

Cicatrização de feridas com a utilização do extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) e cobertura secundária estéril de gaze em ratos

Wound healing using Chenopodium ambrosioides (mastruz) extract and sterile secondary coverage in rats

Elisgardênia Maria Lima Sérvio¹; Karinne Sousa de Araújo²; Lyon Richardson da Silva Nascimento³; Charlylton Luis Sena da Costa⁴; Lianna Martha Soares Mendes⁵; Antônio Luiz Martins Maia Filho⁶; Ísida Manoela Sousa Portela Santos⁷

¹ Enfermeira – FACID. Teresina, PI – Brasil.

² Mestre em Engenharia Biomédica – UNIVAP. São José dos Campos, SP – Brasil.

Professora – FACID. Teresina, PI – Brasil.

³ Enfermeiro – FACID. Teresina, PI – Brasil.

⁴ Mestre em Química – UFPI. Teresina, PI – Brasil.

Doutorando em Biotecnologia – RENORBIO. Coordenador do Curso de Farmácia – FACID. Teresina, PI – Brasil.

⁵ Mestre em Ciências e Saúde – UFPI. Teresina, PI, Professora – UFPI. Teresina, PI – Brasil.

⁶ Mestre e Doutorando em Engenharia Biomédica – UNIVAP. São José dos Campos, SP – Brasil. Professor – FACID. Teresina, PI – Brasil.

⁷ Mestre em Biologia Oral – USC, Bauru, SP, Professora – FACID. Teresina, PI – Brasil.

Endereço para correspondência

Karinne Sousa de Araújo
R. Rio Poty, 2381.
64.049-410 – Teresina – Piauí [Brasil]
knnaraujo@yahoo.com.br

Resumo

Introdução: O mastruz (*Chenopodium ambrosioides*) é considerado uma das plantas mais utilizada na medicina popular. **Objetivos:** Verificar a cicatrização de feridas cutâneas tratadas com o mastruz com e sem cobertura. **Métodos:** Foram utilizados 45 ratos Wistar, divididos em três grupos. As feridas dos animais foram tratadas, como segue: no grupo 1, com solução salina 0,9%; no grupo 2, com o extrato do mastruz, e no 3, com o extrato do mastruz e recobertas com curativo. As lesões foram avaliadas no 4º, 7º e 14º dia pós-operatório. **Resultados:** Houve maior contração da ferida nos animais tratados com mastruz sem cobertura no 4º e 7º dia. No 14º dia, não houve diferença significativa da contração das áreas lesionadas e os achados histológicos exibiram moderada inflamação, maior organização da matriz e reepitelização parcial das lesões de todos os grupos. **Conclusão:** O extrato aquoso da planta *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) favoreceu a cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos.

Descritores: Cicatrização; *Chenopodium ambrosioides*; Pele.

Abstract

Introduction: *Mastruz* (*Chenopodium ambrosioides*) is one of the most used plants in folk medicine. **Objectives:** To verify the healing of skin wounds treated with mastruz with and without cover. **Methods:** Forty-five Wistar rats, divided into three groups, were used. The wounds of the animals were treated as follow: in group 1, with a 0.9% saline solution; in group 2, with *mastruz* extract; and in group 3, with *mastruz* extract and bandaging. They were evaluated in the 4th, 7th and 14th postoperative day. **Results:** The animals treated with *mastruz* without bandaging showed a better wound contraction in the 4th and 7th day. In the 14th day there was not a significant difference in the wound contraction, and the histological findings showed moderate inflammation, better matrix organization and partial wound reepithelization in all groups. **Conclusion:** *Chenopodium ambrosioides* (*mastruz*) extract favored open skin wound healing in rats.

Key words: *Chenopodium ambrosioides*; Skin; Wound healing.

Introdução

O indivíduo adulto encontra-se revestido por aproximadamente 2 m² de pele, com cerca de 2 mm de espessura¹. O organismo humano procura restabelecer a integridade do tecido cutâneo agredido, iniciando o processo de cicatrização imediatamente após a instalação de uma lesão².

A utilização de plantas e ervas na medicina popular para os mais diversos fins é hábito comum observado em diversas regiões do país. Muitas de suas espécies vegetais são largamente utilizadas na cicatrização de feridas, por serem a elas atribuídas propriedades terapêuticas, como é o caso *Chenopodium ambrosioides* (mastruz)³.

A planta *Chenopodium ambrosioides* apresenta distribuição ampla pelo mundo, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das espécies mais utilizadas entre os remédios tradicionais na medicina popular. Essa espécie é popularmente conhecida como erva-de-santa-maria, mastruz ou mastruzço; sendo seu uso muito difundido de forma empírica em tratamentos de feridas e inflamações da pele por meio da utilização de compressas, ataduras e/ou pomadas. Serve ainda para tratamento de contusões e fraturas^{4,5}.

Os curativos são formas de tratamento das feridas cutâneas e sua escolha depende de fatores intrínsecos e extrínsecos. Esse tratamento é dinâmico e depende, a cada momento, da evolução das fases de cicatrização. Nas feridas abertas, a antiga controvérsia, entre curativo seco e curativo úmido, deu lugar a uma proposta atual de oclusão e manutenção do meio úmido⁶.

Neste trabalho, verificou-se a cicatrização de feridas abertas em ratos após a utilização do extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) com ou sem cobertura secundária estéril de gaze por meio de análise morfométrica e histológica.

Material e métodos

Neste estudo, foram aplicados os princípios éticos da experimentação animal em

conformidade com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), seguidas as diretrizes determinadas pela Lei nº 11.794/2008. O protocolo de pesquisa foi submetido à análise pelo Comitê de Ética em Pesquisa CEP / FACID, registrado junto ao SISNEP e aprovado, segundo o parecer com o protocolo de número 037/09.

O universo estudado foi de roedores da espécie *Wistar albinus*, machos, mantidos desde o nascimento no Biotério da Faculdade Integral Diferencial – FACID (Teresina-PI), com idade de dois meses, com peso médio de 300 g.

Foram utilizados 45 animais, divididos em três grupos, sendo 15, para o grupo 1 (tratado com solução salina a 0,9%); 15, para o grupo 2 (tratado com extrato aquoso do mastruz), e 15, para o grupo 3 (tratado com extrato aquoso do mastruz com cobertura de gazes fixadas com esparadrapo).

Preparo do extrato aquoso do mastruz

O extrato aquoso do mastruz foi obtido a partir das folhas frescas da planta. As folhas foram lavadas em água corrente e posteriormente colocadas sobre papel-toalha para secagem. Em seguida, elas foram trituradas em liquidificador com 900 mL de água destilada. Após a trituração, o líquido obtido foi filtrado em tela de polietileno e depois filtrado em papel filtro qualitativo para a obtenção do extrato aquoso.

O extrato de mastruz apresentou, após determinação do seu peso seco, concentração de 13 mg para cada 1 mL de solução.

Preparo cirúrgico das feridas

Para a realização do procedimento cirúrgico, os animais foram previamente pesados e receberam, por via subcutânea, uma pré-anestesia com atropina na dose de 0,04 mL/100 g de peso corpóreo, aguardando repouso de 15 minutos para o procedimento anestésico⁷.

Os animais foram submetidos à anestesia dissociativa com xilazina e quetamina na pro-

porção de 1:1; na dose de 0,1 mL para cada 100 g do peso do animal⁸. Após a anestesia, cada rato foi posicionado em decúbito ventral, imobilizado em prancha operatória e submetido à depilação na região dorsal em área de 6 cm² e à antissepsia com polvidine tópico. A área a ser operada foi isolada com campos cirúrgicos estéreis.

A preparação cirúrgica da ferida foi realizada com a utilização de um *punch* metálico com lâmina cortante na sua borda inferior. Foi retirado um fragmento cutâneo com 2 cm de diâmetro no centro da área depilada, até a exposição da fáscia muscular dorsal.

Após a hemostasia por compressão local, todos os animais receberam tratamento tópico nas áreas lesionadas, a cada 24 horas, da seguinte maneira: o grupo 1 recebeu 1 mL de solução salina a 0,9%; o grupo 2, 1 mL do extrato aquoso do mastruz; e o 3, 1 mL de extrato aquoso de mastruz, sendo feita uma cobertura secundária estéril de gaze fixada com esparadrapo sobre a área da ferida.

Para terapia antimicrobiana, os animais receberam Pentabiótico Fort Dodge® (Benzilpenicilina benzatina, Benzilpenicilina procaína, Benzilpenicilina potássica, Diidroestreptomicina, Estreptomicina) via intramuscular profunda em dose única de 0,02 mL/100 g, no pós-cirúrgico.

Após o período de 4, 7 e 14 dias de tratamento, os animais foram eutanasiados, de acordo com os princípios éticos adequados para a dissecação das amostras que foram submetidas à análise. Para a eutanásia, os animais receberam a aplicação via intracardíaca de anestésico Tiopental Sódico, na dose de 0,05 mL/100 g. Após 5 minutos, foi realizada a aplicação do cloreto de potássio 19,1%, via intracardíaca com dose única de 0,4 mL/100 g⁸.

Análise morfométrica

Para determinação da área da ferida e os seus aspectos macroscópicos, foi realizado o registro fotográfico digital da ferida de todos os animais dos grupos experimentais no pós-

cirúrgico e nos dias de eutanásia (4, 7 e 14 dias após a cirurgia). A fotografia foi efetuada com câmera fixada em tripé posicionada à distância padronizada.

A imagem da fotografia digital da lesão foi importada para o *software* Image J® para cálculo da área da ferida de cada animal. Em seguida, foram calculadas, por meio do programa Excel®, as médias das áreas e desvios-padrão para cada subgrupo de animais, para posterior comparação intergrupos. Por fim, calculou-se o índice de contração das feridas para cada grupo de animais de acordo com a fórmula: $100 \times (W_0 - W_i) / W_0 = M \pm DP$, onde W_0 = área inicial da ferida; W_i = área da ferida no dia da coleta para biópsia⁹. Os resultados obtidos foram expressos como médias \pm desvios-padrão ($M \pm SD$) e submetidos à análise estatística.

Análise estatística

As variáveis obtidas no estudo foram analisadas com o auxílio do programa GraphPad InStat®. O teste estatístico utilizado foi o ANOVA, com pós-teste de Tukey. O nível de significância estabelecido foi de 5% ($p < 0,05$).

Análise histológica

Logo após a eutanásia dos animais, a peça cirúrgica foi retirada, sendo constituída da cicatriz ou lesão cutânea, com margem de 1 cm de pele em torno da lesão, com profundidade até a musculatura dorsal do animal. Em seguida, as peças foram identificadas e passaram pelo processo laboratorial de rotina para inclusão em parafina. Obtidos os blocos, foram realizados cortes longitudinais com espessura de 05 μ m em um micrótomo rotativo, resultando em cortes semisseriados que foram submetidos à coloração pela Hematoxilina-Eosina, para estudo histomorfológico sob microscopia de luz. As lâminas foram numeradas de acordo com o número do animal e com o subgrupo ao qual pertencia.

A análise histológica descritiva foi baseada nos seguintes critérios: presença de infiltrado

inflamatório, proliferação vascular e fibroblastos, formação de tecido de granulação, deposição de colágeno e reepitelização da área da lesão.

Resultados

Análise morfométrica

Quanto à evolução da ferida, no 4º dia de pós-operatório, os animais dos grupos 1, 2 e 3 apresentaram as médias do índice de contração de $21,20 \pm 13,49\%$, $43,36 \pm 8,89\%$ e $21,60 \pm 8,95$, respectivamente. A partir desse período, observou-se aumento gradativo dos percentuais de contração das lesões (Tabela 1).

A análise estatística dos dados referentes aos percentuais de contração das lesões demonstrou que, no período de quatro dias pós-cirúrgico, a média do índice de contração da ferida foi significativamente superior ($p < 0,05$) no grupo 2 (tratado topicamente com o extrato do mastruz), quando comparado aos demais grupos. Aos sete dias após a cirurgia, foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias dos índices de contração das feridas do grupo 2 em relação ao 3. Não foi verificada diferença significativa entre as médias dos índices de contração das feridas dos grupos envolvidos nessa pesquisa aos 14 dias após a cirurgia.

Tabela 1: Médias \pm desvios-padrão dos índices de contração (%) das feridas dos grupos nos períodos experimentais

Períodos de análises	Grupo 1 CONTROLE (solução salina 0,9%)	Grupo 2 (mastruz)	Grupo 3 (mastruz + curativo)
4 dias	$21,20 \pm 13,49$	$43,36 \pm 8,89^*$	$21,60 \pm 8,95$
7 dias	$54,11 \pm 5,26$	$57,10 \pm 9,39^*$	$41,07 \pm 9,31$
14 dias	$87,66 \pm 3,94$	$83,94 \pm 5,68$	$91,74 \pm 7,38$

* $p < 0,05$

Análise histológica

No período de quatro dias após a cirurgia, foi evidenciada uma crosta espessa, formada principalmente por plasma e restos celulares,

ocupando quase totalmente a área da lesão em todos os grupos estudados. Sendo observado amadurecimento do tecido de granulação com deposição de colágeno nos grupos tratados com mastruz. Há evidências de maior proliferação de fibroblastos no grupo 2 em relação aos demais grupos estudados. Foi observado intenso infiltrado inflamatório em todos os grupos. Nesse período, não houve sinais de reepitelização (Figuras 1, 2 e 3).

Aos sete dias do pós-operatório foram verificados intenso infiltrado inflamatório e discreta proliferação de fibroblastos em todos os

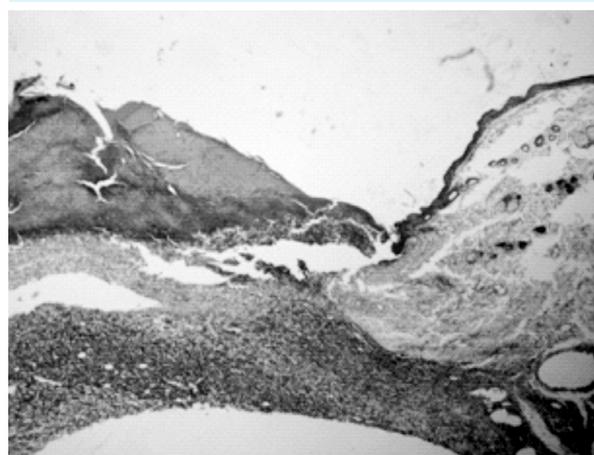


Figura 1: Fotomicrografia de ferida cutânea do grupo controle, 4º dia pós-cirúrgico (Aumento 40x, HE)

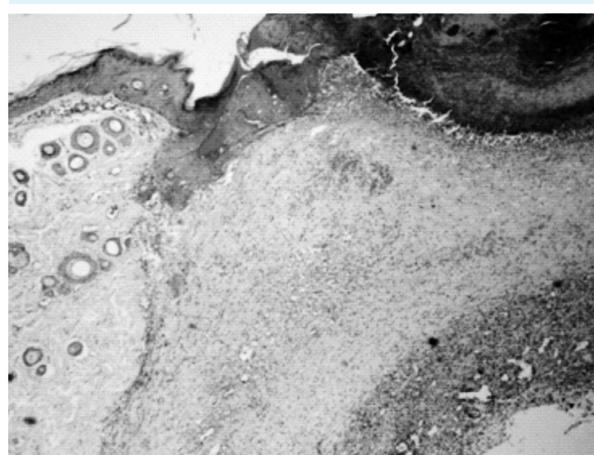


Figura 2: Fotomicrografia de ferida cutânea do grupo tratado com extrato do mastruz, 4º dia pós-cirúrgico (Aumento 40x, HE)

grupos estudados. Os achados histológicos demonstraram amadurecimento do tecido de granulação com deposição de colágeno e desaparecimento de alguns vasos sanguíneos no grupo 3, quando comparados aos demais grupos. Nesse período, também não houve sinais de reepitelização (Figuras 4, 5 e 6).

No período de 14 dias após a cirurgia, os achados histológicos da ferida nos grupos 1, 2 e 3 exibiram maior organização dos componentes da matriz extracelular, demonstrando moderada deposição de colágeno com desaparecimento de alguns vasos sanguíneos e moderada

presença de células inflamatórias. Durante esse tempo, observou-se que as feridas foram recobertas parcialmente por novas células epiteliais (Figuras 7, 8 e 9).

Discussão

Para este estudo, escolheu-se o rato da linhagem Wistar albinus, devido à facilidade de aquisição, manuseio, acomodação, resistência à agressão cirúrgica e a baixa mortalidade apresentada nos processos infecciosos. Utilizaram-se



Figura 3: Fotomicrografia de ferida cutânea do grupo tratado com extrato do mastruz e curativo, 4° dia pós-cirúrgico (Aumento 100x, HE)

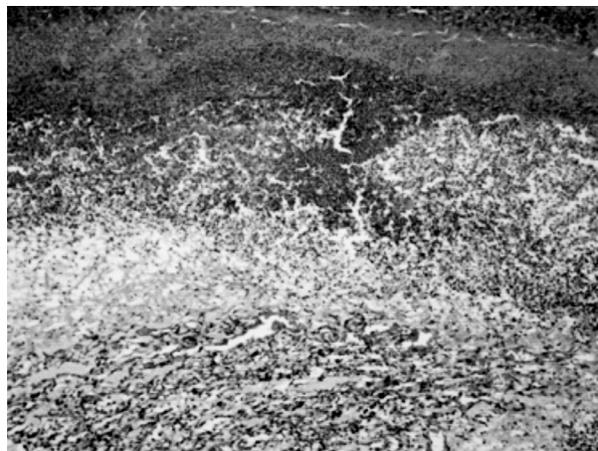


Figura 5: Fotomicrografia de ferida cutânea do grupo tratado com mastruz, 7° dia pós-cirúrgico (Aumento 100x, HE)



Figura 4: Fotomicrografia de ferida cutânea do grupo controle, 7° dia pós-cirúrgico (Aumento 100x, HE)



Figura 6: Fotomicrografia de ferida cutânea do grupo tratado com mastruz e curativo, 7° dia pós-cirúrgico (Aumento 100x, HE)

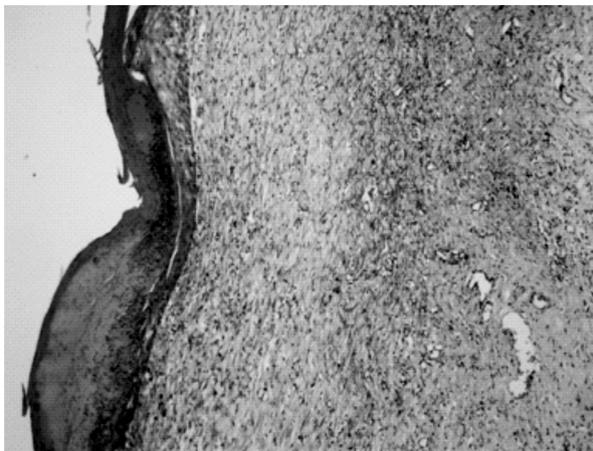


Figura 7: Fotomicrografia de ferida cutânea do grupo controle, 14º dia pós-cirúrgico (Aumento 100x, HE)

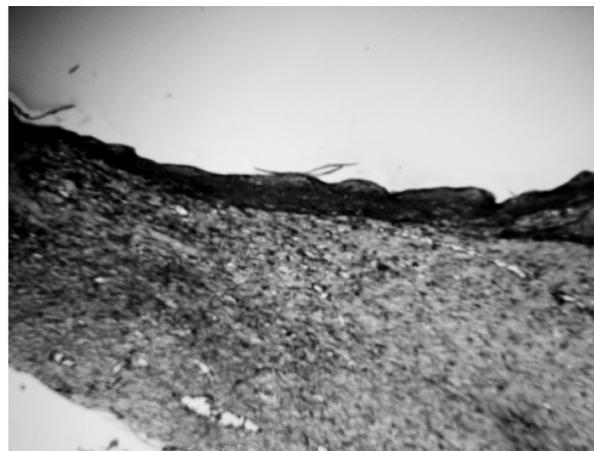


Figura 9: Fotomicrografia de ferida cutânea do grupo tratado com mastruz e curativo, 14º dia pós-cirúrgico (Aumento 100x, HE)

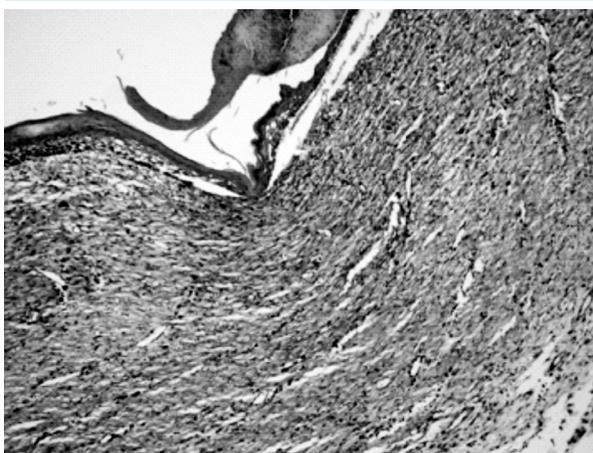


Figura 8: Fotomicrografia de ferida cutânea do grupo tratado com mastruz, 14º dia pós-cirúrgico (Aumento 100x, HE)

animais adultos machos para evitar a interferência das variações hormonais do ciclo menstrual das fêmeas que poderiam interferir no mecanismo de reparação tecidual¹⁰.

A utilização do extrato de natureza alcoólica ou clorofórmica pode interferir no sistema nervoso dos animais, podendo levar a alterações no processo cicatricial. Para evitar interferências nos resultados, optou-se pelo extrato do mastruz a base de água destilada^{11, 12}.

Os resultados demonstraram que, no período de quatro dias, foi verificada maior contração da ferida no grupo tratado apenas com mastruz em relação aos demais grupos e evidências

histológicas de amadurecimento do tecido de granulação com deposição de colágeno nos grupos 2 e 3. Na fase de fibroplasia que se inicia 48 horas após a lesão, surgem os fibroblastos que se multiplicam e produzem componentes do tecido conjuntivo, tais como a substância fundamental e o colágeno^{13, 14}. Também se observam a proliferação de células conhecidas como miofibroblastos que possuem semelhança morfológica com os fibroblastos; mas que, por conter uma quantidade aumentada de filamentos de actina e de miosina, possui atividade contrátil, participando assim da redução do tamanho das feridas após as lesões¹⁴. A maior contração da ferida durante essa fase, no grupo tratado com mastruz, pode ser resultado do aumento do número dessas células (fibroblastos e miofibroblastos) que levaram a maior deposição de colágeno, quando comparado ao grupo controle e redução do tamanho da ferida, quando comparado ao grupo controle e ao grupo que recebeu a cobertura secundária.

A celularidade aumentada na fase inicial do processo de cicatrização pode ter sido decorrente do uso do extrato de mastruz que possui, além de outras substâncias, óleos essenciais¹⁵. Os óleos essenciais ativam o processo de proliferação celular estimulando a cicatrização de tecidos¹⁶. No entanto, a gaze utilizada como cobertura secundária das feridas nos animais do

grupo 3, apesar de ter sido umedecida com o extrato aquoso do mastruz, pode ter ocasionado leve agressão tecidual durante a sua remoção diária para troca dos curativos, tendo operado como agente tóxico exógeno, acentuando a inflamação crônica¹⁷, o que dificultou a maior contração da ferida quando comparado ao grupo 2¹⁸.

Durante os períodos de quatro e sete dias, todos os grupos apresentaram intenso infiltrado inflamatório, sendo considerado moderado aos 14 dias após a cirurgia. Esse achado histológico demonstra que o extrato aquoso do mastruz promoveu efeito anti-inflamatório semelhante ao uso de solução fisiológica. O grau de intensidade da reação inflamatória é de fundamental importância na cicatrização. Assim, certo grau de inflamação é necessário, contudo uma reação infamatória intensa é prejudicial, pois pode haver comprometimento da microcirculação e ainda inibir a proliferação celular¹⁹.

No período de quatorze dias, não foi possível evidenciar diferença significativa no processo de cicatrização das feridas entre os grupos experimentais por meio das análises morfométrica e histológica. Esses achados possivelmente são devido à utilização de solução fisiológica 0,9% no grupo controle. A reparação das feridas desse grupo teve incremento na cicatrização, pois o soro fisiológico é utilizado como auxiliar no processo cicatricial de feridas. A irrigação suave das feridas com solução fisiológica não prejudica os tecidos e promove a limpeza adequada, além de preservar o tecido de granulação neoformado^{20, 21}. Esse fato pode ter contribuído para a diminuição da carga microbiana das feridas do grupo controle, pois o soro fisiológico, apesar de não possuir ação antimicrobiana, pode livrar a ferida de bactérias e debrís, favorecendo o processo de cicatrização.

Conclusão

A cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos tratadas com extrato do mastruz sem a utilização de cobertura secundária estéril de gaze

foi otimizada nas suas fases iniciais. Verificou-se que o extrato aquoso da planta *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) favoreceu a cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Faculdade Integral Diferencial pela concessão da bolsa de iniciação científica e pela utilização de suas instalações para realização da pesquisa.

Referências

1. Irion G. Feridas: novas abordagens, manejo clínico e atlas em cores. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
2. Geovanini T, Oliveira-Junior AG, Palermo TCS. Manual de curativos. São Paulo: Corpus; 2007.
3. Brito MVH, Carvalho DS, Albuquerque AMM. Efeito do extrato de mastruz em culturas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* - Mastruz stratum effect in cultures of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Revista Paraense de Medicina. 2007;21:21-5.
4. Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora; 2002.
5. Lima JLS, Furtado DA, Pereira JPG, Baracunhy JGV, Xavier HS. Plantas medicinais de uso comum no nordeste do Brasil. Campina Grande-PB: UFCG/ CEDAC; 2006.
6. Franco D, Gonçalves L F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. Rev Col Bras Cir. 2007;35(3):203-6.
7. Schanaider A, Silva PC. Uso de animais em cirurgia experimental. Acta Cir Bras. 2004;19(4):441-7.
8. Massone F. Anestesiologia Veterinária: Farmacologia e Técnicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.
9. Ramsey DT, Pope ER, Wagner-Mann C, Berg JN, Swaim SF. Effects of three occlusive dressing materials on healing of full-thickness skin wounds in dogs. Am J Vet Res. 1995;56(7):941-9.

10. Martins NLP, Malafaia O, Ribas-Filho JM, Heibel M, Baldez RN, Vasconcelos PRL, et al. Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (BABAÇU). Estudo controlado em ratos. *Acta Cir Bras.* 2006;21:65-6.
11. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G. *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS; 2007.
12. Costa MVL, Tavares ES. Anatomia foliar de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) – erva-de-Santa Maria. *Rev Bras Pl Med.* 2006;8(3):63-71.
13. Santos MFS, Czezko NG, Nassif PAN, Ribas-Filho JM, Alencar BLF, Malafaia O, et al. Avaliação do uso do extrato bruto de *Jatropha gossypifolia* L. Na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Acta Cir Bras.* 2006;21(3):2-7.
14. Junqueira LC; Carneiro J. *Histologia básica.* 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.
15. Matos FJA. *Plantas Medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil.* 2ª ed. Fortaleza: IU; 2000.
16. Martins ER, Castro DM, Castellani DC, Dias JE. *Plantas medicinais.* Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2000.
17. Santos Junior RQ, Soares LC, Maia Filho ALM, Araújo KS, Santos, IMSP, Costa Junior JS. et al. Estudo histológico da cicatrização de feridas cutâneas utilizando a banha de bacuri (*Platonia insignis* Mart.). *ConScientiae Saúde.* 2010;9(4):575-81.
18. Sawim SF. *Surgery of traumatized skin: maneagement and reconstruction.* Saunders; 1980. p. 70-115.
19. Lucena PLH, Ribas-Filho JM, Mazza M, Czezko NG, Dietz UA, Correa Neto MA, et al. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. *Acta Cir Bras.* 2006;21(2):46-51.
20. Davidson EB. Managing wound in dogs and cats - Part 1. *Compendium on Continuing Education for the acticing.Veterinarian.*1998;20(7):811-20.
21. Dealey C. *Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras.* 2ª ed. São Paulo: Atheneu; 2001.