

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE EM FERIDAS TRATADAS COM EXTRATO BRUTO DE *Poincianella pluviosa* COMPLEXADO COM CICLODEXTRINA

Aline Cavalcante Lenartowicz (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Ana Carolina Guidi, Eneri Vieira de Souza Leite Mello, João Carlos Palazzo de Mello (Orientador), e-mail: mello@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/ Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde / Farmácia

Palavras-chave: cicatrização, sibipiruna, ciclodextrinas

Resumo:

Este estudo teve o objetivo de avaliar a atividade cicatrizante do extrato bruto de *Poincianella pluviosa* complexado com ciclodextrina, em feridas cutâneas de ratos. Foram preparadas formulações em gel contendo o extrato complexado (EBCD) a 1% e o controle negativo. Assim, 20 ratos Wistar utilizados foram divididos em grupos (n=5) correspondentes aos dias de tratamento, 4, 7, 10 e 14 dias. Duas feridas de 1 cm² foram confeccionadas no dorso dos animais, uma ferida recebeu tratamento com o gel EBCD e a outra, controle negativo. Após eutanásia, as feridas foram removidas para confecção de lâminas histológicas, para análise por meio da técnica de coloração Hematoxilina e Eosina. A avaliação da atividade cicatrizante foi realizada por meio da comparação estatística de medidas do comprimento do epitélio neoformado e contagem das células bloqueadas em divisão, nas feridas tratadas com gel EBCD e controle negativo. Em 4 e 7 dias as análises de comprimento da epiderme neoformada não apresentaram diferença. Aos 10 e 14 dias, a maioria das feridas tratadas com gel EBCD foram completamente reepitelizadas, enquanto 80% das que receberam controle negativo não completaram o fechamento do epitélio. Na contagem de células, não foram encontradas diferenças entre as feridas tratadas e controle negativo, até o décimo dia de tratamento. Assim, concluiu-se que o gel com complexo não apresentou benefícios no processo de cicatrização de feridas quando comparado ao controle negativo.

Introdução

A espécie *Poincianella pluviosa* (DC.) L.P. Queiroz, comumente conhecida como “sibipiruna” é uma árvore amplamente distribuída no estado do Paraná e regiões Centro-Oeste e Sudeste do Brasil. A *P. pluviosa* possui atividade cicatrizante comprovada por Bueno et al. (2016), que avaliou a ação do extrato bruto das cascas sobre o reparo tecidual em ratos normoglicêmicos.

A cicatrização de feridas é um processo complexo e dinâmico que, quando acompanhado de condições patológicas, capazes de retardar esse processo, como no diabetes, constitui um sério problema financeiro e social (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003; SILVA et al, 2015).

Sabendo da capacidade de complexação de carreadores como as ciclodextrinas (CD) a fármacos, com a finalidade de melhorar sua absorção e consequente biodisponibilidade (GUEDES et al, 2008) este trabalho avaliou a interferência da ciclodextrina complexada com o extrato bruto *P. pluviosa* na cicatrização de feridas cutâneas em ratos.

Materiais e métodos

Para o preparo do extrato bruto (EB) foram utilizadas cascas do caule de *Poincianella pluviosa*, coletadas na cidade de Maringá, Paraná, Brasil, utilizando etanol 50% para a extração. A obtenção do EB incorporado em ciclodextrina (hidroxipropil- β -ciclodextrina) (EBCD) foi realizada na proporção 1:1 (p/p).

O gel controle negativo foi preparado utilizando carbopol 940 NS (1%) em água. A uma parte do gel controle foi incorporado o EBCD, em proporção equivalente a 1% (BUENO et al., 2016) e homogeneizado (Gel EBCD).

Confecção de feridas e tratamento

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá, sob o parecer nº 9861231115.

Foram utilizados 20 ratos Wistar machos, oriundos do Biotério Central da UEM, com 60 dias (220-280 g), divididos em 4 grupos (n=5) de acordo com o período de tratamento: 4, 7, 10 e 14 dias. Permaneceram em gaiolas individuais no Biotério do Laboratório de Experimentação animal do Bloco T22 (Departamento de Farmácia – UEM), em condições padronizadas, com ração e água *ad libitum*.

Para confecção de feridas cutâneas, os animais receberam por via intraperitoneal anestesia com Tiopental (40 mg/kg) associado com Lidocaína 10 mg/ml (7 mg/kg). Feita epilação manual e assepsia do local, foram confeccionadas duas feridas com 1 cm² cada no dorso do animal. A ferida esquerda foi tratada diariamente com gel EBCD e a ferida direita recebeu controle negativo durante os períodos de tratamento. Ao fim de cada período os animais receberam por via intravenosa 0,5 mg/kg de sulfato de vincristina, para bloqueio da divisão celular. Após duas horas foram eutanasiados com sobredose do anestésico utilizado. As feridas foram removidas para análise histológica.

Os fragmentos de pele contendo as feridas foram fixados em solução de Bouin, incluídos em parafina e cortados em micrótomo (Leica), com espessura de 6 μ m. Os cortes (n=5) foram dispostos em lâminas e coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) para análise da reepitelização e número de metáfases bloqueadas na epiderme neoformada. As imagens foram capturadas com microscópio óptico Nikon® Eclipse 80i acoplado a

uma câmera Nikon® DS-F11C cooled digital, e foram analisadas no programa Image Pro-plus® versão 4.5.

Para análise de reepitelização, em aumento de 10x, o comprimento das duas margens da epiderme neoformada foram medidas e os valores somados. Para as feridas com reepitelização completa foi realizada a medida da espessura em três pontos distintos no centro do epitélio neoformado.

A contagem do número de metáfases foi determinada pela contagem de células epiteliais bloqueadas em metáfase na camada basal e supra basal das duas margens da epiderme neoformada, em aumento de 40x.

Os dados referentes ao grupo tratado com gel EBCD foram comparados estatisticamente com o controle negativo pelo programa GraphPad Prism® 5 (Copyright GraphPad Software, Inc), utilizando teste *t* paramétrico para resultados paramétricos e Mann-Whitney para não paramétricos, considerando $p < 0,05$ como critério de significância.

Resultados e Discussão

Aos 4 e 7 dias de tratamento, o comprimento da área reepitelizada das feridas tratadas com gel EBCD e controle negativo ($n=5$) não apresentaram diferenças significativas no comprimento da epiderme neoformada (Figura 1).

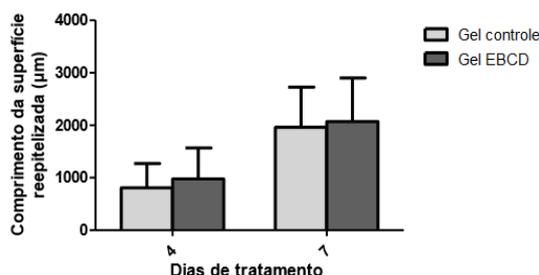


Figura 1 – Média de medidas do comprimento da reepitelização em 4 e 7 dias de tratamento com gel EBCD e gel controle

Após 10 e 14 dias, respectivamente 3 e 4 feridas ($n=5$) que receberam gel EBCD apresentavam epiderme reepitelizada. Enquanto 4 das 5 feridas que receberam controle negativo desses grupos não haviam completado o fechamento do epitélio. Devido a falta de homogeneidade entre os grupos não foi possível realizar análises estatísticas para comparação, sugerindo novas metodologias para análise da área reepitelizada.

Quanto à proliferação celular no epitélio neoformado, avaliada pela contagem de células epiteliais bloqueadas em metáfase, não foram encontradas diferenças entre as feridas tratadas e controle, até o décimo dia de tratamento (Figura 2). Houve aumento da proliferação em 14 dias, mas foi inferior ao controle negativo. No tratamento realizado por Bueno et al. (2016), até o décimo dia as células das feridas tratadas com gel contendo extrato bruto apresentaram processo de divisão celular superior quando

comparados ao controle. Assim, pode-se inferir que a melhoria do tratamento, utilizando extrato bruto complexado com CD, foi inferior quando comparado aos resultados de Bueno et al. (2016), que utilizaram o extrato bruto sem CD.

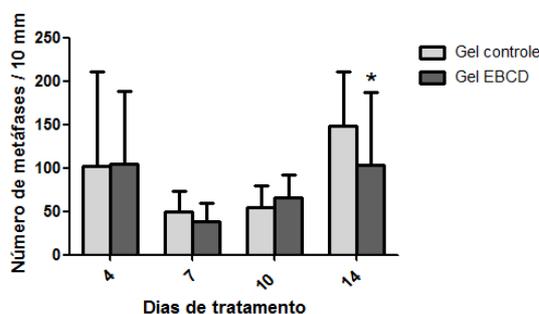


Figura 2 - Média do número de células bloqueadas em metáfase no epitélio neoformado.
* $p < 0,05$.

Conclusões

Nos testes de cicatrização utilizando gel com o complexo (EBCD) não foi demonstrado benefícios na atividade cicatrizante quando comparado ao controle negativo.

Agradecimentos

À Fundação Araucária e CNPQ pelo apoio financeiro. Ao Prof. Dr. João Carlos Palazzo de Mello pela orientação e apoio ao projeto.

Referências

- BUENO, F. G.; MOREIRA, E. A.; MORAIS, G. R.; PACHECO, I. A.; BAESSO, M. L.; LEITE-MELLO, E. V. S.; MELLO, J. C. P. Enhanced cutaneous wound healing *in vivo* by standardized crude extract of *Poincianella pluviosa*. **Plos One**, v. 11, n. 3, 2016.
- GUEDES, F. L.; ALVES, G. M. C.; SANTOS, F. L. A.; LIMA, L. F.; ROLIM, L. A.; NETO, P. J. R. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 89, n. 3, p. 220-225, 2008.
- MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, p.393-410, 2003.
- SILVA, L. L.; LOPES, P. F.; MONTEIRO, M. H. D. A.; MACEDO, H. W. Importância do uso de plantas medicinais nos processos de xerose, fissuras e cicatrização na diabetes mellitus. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.17, n.4, p.827-835, 2015.