

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

ROBERT BRÁULIO ANDRÉ DA CUNHA

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE LESÕES CUTÂNEAS EM RATOS APÓS O
USO DE *Sthriphondentron barbatiman* E *Tanacetum vulgare***

UBERLÂNDIA - MG

2018

ROBERT BRÁULIO ANDRÉ DA CUNHA

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE LESÕES CUTÂNEAS EM RATOS APÓS O
USO DE *Sthriphondentron barbatiman* E *Tanacetum vulgare***

Trabalho de conclusão apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária, curso de
graduação em Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador: Marcio de Barros Bandarra

UBERLÂNDIA – MG

2018

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE LESÕES CUTÂNEAS EM RATOS APÓS O
USO DE *Sthriphondentron barbatiman* E *Tanacetum vulgare***

Robert Bráulio André da Cunha

Trabalho de conclusão de curso 2 apresentado
à Faculdade de Medicina Veterinária, curso de
graduação em Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Márcio de Barros Bandarra

Prof. Dr. Marcelo Emílio Beletti

Prof. Dr. Francisco Cláudio Dantas Mota

UBERLÂNDIA – MG

2018

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por ter sido sempre meu guia e permitido que eu chegasse ao fim dessa graduação.

Aos meus pais, Renner e Sônia e minha mãe Irani, pois sem eles eu não teria a vida e tão pouco a vida boa que eu tenho. Foram pilares na minha formação profissional por todo o apoio estrutural e foram pilares ainda mais na minha formação moral, a partir dos quais eu herdei todas as características de honestidade e bons costumes.

Ao meu querido irmão Richard, por ser esse ser humano ímpar, amável, dedicado, inteligente, tolerante, bonito, e dentre todas as outras qualidades que tem escolheu ser meu irmão e mais do que isso me amar do jeito que sou meu muito obrigado.

A todos os meus tios e tias e familiares, que são maravilhosos e que me toleram das mais variadas formas em todos os encontros de família, em especial meu Tio Romes e minha Tia Joaninha, que sempre foram meus segundos pais.

A todos os meus amigos e amigas, pois sem eles meus dias de graduação não seriam tão leves, ou ressaquiados, digam-se de passagem, vocês são fudas e serem guardados pra vida. Valeu a todos do “Gigantes da resenha”, “Franga na panela”, “Sons of Duentes”, “Zuera never ends”, “Bolearem”, “79ª Medicina Veterinária” e todos os outros que não poderiam ser citados.

A todos os professores da FAMEV e a todos os veterinários que passaram pela minha vida durante a graduação, vocês me ensinaram como ser um profissional qualificado e apaixonado pela profissão. Um agradecimento especial aos Mestres que me deram grandes ensinamentos e possibilidades, Dr. Márcio Bandarra - orientador; Dr. Divagno Barcelos e Dr. Guilherme Sagrillo - Equi Sport Center; Dr. Leozinho de Uberaba – Sincroniza; Dr. Carrara e o Jefferson – Golden Horse, SHB, Dr. Maycon – Equirun, dentre tantos outros que ainda virão no supervisionado e na vida profissional.

E principalmente a todos os animais, em especial os Equinos, que passaram pela minha vida, vocês me fizeram ter um gosto especial pela vida e pela profissão.

Muito Obrigado.

Robert Cunha

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Corte na casca do caule do barbatimão.....	12
Figura 2: Arbusto florido da catinga de mulata.....	13
Figura 3: Anestesia intramuscular com cloridrato de xilazina e cloridrato de ketamina.....	17
Figura 4: Ampla tricotomia da região dorsal e antisepsia.....	18
Figura 5: Padronização da área de lesão, exposição da fáscia muscular e preparação para início do tratamento.....	18
Figura 6: Fotomicrografia de pele de rato. A - observa-se formação crostosa composta por material eosinofílico amorfo acelular (setas) no grupo controle. B - notar discreta formação de crosta (setas) nos animais do grupo 1. HE, obj. 4x.	20
Figura 7: Fotomicrografia de tecido epitelial de rato do grupo tratado no D4. Notar intensa presença de novos vasos sanguíneos (setas). HE, obj. 10x.	21
Figura 8: Fotomicrografia de tecido epitelial de rato do grupo controle no D4. Notar moderada presença de novos vasos sanguíneos (setas). HE, obj. 10x.	21
Figura 9: Fotomicrografia de lesão cutânea em ratos do grupo 1. A - notar infiltrado inflamatório intenso nas biopsias realizadas no D4 (asterisco). B - Observar infiltrado inflamatório discreto nos fragmentos do D11 (asterisco). HE, obj. 40x.	22
Figura 10: Fotomicrografia de lesão cutânea em ratos do grupo controle. A- notar infiltrado inflamatório moderado nas biopsias realizadas no D4 (asterisco). B- Observar infiltrado inflamatório intenso nos fragmentos do D11 (asterisco). HE, obj. 40x.	23
Figura 11: Fotomicrografia de pele de rato do grupo 1. Observar organização tecidual da matriz fibroblástica e colágena (setas). HE, obj. 10x.	24
Figura 12: Fotomicrografia de pele de rato do grupo 1. Observar extensa área de reepitelização cobrindo toda a lesão (setas). HE, obj. 4x.	24
Figura 13: Fotomicrografia de pele de rato do grupo controle. Observar ausência de tecido epitelial por toda extensão da ferida (setas). HE, obj. 4x.....	25

Resumo

A utilização de plantas medicinais para o tratamento e prevenção de doenças é uma prática amplamente aceita na sociedade moderna, sendo utilizada tanto na indústria farmacêutica quanto em centros de pesquisa. O objetivo deste trabalho foi avaliar com exames histopatológicos as propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes da combinação de barbatimão, *Stryphodentrom barbatiman*, e da catinga de mulata, *Tanacetum vulgare*, em lesões cutâneas provocadas na cernelha de ratos, *Rattus norvegicus*. O tratamento das feridas foi feito em dois grupos de ratos, utilizando uma pomada produzida através do extrato hidro-alcoólico da associação das duas plantas em base de lanovaselina. Foi observado que a combinação das plantas teve ação positiva no processo inflamatório e cicatrizante de lesões cutâneas em ratos.

Palavras chave: Barbatimão, catinga de mulata, cicatrização.

|

Abstract

The utilization of medicinal plants for the treatment and prevention of diseases is a practice widely accepted in modern society, being used both on in the pharmaceutical industry and in research centers. The objective of this work is to evaluate through histopathologic exams the anti-inflammatory and healing properties of the combination of Barbatimao, *Tryphodentrom barbatiman*, and Catinga de Mulata, *Tanacetum vulgare*, on cutaneous injuries inflicted on the dorsal region of rats, *Rattus norvergicus*. The treatment of the wounds will be performed on two groups of rats, using a lanovaseline based cream produced with the hydro-alcoholic extract of the association of the two plants. It was observed that the association of the procedures had as objective the inflammatory and cicatricial process of cutaneous lesions in rats.

Keywords: Barbatimao, catinga de mulata, cicatrization.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVO	10
2.2 Objetivos Específicos	10
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	11
3.1 Políticas de utilização de plantas medicinais	11
3.2 Plantas medicinais.....	12
3.2.1 Stryphnodendrom barbatiman	12
3.2.2 Tanacetum vulgare.....	13
3.3 Processos inflamatórios	15
3.4 Reparação tecidual.....	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS	18
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6. CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS.....	28

1. INTRODUÇÃO

Os tratamentos alternativos que utilizam plantas medicinais são cada vez mais procurados, sendo amplamente utilizados pela indústria farmacêutica, centros de pesquisa e pela sociedade. Acredita-se que cerca de 40% de todos os medicamentos disponíveis atualmente seja proveniente de fontes naturais, sendo que 25% é oriundo das plantas (ALVES; SILVA, 2003).

A fitoterapia, utilização de plantas para tratamento de doenças, se enquadra nos novos modelos de desenvolvimento social e econômico, e no crescimento do mercado pet no Brasil, bem como a preocupação com o bem-estar dos animais de companhia, tendo em vista as políticas de utilização de fontes renováveis e conceitos de “heath life”, vida saudável, uma vez que os recursos naturais no País são abundantes, principalmente quando se trata da biodiversidade de plantas medicinais (KLEIN et al., 2009; SCHENKEL; GOSMANN; PETROVICK, 2003).

O barbatimão, *Stryphnodentrom barbatiman*, e a catinga de mulata, *Tanacetum vulgare*, são plantas típicas do cerrado que apresentam, segundo o conhecimento popular, propriedades anti-inflamatórias, cicatrizante e para tratamento de úlceras de pele (SIMÕES, 1999; DOU, 2006; ALONSO, 1998; WILLIAMS et al., 1999).

O bom curso do processo inflamatório, bem como sua resolução, é de suma importância para a melhora dos prognósticos de feridas e tratamentos pós-cirúrgicos (ROBBINS et al., 2003). Contudo, é sabido que a indústria farmacêutica traz, a cada ano, inúmeros produtos com ações anti-inflamatórias, visando o melhor curso deste evento.

No entanto, as terapias alternativas se mostram crescentes no âmbito social como uma forma de tratamento eficaz e com custos mais acessíveis (RATES, 2001). Uma destas terapêuticas, que atualmente é destaque na população humana, refere-se à fitoterapia.

Frente ao exposto, considera-se de extrema importância que sejam realizados estudos dessa terapia alternativa também na Medicina Veterinária, já que o animal doméstico se torna, cada vez mais, membro da família e os cuidados passaram a ser redobrados pelos seus tutores.

Portanto, este trabalho visa contribuir para a literatura veterinária nacional e internacional, acrescentando dados sobre o uso da fitoterapia em animais com o objetivo de auxiliar nos processos inflamatórios.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atuação conjunta das plantas *Stryphnodendrom barbatiman* e *Tanacetum vulgare* como auxiliares no processo inflamatório de lesões cutâneas em ratos.

2.2 Objetivos Específicos

Comparar a evolução do processo inflamatório entre o grupo tratado e o grupo controle dos animais;

Realizar o estudo histopatológico das lesões para avaliação em microscopia de luz para observar a evolução do processo inflamatório em nível celular;

Efetuar a análise dos tipos de células inflamatórias e quantificar o grau de organização dos fibroblastos nas biópsias realizadas.

Avaliar o grau de reepitelização, poder de ação cicatrizante e de reparação tecidual destas plantas em ação conjunta.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Políticas de utilização de plantas medicinais

A utilização de plantas medicinais para cura e tratamento de doenças ocorre desde os primórdios da sociedade humana, seus usos datam mais de 60 mil anos. Atualmente esses tratamentos consistem no uso interno ou externo de vegetais, seja “*in natura*” ou sob a forma de medicamentos para tratamento de doenças. O termo utilizado para este tipo de terapêutica é fitoterapia, que vem do grego, no qual *phyton* significa vegetal e *therapeia* tratamento (ALVES; SILVA, 2003).

Devido à crescente utilização e importância desses tratamentos alternativos, tornou-se necessárias recomendações pelos órgãos competentes, e foi na conferência sobre Atenção Primária em Saúde, em Alma-Ata (Genebra, 1978) que a Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Fundo das Nações Unidas para a Criança (Unicef), recomendaram aos países-membros:

Formulação de políticas e regulamentações nacionais referentes à utilização de remédios tradicionais de eficácia comprovada e exploração das possibilidades de se incorporar os detentores de conhecimento tradicional às atividades de atenção primária em saúde, fornecendo-lhes treinamento correspondente (OMS, 1979).

Nas últimas décadas o crescimento desse seguimento é tamanho que as plantas medicinais passaram a ser amplamente utilizadas em pesquisas farmacológicas, sendo seus constituintes agentes terapêuticos diretos ou matérias-primas para a síntese ou modelos de compostos farmacologicamente ativos. Dos medicamentos atualmente disponíveis, acredita-se que cerca de 40% foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de fontes naturais, sendo que 3% advêm de animais, 25% de plantas, e 12% de microrganismos. Além disso, das 252 drogas consideradas essenciais e básicas para a OMS aproximadamente 11% são originárias de plantas e das drogas prescritas mundialmente 25% vem das plantas (OMS, 1979; RATES, 2001; REZENDE; COCCO, 2002).

Baseando-se nos novos modelos de desenvolvimento social e econômico, em que se prioriza a preservação dos recursos renováveis e tendo em vista que, as potencialidades do uso de plantas medicinais estão longe de serem esgotadas, principalmente no Brasil, um país detentor da maior biodiversidade do planeta, agregado ao valioso conhecimento tradicional, das diferentes culturas e etnias, torna progressivo e vantajoso o desenvolvimento de pesquisas com resultados em

tecnologias e terapêuticas apropriadas (KLEIN et al., 2009; SCHENKEL; GOSMANN; PETROVICK, 2003).

3.2 Plantas medicinais

3.2.1 *Stryphnodendrom barbatiman*

O barbatimão, cujo nome científico é *Stryphnodendrom barbatiman*, é uma árvore decídua, de copa alongada, com 4 a 5m de altura, tronco cascudo e tortuoso, nativa do cerrado. Os frutos são vagens cilíndricas, indeiscentes, de 6,3 a 9cm de comprimento, com grande número de sementes de cor parda, cuja floração ocorre em janeiro. Popularmente conhecida como: barbatimão, abaramotemo, barbatimão-verdadeiro, barba-de-timan, barba-de-timão, barbatimão-vermelho, casca-da-mocidade, casca-da-virgindade, iba-timão, ibatimô, paricarana, uabatimô, ubatima, ubatimô, chorãozinho-roxo, paricana, verna e piçarana (LORENZI; MATOS, 2002).

Na medicina popular é utilizada a casca do caule (Figura 1) como anti-inflamatório e cicatrizante, além do seu uso interno para curar úlceras. Geralmente é feito em mulheres banho de assento, a partir do extrato da casca, para problemas ginecológicos, tais como: inflamações uterinas, doenças venéreas, ferimentos vaginais e hemorroidas (LORENZI; MATOS, 2002; ALMEIDA, 1998).

Quimicamente, o barbatimão é constituído por taninos, alcalóides, amido, flavonoides, proantocianidinas, matérias resinosas, mucilaginosas, corantes e saponinas. Em sua casca contém de 20 a 30% de substâncias tânicas. O papel biológico dos taninos nas plantas tem sido investigado e acredita-se que eles estejam envolvidos na defesa química dos vegetais contra o ataque de herbívoros vertebrados ou invertebrados e contra microrganismos patogênicos (SIMÕES, 1999; DOU, 2006).



Figura 1: Corte na casca do caule do barbatimão. (Fonte: pessoal)

Segundo Ribeiro et, al,. (2015) o barbatimão ainda apresenta inibição ao crescimento de protozoários, incluindo os *Trypanosoma* spp. e as *Leishmania* spp, em animais tratados pelo extrato alcóolico da casca do caule. Foram observadas ações antioxidantes e leishmanicidas sendo concluído que o *S. barbatiman* pode fornecer uma abordagem terapêutica alternativa para a *Leishmania amazonenses*, por exemplo.

3.2.2 *Tanacetum vulgare*

A catinga de mulata, também conhecida popularmente como tanaceto, atanásia, erva dos vermes, e em inglês como “tansy”, tem nome científico *Tanacetum vulgare*, sendo também identificada como *Chrysantemun vulgare L. Bernh*, sinonímia científica. Pertence à família Asteraceae, é um subarbusto perene, caracterizado por apresentar caule ereto, com altura de 0,7 a 1,2m, formando pequenas touceiras. Suas folhas são pecioladas, alternas, compostas, pinadas, glabras, com cerca de 25cm de comprimento. Possui inflorescências em capítulos dispostos em corimbos terminais, com flores de cor amarela (Figura 2). Seus frutos são do tipo aquênio, simples e seco. Nativos de terrenos úmidos da Europa e Ásia, é cultivado como planta ornamental no sul do Brasil, porém se adaptou ao clima do Cerrado (CARVALHO, 2001).



Figura 2: Arbusto florido da catinga de mulata. (Fonte: Acervo pessoal)

As partes aéreas, principalmente as últimas flores e folhas do galho, são utilizadas popularmente na forma de infusão e extrato hidroalcoólico, como carminativo, emenagogo, inseticida, anti-helmíntico, digestivo, antiespasmódico, para afecções na pele, aliviar dores de dente, articulares e musculares (LORENZI; MATOS, 2002; ALONSO, 1998).

Os princípios químicos do *T. vulgare* são encontrados em vários grupos de compostos com atividade biológica comprovada cientificamente, sendo estes os principais: terpenoides, flavonoides e lactonas sesquiterpênicas. Flavonoides isolados desta planta apresentaram atividade anti-inflamatória, *in vitro*, inibindo as enzimas lipooxigenase e ciclooxigenase em leucócitos de ratos. (ALONSO, 1998; WILLIAMS et al., 1999).

O *T. vulgare* é usado na medicina tradicional marroquina como remédio anti-hipertensivo, feito a partir do extrato da planta. Lahlou et al., (2008) investigou a resposta contrátil da aorta de ratos Wistar à altas concentrações de cloreto de potássio (KCl) e noradrenalina no relaxamento do endotélio. Quando o extrato foi adicionado na fase de contração da noradrenalina promoveu um relaxamento rápido de 30% da contração, tendo efeito semelhante quando aplicado às altas concentrações de cloreto de potássio.

3.3 Processos inflamatórios

A inflamação é bem definida como a reação do tecido vivo vascularizado a uma agressão local, tendo como prioridade destruir, diluir, ou imobilizar o agente agressor, estando intimamente ligado ao processo de reparação tecidual, promovendo com o tempo uma série de acontecimentos que, tanto quanto possível, curam e reconstituem o tecido lesado (ROBBINS et al., 2003).

O processo reparatório inicia-se durante as primeiras fases da inflamação, porém esta atinge seu clímax após a influência agressora ser neutralizada. No decurso da reparação, o tecido que sofreu a lesão é substituído através da regeneração de células parenquimatosas nativas ou do preenchimento do defeito com tecido cicatricial fibroblástico e, o que ocorre comumente, a combinação desses dois processos. (MCGAVIN; ZACHARY, 2009; ROBBINS et al., 2003)

Os seres vivos devem aos processos de inflamação e reparação tecidual a sua capacidade de conter as agressões e curar os defeitos. Na ausência destes mecanismos as infecções ficariam sem controle, as injúrias não cicatrizariam e os órgãos lesados poderiam ser transformados em feridas pútridas permanentes.

O processo inflamatório pode ser distinguido em agudo e crônico, porém com seus mecanismos iniciais sendo os mesmos, assim, é diferenciado quanto ao tempo de exposição ao agente agressor, tipo de agente e resposta imune.

Inflamação aguda é a resposta da microcirculação a lesão, de duração relativamente curta, perdurando de alguns minutos a um ou dois dias. Suas principais características são a exsudação de líquido e de proteínas plasmáticas, gerando edema, seguidos de migração de leucócitos, majoritariamente neutrófilos. Essas alterações ocorrem a partir da dilatação das arteríolas aumentando o fluxo sanguíneo e permitindo maior permeabilidade para que ocorra o processo de exsudação. Os sinais clínicos locais da inflamação aguda são calor, rubor, tumor, dor e perda de função. Estes sinais são induzidos por alterações no fluxo e no calibre dos vasos, alterações na permeabilidade e referentes à exsudação leucocitária (ROBBINS et al., 2003; BOGLIOLO FILHO, 2013).

Para que ocorram estes eventos são necessários vários fatores químicos intimamente relacionados, de forma organizada, para que se mantenha o equilíbrio e controle do processo inflamatório. Os mediadores pró-inflamatórios podem ser de origem tissular e de origem plasmática. Dentre os tissulares podem ser encontrados os eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos, e leucotrienos), fator de ativação

plaquetária, aminas vaso ativas (histamina e serotonina), citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-8, TNF- α e IFN- α) e óxido nítrico. Dentre os plasmáticos temos os representados pelo sistema complemento, sistema de coagulação, sistema fibrinolítico e pelas cininas (BOOTHE, 2001; ROCHA, 2001).

Dos mediadores de inflamação tem se os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) que são bastante utilizados na Medicina Veterinária, mas seu uso muitas vezes indiscriminado está associado a uma série de efeitos colaterais, estando a maioria deles relacionados ao sistema renal e ao trato gastrointestinal (BOOTHE, 2001; ROCHA, 2001).

A inflamação aguda pode ter quatro resultados, resolução completa com restauração do local da injúria, cura por fibrose, formação de abscesso quando infecções piogênicas e progressão para inflamação crônica (ROBBINS et al., 2003).

É certo que a transição da aguda para a crônica é muitas vezes difícil de estabelecer, porém clinicamente a inflamação crônica em vários órgãos surge de três formas. A partir da persistência do estímulo iniciado pela inflamação aguda, surtos repentinos de inflamação aguda, na qual o animal sofre ataques sucessivos de febre, edema e dor, e pode surgir quando se inicia de forma paulatina, gerando uma resposta de baixa intensidade (ROBBINS et al., 2003).

A inflamação crônica tem seus pilares nos infiltrados por células mononucleares, destacando os macrófagos, linfócitos e plasmócitos, a proliferação de fibroblastos e de vasos sanguíneos de pequeno calibre, aumento do tecido conjuntivo e por fim destruição tissular (BOGLIOLO FILHO, 2013).

3.4 Reparação tecidual

A cura da lesão tem início pouco depois do começo das alterações inflamatórias, seguindo uma sequência de eventos para que se dê o processo de reparação, o qual no final resulta em reparo ou substituição das células mortas ou danificadas por células saudáveis, este processo é feito a partir da regeneração, substituição das células lesadas por tecido parenquimatoso, ou com a substituição por tecido conjuntivo, gerando uma cicatriz. (ROBBINS et al., 2003)

A cicatrização é um acontecimento complexo que tem por objetivo restabelecer a integridade morfológica e funcional dos tecidos ou órgãos lesados.

Consiste em uma cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a reconstituição do tecido (MARTIN; LEIBOVICH, 2005).

Os processos cicatriciais cutâneos têm como variáveis o tipo de pele, localização anatômica da lesão, idade, estado de saúde e nutricional do animal, alterações cardiocirculatórias e de coagulação, quadros sistêmicos infecciosos, uso de drogas sistêmicas e ressecamento do leito da ferida (MARTIN; LEIBOVICH, 2005).

A regeneração se divide a partir do tipo de célula que sofreu a lesão, pois elas podem ou não ter a capacidade de serem substituídas. As células lábeis se proliferam durante toda a vida do animal, as estáveis reservam tal capacidade – mesmo não se reproduzindo –, e as células permanentes não se reproduzem pós-nascimento. Assim, o processo regenerativo segue a capacidade de reprodução dessas células (ROBBINS et al., 2003).

A reparação por tecido conjuntivo gera o processo de cicatrização que é dividido em primeira e segunda intenção. A cicatrização por primeira intenção ocorre sem contaminação de bactérias e com perda mínima de tecido. Já a cicatrização por segunda intenção decorre da grande perda de células e tecidos, diferindo da cicatrização de primeira intenção pelos grandes defeitos tissulares, grande quantidade de tecido de granulação e, o que é mais evidente, o efeito de contração da ferida (ROBBINS et al., 2003).

O tecido conjuntivo é constituído por células bem diferenciadas e por abundante material intercelular. Este material intercelular é formado pela matriz, constituída por água e por macromoléculas alongadas, como as proteoglicanas, glicosaminoglicanas, glicoproteínas e ácido hialurônico, e os elementos fibrilares são as fibras elásticas, fibras reticulares e fibras colágenas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Esse tecido é responsável pela manutenção da forma do corpo dos animais, sendo que o papel mecânico é dado pelo conjunto de moléculas que conecta as células e órgãos, responsáveis pelo suporte ao corpo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de ética na utilização de animais da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), sob protocolo 126/16.

O experimento foi desenvolvido no Centro de Bioterismo e experimentação animal (CBEA) da Universidade Federal De Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais.

Foram utilizados 20 ratos, *Rattus norvegicus* da linhagem wistar, adultos, hípidos, com peso variando entre 200 e 250 gramas, os quais foram divididos em dois grupos de 10 animais cada, aleatoriamente. Estes foram mantidos em gaiolas de 3 a 4 indivíduos, sob condições controladas de temperatura e luminosidade, cuja alimentação e fornecimento de água foram “*ad-libitum*”.

Os animais foram anestesiados por via intramuscular com cloridrato de xilazina 6mg/kg e cloridrato de ketamina 100mg/kg (figura 3). Em seguida foi realizada a tricotomia da região dorsal de cada animal (figura 4). A lesão foi feita na região de cernelha dos animais, evitando assim o contato com a boca e membros do animal, além de facilitar o manejo das feridas durante o experimento.



Figura 3: Anestesia intramuscular com cloridrato de xilazina e cloridrato de ketamina. (Fonte: Acervo pessoal)

Em todos os animais foi realizado de forma asséptica uma lesão incisa, de formato circular medindo 0,75 centímetros de diâmetro a partir de um “punch” (figura 5). A profundidade foi dada pela retirada da epiderme, derme e hipoderme expondo assim a fáscia dorsal muscular.

A utilização das plantas medicinais foi dada de forma tópica, em forma de pomada feita pelo extrato hidro alcoólico da casca do caule do barbatimão e a partir das folhas e flores dos galhos mais altos da catinga de mulata, utilizando base de

lanovaselina. Ambos os extratos foram associados para a produção da pomada, a qual foi produzida com 5% em peso de cada princípio extraído.



Figura 4: Ampla tricotomia da região dorsal. (Fonte: Acervo pessoal)



Figura 5: Padronização da área de lesão, exposição da fáscia muscular e preparação para início do tratamento. (Fonte: Acervo pessoal)

As plantas utilizadas no experimento foram extraídas da Fazenda Tapira, situada no município de Pratinha, Minas Gerais.

No grupo I (G1) as feridas foram tratadas com a pomada contendo 5% de cada princípio extraído e o grupo controle (GC) foi tratado com pomada placebo, ou seja, sem a utilização de qualquer princípio extraído das plantas propostas ou similares. Os tratamentos foram repetidos diariamente sempre no mesmo período do dia, sem a necessidade de anestesia.

O presente experimento teve duração de 11 dias de tratamento nos ratos, em que no dia 0 (D0) foram realizados os procedimentos cirúrgicos provocando as

lesões circulares nos animais, e as mesmas lesões foram avaliadas e tratadas com as respectivas pomadas durante todo o período de experimentação.

As coletas cutâneas das feridas foram feitas em quatro momentos do experimento, das quais as primeiras coletas foram realizadas no dia 0 (D0), sendo feitas em todos os animais a partir da retirada de tecido saudável. As segundas coletas foram realizadas no dia 04 (D4), sendo feitas em três animais de cada grupo. A terceira amostra coletada foi no dia 07 (D7), também sendo realizada em três animais de cada grupo, e as últimas coletas realizadas foram no dia 11 (D11), estas sendo realizadas em quatro animais de cada grupo, dando fim à experimentação animal deste projeto.

A realização das coletas foi feita após a eutanásia dos animais selecionados, sendo o fragmento para análise retirado com boa margem de tecido saudável, após a retirada cada fragmento foi armazenado em solução de formol tamponado a 10% e fixado por 24 horas. Após a fixação o material foi processado e corado em Hematoxilina e Eosina (HE) de acordo com as técnicas rotineiras do Laboratório de Histopatologia Veterinária da UFU para posterior avaliação em microscópio óptico, e para avaliação da organização dos fibroblastos as lâminas foram coradas com tricômico de Masson.

O sacrifício dos animais foi feito em câmara de dióxido de carbono com posterior deslocamento cervical, conforme aprovação da CEUA, Comissão de ética na utilização de animais, sob protocolo 126/16.

Na avaliação histopatológica foram observados os padrões de formação de crostas, intensidade dos infiltrados inflamatórios, a organização e distribuição das fibras colágenas e a qualidade do processo de reparação tecidual sendo avaliada a reepitelização da ferida.

De forma qualitativa os cinco parâmetros citados acima foram avaliados estabelecendo a classificação de ausente (0), discreto (1), moderado (2), intenso (3).

A partir dos dados obtidos nas avaliações laboratoriais o presente trabalho confrontou os dados entre o grupo tratado (G1) e grupo controle (GC), comparando assim a eficácia e a contribuição da pomada no processo inflamatório e na reparação tecidual das lesões cutâneas dos ratos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram baseados qualitativamente a partir das análises histopatológicas das biópsias realizadas nos dias quatro, sete e onze, sendo comparativas entre o grupo tratado e controle.

Na avaliação macroscópica do processo de reepitelização foi possível constatar que o grupo tratado com o extrato hidro alcoólico do barbatimão e catinga de mulata apresentou vantagens em relação ao grupo controle, pois as feridas exibiram cicatrização superior nos animais tratados, podendo ser observado cicatrização completa em alguns animais no dia D11, enquanto que no grupo controle em todos os animais observou-se feridas ainda abertas.

Na avaliação histopatológica a formação de crostas desprendidas do epitélio no grupo controle foi intensa em todos os dias de avaliação sendo classificadas como grau três, (figura 6A) já o grupo tratado com a pomada apresentou discreta formação de crosta nos três dias de avaliação. (figura 6B)

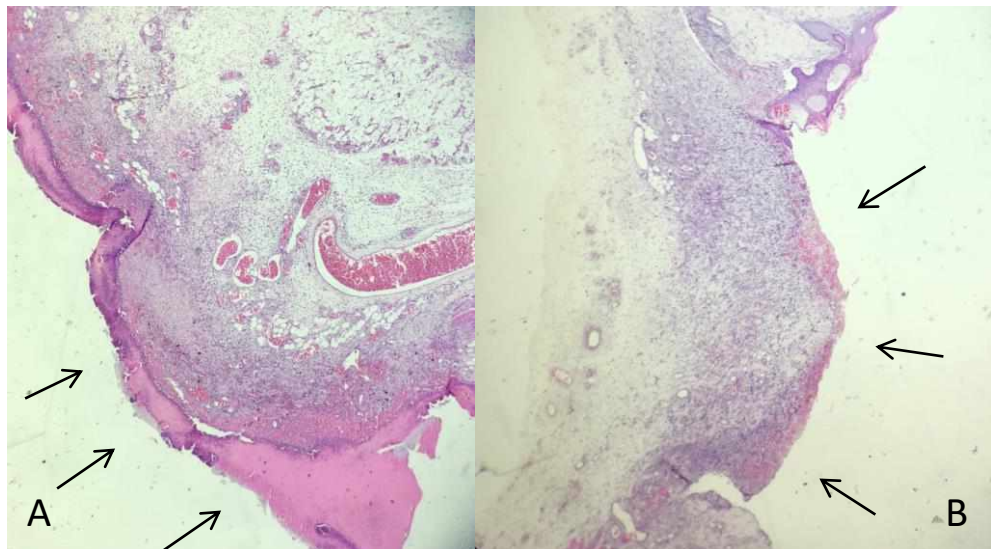


Figura 6: Fotomicrografia de pele de rato. A - observa-se formação crostosa composta por material eosinofílico amorfo acelular (setas) no grupo controle. B - notar discreta formação de crosta (setas) nos animais do grupo 1. D4, HE, obj. 4x. (Fonte: Acervo pessoal)

Ambos os resultados corroboram com Soares, et, al,. (2013) cujo trabalho avaliou a eficácia do processo cicatricial tratando dois grupos de ratos com pomadas à base de babosa e pau-ferro, Aloe vera e Caesalpinia ferrea, respectivamente.

Segundo Andrade (2006) a presença de crosta pode ter vantagens e desvantagens na cicatrização não sendo considerado pré-requisito para a evolução do processo cicatricial. De forma positiva as crostas atuam como barreira física,

protegendo a lesão de contaminação e servindo como bandagem natural, por outro lado pode apresentar aspecto seco e enegrecido retardando a contração da pele e o processo de reepitelização como um todo. Desta forma avaliamos positivamente a discreta formação de crostas no G1, sugerindo que a discreta formação de crostas contribuiu para uma melhor reepitelização no local das lesões.

Em relação à formação de novos vasos o G1 apresentou nos dias D4 e D7 neoformação vascular intensa (figura 7), e reduziu sua intensidade ao final do experimento, já no GC a neovascularização no D4 ocorreu de maneira moderada (figura 8), no D7 se apresentou de forma discreta, porém o número de novos vasos voltou a se intensificar no D11.

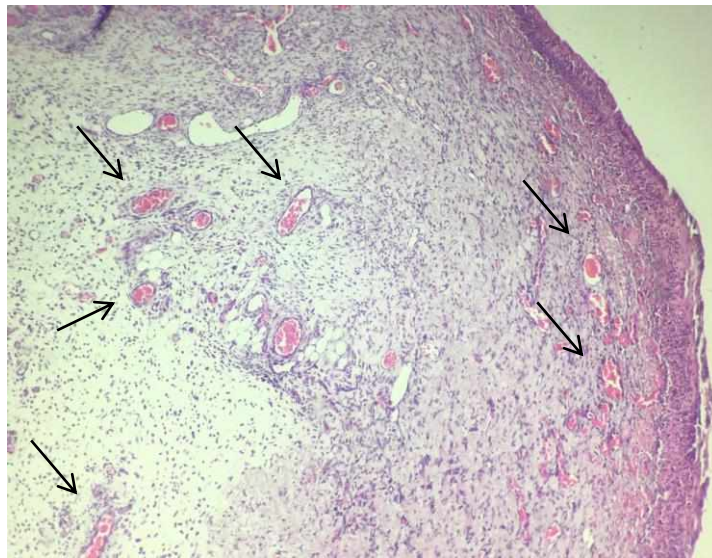


Figura 7: Fotomicrografia de tecido cutâneo de rato do grupo tratado no D4. Notar intensa presença de novos vasos sanguíneos (setas). HE, obj. 10x. (Fonte: Acervo pessoal)

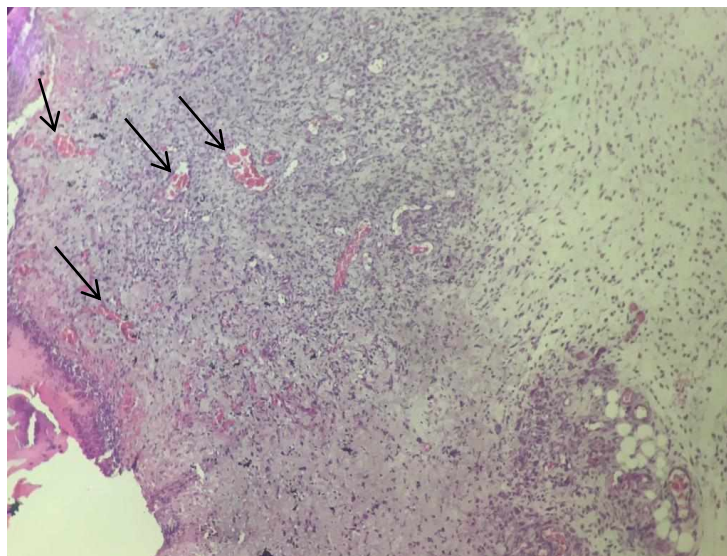


Figura 8: Fotomicrografia de tecido cutâneo de rato do grupo controle no D4. Notar moderada presença de novos vasos sanguíneos (setas). HE, obj. 10x. (Fonte: Acervo pessoal)

Este resultado ocorreu de forma similar no tratamento de feridas cutâneas a partir da utilização de sulfadiazina de prata, extrato de barbatimão e extrato de ipê roxo, realizado por Coelho et, al., (2010) em que a proliferação vascular nos grupos tratados no início do processo inflamatório ocorreu de maneira intensa e reduziu progressivamente os valores encontrados ao final do processo de cicatrização, e no grupo controle ocorreu o inverso, sendo que no dia sete de ambos os trabalhos o GC apresentou discreta vascularização e aumento significativo na segunda semana de experimento.

Quanto à presença de infiltrado inflamatório, a predominância celular foi de mastócitos, macrófagos, neutrófilos e linfócitos, o grupo tratado apresentou inicialmente maior intensidade destes tipos celulares pró-inflamatórios (figura 9A), e nas biópsias subsequentes teve queda na presença destas células, proporcionando assim redução significativa do infiltrado inflamatório (figura 9B).

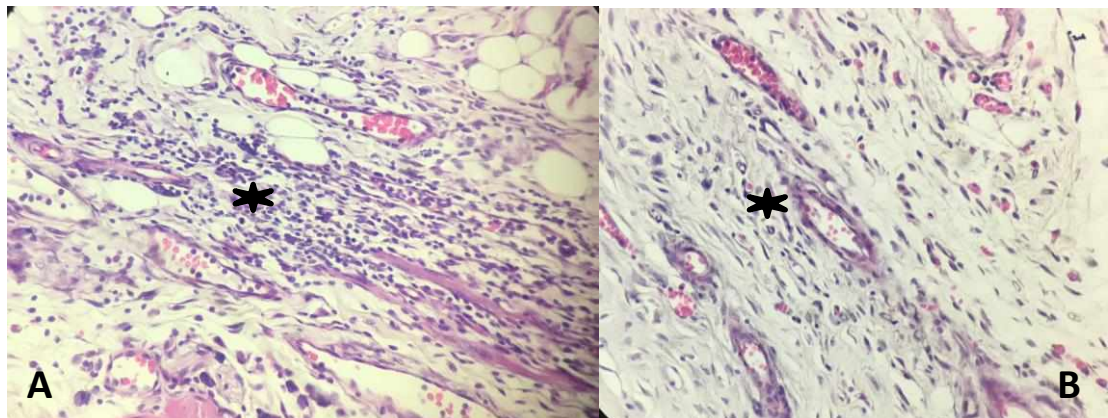


Figura 9: Fotomicrografia de lesão cutânea em ratos do grupo 1. A - notar infiltrado inflamatório intenso nas biópsias realizadas no D4 (asterisco). B - Observar infiltrado inflamatório discreto nos fragmentos do D11 (asterisco). HE, obj. 40x. (Fonte: Acervo pessoal)

Já no grupo controle a presença do infiltrado inflamatório, foi observado de forma crescente evidenciando um processo inflamatório em fase tardia de cicatrização, figura 10, como foi apresentado nos trabalhos de Coelho et, al., (2010) e Gomes et, al., (2006). A presença de neutrófilos e linfócitos encontrados no grupo controle na fase tardia do processo cicatricial sugere atraso no debridamento e comprometimento da evolução da cicatrização e epitelização, isto pode justificar a vantagem no processo de reepitelização do grupo tratado frente ao grupo controle.

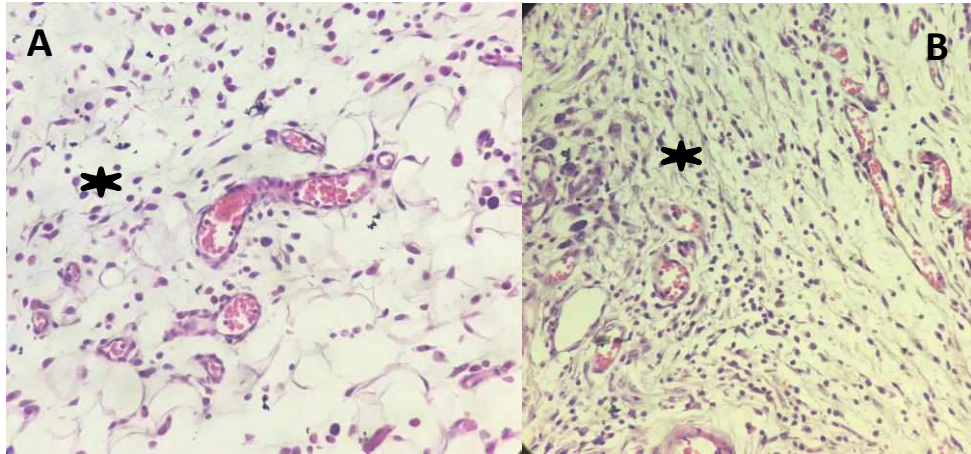


Figura 10: Fotomicrografia de lesão cutânea em ratos do grupo controle. A- notar infiltrado inflamatório moderado nas biópsias realizadas no D4 (asterisco). B- Observar infiltrado inflamatório intenso nos fragmentos do D11 (asterisco). HE, obj. 40x. (Fonte: Acervo pessoal)

Ao analisar os fibroblastos optamos por avaliar tanto a quantidade, quanto o grau de organização tecidual, assim pode-se observar que apesar de grande quantidade de fibroblastos em todas as biópsias do grupo controle não houve remodelação da matriz fibroblástica, adiando a fase de maturação da cicatrização e prejudicando a reepitelização.

No grupo tratado com a pomada a quantidade de fibroblastos foi crescente em relação às biópsias dos dias D4 e D7, e observou-se pronunciada organização tecidual e diminuição do número de fibroblastos no dia D11, figura 11, o que era esperado e corrobora com o trabalho feito por Andrade (2016), visto que esta fase corresponde à fase de maturação da cicatrização tecidual, na qual foi observada boa contração da área de ferida devido à epitelização, caracterizando assim uma cicatrização por segunda intenção. (MADDEN E AREM, 1991)

A reparação tecidual e cicatrização de uma ferida passa por vários processos e é um fenômeno extremamente complexo sendo destaque a regeneração e proliferação das células parenquimatosas evidenciando o processo de reepitelização. (ROBBINS et al., 2003).

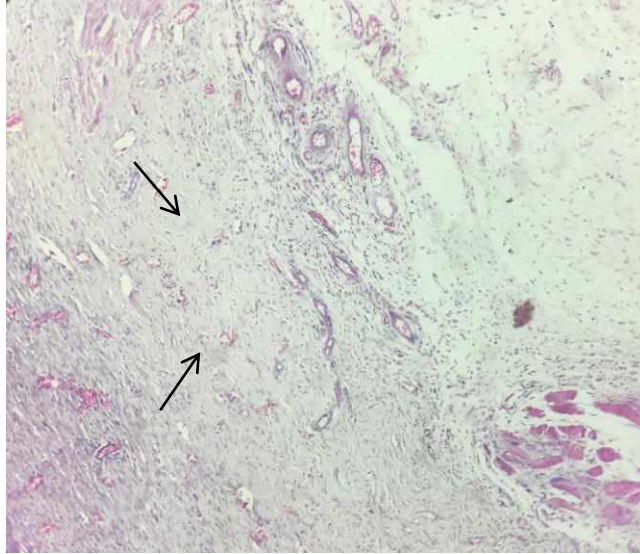


Figura 11: Fotomicrografia de pele de rato do grupo 1 no D11. Observar organização tecidual da matriz fibroblástica e colágena (setas). HE, obj. 10x. (Fonte: Acervo pessoal)

Na avaliação histológica não foi observado início da reepitelização no dia D4 em ambos os grupos, porém este processo pode ser observado no dia D7, no qual apesar de dado início a reepitelização não foi observada diferença notável quanto à intensidade do processo nos diferentes grupos.

Na análise histopatológica do dia D11 houve diferença entre o grupo tratado e o grupo controle, onde o primeiro apresentou três animais com epitelização completa figura 12, e um animal com epitelização no seu estágio final, mas não completa.

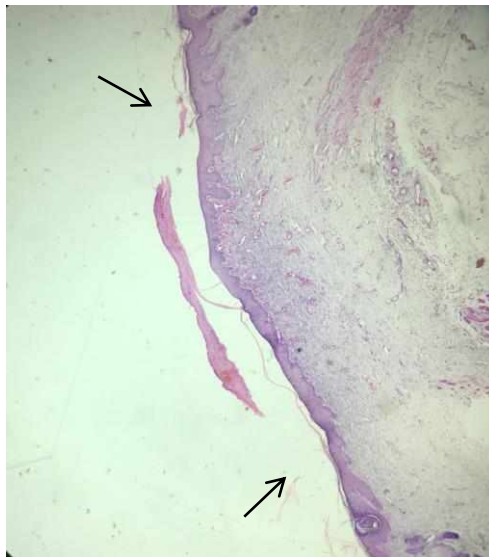


Figura 12: Fotomicrografia de pele de rato do grupo 1 no D11. Observar extensa área de reepitelização cobrindo toda a lesão (setas). HE, obj. 4x. (Fonte: Acervo pessoal)

No GC apenas dois animais avaliados apresentaram epitelização completa, um animal apresentou epitelização parcial e um animal teve resposta bastante tardia de regeneração, não sendo visualizados sinais de reepitelização, figura 14. Tais resultados também foram observados nos trabalhos de Coelho et, al., 2010 e Correa (2010).

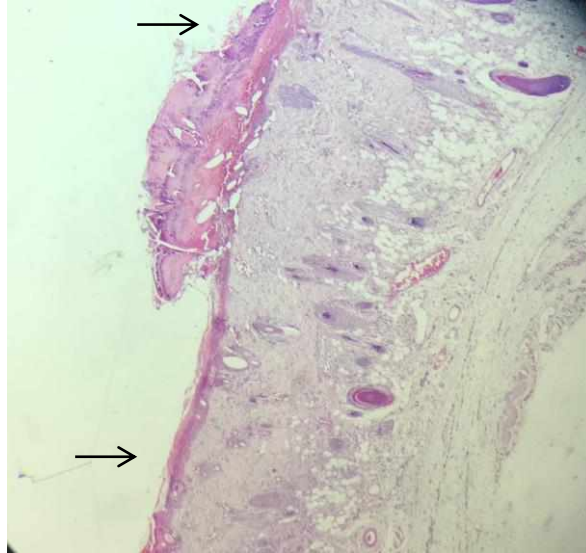


Figura 13: Fotomicrografia de pele de rato do grupo controle no D11. Observar ausência de tecido epitelial por toda extensão da ferida (setas). HE, obj. 4x. (Fonte: Acervo pessoal)

6. CONCLUSÃO

A associação das plantas *Stryphnodendrom barbatiman* e *Tanacetum vulgare* teve ação positiva no processo inflamatório de lesões cutâneas em ratos, visto que auxiliou na neovascularização sugerindo uma maior presença de mediadores inflamatórios. Proporcionou maior organização na proliferação fibroblástica e reduziu o tempo de cicatrização permitindo uma melhor reepitelização quando comparado ao grupo controle.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, J.R., Tratado de fitomedicina: Bases clínicas y farmacológicas, Isis, Buenos Aires, 1998. p. 908-913.
- ALMEIDA, S.P. de. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA - CPAC, 1998. p. 464.
- ALVES A.R.; SILVA M. J. P. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças com até cinco anos em área central e periférica da cidade de São Paulo. Revista Escola de Enfermagem, USP. 2003; 37(4): 85-91.
- ANDRADE, L.S.S. Avaliação terapêutica das pomadas do polissacarídeo *Anacardium Occidentale* L e do extrato em pó da *Jacaratia corumbensis* O. kuntze em feridas cutâneas produzidas experimentalmente em caprinos (*Capra Hircus* L.) Aspectos clínicos, bacteriológicos e histopatológicos. 2006. 85p. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária – Departamento de Medicina Veterinária), Universidade Federal rural de Pernambuco.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 60 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde, 1ª edição).
- BOGLIOLO FILHO, G. B. Patologia geral. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013, p. 234-260.
- BOOTHE, D. M. Anti-inflammatory drugs. In: 40 Ciência Animal, 15(1):33-41, 2005 BOOTHE, D.M. Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001. p. 281-311.
- CARVALHO, L. M. Disponibilidade de água, irradiância e homeopatia no crescimento e teor de partenólídeo em *Artemísia*. Viçosa, 139 p. 2001. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.
- COELHO, J. M. C.; ANTONIOLLI, A. B. A.; SILVA, D. N.; CARVALHO, T. M. M. B.; PONTES, E. R. J. C.; ODASHIRO, A. N.; O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. Rev. Col. Bras. Cir. 2010; 37(1): 045-051
- CORREA, A. C. L.; Avaliação da atividade antiinflamatória da pomada e do extrato etanólico bruto de *equisetum pyramidale* goldn nas lesões cutâneas de ratos não diabéticos e diabéticos no processo de reparação tecidual. Campo Grande, 2010. Tese (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2010.
- Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006. Dispõe sobre a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. Diário Oficial da União (Brasília). 2006.
- GOMES C. S.; CAMPOS A. C. L.; TORRES O. J.M.; VASCONCELOS P. R. L.; MOREIRA A. T.R.; TENÓRIO S. B.; TÂMBARA E. M.; SAKATA K.; MORAES J. H.; FERRER A.L.S.; Efeito do extrato de *Passiflora Edulis* na cicatrização da parede abdominal de ratos: estudo morfológico e tensiométrico. Acta Cir Bras. 2006;21 Suppl 2:7-14.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, p. 500-524.
- Klein T.; Longhini R.; Bruschi M.L.; Mello J. C. P. Fitoterápicos: um mercado promissor. Revista Ciência Farmacológica Básica Aplicada. 2009, 30(3): 241-248
- Lahlou S. et al. Vascular effects of *Tanacetum vulgare* L. leaf extract: In vitro pharmacological study. Journal of Ethnopharmacology, 2008, v.120 p. 98-102

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais do Brasil Nativas e Exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. p. 296.

MADDEN, J.; AREM, A. A cicatrização das feridas, aspectos biológicos e clínicos. In: SABISTON, D. Tratado de cirurgia. 14 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap. 10, v.1, p. 156-158, 1991.

MARTIN, P.; LEIBOVICH, S. J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. Trends Cell Biol., England, 2005, v. 20, p. 20.

MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J.F. Bases da patologia em veterinária. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009, p. 103-143.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE/UNICEF. Cuidados Primários de Saúde. Relatório da Conferência Internacional sobre Cuidados Primários da Saúde, Alma-Ata, URSS, 6 a 12 de setembro de 1978. Brasília: Ministério da Saúde, 1979. 64p.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. Toxicon. 2001; v. 39, p. 603-13. Rezende H. A.; Cocco M. I. M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. Revista Escola de Enfermagem, USP. 2002; 36(3): 282-8.

RIBEIRO et, al. Antileishmanial activity of standardized fractions of *Stryphnodendron obovatum* (Barbatimão) extract and constituent compounds. Journal of Ethnopharmacology. 2015, v. 165 p. 238-242.

ROBBINS, S. L.; KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. Patologia estrutural e funcional. 9ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p. 33-70.

ROCHA, M. F. G. Avanços na Terapia Antiinflamatória Não-Esteróide em Cães e Gatos. Ciência Animal, 2001, v.11, p. 55-59.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira (Org.) et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. rev. ampl. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003, cap. 15, p. 371-400.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia da Planta ao Medicamento. 5. ed. UFRGS Editora, Florianópolis-SC: 1999, p. 1102.

SOARES, J. A.; BARROS, M.; GONÇALEZ, W. P.; CRISCI, A. R.; JORGE, M. H. S.; Avaliação da atividade cicatrizante da *Caesalpinia férrea* ex. TUL. var *ferrea* e da *Aloe vera* (L.) Burm. f. em lesões cutâneas totais em ratos. Perspectiva online: biologia e saúde, Campos dos Goyatacazes, 11 (3), 33-42, 2013.

WILLIAMS, C. A.; HARBORNE, J. B.; GEIGER, H, HOULT, J. R. S. The flavonoids of *Tanacetum parthenium* and *T. vulgare* and their anti-inflammatory properties. Phytochemistry 1999. 51, 417-423.