

ANÁLISE DA FIBROPLASIA EM FERIADAS CUTÂNEAS DE RATOS TRATADAS COM EXTRATO BRUTO DE *POINCIANELLA PLUVIOSA* COMPLEXADO COM CICLODEXTRINA

²Henrique Gonçalves Fernandes (PIBIC/FA/Uem), ²Ana Carolina Guidi (Colaborador), ²João Carlos Palazzo de Mello (Coorientador), ¹Eneri Vieira de Souza Leite Mello (Orientador), e-mail: enerileite@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*, histologia, cicatrização

Resumo:

Muitas plantas apresentam atividades biológicas de interesse para o tratamento de várias patologias. Estudos mostram que a *Poincianella pluviosa*, popularmente conhecida como sibipiruna, apresenta atividade cicatrizante de feridas. A busca de novos medicamentos que facilitem a cicatrização tem se intensificado. Entre as alternativas estão as ciclodextrinas, sistemas carreadores de fármacos que podem formar complexos de inclusão com várias moléculas. Assim, o presente trabalho buscou avaliar a ação do extrato bruto de *P. pluviosa* complexado com ciclodextrina na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. Vinte animais foram divididos em 4 grupos, e foram tratados com o extrato complexado com a ciclodextrina durante 4, 7, 10 e 14 dias, sendo posteriormente comparados ao grupo controle negativo. A análise macroscópica levou em conta a medida da área e o grau de contração das feridas, e para a análise microscópica foram confeccionadas lâminas histológicas contendo as feridas coradas pela técnica de Picosirius. Os grupos tratados e controle apresentaram diminuição progressiva da área das feridas, mostrando que não houve agravos no processo de cicatrização. A análise histológica dos grupos tratados por 4 e 7 dias demonstrou predomínio do colágeno tipo I em relação ao tipo III, em ambos os períodos, quando comparados ao controle negativo. No grupo tratado por 7 dias, observou-se aumento da quantidade de colágeno tipo II em relação ao grupo controle. O extrato bruto complexado com ciclodextrina influenciou a deposição de colágeno tipo III em feridas após 7 dias de tratamento.

Introdução

A atividade cicatrizante do extrato bruto de *P. pluviosa* foi avaliada por Bueno et al (2016) que identificou ação sobre o reparo tecidual em ratos normoglicêmicos. Foi observado aumento no número de metáfases nos

primeiros dias de tratamento e estimulação da maturação das fibras colágenas. Esses resultados também foram demonstrados em ratos diabéticos (BUENO, 2014).

As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos que podem formar complexos de inclusão com várias moléculas orgânicas e inorgânicas (VALENTINI et al., 2015). Diante da proposta de que a capacidade de complexação da ciclodextrina pode melhorar a absorção de fármacos, o presente trabalho buscou avaliar a interferência da ciclodextrina complexada com o extrato bruto *P. pluviosa* na cicatrização e síntese de fibras colágenas em feridas cutâneas em ratos.

Materiais e métodos

Para o preparo do extrato bruto foram utilizadas cascas do caule de *Poincianella pluviosa* coletado em Maringá. O extrato bruto (EB) foi complexado com hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) e utilizado na preparação do gel para tratamento das feridas (gel EB-HP β CD).

Foram utilizados 20 ratos Wistar machos divididos em quatro grupos de cinco animais, que receberam tratamento tópico diário com gel de carbopol durante 4, 7, 10 e 14 dias. Após anestesia (Tiopental 40 mg/kg), foi realizada tricotomia e assepsia do local para confecção de duas feridas (1 cm² cada), com remoção da epiderme e derme no dorso dos animais. Uma ferida recebeu tratamento com gel base (Controle negativo) e a outra recebeu tratamento com gel EB-HP β CD (tratado). As feridas foram analisadas no final de cada período de tratamento e os animais foram eutanasiados com sobredose do anestésico para remoção dos fragmentos de pele.

Para a análise macroscópica, as feridas foram avaliadas em relação à medida da área da ferida e grau de contração das mesmas. A medida das feridas foi obtida após sua confecção e, ao final de cada período de tratamento (4, 7, 10 e 14 dias), utilizando decalque sobre folha transparente. As imagens foram digitalizadas e analisadas no programa Image Pro-Plus®. Para a microscópica, os fragmentos de pele contendo as feridas foram utilizados para a confecção de lâminas histológicas coradas pela técnica de Picrosirius, para quantificação da área ocupada por fibras colágenas do tipo I e tipo III, dos animais tratados por 4 e 7 dias.

As imagens foram capturadas em microscópio óptico acoplado a um polarizador, que permite birrefringência e diferenciação das fibras colágenas, de modo que as fibras colágenas tipo I são coradas em amarelo/vermelho e as fibras tipo III são coradas em verde. Em cada corte histológico, foram considerados três campos da ferida: um campo central e dois laterais, próximos às margens da ferida. Foi utilizada a objetiva de 20X para a captura das imagens. A quantificação das fibras foi feita através do programa Image Pro-Plus®.

Os resultados obtidos no tratamento com EB-HP β CD foram submetidos à análise estatística utilizando o programa GraphPad Prism® 5 (Copyright GraphPad Software, Inc.). Os dados foram submetidos à

verificação da normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Foram apresentados como média \pm desvio padrão e as diferenças significativas foram determinadas através do teste t pareado para resultados paramétricos e Mann-Whitney, para resultados não paramétricos, sendo considerado $p < 0,05$ como critério de significância (BUENO et al., 2016).

Resultados e Discussão

As feridas tendem a sofrer distensão após a retirada do fragmento de pele, resultando em uma área maior do que o molde de 1 cm² utilizado, justificando uma área maior no dia zero. Houve decréscimo progressivo na área das feridas, mostrando que não houve agravos prejudiciais à cicatrização (Figura 1).

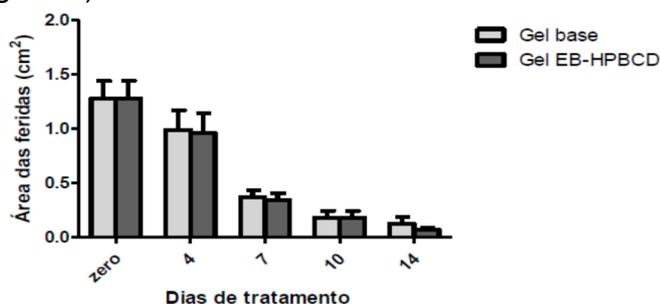


Figura 1 – Valores médios das áreas das feridas excisionais em ratos Wistar tratados com gel EB-HP β CD e gel base após 4, 7, 10 e 14 dias.

O percentual de contração das feridas, apresentado na Figura 2, também ocorreu de forma progressiva e similar nas feridas controle e tratada em todos os grupos, também demonstrando que o gel EB-HP β CD não influenciou no processo de contração das feridas.

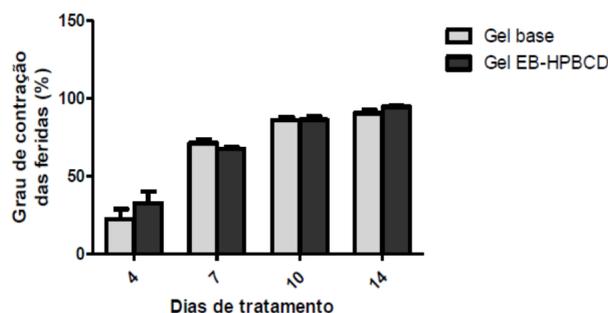


Figura 2 – Percentual de contração de feridas excisionais em ratos Wistar tratados com gel EB-HP β CD e gel base após 4, 7, 10 e 14 dias.

A Figura 3 mostra a análise histológica de fibras colágenas tipo I e III. Houve predomínio na deposição de colágeno tipo I em relação ao tipo III em ambos os grupos. Foi observado que em comparação ao controle negativo, o gel EB-HP β CD não modificou a formação de fibras colágenas tipo I aos 4 e 7 dias de tratamento. Porém, aos 7 dias, a porcentagem de fibras tipo III estava maior nas feridas que receberam tratamento com gel EB-HP β CD ($p < 0,05$).

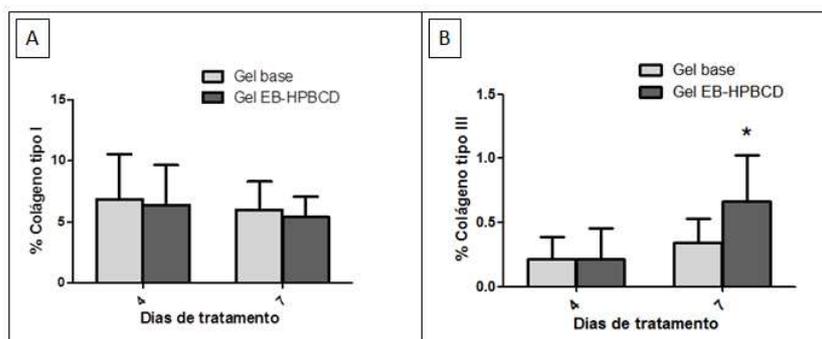


Figura 3 – Gráfico representativo da média ± desvio padrão da % de colágeno, em que (A) representa o colágeno tipo I e (B), o colágeno tipo III, após 4 e 7 dias de tratamento com gel EB-HPβCD e gel base. * $p < 0,05$.

Conclusões

Na análise macroscópica, em todos os grupos tratados com gel EB-HPβCD, houve decréscimo progressivo na área das feridas, indicando que não houve agravos prejudiciais à cicatrização. Na análise histológica das fibras colágenas, foi observado predomínio no colágeno tipo I em relação ao tipo III nos grupos tratados por 4 e 7 dias, com maior porcentagem de fibras tipo III ao 7 dias quando comparadas ao controle negativo.

Agradecimentos

À Fundação Araucária pela bolsa PIBIC, a Eneri Vieira de Souza Leite Mello e Ana Carolina Guidi, pelo total apoio e suporte durante a realização deste projeto.

Referências

BUENO, F. G. ***Poincianella pluviosa***: estudo da viabilidade celular e proliferação de fibroblastos e queratinócitos *in vitro*, e avaliação da atividade cicatrizante em ratos diabéticos e normoglicêmicos. 2014. 102 f. Tese (Doutorado) - Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Farmácia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2014.

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, p.1-13, 2016.

VALENTINI, S. R.; NOGUEIRA, A. C.; FENELON, V. C.; SATO, F.; MEDINA, A. N.; SANTANA, R. G.; BAESSO, M. L.; MATIOLI, G. Insulin complexation with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: Spectroscopic evaluation of molecular inclusion and use of the complex in gel for healing of pressure ulcers. **International Journal of Pharmaceutics**, v.490, p.229-239, 2015.