

## Caracterização tensiométrica e de fibras colágenas em feridas cutâneas abertas tratadas com *Triticum aestivum*

**MARIANA TEIXERIA TILLMANN<sup>1</sup>; TATIANA RAMOS<sup>2</sup>; GABRIELA HÖRNKE ALVES<sup>3</sup>, CLÁUDIA BEATRIZ MENDES<sup>4</sup>; ANTÔNIO SÉRGIO VARELA JÚNIOR<sup>5</sup>, MÁRCIA DE OLIVEIRA NOBRE<sup>6</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas – PPG -Veterinária (marianatillmann@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas- Centro de Desenvolvimento e Controle de Biomateriais

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas- PPG- Bioprospecção

<sup>4</sup> Universidade Federal de Pelotas- Graduação em Medicina Veterinária (Bolsista PIBIC)

<sup>5</sup> Universidade Federal do Rio Grande – Instituto de Biologia

<sup>6</sup> Universidade Federal de Pelotas- Faculdade de Veterinária- marciaonobre@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

As feridas são traumas ocasionados por perda da solução de continuidade da pele deixando expostos os tecidos subjacentes (ROSA et al, 1983). O processo de cicatrização é dividido didaticamente em quatro fases: inflamação, reparação e maturação (MCNEES, 2006). Na fase de inflamação ocorre fagocitose de sujidades e microorganismos preparando o local para a formação de um novo tecido. Na fase de reparação ocorre a formação do tecido de granulação que é posteriormente substituído por um tecido epitelial imaturo. Para a formação deste tecido é necessário haver uma proliferação dos fibroblastos, pois estes irão sintetizar o colágeno, principal proteína do tecido epitelial. Na fase de maturação o tecido epitelial neoformado sofre transformações para promover a maturação do tecido e também ocorre a organização das fibras colágenas possibilitando uma maior tensão da área cicatricial (ACKERMANN, 2005; BALBINO et al., 2005).

O uso de plantas é utilizado para a terapia de diversas enfermidades sem haver uma validação científica (MALAFAIA et al., 2006). O uso de fitoterápicos para a estimulação da reparação cirúrgica já foi estudado de maneira metodologicamente estruturada com várias espécies de plantas, embora com a espécie de *Triticum aestivum*, não foi encontrada nenhuma descrição de estudo em animal experimental (GARROS et al., 2006). Devido a isso o objetivo desse trabalho foi avaliar em modelo experimental as fibras de colágeno e a tensão do tecido cicatricial em feridas cutâneas abertas tratadas com cremes contendo extrato aquoso de *T. aestivum* em diferentes concentrações.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPel (número de registro 5104). Para a realização do experimento os coelhos foram anestesiados previamente a confecção das feridas e mantidos em condições de bem estar animal durante todo o período experimental. Foram utilizados 13 coelhos nos quais foram realizadas 6 feridas cutâneas abertas com *punch* número 8, sendo três em cada lado da coluna vertebral, essas feridas foram divididas em três grupos de tratamento

totalizando 26 feridas por grupo. As feridas do grupo I foram tratadas com creme contendo extrato aquoso de *Triticum aestivum* a 2mg/mL, as do grupo II com creme contendo extrato aquoso de *Triticum aestivum* a 10mg/mL e as do grupo III (controle) com creme não iônico, todas por 21 dias. Após o período experimental foram realizadas as eutanásias de acordo com a Resolução nº 714, 20 de Junho de 2002 do CFMV e obtidas amostras de pele para a análise tensiométrica e histológica.

Para a análise tensiométrica foi utilizado um molde metálico em forma de ampulheta que proporcionava a obtenção dos modelos de pele com este formato, permitindo a obtenção das amostras com duas extremidades para fixação ao equipamento e a ferida na união dos vértices, não havendo pele subjacente ao seu redor. As 15 amostras de cada grupo de tratamento foram imediatamente acondicionadas em frascos com solução fisiológica 0,9% e avaliadas em uma máquina universal de ensaio (DL 500) através de tração axial, submetida a uma carga de 100 newtons a uma velocidade de 5mm/minuto, verificando a força (newton) e a tensão (pascal) suportada pela área da amostra no momento da sua deformação.

Para o estudo histológico das fibras colágenas, as 10 amostras de cada grupo de tratamento, foram coletadas através de biopsia excisional da área cicatricial e acondicionadas em frascos contendo solução de formol a 10%. Os tecidos foram inclusos em parafina e cortados com 5  $\mu$  de espessura e submetidos a coloração por hematoxilina-eosina e picrosirius. Nas amostras coradas por hematoxilina-eosina foi analisada a quantidade e o padrão do colágeno e a leitura foi realizada em microscópio de campo claro. Na coloração de picrosirius foi utilizada microscopia polarizada para definir a presença de colágeno tipo I e organização das fibras de tropocolágeno nas amostras. O corante de Sirius Red, identifica através do auxílio de microscopia polarizada, as fibras de colágeno tipo I com coloração vermelho intenso.

Para a avaliação dos resultados da análise tensiométrica e da quantidade e padrão de colágeno foi utilizado análise de variância e Tukey para comparação das médias, e os dados da caracterização do colágeno foram determinados por frequência (Stastix 9.0).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A média da força de ruptura das amostras não demonstrou diferença significativa entre os grupos ( $p=0,4299$ ) embora o grupo I tenha apresentado maior média (45,6 N) quando comparado com os grupos II (35N) e III (33,5N). Na avaliação tensiométrica, foi observada que o grupo I diferiu estatisticamente dos demais tratamentos ( $p= 0,0295$ ), pois o grupo I apresentou maior média de tensão (1,6 Pa), enquanto os grupos II (1,3 Pa) e III (1,2 Pa) apresentaram média inferior. A presença de uma maior tensão no grupo com a menor concentração do fitoterápico possivelmente está relacionada com a formação de fibras de colágeno, devido essa proteína determinar a resistência do tecido. Já que a resistência das fibras no tecido epitelial está relacionada com a quantidade, densidade,

organização e percentual de colágeno tipo I (FONTES et al., 2004; BALBINO et al., 2005; KAHAN et al., 2009).

A avaliação do colágeno em quantidade e padrão denso foi de 60% no grupo I, 70% no grupo II e de 60% no grupo III, não sendo observada diferença significativa entre os grupos. Visto que as feridas tratadas com *Triticum aestivum* 2mg/mL não diferiram quanto à quantidade e padrão denso de colágeno e não apresentaram maior percentual de colágeno tipo I (Tabela 1), acredita-se que a maior força tensiométrica das feridas desse grupo ocorreu devido à organização de todas as fibras de colágeno tipo I presente nas amostras, dado que não foi observado nas feridas do grupo II (Tabela 1). Estudos relatam que para haver a resistência do tecido epitelial é necessária a presença mútua da organização das fibras assim como a presença de colágeno tipo I (FONTES et al., 2004; BALBINO et al., 2005).

**Tabela 1-** Demonstração do percentual de presença e organização das fibras de colágeno tipo I, em feridas cutâneas abertas tratadas com creme contendo extrato aquoso de *Triticum aestivum* a 2mg/mL (Grupo I), com creme contendo extrato aquoso de *Triticum aestivum* a 10mg/mL (Grupo II), com creme não iônico (Grupo III) durante 21 dias.

	<b>Presença de colágeno tipo I (%)</b>	<b>Organização das fibras de colágeno tipo I (%)</b>
<b>Grupo I</b>	85,7	85,7
<b>Grupo II</b>	100	57,1
<b>Grupo III</b>	71,4	71,4

### 3. CONCLUSÕES

Com esse estudo conclui-se que feridas cutâneas abertas em coelhos tratadas com *Triticum aestivum* 2 mg/mL apresentam maior tensão e melhor organização das fibras de colágeno tipo I.

### 4. Agradecimentos

Ao CNPq pelo auxílio financeiro (481605/2010-0) e concessão de bolsa de iniciação científica; a CAPES pela concessão de bolsa de doutorado; ao laboratório de Histologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e ao Laboratório de Histotecnica do Departamento de Patologia Animal da UFPel pelo auxílio nas análises microscópicas, ao Centro de Desenvolvimento e Controle de Biomateriais da Faculdade de Odontologia da UFPel por permitir a avaliação tensiométrica e ao Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) pelo desenvolvimento da experimentação animal.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMANN, M.R. Inflamação crônica e cicatrização de feridas. In: McGAVIN, M.D; ZACHARY, J.F. (4 ed.) **Bases da Patologia em Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005, p.175-77.

BALBINO, C.A; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 41, p.27-51, 2005.

FONTES, C.E.R; TAHA M. O; FAGUNDES, D. J; FERREIRA, M. V; PRADO FILHO, O. R; MARDEGAN, M. J. Estudo comparativo do uso de cola de fibrina e cianoacrilato em ferimento de fígado de rato. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v 19, p.37-42, 2004

GARROS, I.C; CAMPOS, A.C.L; TÂMBARA, E.M; TENÓRIO, S.B; TORRES, O.J.M; AGULHAM, M.A; ARAÚJO, A.C.F; SAINS-ISOLAN, P.M.B; OLIVEIRA, E.M; ARRUDA, E.C.M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 21, p.55-65, 2006

KAHAN, V., ANDERSEN, M. L., TOMIMORI, J & YUFIK, S. Stress, immunity and skin collagen integrity: Evidence from animal models and clinical conditions Review Article, **Brain, Behavior and Immunity**, Amsterdam, v.23, p.1089-1095, 2009

MALAFAIA, O; CAMPOS, A. C.; TORRES, O.; GOLDENBERG, S. Os fitoterápicos e seu potencial na cicatrização em cirurgia. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.21, p.1, 2006

MCNEES, P. Skin and wound assessment and care in oncology. **Seminars in Oncology Nursing**, Pensilvânia, v.22, p. 130-143, 2006.

ROSA, M.G.S.; PIPPI, N.L.; CASTRO, M.A.S. Transplante de pele pela técnica de semeadura em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 13, p. 203-209, 1983.