

ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DA REEPITELIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS TRATADAS COM EXTRATO DE *POINCIANELLA PLUVIOSA* INCORPORADO EM FILME POLIMÉRICO

Leonardo Alan Delanora² (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Ana Carolina Guidi², Daniela Cristina de Medeiros², Gustavo Cesar Abreu Soares¹, João Carlos Palazzo de Mello², Eneri Vieira de Souza Leite Mello¹ (Orientadora), e-mail: leonardoaland@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / ¹Centro de Ciências Biológicas e ²Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR

Área: Ciências Biológicas / Morfologia / Histologia

Palavras-chave: *Poincianella pluviosa*, cicatrização, filme polimérico

Resumo: A reparação tecidual utilizando-se de plantas medicinais, como a *Poincianella pluviosa*, popularmente chamada de sibipiruna, vem se mostrando de grande importância pela capacidade de acelerar o processo de cicatrização. O estudo do processo de reparação tecidual é fundamental para o esclarecimento do efeito de medicamentos e de aspectos de neoformação tecidual. Para isso, se faz necessário o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas, mais viáveis e econômicas, que acelerem o processo de cicatrização em melhora de patologias e tratamentos clínicos. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a utilização de filmes poliméricos contendo extrato bruto de *P. pluviosa* no tratamento de feridas cutâneas. Foram utilizados 20 ratos Wistar machos, divididos em quatro grupos de cinco animais que receberam tratamento tópico diário durante 4, 7, 10 e 14 dias. Foram realizadas duas feridas, com remoção da epiderme e derme no dorso dos animais. Uma ferida recebeu tratamento com filme polimérico e a outra, tratamento com o filme contendo extrato bruto de *P. pluviosa* (FEB), sendo os fragmentos da pele removidos para análise da reepitelização através de histomorfometria. Os resultados foram submetidos à análise estatística feita no programa Excel® 2010 e GraphPad Prism® 5. As análises demonstraram maior proliferação celular, maior espessura da epiderme e maior comprimento da língua de epitelização nas feridas tratadas com FEB, quando comparadas às não tratadas. Concluindo que o filme polimérico com *P. pluviosa* foi efetivo no auxílio da cicatrização, se mostrando uma ótima alternativa terapêutica.

Introdução

A pele recobre a superfície do corpo como uma barreira protetora contra o ambiente externo e micro-organismos, além de regular a temperatura corporal e evitar perda de água (ISAAC et al., 2010). Danos tissulares desencadeiam imediatamente uma série de eventos celulares e moleculares que interagem para reconstituição do tecido lesado. A cicatrização de feridas

é um processo dinâmico e complexo que envolve inflamação, proliferação e remodelação do tecido (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005). Devido aos custos no tratamento de feridas, que podem ser crônicas quando associadas a outras patologias, a busca de novos medicamentos aceleradores do processo cicatricial vem tendo sua importância destacada, os quais são voltados principalmente para a formação do tecido novo. A *Poincianella pluviosa* é muito abundante nas cidades e seus extratos e substâncias isoladas já demonstraram atividades farmacológicas (BUENO et al., 2016). O objetivo do trabalho foi avaliar a reepitelização de feridas cutâneas utilizando extrato bruto de *P. pluviosa* incorporado em um filme polimérico.

Materiais e métodos

Foram utilizados 20 ratos Wistar machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, divididos em 4 grupos de 5 animais de acordo com o período de tratamento (4, 7, 10 e 14 dias). O Projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob protocolo nº 9861231115. Para a confecção das feridas, os animais foram anestesiados com Tiopental (40 mg/kg) associado com Lidocaína 10 mg/ml (7 mg/kg), via intraperitoneal. Após tricotomia e assepsia do local, foram feitas duas feridas, com remoção da epiderme e derme no dorso dos animais. As feridas receberam tratamento tópico, diário. Uma ferida foi tratada com filme polimérico base (Fbase - Controle negativo) e a outra tratada com o filme polimérico contendo extrato bruto (FEB - Tratado) de *P. pluviosa*. O início do tratamento ocorreu a partir do dia posterior a confecção das feridas. Os animais, após os períodos de tratamento, foram eutanasiados com sobredose de Tiopental (120 mg/kg, via intraperitoneal) associado com lidocaína 10 mg/ml (7 mg/kg). As feridas cutâneas foram avaliadas quanto ao seu aspecto macroscópico e os fragmentos da pele, contendo a ferida, coletados para a análise histológica. Os ratos receberam por via endovenosa 0,5 mg/kg de Sulfato de Vincristina (Oncovin Lilly), 2 horas antes do procedimento, para bloqueio da proliferação celular. Os fragmentos de pele foram incluídos em parafina e cortados em micrótomo (6 µm) e posteriormente montados em lâminas. Essas foram coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) e as imagens capturadas em microscópio de luz (Nikon Eclipse 80i) para avaliação da reepitelização e proliferação celular, por meio do programa Image Pro-Plus® (v. 4.5). Nas lâminas referentes aos animais tratados por 4, 7 e 10 dias foram realizadas a medida do comprimento da área reepitelização (língua de reepitelização) nos dois lados da ferida, seguindo até a verificação do tecido íntegro (Objetiva de 20X). Os valores das medidas foram somados e analisados estatisticamente. Nas lâminas referentes a 14 dias de tratamento, foi realizada a medida da espessura da área reepitelizada. Para avaliação da proliferação celular foi realizada a contagem do número de metáfases nas camadas basal e supra basal da área de reepitelização, com objetiva de 40X. Os resultados das obtidos foram submetidos à análise estatística, através dos testes

Kolmogorov-Smirnov e t pareado para resultados paramétricos e Mann-Whitney, utilizando o programa GraphPad Prism® 5 (BUENO et al., 2016).

Resultados e Discussão

A pele adjacente à ferida apresentava aspecto normal caracterizando a efetividade da contração da borda e restauração da área lesada. Nos cortes histológicos foi possível observar resíduos do filme presentes na crosta da ferida em praticamente todos os dias, mostrando que o filme, ou parte dele, ficou aderido sobre ela. Na análise do epitélio neoformado, as feridas após 4, 7 e 10 dias de tratamento com os filmes, apresentaram duas margens de reepitelização pequenas. As feridas tratadas com FEB apresentaram comprimento da superfície de reepitelização maior em 7 dias ($p < 0,05$) quando comparada ao controle negativo (Fbase) (Figura 1), mostrando atuação do EB na migração dos queratinócitos para o centro da ferida. A restauração completa da epiderme ocorreu após 14 dias da lesão. Nesse período, as feridas apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), mostrando um aumento na espessura da epiderme nas feridas tratadas com FEB (Figura 2). Em relação à contagem das células aos 10 e 14 dias houve uma maior proliferação celular, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) no FEB comparado ao Fbase (Figura 3). O resultado pode ter sido alcançado pelo efeito trófico que o EB exerceu sobre os queratinócitos, estimulando uma resposta proliferativa destas células ao longo da margem da reepitelização.

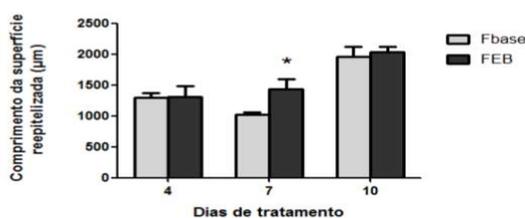


Figura 1. Gráfico representativo da média±desvio padrão da medida do comprimento da língua de reepitelização (em μm), aos 4, 7 e 10 dias de tratamento de feridas, com FEB e Fbase (controle negativo).

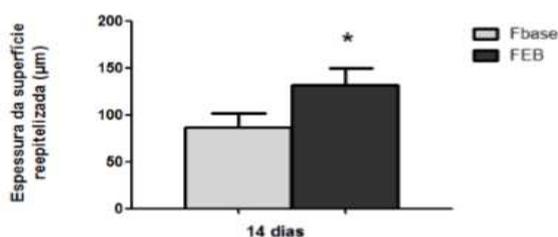


Figura 2. Gráfico representativo da média±desvio padrão da medida da espessura (em μm) da superfície reepitelizada de feridas excisionais no dorso de ratos, tratadas com FEB e Fbase aos 14 dias.

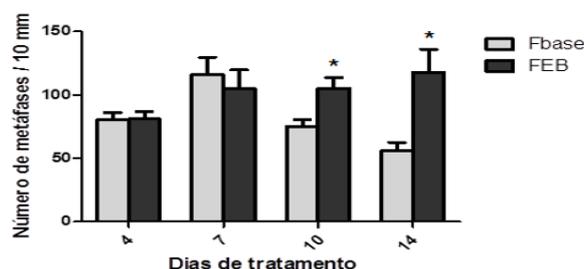


Figura 3. Gráfico representativo da média±desvio padrão do número de metáfases bloqueadas na epiderme neoformada de feridas excisionais no dorso de ratos, tratadas por 4, 7, 10 e 14 dias com FEB e Fbase.

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se considerar que o EB de *P. pluviosa* incorporado em filme polimérico mostrou melhora na reepitelização da ferida em relação ao controle negativo, apresentando proliferação mitótica significativa, favorecendo o processo de cicatrização. Portanto mostrando-se uma ótima alternativa terapêutica.

Agradecimentos

CNPQ pelo suporte financeiro.

Referências

- BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, p.27-51, 2005.
- BUENO, F. G.; MOREIRA, E. A.; MORAIS, G. R.; PACHECO, I. A.; BAESSO, M. L.; LEITEMELLO, E. V. S.; MELLO, J. C. P. Enhanced Cutaneous Wound Healing In Vivo by Standardized Crude Extract of *Poincianella pluviosa*. **Plos One**, v.11, p.1-13, 2016.
- ISAAC, C.; LADEIRA, P. R. S.; REGO, F. M. P.; ALDUNATE, J. C. B.; FERREIRA, M. C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, v.89, p.125-131, 2010.