

MORFOLOGIA E MORFOMETRIA DA REPARAÇÃO TECIDUAL DE FERIDAS CUTÂNEAS DE CAMUNDONGOS TRATADAS COM SOLUÇÃO AQUOSA DE BARBATIMÃO (*STRYPHYNODENDRON BARBATIMAN MARTIUS*)

MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRICAL STUDIES ON TISSUE REPAIR OF MICE CUTANEOUS WOUNDS TREATED WITH BARBATIMAN AQUEOUS SOLUTION (*STRYPHYNODENDRON BARBATIMAN MARTIUS*)

Duvaldo Eurides¹; Alexandre Mazzanti²; Marcelo Emílio Belleti³; Luiz Antônio Franco da Silva⁴; Maria Clorinda Soares Fioravante⁵; Nilo Sérgio Troncoso Neto⁶; Vanderlei Anacleto de Campos⁷; Roberto Cardoso Lemos⁸; Plínio Luiz Silvestrini Junior⁹

RESUMO

Utilizaram-se 48 camundongos (*Mus musculus*), machos, para estudo da reparação tecidual de feridas cutâneas tratadas com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius). Os animais foram submetidos a remoção circular de pele de 10,0mm na região dorsal do tórax e distribuídos em dois grupos para avaliação morfológica e morfométrica das feridas nos períodos de 3, 7, 14 e 21 dias de pós-operatório (PO). Nos animais do grupo I, as feridas não foram tratadas e nas do grupo II, instilou-se diariamente 0,1ml da solução. As feridas dos animais do grupo II no 7° e 21° PO, apresentaram tecido de granulação mais desenvolvido e tornaram-se reparadas no 19° PO em relação as do grupo I, que cicatrizou acima de 21 dias. A utilização tópica de solução aquosa de barbatimão apresentou eficiência significativa no auxílio da reparação cicatricial de feridas cutâneas de camundongos.

¹ Méd. Vet., Prof., Tit, Dr. Medicina Veterinária. Campus Umuarama. UFU - Uberlândia, MG.

² Méd. Vet., Residente. Hospital Veterinário. Medicina Veterinária - UFU

³ Méd. Vet., Prof Assistente, Mestre. Departamento de Morfologia - UFU.

⁴ Méd. Vet., Prof, Adj., Dr. Dpto. Clínica. Escola de Veterinária - EV. UFG.

⁵ Méd. Vet, Prof^a, Assistente, Mestre - EV. UFG.

⁶ Méd. Vet., Prof. Titular. Dr - EV. UFG.

⁷ Economista. Prof, Titular. Fundação Educacional de Ituiutaba, MG.

⁸ Bioquímico, Farmacêutico, Prof, Titular. Dpto. Ciências Fisiológicas - UFU.

⁹ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária - UFU. Bolsista de Iniciação Científica - CNPq.

Palavras-chave: camundongo, ferida, cicatrização, barbatimão.

ABSTRACT

Fourth-eight male mice (*Mus musculus*) were submitted to surgical removal of a circular fragment of skin, with 10,0 mm of diameter, from the dorsal portion of the Thorax. The animals were divided into two groups for morphological and morphometrical evaluation of the wounds, on the 3th, 7th, 14th and 21st days after surgery. The animals on group I did not have their wounds treated and the animals on group II had topic treatment with 0,1 ml of *barbatiman* aqueous solution. The wounds of the animals in group II on the 7th on the 21st days after surgery, showed more intense granulated tissue. On the 19th day after surgery the wounds of the animals on group II were repaired and the mice of group I, had their wounds repaired after the 21st day after surgery. The use of *barbatiman* aqueous topic solution was efficient to help tissue repairment of mice cutaneous wounds.

Key words: Mice, wound, tissue repair, *barbatiman*.

INTRODUÇÃO

A cicatrização de feridas é um processo fisiológico que inicia-se com resposta inflamatória caracterizada pelo aumento de fluxo sanguíneo, permeabilidade capilar e migração de leucócitos para a região lesada. A permeabilidade capilar promove extravasamento de plasma e seus componentes formando o exsudato inflamatório (MODOLIN & BEVILACQUA, 1985). Inicialmente, uma ferida é preenchida por coágulos, fibrinas e exsudato formando uma crosta que a isola do meio ambiente quase que imediatamente (COTRAN, 1989). Os neutrófilos e macrófagos são as primeiras células à migrarem para a região lesada em resposta

do organismo à invasão bacteriana (RUNNELS et al., 1976) e ao fagocitarem as bactérias se degeneram formando o pús com os tecido necróticos (GUYTON, 1991).

O tecido de granulação ao se contrair, retrai as bordas da ferida de pele para o centro da ferida permitindo que a área a ser reepitelizada se torne menor. Quando a granulação é excessiva, ocorre um retardamento da cicatrização. A prevenção pode ser obtida pelo favorecimento de uma cicatrização subcrosta, sendo que a formação da crosta em feridas não exsudativa favorece o processo de cicatrização. O seu aparecimento pode ocorrer pelo uso de várias substâncias, como o tanino. Quando numa ferida persiste o exsudato, ocorre

desagregação da crosta e favorece o desenvolvimento de germes entre ela e o tecido de granulação (OLIVEIRA, 1992).

No tratamento de feridas, tem-se intensificado a pesquisa de produtos naturais para auxiliar a cicatrização, como o óleo de copaíba (CORRÊA, 1984; EURIDES & MAZZANTI, 1995), papaína (SANCHEZ NETO et al., 1993), açúcar (PRATA et al., 1988), colágeno (ABRAMO, 1990), vitamina A (BONDI, 1989).

O barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius) é uma leguminosa, mimosoídea arbórea da flora brasileira encontrada desde o Estado do Pará até o de São Paulo. As cascas são espessas e apresentam efeito adstringente que contém como princípios ativos o tanino, flobafenos e um glicídio solúvel. A sua ação farmacológica como cicatrizante de feridas e úlceras se deve a riqueza de taninos (CORRÊA, 1984; COSTA, 1986). As propriedades adstringentes do barbatimão permitem que as proteínas das células superficiais da mucosa e dos tecidos lesados desprotegidos se precipitem, formando um revestimento protetor contra a multiplicação bacteriana, promovendo uma ação anti-séptica (COSTA, 1986).

Visto a literatura sobre o assunto ser escassa, objetivou-se neste experimento avaliar os aspectos morfológicos e

morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas e não tratadas com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius).

MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta e oito camundongos (*Mus musculus*), adultos, linhagem *albinus* "swis", fêmeas, peso aproximado de 50 gramas foram distribuídos em dois grupos de iguais números, denominados de grupo controle (I) e tratado (II) e em subgrupos de 6 animais para avaliação morfológica e morfométrica das feridas cutâneas nos períodos de 3, 7, 14 e 21 dias de pós-operatório (PO). A indução anestésica dos animais foi feita por inalação com éter etílico em campânula de vidro e a manutenção em máscara de plástico. Após contidos em decúbito ventral sobre uma prancha de madeira, realizou-se com pinça de Halsted tricotomia da região dorsal do tórax. Com um "punch" metálico de 10,0mm de diâmetro delimitou-se uma área na região dorsal do tórax e removeu-se o segmento circular de pele, expondo as fâscias musculares. Decorridos 24 horas de PO, foi instilado diariamente sobre as feridas dos animais do grupo II, 0,1ml de solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius). A solução foi preparada utilizando-se um

recipiente com 20 gramas de casca de barbatimão e 150ml de água filtrada permanecendo em ebulição durante 50 minutos (QUER, 1976).

Nas feridas dos animais do grupo I não se utilizou nenhum tipo de substância medicamentosa. As feridas dos animais do grupo I e II foram diariamente avaliadas e mensuradas com auxílio de um paquímetro até os períodos estabelecidos de PO. Para determinação das áreas das lesões utilizou-se a equação matemática ($A = p.R.r$), onde R corresponde ao raio maior da ferida e r, o menor. Os resultados foram analisados através do teste t de Student fixando $\alpha = 0,05$ ou 5% como nível de rejeição de hipótese de nulidade (FONSECA & MARTINS, 1992).

Decorridos os períodos pré-estabelecidos de 3, 7, 14 e 21 dias de PO, os animais foram sacrificados com inalação de éter etílico para a coleta de fragmentos da lesão, fixados em formol a 10% e submetidos à inclusão em parafina. Os cortes histológicos foram corados pela hematoxilina-eosina (HE),(LUNA, 1968) e tricômico de Masson para estudo histológico da reparação tecidual das feridas tratadas e não tratadas com solução aquosa de barbatimão.

RESULTADOS

Ao exame macroscópico, as feridas dos animais no 3º dia de PO do grupo I, apresentavam-se de coloração vermelho escuro, bordas e área central aumentado de volume de aspecto irregular. As do grupo II mostravam-se com bordas e área central aumentado de volume de aspecto irregular e formação de fina crosta de coloração marrom escuro aderida à lesão.

No 7º dia de PO as feridas dos animais do grupo I apresentavam-se bordas e área central aumentado de volume de aspecto irregulares de coloração vermelho escuro sem a formação de crosta. Nas do grupo II encontrou-se aumento das bordas e área central de aspecto irregulares com presença de espessa crosta e coloração amarronzada.

No 14º dia de PO as feridas dos animais do grupo I, demonstravam bordas e área central aumentadas de volume de aspectos irregulares e crostas de coloração marrom com exsudato purulento. Observou-se nas feridas dos animais do grupo II redução da área central, bordas aumentada de volume e pequena formação de crosta de coloração marrom claro.

As feridas dos animais do grupo I no 21º dia de PO, apresentavam bordas e área central diminuída de volume e crostas de coloração amarronzada e não encontravam-se reparadas permitindo mensurações. Nas

do grupo II, verificou-se que as feridas demonstravam-se reparadas no 19º dia de PO de coloração róseo e com crescimento de pêlos.

Ao exame microscópico das feridas dos animais do grupo I e II no 3º dia de PO notou-se crosta fibrino leucocitária, tecido de granulação, células polimorfonucleares de igual intensidade e ausência de fibras colágenas.

No 7º dia de PO, verificou-se nas feridas dos animais do grupo I e II, crosta fibrino leucocitária desenvolvida, porém as do grupo II demonstravam tecido de granulação desenvolvido com predomínio de fibras colágenas e células polimorfonucleares em relação as do grupo I (Figura 1).

No 14º dia de PO, observou-se no local da lesão dos animais do grupo II, crosta fibrino leucocitária, polimorfonucleares, fibras colágenas e tecido de granulação desenvolvido semelhante as feridas dos animais do grupo I. A reepitelização das feridas dos animais do grupo I e II no 3º, 7º e 14º dias demonstravam-se aparentemente iguais.

As feridas no 21º dia de PO dos animais do grupo II apresentavam-se reparadas e reepitelizadas. Em microscopia óptica o tecido de granulação encontrava-se desenvolvido com predomínio de fibras

colágenas em relação as do grupo I (Figura 2).

Verificou-se que a média das áreas feridas dos animais do grupo I no 3º dia de PO foi maior que as do grupo II. No 7º dia de PO, a média inverteu-se tornando-se menor que a do grupo II. No 14º e 21º dias de PO, a média das áreas dos animais do grupo I permaneceu maior que as do grupo II, encontrando-se reparadas após o 21º dia de PO (Tabela 1 e Figura 03).

DISCUSSÃO

Ao estudo macroscópico verificou-se que o aumento de volume da área central e o aspecto irregular das feridas dos animais do grupo I e II, no 3º, 7º e 14º dias de PO, foi devido a presença de crosta fibrino leucocitária, coincidindo com as observações feitas por (COTRAN, 1989). Uma ferida ao sofrer agressões é isolada do meio ambiente após ser preenchida por coágulos, fibrinas e exsudato, formando uma crosta.

Foi relatado por RUNNELS et al. (1976), que os neutrófilos e macrófagos ao fagocitarem grandes quantidades de bactérias se degeneram, e associado à tecido necróticos (GUYTON, 1991) promove a formação de pus. Este fato foi observado nas feridas dos animais do grupo I no 14º dia de PO com grandes quantidades de secreção purulenta. Já nas

feridas do grupo II não constatou-se formação de pus, coincidindo com as observações feitas por COSTA (1986). As propriedades adstringente do barbatimão provavelmente permitiu a precipitação de células e de tecidos lesados formando um revestimento protetor contra as bactérias promovendo uma ação anti-séptica.

No 3º dia de PO da reparação tecidual, foram encontrados em ambos os grupos crosta fibrino leucocitária e tecido de granulação, demonstrando pouca ação da solução aquosa de barbatimão sobre a cicatrização.

A fase inicial da reparação de uma ferida é caracterizada pelo aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade capilar, extravasamento de plasma e de células polimorfonucleares (MODOLIN & BEVILACQUA, 1985). Neste experimento verificou-se que o processo inflamatório foi mais evidente nas feridas dos animais do grupo II, no 7º dia de PO. Provavelmente a solução de barbatimão atuou como agente hiperimizante desencadeando maior resposta inflamatória que as feridas dos animais do grupo I.

Foi comentado por OLIVEIRA (1992), que a formação de crosta em uma ferida não exsudativa favorece o processo de cicatrização e o exsudato promove a desagregação da crosta e desenvolvimento de microorganismos. Neste experimento, no

entanto, observou-se crosta fibrino leucocitária nas feridas dos animais do grupo I e II no 3º, 7º e 14º dias de PO e exsudato purulento somente nas feridas dos animais do grupo I no 14º dia de PO. Porém, a cicatrização ocorreu mais cedo nas feridas dos animais do grupo II, tornando-se reparadas no 19º dia de PO. Provavelmente a solução aquosa de barbatimão não permitiu que as feridas apresentassem exsudatos favorecendo uma cicatrização subcrosta mais eficiente, auxiliando no processo de reparação.

Nas feridas abertas o tecido de granulação favorece a migração epitelial sobre si e ao se contrair, retrai as bordas da ferida de pele permitindo que a área a ser reepitelizada se torne menor (OLIVEIRA, 1992). Neste experimento, observou-se tecido de granulação mais desenvolvido nas feridas dos animais do grupo II no 7º e 21º dias de PO em relação as do grupo I e epitelização completa nas do grupo II no 21º dia de PO. A solução aquosa de barbatimão provavelmente favoreceu maior desenvolvimento de tecido de granulação, porém sem excesso, contribuindo para que a área a ser reepitelizada fosse menor permitindo a reparação da ferida no 19º dia de PO.

Foi observado por BERGMAN (1983), que as áreas das feridas cutâneas de ratos tratadas com mel era sempre menor

em relação as não tratadas. Nesta pesquisa, no entanto, as médias das áreas das feridas tratadas com barbatimão foram menores no 3º, 14º e 21º dias de PO e maior no 7º dia de PO. Apesar do aparente prejuízo da cicatrização no 7º dia de PO, teve-se com resultado final reparação cicatricial no 19º dia de PO, enquanto que as do grupo I, ocorreu após o 21º dias de período preestabelecido. Sugere-se que a solução de barbatimão demonstrou sua ação de forma mais significativa a partir do 7º dia de pós-operatório.

A reparação das feridas tratadas dos animais do grupo II foi mais precoce que as do grupo I. Pela análise estatística adotando teste t de Student (FONSECA & MARTINS, 1992), verificou-se nos animais do grupo II de 21 dias de PO diferença significativa na reparação cicatricial das feridas, demonstrando que o emprego do barbatimão em solução aquosa na reparação de feridas cutâneas de camundongos foi eficiente, visto que as feridas dos animais do grupo II no 21º PO encontravam-se reparadas em relação as do grupo controle (Tabela 1e Gráfico 1).

CONCLUSÕES

As feridas dos camundongos tratadas com solução aquosa de barbatimão apresentam tecido de granulação mais desenvolvido no 7º dia de PO e 21º dia de

PO em relação as do grupo controle, sem presença de exsudato purulento e com possível atividade bactericida ou bacteriostática.

A solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius) auxiliou significativamente na reparação de feridas cutâneas de camundongos.

REFERÊNCIAS

ABRAMO, A. C. Análise biológica da atuação da lâmina esponjosa de colágeno heterólogo sobre o tecido de granulação. São Paulo, 1990. 130p. Tese (Doutorado). Disciplina de Cirurgia Plástica, Escola Paulista de Medicina.

BERGMAN, A.; YANAI, J.; WEISS, J. et al. Acceleration of wound healing by topical application of honey. *Am. J. Surg.*, v. 145, p. 374-375, 1983.

BONDI, F. E. Topical tretionoin therapy. *Am. Fam. Physician*, v. 39, n. 1, p. 269-272, 1989.

CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. v. 3, p. 267-269.

COSTA, A. F. Farmacognosia. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 1986. 1031p.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L. Robbins patologia estrutural e funcional. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1989. 1231p.

EURIDES, D.; MAZZANTI, A. Aspectos morfológicos, morfométricos e histológicos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de copaíba (*Copaifera langsdorfii*). Estudo Experimental. Uberlândia: Curso de Medicina Veterinária. 1995. 11p. Trabalho (Graduação em Medicina Veterinária).

FONSECA, J. S.; MARTINS, G. A. Curso de estatística. 3. ed. São Paulo: Atlas, 1992. 286p.

GUYTON, A. C. Tratado de fisiologia médica. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 864p.

LUNA, L. G. Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3. ed. New York: McGraw Hill, 1968. 238p.

MODOLIN, M.; BEVILACQUA, R. G. Cicatrização das feridas. Síntese das aquisições recentes. Rev. Bras. Clin. Ter., v. 14, n. 6, p. 208-213, 1985.

OLIVEIRA, H. P. Traumatismos nos animais domésticos. Cad. Téc. Esc. Vet., v. 1, n. 7, p. 01-57, 1992.

PRATA, M. G.; HADDAD, C. M.; GOLDEMBERG, G. S.; et al. Uso tópico do açúcar em feridas cutâneas. Estudo experimental em ratos. Acta. Cir. Bras., v. 3, n. 2, p. 43-48, 1988.

QUER, P.F. Medicamenta. Barcelona: Labor, 1976. 1736p.

RUNNELS, A. R.; MONLUX, V. S.; MONLUX, A. W. Princípios de patologia veterinária; anatomia patológica. Cidade del Mexico: Editorial Continental, 1976. p. 723-274.

SANCHEZ NETO, R.; BARONE, B.; TEVES, D. C.; et al. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. Acta. Cir. Bras., v. 8, n. 1, p. 18-23, 1993

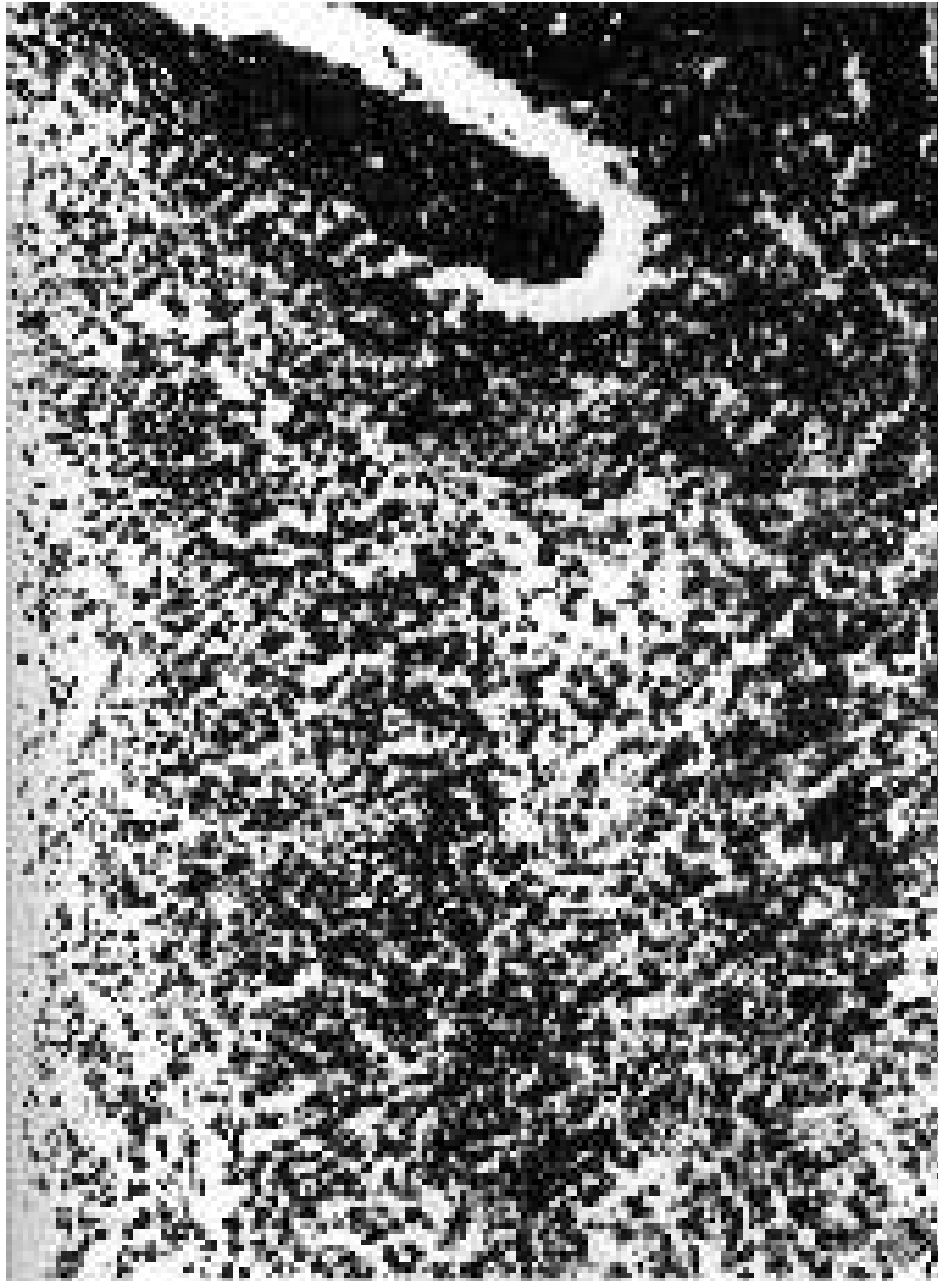


FIGURA 1 - Aspecto histológico da reparação tecidual da ferida cutânea de camundongo no 7o dia de PO tratada com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius). Nota-se crosta fibrino leucocitária (A), reepitelização (B) e tecido de granulação desenvolvido com predomínio de fibras colágenas e polimorfonucleares (C).



FIGURA 2 - Aspecto histológico da reparação tecidual da ferida cutânea de camundongo no 21° dia de PO tratada com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius). Nota-se epitelização completa (A) e tecido de granulação com predomínio de fibras colágenas (B).

TABELA 1 - Média das áreas das feridas cutâneas (mm²) de camundongos no 3°, 7°, 14° e 21° dia de pós-operatório nos grupos controle (I) e tratado (II) com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius).

	3° dia PO		7° dia PO		14° dia PO		21° dia PO	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Média	88,24	80,00	60,10	61,59	58,24	56,30	2,68	0
DP	10,10	10,75	9,76	2,05	2,29	22,89	1,19	0

0 = Cicatrizados

DP = Desvio Padrão

Teste t de Student

Tratado x Controle

$$T_{\text{critico}} = 2,02$$

3° dia

7° dia

14° dia

21° dia

$$T_{\text{calculado}} = 0,97$$

$$T_{\text{calculado}} = 0,17$$

$$T_{\text{calculado}} = 0,16$$

$$T_{\text{calculado}} = 2,96$$

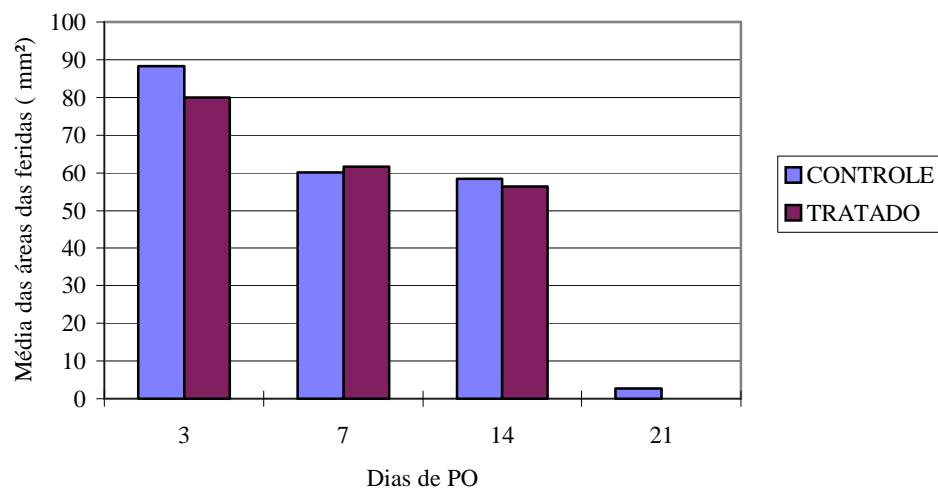


Gráfico 1 - Representação gráfica da média das áreas das feridas de camundongos do grupo tratado com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius) e do grupo controle.