

**INSTITUTO METROPOLITANO DE ENSINO SUPERIOR
UNIÃO EDUCACIONAL DO VALE DO AÇO**

Bruno El Bazi

Eliseu Bomfá Santos Júnior

Jéssica Maria Gomes de Faria

João Victor Campos Pereira Fialho

POTENCIAL DE CICATRIZAÇÃO DA *Psidium guajava* L. E *Myrciaria cauliflora* EM FERIDAS CUTÂNEAS: AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA EM ESTUDO DE MODELO EXPERIMENTAL

IPATINGA

2018

Bruno El Bazi
Eliseu Bomfá Santos Júnior
Jéssica Maria Gomes de Faria
João Victor Campos Pereira Fialho

POTENCIAL DE CICATRIZAÇÃO DA *Psidium guajava* L. E *Myrciaria cauliflora* EM FERIDAS CUTÂNEAS: AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA EM ESTUDO DE MODELO EXPERIMENTAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Metropolitano de Ensino Superior – IMES/Univão, como requisito parcial à graduação no curso de Medicina.

Orientadora: Prof. Dra. Jaqueline Melo Soares
Co-orientadora: Prof. Dra. Analina F. Valadão
Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo Ramos P. de Lima

IPATINGA

2018

POTENCIAL DE CICATRIZAÇÃO DA *Psidium guajava* L. E *Myrciaria cauliflora* EM FERIDAS CUTÂNEAS: AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA EM ESTUDO DE MODELO EXPERIMENTAL

Bruno El Bazi¹, Eliseu Bomfá Santos Júnior¹, Jéssica Maria Gomes de Faria¹, João Victor Campos Pereira Fialho¹, Analina Furtado Valadão², Leonardo Ramos Paes de Lima² & Jaqueline Melo Soares³

-
1. Acadêmico do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil
 2. Docente do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil. Co-Orientador do TCC.
 3. Docente do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil. Orientador do TCC.

Resumo

Introdução: O uso de plantas na medicina fitoterápica é uma alternativa à medicina tradicional, tendo em vista seus efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos e antioxidantes, potencialmente eficazes no auxílio do processo cicatricial. **Objetivo:** O estudo busca avaliar, por meio de análise histológica, o potencial cicatrizante dos extratos aquosos da casca do caule de *Psidium guajava* e da folha da *Myrciaria cauliflora* em feridas de segunda intenção em ratas *Wistar*. **Método:** Foram utilizadas 20 ratas *Wistar*, distribuídas aleatoriamente em quatro grupos de 5 animais, com tratamento tópico diário das lesões: Controle Positivo (CP) - solução aquosa de Bepantol® 5%; Controle Negativo (CN) - água bidestilada estéril; e Grupos Experimentais (GO) - extrato aquoso da casca do caule da goiabeira 10% e (JU) - extrato aquoso da folha da jabuticabeira 1 g/mL. Os fragmentos histológicos foram recolhidos nos dias 5 e 10 do experimento, fixados em formalina e encaminhados ao Laboratório de Patologia da Universidade Federal São João del-Rei. O material foi emblocado, recortado em micrômetro e corado em HE. As lâminas foram analisadas por microscopia óptica com aumentos de 4 e 40x. **Resultados:** No grupo CP, foi observado tecido em processo de cicatrização com vasta vascularização. Quando comparado ao grupo CN, percebe-se uma aceleração do reparo com uso do Bepantol®, possibilitando reepitelização mais rápida e menor quantidade de células inflamatórias agudas. Nos animais JU, aos 10 dias, sugere-se processo de reparo mais rápido que os demais tratamentos, com boa vascularização e pouca inflamação. No grupo GO, todos os animais estavam reepitelizados aos 5 dias, sendo que aos 10 dias foi sugestiva a formação de cicatriz menor que a dos demais grupos, com deposição de fibras de colágeno mais próxima da pele intacta. **Conclusão:** Conclui-se que não houve diferença significativa no processo cicatricial dos quatro grupos, porém cada um possui características próprias. As mudanças são muito sutis, mas sugere-se uma melhora do processo cicatricial do grupo tratado com goiabeira. Para investir nesse modelo experimental, é necessário tempo mais prolongado com o tratamento, de forma a avaliar especialmente a deposição de matriz extracelular.

Palavras-chave: Cicatrização de feridas. Fitoterapia. Histologia.

Introdução

A pele é constituída por três camadas: a epiderme, camada mais superficial constituída por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado; a derme, tecido conjuntivo de suporte elástico, composta por fibroblastos e matriz extracelular, células imunológicas, vasos sanguíneos e terminações nervosas; e a hipoderme, a camada subcutânea, composta por vasos, nervos, glândulas e tecido adiposo (ROSSI et al., 2018). É o maior órgão do corpo humano e a principal barreira contra ameaças físicas e biológicas; portanto, a capacidade de reparação da pele é essencial para manter a integridade do organismo.

O processo de cicatrização envolve uma série de mecanismos em três fases ou períodos sobrepostos: fase inicial, exsudativa ou inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelação ou maturação tecidual. Cada uma é caracterizada macro e microscopicamente pela presença de infiltrados de células em locais específicos, que ocorrem de forma integrada e coordenada por mediadores químicos, fenômeno que macroscopicamente se caracteriza pelo tecido reparado (TRESVENZOL et al., 2013; SILVA, 2016).

Conforme Freitas (2014), a fase inflamatória inicia-se logo após a lesão do tecido e dura cerca de três a sete dias; inicialmente ocorre a hemostasia da lesão por ação das plaquetas e cascata de coagulação e, a seguir, surgem as células inflamatórias. Os primeiros tipos celulares que aparecem são os neutrófilos (polimorfonucleares), consideradas células da fase aguda da inflamação, pois possuem meia vida mais curta e pico de atividade nas primeiras 24-48 horas da lesão; nos dias seguintes, há maior aporte de macrófagos, linfócitos e plasmócitos, consideradas células inflamatórias crônicas (MEDEIROS; DANTAS-FILHO, 2016).

A fase proliferativa tem início por volta do terceiro dia e pode durar de 14 a 21 dias. Nesse período, ocorrem quatro importantes eventos: a angiogênese - formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes; a fibroplasia - substituição do tecido de granulação (infiltrado inflamatório e neovasculatura) por matriz extracelular a partir da ação dos fibroblastos; a contração da ferida - reaproximação das bordas por ação dos miofibroblastos; e a epitelização - proliferação e migração de células endoteliais para a formação de novo epitélio (TARDELLI; SOUTO, 2011; ROSSI et al., 2018).

A fase final da cicatrização é a de maturação ou remodelamento do colágeno, que se inicia após a reepitelização completa da ferida por volta da terceira semana após a lesão e pode durar meses a anos (FREITAS, 2014). Nessa fase, o tecido de granulação é substituído por tecido cicatricial de fato. As células das fases anteriores sofrem apoptose, a matriz provisória é substituída por colágeno tipo I, e as fibras colágenas se alinham de maneira a aumentar a força tênsil do tecido reparado, o mais próximo possível ao tecido original (MEDEIROS; DANTAS-FILHO, 2016).

Pensando no melhor tratamento das feridas, muitos estudos e experimentos são realizados para alcançar um produto eficiente que tenha bons resultados no processo de cicatrização, com custo-benefício satisfatório e acessível à população geral, tornando o uso de recursos naturais uma alternativa promissora para esses fins (SILVA, 2016).

Segundo Damasceno et al. (2016), a flora brasileira, por possuir grande biodiversidade vegetal, favorece o estudo de extratos que podem contribuir na ampliação do conhecimento da medicina fitoterápica. Pertencentes à família *Myrtaceae*, os gêneros *Psidium* e *Myrciaria* são de vasta distribuição no país e destacam-se no âmbito fitoterápico devido a seus diversos compostos fenólicos e derivados polioxigenados que possuem efeitos antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiano (BALDIN, 2016).

Observando-se as diversas aplicações das plantas no cenário medicinal, o estudo aqui descrito teve por finalidade a avaliação histológica do potencial cicatrizante do extrato aquoso de cascas do caule de *Psidium guajava* L. e do extrato aquoso da folha da *Myrciaria cauliflora* em feridas de segunda intenção em ratos Wistar.

Método

Aspectos Éticos

Para a realização deste estudo, foram seguidas as premissas do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal) e protocolos aprovados pelo CRMV (Conselho Regional de Medicina Veterinária). Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/IMES-Univago (CEUA/IMES) sob protocolo nº 01.001.13.

Coleta e identificação das plantas

Ramos das espécies *P. guajava* e *M. cauliflora* foram coletados no Sítio Jardim Fechado, Córrego do Monjolo, no município de Santana do Paraíso - Minas Gerais, cujas coordenadas são 19° 22' 9" S e 42° 33' 43" W. Os ramos foram removidos com auxílio do podão, colocados em bandejas plásticas, individualmente, para o transporte. O material coletado foi enviado para o Herbário do Centro Universitário do Leste de Minas Gerais, para identificação botânica e preparo dos extratos. As exsiccatas foram incorporadas ao acervo da instituição.

Partes selecionadas de cascas do caule da *P. guajava* foram secas em estufa de ventilação forçada, a 60 °C, por 48 horas, enquanto as folhas de *M. cauliflora* foram secas a 45 °C, por 7 dias. O procedimento foi realizado para retirada da água e, com isso, impedir reações de hidrólise e crescimento de microrganismos. Posteriormente foram trituradas em moinho de faca e tamisados a 20 mesh.

Preparo do extrato aquoso

Para o preparo dos extratos, foram utilizadas 20 g da planta (casca do caule da goiabeira tamisada ou folha da jabuticabeira tamisada) para cada 150 mL de água destilada. Cada preparação foi fervida por 60 minutos. Após esse período, foram submetidos à filtração. O filtrado, extrato aquoso, foi concentrado em evaporador rotatório para concentração do extrato até aproximadamente 10% do volume inicial. O extrato foi armazenado em frasco escuro e mantido refrigerado em temperatura de até 10 °C.

A escolha por extrato aquoso tem como base a menor interferência nos resultados, uma vez que a utilização do extrato alcoólico pode promover a desidratação tecidual e dermatites, induzindo alterações no processo cicatricial (PEDERSEN et al., 2005).

Grupos Experimentais

Foram utilizadas 20 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) adultas, pesando aproximadamente 250 g, fornecidas pelo biotério do IMES. Durante as etapas experimentais, os animais foram mantidos no biotério, acomodados em caixas apropriadas de polipropileno, com um animal por caixa em condições de temperatura

e umidade controladas, ciclos noite/dia bem definido, ração própria para a espécie e água “*ad libitum*”. Respeitou-se o período de aclimação de sete dias antes do início do experimento.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de 5 animais: Controle Positivo (CP) - solução aquosa de Dexpantenol 5% (Bepantol® 5%); Controle Negativo (CN) (água bidestilada estéril) e Grupos Experimentais (GO) (extrato aquoso da casca do caule da goiabeira 10%) e (JU) (extrato aquoso da folha da jabuticabeira 10%).

Produção da ferida cutânea

Antes da produção das feridas, cada animal foi pesado e identificado na cauda, utilizando uma caneta dermatográfica. Identificou-se o número do animal e o grupo experimental. Posteriormente foram alojados em caixas individuais também etiquetadas com a identificação do animal e do grupo experimental. A ferida cutânea foi realizada sob anestesia por meio da aplicação intraperitoneal de ketamina a 10% (80 mg/Kg/animal) e xilazina a 2% (15 mg/Kg/animal) (Figura 1A). Após anestesia, foi realizada tricotomia no dorso do animal e antissepsia da região com solução de álcool iodado a 2%.

A incisão cirúrgica foi feita com auxílio de punch de 6 mm, utilizando-se a linha média como referência, incluindo a epiderme, derme e a fáscia conjuntiva do dorso do animal (Figura 1B). A profundidade do ferimento da pele foi padronizada em função da visualização do plano muscular. Foram feitas duas excisões cirúrgicas, na região torácica, sendo uma de cada lado da linha média (Figura 1C). As feridas foram confeccionadas na região torácica esquerda e direita com o intuito de dificultar interferências (lambadura e mordedura). Para analgesia, os animais receberam pós-procedimento cirúrgico solução aquosa de dipirona sódica (1 gota/100 mL).



Figura 1- Etapas do procedimento cirúrgico de produção das feridas. A- Procedimento anestésico; B- Produção da ferida (Punch 6mm); C- Ferida incisional.

Tratamento

Após o procedimento cirúrgico, todas as feridas de cada grupo experimental foram tratadas com aplicação tópica de 100 µL/ferida com as soluções propostas; água bidestilada estéril (CN); Dexpanthenol 5% líquido (CP); extrato aquoso de *Psidium Guajava L.* 10% (GO) e extrato aquoso da folha de *M. cauliflora* 10% (JU), conforme o grupo ao qual pertenciam. Todos os animais receberam tratamento diário por um período de dez dias.

O uso da água bidestilada como controle negativo fundamentou-se na sua pouca interferência na lesão e sua ampla utilização em estudos de cicatrização em ratos (GARROS et al., 2006; BATISTA et al., 2014).

A escolha do Dexpanthenol 5%, como controle positivo, deveu-se ao uso desse medicamento em diversas pesquisas semelhantes. Esse alivia o prurido e auxilia a cicatrização de lesões de pele por estimular a epitelização e granulação em eczemas e dermatoses discretos, picadas de insetos e escoriações de pouca gravidade (KOROLKOVAS, 2006; MARTORELLI et al., 2011).

Para realização do experimento, escolheram-se ratas da linhagem Wistar devido à facilidade de manuseio, de acomodação e à maior resistência aos processos infecciosos (GARROS et al., 2006).

Eutanásia

No quinto e décimo dias após o procedimento cirúrgico, os animais foram eutanasiados por sobredose da associação anestésica de ketamina e xilazina. As carcaças foram coletadas por empresa especializada no gerenciamento e destinação de resíduos biológicos.

Análise microscópica da ferida

A análise microscópica foi realizada por meio do estudo histológico dos fragmentos, os quais foram recolhidos nos dias 5 e 10 do experimento com uso de punch de 6 mm. Os fragmentos foram fixados em formaldeído (formol a 10%), com amostragem identificada de todos os animais, para que as áreas cicatriciais pudessem ser conferidas inteiramente.

O material foi encaminhado para o Laboratório de Patologia da Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) e submetido a processamento histológico, incluído em parafina, recortado na espessura de 2 micrometros (duas micras) e corado com Hematoxilina e Eosina (HE).

As lâminas obtidas foram analisadas mediante microscopia de luz, com objetivas de 4 e 40x. Foram avaliados a presença de células inflamatórias, fibroblastos e tecido conjuntivo e realizada análise qualitativa do processo cicatricial.

Resultados

O processo cicatricial, visivelmente, mostrou-se similar em todos os grupos durante o experimento. No décimo dia, as feridas de todos os animais dos quatro grupos apresentavam fechamento completo. Não houve intercorrências graves a relatar, como óbito, sinais de infecção ou presença de secreção purulenta nas lesões. Na Figura 2, fotos ilustrativas do processo de cicatrização, comparando-se os quatro grupos.

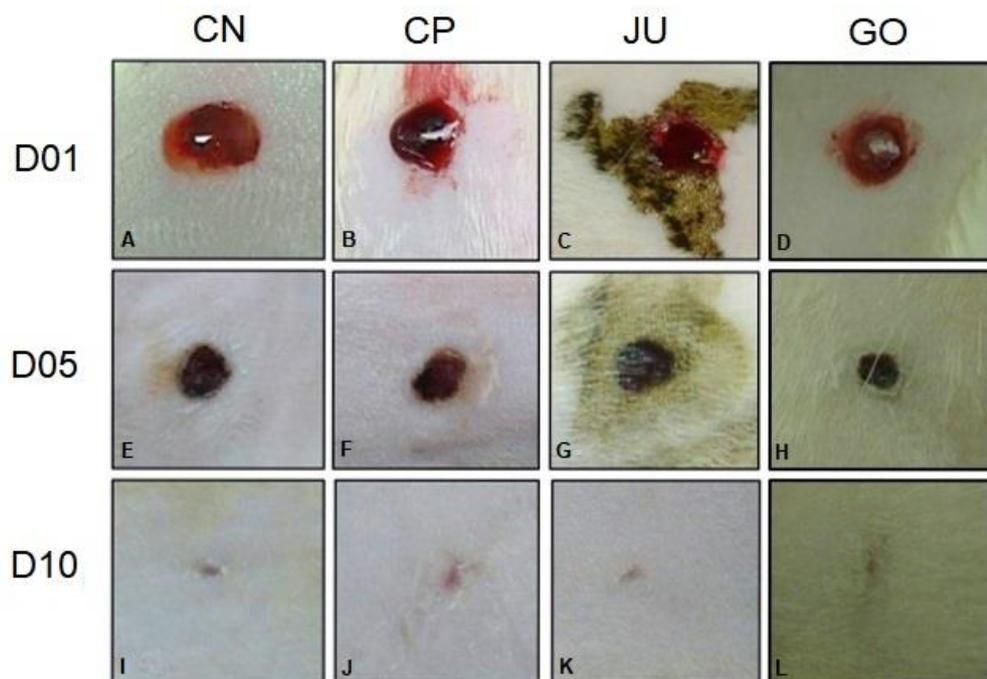


Figura 2 – Ilustração do processo cicatricial por grupo nos dias 01, 05 e 10 do experimento. CN – Controle Negativo: água bidestilada estéril; CP – Controle Positivo: Dexpantenol 5%; JU – Grupo Experimental: extrato aquoso de jaboticabeira; GO – Grupo Experimental: extrato aquoso de goiabeira. As imagens A, B, C e D ilustram o primeiro dia do experimento, após a cirurgia. E, F, G e H ilustram a formação de crosta nos quatro grupos ao quinto dia. I, J, K e L ilustram o fechamento completo da ferida, observado nos quatro grupos no décimo dia.

Na análise microscópica dos tecidos colhidos nos dias 5 e 10 do experimento, foram avaliadas características como presença de células inflamatórias, fibroblastos e deposição de matriz extracelular, bem como a presença de crosta e vascularização dos tecidos durante o processo de cicatrização.

Nos animais do grupo controle negativo, praticamente todos os animais não estavam reepitelizados após cinco dias de tratamento da ferida com água bidestilada. Na Figura 3, é possível verificar a evolução da ferida desses animais. Percebe-se infiltrado inflamatório vasto, com predomínio de macrófagos e linfócitos (Figura 3B), embora possa ser observada a presença de neutrófilos em alguns animais desse grupo. O tecido encontra-se com angiogênese normal e a área da ferida extensa, a presença de tecido adiposo evidencia a profundidade que atinge até a hipoderme e que a deposição de matriz extracelular ainda não foi suficiente para formação da derme e epiderme (Figuras 3A). Com cinco dias do processo não é mais esperada presença excessiva de células inflamatórias, visto que a fase prevista nesse tempo é proliferativa e não mais inflamatória.

Ao décimo dia, observa-se uma diminuição no tamanho da ferida e também redução do infiltrado inflamatório. Como previsto para esse tempo do reparo da ferida, há células inflamatórias crônicas, principalmente linfócitos, e fibroblastos. Há inclusive presença de tecido de granulação com deposição de matriz extracelular, fibras colágenas bem alinhadas, de acordo com a orientação das células do tecido, típicas do processo natural de cicatrização (Figura 3C e 3D).

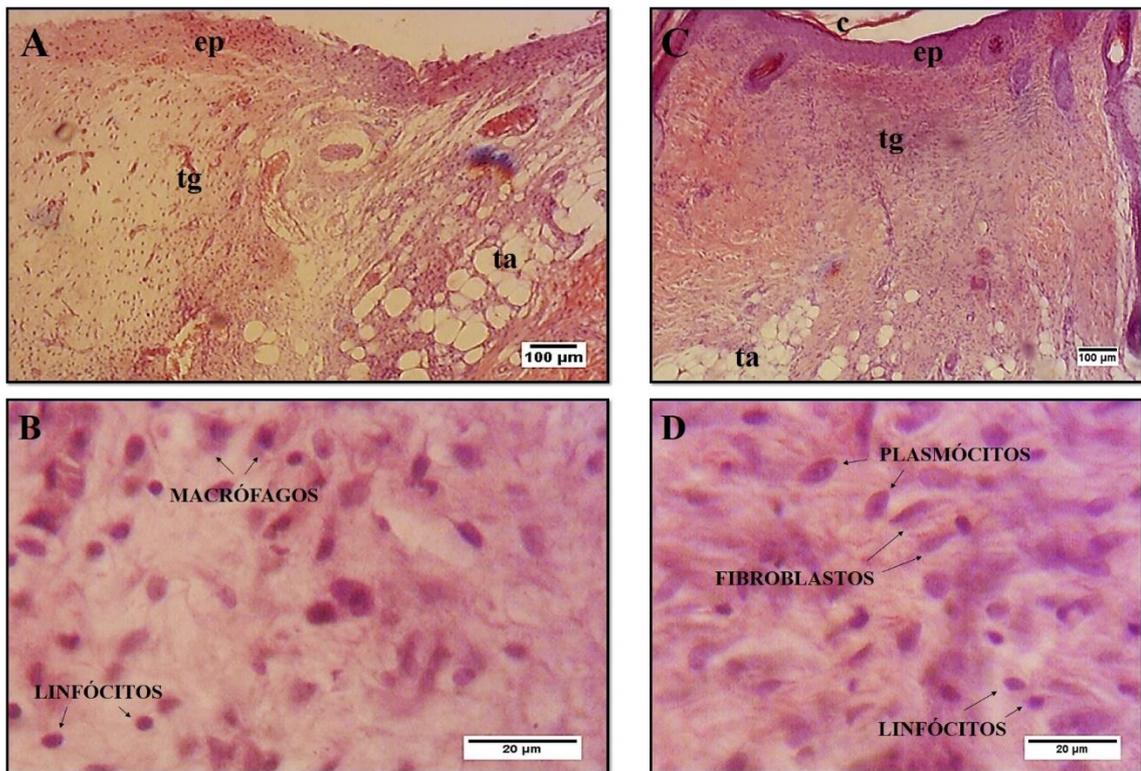


Figura 3 – GRUPO CN: Análise histológica do processo de reparo 5 (A e B) e 10 (C e D) dias após lesão excisional na pele do dorso de camundongos. Lâminas A e C - objetivas de 4X, escala da barra = 100 µm; Lâminas B e D - objetivas de 40X, escala da barra= 20 µm. Letras indicam: ep – epitélio; tg – tecido de granulação; ta – tecido adiposo; c- crosta.

Nos animais do grupo controle positivo (Figura 4), praticamente todos estavam reepitelizados após cinco dias, usando o Bepantol® nas lesões. Há infiltrado inflamatório com predomínio de linfócitos. Há presença de crosta na superfície da ferida (Figura 4A) e abaixo dessa registra-se tecido de granulação com deposição de matriz extracelular, com fibras colágenas bem alinhadas (Figura 4B), como esperado para a descrição da cinética inflamatória no modelo excisional com cinco dias após a lesão. O tecido encontra-se bem vascularizado, e a área da ferida é extensa. Ao décimo dia, considera-se uma diminuição no tamanho da ferida e no número de células do infiltrado inflamatório, e aumento da deposição de matriz extracelular (Figuras 4C e 4D).

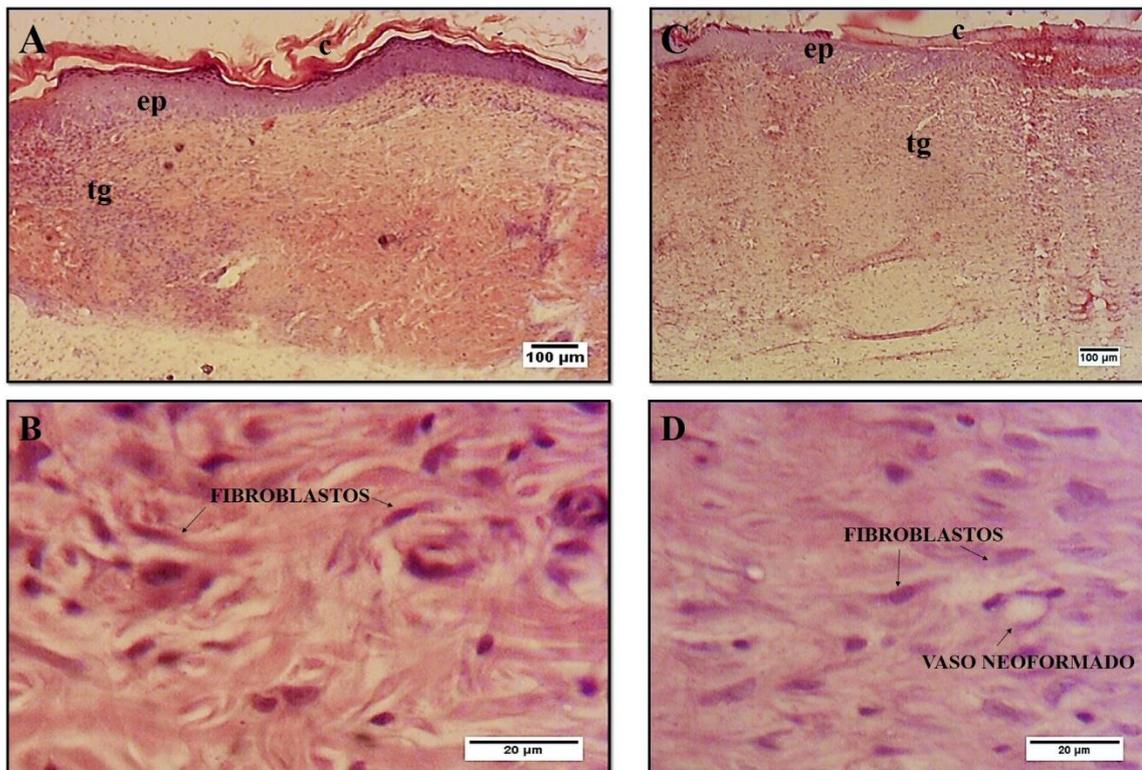


Figura 4 – GRUPO CP: Análise histológica do processo de reparo 5 (A e B) e 10 (C e D) dias após lesão excisional na pele do dorso de camundongos. Lâminas A e C - objetivas de 4X, escala da barra = 100 µm; Lâminas B e D - objetivas de 40X, escala da barra= 20 µm. Letras indicam: ep – epitélio; tg – tecido de granulação; ta – tecido adiposo; c- crosta.

Ao comparar a evolução dos grupos controle, percebe-se que há uma aceleração no processo de reparo com o uso do Bepantol®, pois a reepitelização está mais rápida, e o infiltrado inflamatório apresenta-se com menos células de inflamação aguda. A ferida possui uma área de tecido de granulação, qualitativamente, sem diferença no tamanho da sua extensão.

No grupo JU, tratados com o extrato de jabuticabeira, praticamente todos os animais não estavam reepitelizados no quinto dia. Como se verifica nas Figuras 5A e 5B, há tecido de granulação, com uma deposição de matriz extracelular mais lenta que os grupos controle, pois há ainda grandes áreas de tecido adiposo. Há presença de infiltrado inflamatório com predomínio de linfócitos e fibroblastos, entretanto bem menos inflamado que os grupos controle; angiogênese normal no reparo e área da ferida extensa. Com cinco dias é esperada deposição de matriz extracelular na lesão, que nesse grupo se apresenta atrasada em relação aos controles, mas ao mesmo tempo menos inflamado que os demais.

Portanto, observa-se que no décimo dia o grupo JU está menos inflamado que o grupo GO, com celularidade menos intensa, e evidencia-se que o processo de reparo parece mais adiantado que nos demais grupos (Figuras 5C e 5D).

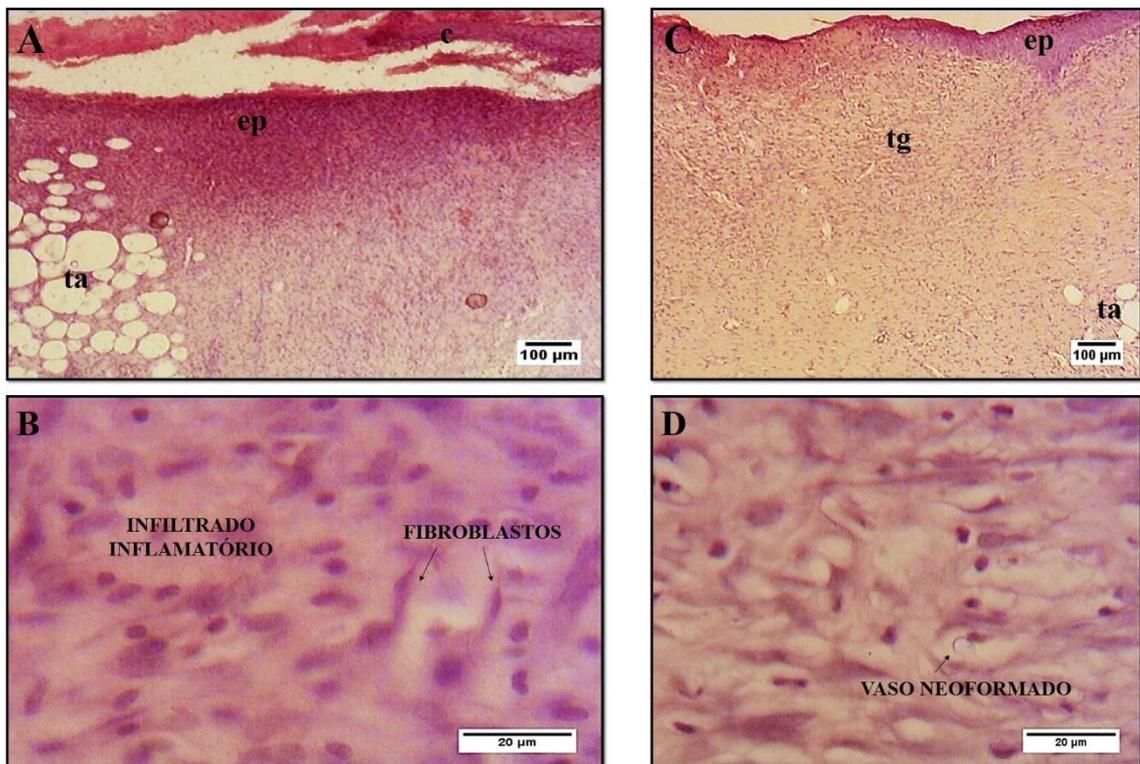


Figura 5 – GRUPO JU: Análise histológica do processo de reparo 5 (A e B) e 10 (C e D) dias após lesão excisional na pele do dorso de camundongos. Lâminas A e C - objetivas de 4X, escala da barra = 100 µm; Lâminas B e D - objetivas de 40X, escala da barra= 20 µm. Letras indicam: ep – epitélio; tg – tecido de granulação; ta – tecido adiposo; c- crosta.

No grupo GO, tratados com o extrato de goiabeira, praticamente todos os animais estavam reepitelizados ao fim do experimento. No quinto dia, a maioria dos animais apresenta bastante matriz extracelular depositada (Figura 6A), muitas células inflamatórias com predomínio de linfócitos, e alguns animais ainda em processo de substituição de tecido adiposo (Figura 6B).

Com 10 dias de cicatrização, o tecido apresenta-se bem vascularizado, com animais completamente reepitelizados, evidenciando epitélio espesso e área da ferida menos extensa que nos animais dos demais grupos (Figuras 6C e 6D).

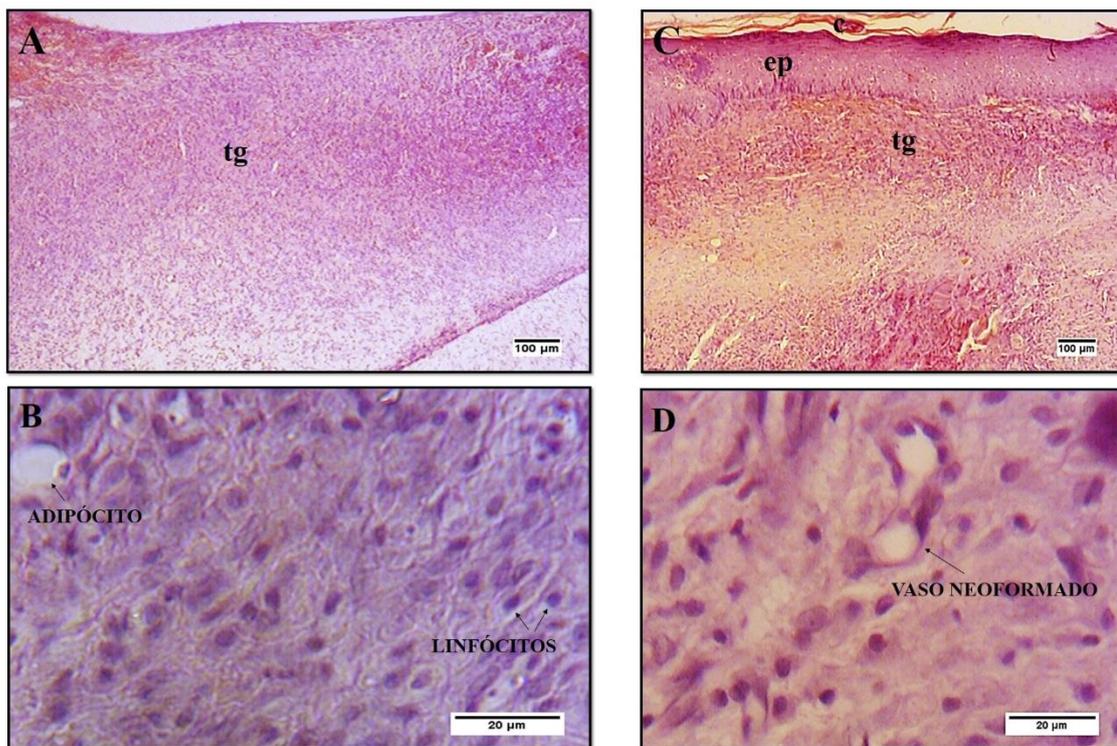


Figura 6 – GRUPO GO: Análise histológica do processo de reparo 5 (A e B) e 10 (C e D) dias após lesão excisional na pele do dorso de camundongos. Lâminas A e C - objetivas de 4X, escala da barra = 100 µm; Lâminas B e D - objetivas de 40X, escala da barra= 20 µm. Letras indicam: ep – epitélio; tg – tecido de granulação; ta – tecido adiposo; c- crosta.

Ao comparar a evolução dos grupos experimentais, percebe-se que o grupo JU apresentou processo inflamatório menos intenso, enquanto a deposição de matriz extracelular no grupo GO foi mais precoce e, possivelmente, possibilitou uma cicatriz menos extensa. Pode-se inferir que ambos apresentam vantagens no processo de cicatrização em relação ao grupo CN, mas não são superiores aos resultados obtidos com o grupo CP.

Discussão

Conforme dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 20.000 espécies de diferentes plantas já foram catalogadas e são utilizadas para fins terapêuticos em todo o mundo (SILVA, 2016). No Brasil, foram implementadas pelo Ministério da Saúde, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), ambas no ano de 2006, com o intuito de estimular o acesso às práticas

complementares e às plantas medicinais, para o cuidado na atenção primária à saúde pública, de forma eficaz e segura (PIRIZ et al., 2014; DAMASCENO et al., 2016).

Neste estudo, utilizou-se o extrato aquoso de duas plantas muito comuns no país, utilizadas empiricamente no tratamento de diversas enfermidades: a goiabeira (*Psidium guajava*) e a jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*), ambas da família Myrtaceae, ricas em compostos fenólicos, flavonoides e taninos, com potentes propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias (AMADOR, 2015; HAIDA et al., 2015; BALDIN, 2016; MEIRA et al., 2016).

A família *Myrtaceae* é composta por mais de 100 gêneros e quase 4000 espécies, presentes especialmente em regiões tropicais; no Brasil são descritos 26 gêneros e em torno de 1.000 espécies (HAIDA et al., 2015; LEIPELT, 2016). O gênero *Psidium* possui cerca de 92, espécies e 60 dessas espécies podem ser encontradas no país (OLIVEIRA, 2013). O gênero *Myrciaria* é composto de aproximadamente 236 espécies, sendo 40 delas nativas do Brasil (LEIPELT, 2016).

Além do uso alimentício dos frutos (*in natura* ou processados na forma de sucos, geleias e doces), todas as partes das plantas são utilizadas para fins terapêuticos ou industriais (cosméticos, conservantes alimentícios, farmacêuticos), cascas, folhas, brotos, sementes, raízes e caule são utilizados nas mais diversas preparações e vias de aplicação (MEIRA et al., 2016; BRAGA, 2016).

Na medicina popular, a goiabeira é utilizada para cólicas, colite, diarreia, dor de garganta e doenças bucais, inclusive se encontra no Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira, dentre outras plantas medicinais catalogadas para uso na saúde pública (ANVISA, 2016). Estudos científicos demonstraram a eficácia da *Psidium guajava* com propriedades antioxidante (AMADOR, 2015; HAIDA et al., 2015), antibacteriana (BONA et al., 2014), antifúngica (MARTINS et al., 2016), antiprotozoária (BRAGA, 2016), antitumoral (LEIPELT, 2016) e cicatrizante (SILVA, 2016).

A jabuticabeira é utilizada empiricamente para tratar algumas doenças como asma, inflamações, problemas gastrintestinais e irritações da pele (MEIRA et al., 2016). Muitos estudos têm demonstrado os potentes resultados da *Myrciaria cauliflora* devido a seus efeitos antioxidante (BALDIN, 2016; MEIRA et al., 2016), antibacteriano (BONA et al., 2014; OLIVEIRA, 2016), antifúngico (MARTINS et al., 2016), antitumoral (WANG et al., 2014; LEIPELT, 2016), hipotensor e vasodilatador (ANDRADE et al., 2016).

Quanto ao efeito cicatrizante dos extratos dos gêneros *Psidium* e *Myrciaria*, são escassos os estudos na literatura atual, embora muitos trabalhos sobre cicatrização tenham sido desenvolvidos com diversas outras plantas. Assim como foi realizado neste experimento, outros estudos em modelo experimental avaliaram, através de análise histológica, a cicatrização por segunda intenção de feridas em dorso de ratos, utilizando extratos vegetais como tratamento tópico diário (ARAÚJO et al., 2015; BATISTA et al., 2014; BEZERRA et al., 2015; CAPELLA et al., 2016; LOPES, 2015; SANTOS et al., 2014).

No quinto dia do presente experimento, todos os animais, tanto dos grupos controle quanto dos grupos tratados com os extratos aquosos de *Psidium* e *Myrciaria*, apresentavam formação de crosta e no décimo dia apresentavam fechamento das feridas (epitelização). Tempos análogos foram observados por Capella et al. (2016) no estudo com extrato de urucum (*Bixa orellana L.*), em que todos os grupos se encontravam na fase inflamatória no quarto dia, nos dias 7 e 14 estavam na fase proliferativa, em transição para a fase de maturação no 14^o dia.

O tempo final de cicatrização entre os grupos foi aparentemente o mesmo, mas o processo cicatricial dos grupos experimentais apresentou algumas diferenças, embora sutis, que auxiliaram na reparação tecidual. Com resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, Batista et al. (2014) utilizaram o extrato aquoso do aveloz (*Euphorbia tirucalli*) em diferentes concentrações e verificaram que não houve redução no tempo final de cicatrização das feridas em comparação aos grupos controle, entretanto o aveloz produziu menor hiperemia e exsudação, resultando em uma cicatriz esteticamente melhor, sendo observado também nos extratos deste experimento.

Neste estudo, no grupo experimental JU, evidenciou-se que a resposta inflamatória foi menos intensa que nos outros grupos e que no décimo dia o processo de reparo parecia ter-se acelerado, visto que até o quinto dia a deposição de matriz estava mais lenta que nos demais grupos, porém no décimo dia apresentava adequada deposição de matriz extracelular e colágeno. Bezerra et al. (2015) descreveram os mesmos resultados com o uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em feridas cutâneas. Em contrapartida, Santos et al. (2014) encontraram resultados inversos em seu experimento com o urucum (*Bixa orellana L.*), o qual apresentou aumento do infiltrado inflamatório e menor quantidade de fibroblastos no processo de reparo tecidual.

A fase inflamatória inicia-se logo após a lesão do tecido, dura em média três a sete dias e é de suma importância para a cicatrização. Entretanto, quando a reação inflamatória é intensa ou há persistência de células inflamatórias durante o processo de remodelação da ferida, a inflamação pode prejudicar o processo de reparo por promover edema e quantidade excessiva de exsudato. Esses fatores, por sua vez, podem provocar deiscência, crescimento bacteriano e consequente inibição da proliferação de fibroblastos e da deposição de colágeno (BEZERRA et al., 2015; SANTOS et al., 2014).

Menor reação inflamatória com uso de *Myrciaria cauliflora* é esperado, visto que a jabuticabeira é de uso popular para o tratamento de inflamações e irritações de pele. Ademais, discute-se a propriedade anti-inflamatória das plantas ricas em compostos fenólicos, utilizadas para potencializar o processo de cicatrização em feridas e úlceras, pois tais plantas agem como antioxidantes combatendo os radicais livres e apresentam atividade antimicrobiana e moduladora do sistema imune (AMADOR, 2015; HAIDA et al., 2015; BALDIN, 2016; MEIRA et al., 2016).

O grupo GO do presente experimento, no quinto dia, sinaliza que, provavelmente, ocorrerá uma formação de cicatriz menos extensa ou com deposição de fibras de colágeno mais próxima da pele intacta, pois menor é a área da ferida e o tecido de granulação está praticamente tomado por matriz extracelular. No décimo dia, todos os animais apresentam reepitelização completa e epitélio espesso, podendo-se inferir que o tratamento com *Psidium guajava* promoveu uma fibroplasia mais intensa, vasta epitelização e adequada contração da ferida.

A fase proliferativa inicia-se após o terceiro dia da lesão tecidual e pode durar de 14 a 21 dias. O tipo celular predominante dessa fase é o fibroblasto, fundamental para a formação da cicatriz. Tardelli e Souto (2011) e Rossi et al. (2018) descrevem quatro eventos importantes que compõem essa fase: angiogênese, fibroplasia, contração da ferida e epitelização, observadas no presente experimento em todos os grupos experimentais, embora o GO tenha apresentado melhor fibroplasia e, possivelmente, maior vantagem no processo de remodelamento.

Silva (2016) avaliou a ação cicatrizante e a atividade antibacteriana da *Psidium guajava* utilizando o extrato etanólico da planta em feridas cutâneas de ratos, com análises histológicas nos dias 5, 10, 15, 20 e 25 do experimento, e encontrou resultados semelhantes aos do presente estudo. De acordo com Silva (2016), a avaliação histoquímica demonstrou que, nos grupos dos animais que receberam o

extrato como tratamento, houve reepitelização da epiderme e uma derme com presença de fibras colágenas espessas, mais densas que as encontradas nos grupos controle e placebo.

Quanto mais fibras colágenas (fibras colágenas espessas), maior a resistência tênsil e, portanto, há um reparo tecidual mais eficiente, o que foi evidenciado nos animais tratados com o extrato de goiabeira. Assim, sugere-se que os compostos químicos encontrados na planta poderão representar grande potencial antimicrobiano e cicatrizante na constituição de novos medicamentos e tratamentos.

Resultados similares foram encontrados por Araújo et al. (2015) e Lopes (2015), utilizando os extratos de batiputá (*Ouratea spp.*) e babaçu (*Orbignya phalerata*), respectivamente. O tratamento com o óleo de *Ouratea spp.* apresentou retração da ferida mais precoce e uma colagenização mais acentuada quando comparado aos outros tratamentos; já o grupo tratado com babaçu apresentou maior proliferação fibroblástica (fibroplasia) e colágeno mais maduro que os demais grupos.

Desse modo, mediante os resultados encontrados no estudo apresentado, e em demais estudos com plantas de uso terapêutico, constata-se que a fitoterapia é uma fonte potencial para novos fármacos. Diante da ausência de relatos de toxicidade da jabuticabeira e da goiabeira, e da ampla distribuição dessas plantas no Brasil, faz-se necessária a ampliação dos estudos para comprovar a atividade terapêutica desses produtos e consolidar seu uso em benefício da população.

Conclusão

Considerando-se os resultados obtidos no presente estudo, com 5 e 10 dias não há evidências de que qualquer tratamento foi de fato impactante e mudou de forma expressiva os eventos inflamatórios. De forma geral, no grupo experimental GO a deposição de matriz extracelular aconteceu mais precocemente e, possivelmente, possibilitou uma cicatriz menos extensa em comparação aos demais grupos. No grupo experimental JU, o processo de reparo se acelera em relação aos demais grupos e apresenta-se menos inflamado. Apesar das vantagens evidenciadas na cicatrização dos animais tratados com os extratos propostos, não há superioridade em relação aos controles.

Importante ressaltar, também, que ainda não há na literatura consenso quanto à concentração, via e frequência de aplicação do fitoterápico, havendo necessidade

de padronização. Para investir nesse modelo experimental, é necessário tempo mais prolongado com o tratamento de forma a avaliar especialmente a deposição de matriz extracelular e, também, que o modelo inflamatório seja mais bem explorado, levando-se em consideração grupos maiores de animais, maior tempo de tratamento e diferentes concentrações dos extratos.

POTENTIAL HEALING OF *Psidium guajava* L. and *Myrciaria cauliflora* IN SKIN WOUNDS: HISTOLOGICAL EVALUATION IN EXPERIMENTAL MODEL STUDY

Abstract

Introduction: The use of plants in herbal medicine is an alternative to traditional medicine, considering its anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant effects, potentially effective in helping the cicatricial process. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the healing potential of aqueous extracts of *Psidium guajava* stem bark and *Myrciaria cauliflora* leaf on second intention wounds in Wistar rats. **Method:** Twenty Wistar rats were randomly assigned to four groups of 5 animals with daily topical treatment of lesions: Positive Control (CP) - aqueous solution of Bepantol® 5%; Negative Control (CN) - sterile bidistilled water; and Experimental Groups (GO) - aqueous extract of guava stem bark (*P. guajava*) 10% and (JU) - aqueous extract of leaf of jaboticaba (*M. cauliflora*) 1g/mL. Histological fragments were collected on days 5 and 10 of the experiment, fixed in formalin and sent to the Laboratory of Pathology of Federal University São João del-Rei. The material was stacked, trimmed in micrometer and stained in HE. The slides were analyzed by optical microscopy with magnification of 4 and 40x. **Results:** In the CP group tissue, the healing process was observed with extensive vascularization. When compared to the CN group, an acceleration of the repair with the use of Bepantol® is possible, allowing a faster reepithelization and a smaller quantity of acute inflammatory cells. In JU animals at the end of 10 days, a faster repair process is suggested when compared to the other treatments, with good vascularization and little inflammation. In the GO group all animals were already reepithelialized at 5 days, and at 10 days the scar formation was smaller than the other groups, with deposition of collagen fibers closer to the intact skin. **Conclusion:** It was concluded that there was no significant difference in the scarring process of the four groups, however, each one has its own characteristics. The changes are very subtle, but it is suggested an improvement of the scarring process of the group treated with guava. In order to invest in this experimental model, it is necessary to think of later dates that specially evaluate the deposition of extracellular matrix.

Keywords: Wound Healing. Phytotherapy. Histology.

Referências

- AMADOR, S. A. **Uso de extrato de goiaba (*Psidium guajava* L.) na prevenção da oxidação da carne de frango**. Dissertação (Programa de pós-graduação em Ciências animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Brasília/DF, 2015.
- ANDRADE, D. M. L. et al. Efeito Vasodilatador Independente do Endotélio Induzido pela Jabuticaba (*M. cauliflora*) em Artérias Isoladas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.107, n.3, p. 223-229, 2016.
- ANVISA. **Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira**. 1ª ed. Brasília, Copyright, 2016.
- ARAÚJO, A. K. L. et al. Atividade cicatrizante do óleo fixo de *Ouratea* spp. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.9, n.2, p. 154-171, 2015.
- BALDIN, J. C. **Avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante do extrato de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) microencapsulado adicionado em linguiça fresca e mortadela**. Tese (Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2016.
- BATISTA, E. K. F. et al. Avaliação do efeito de formulações com o látex da *Euphorbia tirucalli* na terapêutica tópica de feridas cutâneas: aspectos clínicos e histopatológicos. **Medicina Veterinária**. v. 8, n. 2, p.1-11, 2014.
- BEZERRA, N. K. M. S. et al. A ação do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) no processo cicatricial de lesões cutâneas em ratos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.17, n.4, supl. II, p.875-880, 2015.
- BONA, E. A. M. et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.81, n.3, p. 218-225, 2014.
- BRAGA, M. F. B. M. **Composição química e avaliação da atividade antifúngica de extratos de *Psidium guajava* L. (goiabeira) e *Psidium brownianum* mart. ex dc. (araçá de veado) sobre espécies de candida**. Tese (Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Crato, 2016.

CAPELLA, S. O. et al. Potencial cicatricial da *Bixa orellana* L. em feridas cutâneas: Estudo em modelo experimental. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.68, n.1, p. 104-112, 2016.

DAMASCENO, C. M. D. et al. Avaliação do conhecimento de estudantes universitários sobre medicina alternativa. **Revista Baiana de Saúde Pública**. v.40, n.2, p. 289-297, 2016.

FREITAS, C. R. **Tratamento tópico de feridas: revisão de bibliografia**. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. Brasília DF, 2014.

GARROS, I. C. et al. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 21, n.3, p. 55-65, 2006.

HAIDA, K. S. et al. Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Goiaba (*Psidium guajava* L.) Fresca e Congelada. **Revista Fitos**. v.9, n.1, p.1-72, 2015.

KOROLKOVAS, A. **Dicionário terapêutico Guanabara**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

LEIPELT, J. **Avaliação *in vitro* do potencial biológico de *Myrciaria plinioides* (d. legrand) em células tumorais**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia) – Centro Universitário Univates. Lajeado, 2016.

LOPES, N. B. S. **Efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* mart. No processo de cicatrização em pele de ratos**. Monografia (Bacharelado em Medicina) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2015.

MARTINS, C. C. et al. Effect of plant extracts and a disinfectant on biological parameters and pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae). **Brazilian Journal of Biology**. v. 76, n. 2, p. 420-427, 2016.

MARTORELLI, S. B. F. et al. Efeito anti-inflamatório e cicatrizante do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (AROEIRA) A 30% em orabase – estudo “*In vivo*”. **International Journal of Dentistry**. v. 10, n. 2, p. 80-90, 2011.

MEDEIROS, A. C.; DANTAS-FILHO, A. M. Cicatrização das feridas cirúrgicas. **Journal of Surgical and Clinical Research**. v. 7, n. 2, p. 87-102, 2016.

MEIRA, N. A. N. et al. Flavonoides e antocianinas em *Myrciaria cauliflora* (jaboticaba) visando à aplicabilidade cosmética. **Visão Acadêmica**. v.17, n.3, p. 50-65, 2016.

OLIVEIRA, F. C. **Extratos de casca de jaboticaba: compostos fenólicos e atividade antibacteriana**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Química/ Bioquímica) – Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2016.

OLIVEIRA, N. N. S. et al. Análise de distância genética entre acessos do gênero *Psidium* via marcadores ISSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 36, n. 4, p. 917-923, 2014.

OLIVEIRA, N. N. S. **Fenologia de genótipos selecionados de goiabeira (*Psidium guajava* L.) e caracterização molecular de acessos de *Psidium* spp. via marcadores ISSR**. Dissertação (Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, 2013.

PEDERSEN, L. K. et al. Short-term effects of alcohol-based disinfectant and detergent on skin irritation. **Contact Dermatitis**. v.52, p.82-87, 2005.

PIRIZ, M. A. et al. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v. 16, n. 3, p. 628-636, 2014.

ROSSI, Y. et.al. Remodelação Tecidual: Induzido por Fator de Crescimento na Cicatrização da Acne. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. Ano 03, ed. 01, v. 02, p. 130-146, 2018.

SANTOS, J. A. A. et al. Avaliação histomorfométrica do efeito do extrato aquoso de urucum (norbixina) no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v.16, n.3, supl. I, p.637-643, 2014.

SILVA, A. B. **Ação cicatrizante e atividade antibacteriana a estirpes de *Staphylococcus* resistentes do extrato etanólico de *Psidium guajava***.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2016.

TARDELLI, H. C.; SOUTO, C. Cicatrização da Pele. In: Editores José Marcos MÉLEGA, J. M.; VITERBO, F.; MENDES, F. H. (Org). **Cirurgia Plástica - os princípios e a atualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 03-08.

TRESVENZOL, L. M. F. et al. Avaliação da toxicidade aguda e da atividade cicatrizante dos extratos etanólicos das folhas e raízes da *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 15, n. 3, p. 423-430, 2013.

WANG, W-H. et al. Evaluation of the Antioxidant Activity and Antiproliferative Effect of the Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seed Extracts in Oral Carcinoma Cell. **Hindawi Publishing Corporation**. v. 2014, n.6, p. 1-7, 2014.