo NF et al. Aspectos morfológicos, morfométricos e imunohistoquímicos pelo PCNA, do colo uterino de ratas ooforectomizadas, após aplicação do óleo de copaíba. *Acta Cir Bras*. 2000; 15(suppl 1): 1-7.
- Montes LV, Broseghini LP, Andreatta FS, Sant'Anna MES, Neves VM, Silva AG. Evidências para o uso da óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida - uma revisão sistemática. *Natureza online*. 2009; 7(2): 61-7.
- Francisco SG. Uso do óleo de Copaíba (*Copaifera officinalis*) em inflamação ginecológica. *Femina*. 2005; 33(2): 89-93.
- Yamaguchi MH, Garcia RF. Copaiba oil and its medicinal properties: a bibliographical review. *Revista Saúde e Pesquisa*. 2012; 5(1): 137-46.
- Yasojima EY, Teixeira RK, Hoaut Ade P, Costa FL, Yamaki VN, Feitosa-junior DJ, et al. Copaiba oil influences ventral hernia repair with vicryl® mesh? *Arq Bras Cir Dig*. 2015; 28(3): 186-189.

19. Vieira RC, Bombardiere E, Oliveira JJ, Lino-Júnior RS, Brito L, Junqueira-Kipnis AP. Influence of *Copaifera langsdorffii* oil on the repair of a surgical wound in the presence of foreign body. *Pesq Vet Bras*. 2008;28(8),358-366.
20. Zeitter S, Sikora Z, Jahn S, Stahl F, Straub S, Lazaridis A, et al. Microneedling: matching the results of medical needling and repetitive treatments to maximize potential for skin regeneration. *Burns*. 2014; 40(5)966-73.
21. Lee HJ, Lee EG, Kang S, Sung J-H, Chung H-M, Kim DH. Efficacy of micro-needling plus human stem cell conditioned medium for skin rejuvenation: a randomized, controlled, blinded split-face study. *Ann Dermatol*. 2014;26(5):584-91
22. Liebl H, Kloth LC. Skin cell proliferation stimulated by microneedles. *J Am Coll Clin Wound Spec*. 2012;4(1)2-6.
23. Estevão LR, Medeiros JP, Baratella-Evêncio L, Simões RS, Souza MF, Evêncio Neto J. Effects of the topical administration of copaiba oil ointment (*Copaifera langsdorffii*) in skin flaps viability of rats. *Acta Cir Bras*. 2013;28(12)863-9.
24. Giesbrecht PCP. Efeitos da pomada de óleo de copaíba em queimadura cutânea em rato. Tese de Mestrado apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência animal do Centro Universitário de Vila Velha. 2011. 22-45.
25. Brito NMB, Simoes MJ, Gomes PO, Pessoa AF, Melo MCF. Effect of copaiba oil in the healing process of openskin wounds in rats. *Rev Para Med*. 1998; 12(1):28-32.
26. Eurides D, Mazzanti A, Gonçalves GF, Belleti ME; Silva LAF, Fioravanti MCS, et al. Aspectos morfológicos, morfométricos e histológicos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*). *Vet Not*. 1988;4(1):77-82.
27. da Silva AG, Puziol PF, Leitao RN, Gomes TR, Scherer R, Martin ML, et al. Application of the essential oil from copaiba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) for acne vulgaris: a double-blind, placebo controlled clinical trial. *Altern Med Rev* 2012; 17(1) 69-75.