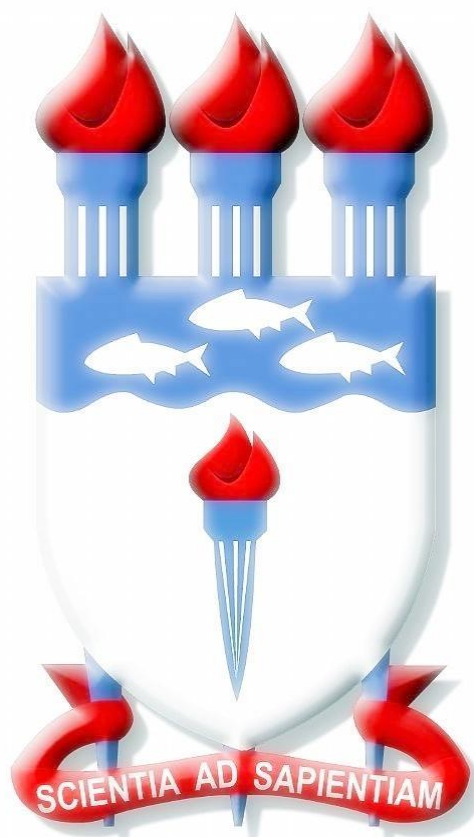


UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

LARISSA LOBO RIBEIRO BATISTA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA *Operculina hamiltonii* (*Operculina alata*) NA
FASE DE PROLIFERAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS
EM CAMUNDONGOS**



MACEIÓ-AL

2020.2

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

LARISSA LOBO RIBEIRO BATISTA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA *Operculina hamiltonii* (*Operculina alata*) NA
FASE DE PROLIFERAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS
EM CAMUNDONGOS**



Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para conclusão do curso de Bacharel em Odontologia.

Orientadora: Profa Dra. Andreia Espíndola Vieira Ribeiro

Co-Orientadora: Profa Dra. Janylle Nunes de Souza Ferro.

MACEIÓ-AL

2020.2



FOLHA DE APROVAÇÃO

LARISSA LOBO RIBEIRO BATISTA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA *Operculina hamiltonii* (*Operculina alata*) NA
FASE DE PROLIFERAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS
EM CAMUNDONGOS**

BANCA EXAMINADORA:

PROF.ª DRA. ANDREIA ESPÍNDOLA VIEIRA RIBEIRO – ORIENTADORA

PROF.ª DRA. DYANA DOS SANTOS FAGUNDES- EXAMINADOR

PROF. DR. FERNANDO JOSÉ CAMELLO DE LIMA - EXAMINADOR

APROVADA EM: ____ / ____ / ____

Coordenação dos Trabalhos de Conclusão de Curso da FOUFAL

AGRADECIMENTOS DO TCC

Primeiramente agradecer ao meu bondoso Deus por sua infinita graça e misericórdia sobre minha vida. Sua fidelidade e seu amor preenchem minha vida.

Agradeço a minha filha Clarissa, que mesmo tão pequena me ensina muito sobre o amor.

Ao amor da minha vida, meu querido esposo Thiago, que sempre esteve ao meu lado durante toda a minha jornada, seu apoio foi e é fundamental na minha vida.

Aos meus pais Aristeu Batista e Ângela Lôbo pois sei que posso contar para tudo e que sempre estão ao meu lado querendo o meu bem.

Às minhas irmãs Ainoã e Luana, pois são exemplos para mim.

Aos meus tios, primos, familiares que são a base de tudo, minha família que amo tanto.

Agradeço também aos meus sogros José Luiz e Sinne Martins por todo apoio e também ao meu cunhado Jonathan que tenho bastante carinho.

À Prof.^a Dra. Andreia Espíndola Vieira posso dizer que por vezes foi mais que uma orientadora, por vezes uma amiga, mãe, meu muito obrigada e também a Coordenadora Prof.^a Dra. Janylle Nunes pela confiança e oportunidade de trabalhar ao lado de vocês. Serei eternamente grata.

À minha dupla de pesquisa Lilianny Rocha e também a Adélia Barros, pelo apoio nessa jornada científica que compartilhamos.

Ao Laboratório de Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (LBC-ICBS) pelo apoio na fase experimental da pesquisa, em especial ao doutorando Julianderson Oliveira, à Técnica Juliane Silva e ao Prof. Emiliano Barreto.

À técnica de laboratório do Setor de Histologia e Embriologia, Maria de Fátima por toda a ajuda e ensinamentos na fase de confecção das lâminas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL) pela bolsa concedida para o desenvolvimento do meu plano de trabalho no Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) da Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação (Propep) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

SUMÁRIO

MANUSCRITO	6
RESUMO	7
ABSTRACT	8
INTRODUÇÃO	9
MATERIAIS E MÉTODOS	11
RESULTADOS	13
DISCUSSÃO	18
CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS	21
ANEXO	24

Avaliação da eficácia da *Operculina hamiltonii* (*Operculina alata*) na fase de proliferação da cicatrização de feridas cutâneas em camundongos

Evaluation of the efficacy of *Operculina hamiltonii* (*Operculina alata*) in the proliferation phase of skin wound healing in mice

Larissa Lobo Ribeiro Batista, Aluna de graduação, UFAL, Odontologia, Maceió, Alagoas, Brasil.

Jamylle Nunes de Souza Ferro, Co-Orientadora, Professora Adjunta A1, ICBS, UFAL, Maceió, Alagoas, Brasil.

Andreia Espíndola Vieira Ribeiro, Orientadora, Professora Adjunta A2, ICBS, UFAL, Maceió, Alagoas, Brasil.

Autor correspondente: Andreia Espíndola Vieira Ribeiro, Av. Lourival Melo Mota, S/N, Tabuleiro do Martins, Maceió – AL, CEP 57072-900, andreia.vieira@icbs.ufal.br, (82) 3214-1529.

RESUMO

Popularmente a tintura de Jalapa *Operculina hamiltonii* (*Operculina alata*) pode ser usada em doenças da pele, entretanto não há evidências científicas sobre seu efeito na cicatrização. Assim, este estudo investigou os efeitos do uso tópico da *O. hamiltonii* (tintura de jalapa) na fase de proliferação em feridas cutâneas. Camundongos Swiss adultos machos (9 semanas, n=5 por grupo, CEUA-UFAL: 047/2017) foram anestesiados e realizada lesão cutânea excisional ($\varnothing=1\text{cm}$) que foram fotografadas e receberam tratamento tópico diários com 50 μL de solução salina ou hidroalcoólica 5% (Controles) ou nos grupos experimentais com tintura de jalapa (*O. hamiltonii*) extrato comercial diluído a 1% (0,17 mg/mL) ou puro (17 mg/mL). Ao final do período experimental os fragmentos de pele contendo as lesões foram fixados, processados para inclusão em parafina e corados em Hematoxilina Eosina para análise histológica (qualitativa). Os animais permaneceram saudáveis sem evidências de infecção. O exame macroscópico das feridas revelou edema, hiperemia, formação de crosta em todos os grupos e redução significativa na área da ferida aos 6 dias pós-injúria (fase proliferativa) em relação à lesão inicial. Na análise histológica qualitativa, o grupo experimental tratado com extrato *O. hamiltonii* diluído (0,17 mg/mL) demonstrou maior reepitelização das bordas e aumento de pequenos vasos sanguíneos em relação aos grupos controles. Os resultados obtidos sugerem que a aplicação tópica do extrato comercial de tintura de Jalapa [*O. hamiltonii*] diluído (0,17 mg/mL) acelera a fase proliferativa com melhor reepitelização e formação de tecido de granulação na cicatrização em camundongos.

Palavras Chave: *Operculina hamiltonii*; *Operculina alata*; Reparo tecidual; c

Camundongos

ABSTRACT

Popularly the tincture of Jalapa *Operculina hamiltonii* (*Operculina alata*) can be used in skin diseases, however there is no scientific evidence about its effect on healing. Thus, this study investigated the effects of topical use of *O. hamiltonii* (tincture of Jalapa) in the proliferation phase of skin wounds. Adult male Swiss mice (9 weeks, n=5 per group, CEUA-UFAL: 047/2017) were anesthetized and an excisional skin lesion ($\varnothing=1\text{cm}$) was performed. They were photographed and received daily topical treatment with 50 μL of saline or 5% hydroalcoholic solution (Controls) or in experimental groups with tincture of Jalapa (*O. hamiltonii*) commercial extract diluted to 1% (0.17 mg/mL) or pure (17 mg/mL). At the end of the experimental period, skin fragments containing the lesions were fixed, processed for inclusion in paraffin and stained in HE for histological analysis (qualitative). Animals remained healthy with no evidence of infection. Macroscopic examination of the wounds revealed edema, hyperemia, crusting in all groups and a significant reduction in the wound area at 6 days post-injury (proliferative phase) in relation to initial injury. In qualitative histological analysis, the experimental group treated with diluted *O. hamiltonii* extract (0.17 mg/mL) showed greater re-epithelialization of borders and an increase in small blood vessels compared to control groups. The results obtained suggest that topical application of the commercial extract tincture of Jalapa [*O. hamiltonii*] diluted (0.17 mg/mL) accelerates the proliferative phase with better re-epithelialization and formation of granulation tissue in wound healing in mice.

Key-words: *Operculina hamiltonii*. *Operculina alata*. Wound Healing. Mice.

INTRODUÇÃO

As feridas abertas podem servir como porta de entrada para infecções sistêmicas por estarem sujeitas a infecções por microorganismos. Por esse motivo acelerar o processo de cicatrização além de prevenir infecções e restaurar as funções normais da parte afetada, proporciona o alívio do desconforto e da dor associados às feridas (Agra, et al., 2011). Nesse sentido, estudos relacionados à cicatrização buscam alternativas para encurtar o tempo do fechamento da ferida promovendo a cura da área lesionada e o restabelecimento das funções do tecido (Agra, et al., 2011; Cardoso, et al., 2018; Lima, et al., 2017; Carmo, et al., 2020).

A cicatrização de feridas cutâneas é um processo complexo, multifatorial e dependente de mecanismos de sinalização celular. O processo de cicatrização da pele pode ser caracterizado basicamente por três fases sequenciais que se sobrepõem iniciando pela fase de inflamação com a hemostasia e o processo inflamatório propriamente dito, seguido pela fase de proliferação que gradativamente evolui para a fase de maturação ou remodelação (Douaiher, et al. 2014; Li, et al. 2007).

Na fase inicial a primeira resposta é a inflamação, ela atua como mecanismo de defesa do tecido, capaz de proporcionar resistência aos micro-organismos invasores (Kondo 2007; Agar et al., 2013). A segunda fase é caracterizada tanto pela proliferação quanto pela migração celular envolvendo células tais como fibroblastos, células endoteliais e epiteliais, reflete tanto na deposição de colágeno quanto na fase de contração da ferida. O colágeno não só confere integridade à matriz de tecidos, mas também apresenta papel importante na homeostase e na epitelização e também na última etapa do processo, caracterizada pela fase de maturação e remodelação (Agar et al., 2013).

Na fase proliferativa os fibroblastos se multiplicam dando origem a um processo chamado fibroplasia, por meio da ação de citocinas. Concomitantemente, ocorre a proliferação de células endoteliais, com formação de rica vascularização (angiogênese) e infiltração densa de macrófagos, formando o tecido de granulação. A fase proliferativa

é composta de três eventos importantes que sucedem o período de maior atividade da fase inflamatória: neo-angiogênese, fibroplasia e epitelização (Agra, et al., 2011; Lima, et al., 2017)

Desde a antiguidade existem registros de produtos naturais utilizados em lesões com o objetivo de promover a otimização da cicatrização com reduzida contaminação. As ervas medicinais foram utilizadas como uma das primeiras intervenções farmacológicas na cura de lesões e 25% das drogas utilizadas são derivadas das plantas (Bergeron e Wynn, 1996).

O uso de produtos fitoterápicos compreende uma prática terapêutica comumente utilizada e representa o tipo de tratamento mais acessível para uma parcela significativa da população, além de ser uma cultura muito difundida na região do Brasil, no nordeste (Klein et al., 2009; Souza-Moreira et al., 2010). A *Operculina* sp. pertence à Família das Convolvulaceae que compreende 58 gêneros e cerca de 1.880 espécies (Staples 2012) A *Operculina* sp. é amplamente utilizada pela medicina popular, sendo indicada para diversas finalidades. No entanto, seus efeitos fitoterápicos não estão totalmente caracterizados na literatura científica.

A espécie *Operculina alata*, foi descrita originalmente por Hamilton e posteriormente renomeada por Urban. Popularmente ela é denominada como: batata-de-purga, Jalapa-do-brasil, Batatão, Raiz-do-jeticucu, Mecoacã. Essa espécie tem sido alvo de vários estudos de revisão e atualmente está classificada como *Operculina hamiltonii* (G.Don) D.F. Austin & Staples (Nº DCB (Denominação Comum Brasileira): 10731, ANVISA 2017). Esta espécie apresenta as seguintes sinônimas: *Convolvulus alatus* Ham.; *Ipomoea altissima* Mart. ex Choisy; *Ipomoea alulata* Miq.; *Ipomoea hamiltonii* G. Don; *Ipomoea pterodes* Choisy; *Operculina alata* Urb.; *Operculina altissima* (Mart. ex Choisy) Meisn.; *Operculina pterodes* (Choisy) Meisn. (Austin and Staples, 1983).

O. hamiltonii possui diferentes efeitos biológicos, como ação anti-helmíntica, ação purgativa e laxante, além de ser popularmente utilizada para prevenir doenças no trato gastrointestinal, bem como no tratamento de doenças da pele. (Brito-Junior, et al, 2011)

Diante da ausência de trabalhos na literatura testando o extrato da *Operculina hamiltonii* no reparo tecidual o presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do uso tópico desse extrato comercializado como tintura de jalapa na fase de proliferação da cicatrização de feridas cutâneas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais de experimentação

Foram utilizados camundongos Swiss adultos do sexo masculino com 9 semanas com peso médio em torno de aproximadamente 25-35g. Estes foram individualizados em gaiolas com livre acesso a água e ração sólida *ad libitum*, mantidos a 22-28°C com um ciclo de luz/escuro controlado de 12 horas no Laboratório de Biologia Celular (LBC), ICBS-UFAL. Experimentos foram realizados durante a fase de luz do ciclo. Inicialmente os animais foram mantidos em gaiolas coletivas por dois dias, na sequência os animais foram individualizados para que pudessem se ambientar por um período maior, para uma menor interferência de alterações comportamentais dos animais em relação às modificações locais e nesse período foi feito treinamento prático para manipulação com animais. Todas as análises foram realizadas de acordo com as diretrizes institucionais e éticas aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (CEUA - UFAL) sob protocolo de número 47/2017 (ANEXO A).

Procedimento cirúrgico

Para avaliar os efeitos da *Operculina hamiltonii* na cicatrização da ferida, os animais foram pesados e anestesiados via intraperitoneal (ip), a região dorsal anterior dos camundongos foi submetida à assepsia com álcool 70% seguido da tricotomia. A lesão foi feita em uma única incisão no dorso de cada camundongo, confeccionada de forma circular com aproximadamente 1,35 cm de diâmetro utilizando uma lâmina cirúrgica estéril.

Tratamento

Os animais foram divididos em quatro grupos sendo dois controles tratados com solução salina ou solução hidroalcoólica a 5% (Gonçalves et al., 2007) e dois experimentais tratados com extrato comercializado da tintura de jalapa [*Operculina hamiltonii* (*Operculina alata*)], Laboratório Sobral® diluído a 1% na concentração de 0,17 mg/mL ou puro a 17mg/ml. Diariamente os animais recebiam a aplicação tópica de 50 µL da solução correspondente de cada grupo até completar 6 dias de tratamento correspondente à fase proliferativa.

Análise Macroscópica

Para a análise macroscópica foram consideradas as análises comportamentais dos animais, as características das lesões previamente aos tratamentos diários, bem como os registros fotográficos da lesão inicial (1º dia e início do tratamento) até o final do período experimental previamente à biópsia da ferida. Todas as lesões foram fotografadas com uma câmera (Sony Cyber-shot, DSC W80) com o auxílio de uma régua e a distância padronizada por meio de um tripé para análise macroscópica da contração da ferida. Os dados foram analisados usando o software Adobe Photoshop CS5 software (Cardoso et al., 2018).

Análise histológica

Ao final do período experimental os animais foram mortos com Tiopental sódico® (200 mg/mL i.p.). Os fragmentos de pele contendo as feridas foram removidos usando bisturi cirúrgico, fixados em formol tamponado a 4% e processados para inclusão em parafina. Foram obtidos cortes de 5 µm de espessura corados em hematoxilina e eosina (H.E.) para análise qualitativa ao microscópio de luz utilizando as objetivas de 4 a 40x.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o programa GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA). Inicialmente foi realizado o teste Shapiro-wilk. As amostras apresentaram distribuição normal e foram analisadas por meio de testes paramétricos. Para análise entre dois grupos teste t-student, e para análise com três ou mais grupos ANOVA One-Way, seguido do post-teste de comparação múltipla de Bonferroni³. Foram considerados estatisticamente significativos valores de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Pesagem dos animais

Nossos resultados demonstraram que avaliando o peso corpóreo dos animais, não houve alterações estatisticamente significativas no peso em decorrência dos procedimentos cirúrgicos e dos tratamentos tópicos aplicados.

Análise macroscópica

Os animais permaneceram saudáveis sem evidências de infecção. O exame macroscópico das feridas revelou edema, hiperemia, formação de crosta em todos os grupos. As análises das medidas realizadas com base nos registros fotográficos das lesões iniciais demonstrou a padronização das mesmas não apresentando diferenças estatisticamente significativas entre elas. Ao passo que ao final do período experimental 6 dias pós-injúria (fase proliferativa) todos os grupos apresentaram redução estatisticamente significativa na área das feridas excisionais em relação às suas respectivas lesões iniciais, mas sem diferenças estatisticamente significantes nas lesões finais entre os diferentes grupos (Tabela 1, Figuras 1 e 2).

Tabela 1 com área da lesão (cm²) por grupo com média ± erro padrão.

	Área da Lesão inicial	Área na Fase Proliferativa
Controle Salina	1,410795 ± 0,208437952	0,935576857 ± 0,42812241
Controle Álcool 5%	1,4552429 ± 0,169495837	1,022498333 ± 0,115509326
Exp <i>O. hamiltonii</i> 1%	1,4197615 ± 0,147163064	0,91767 ± 0,305159139
Exp <i>O. hamiltonii</i> Puro	1,4017950 ± 0,198624338	0,971270857 ± 0,258261275

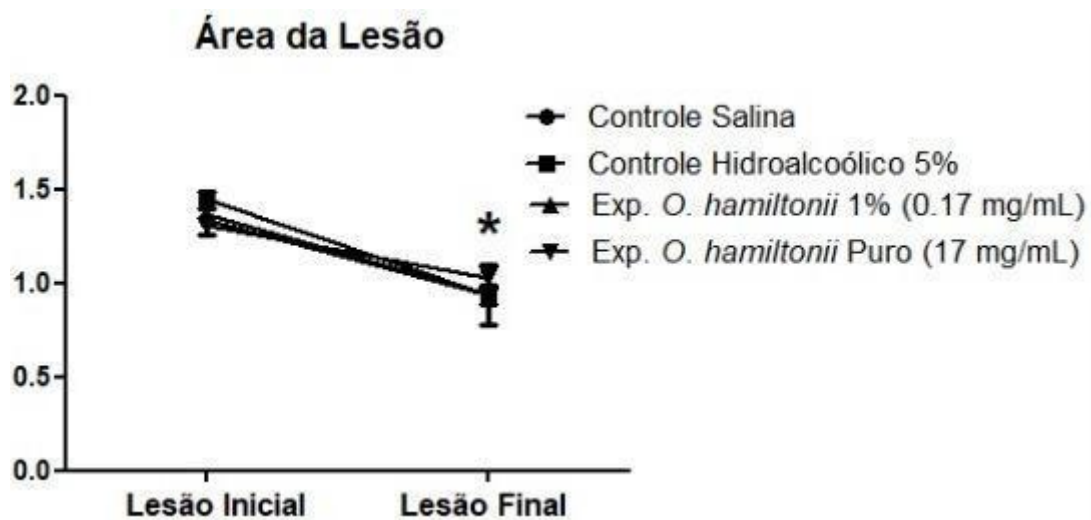


Figura 1. Área das lesões (cm²) representadas pelas médias dos grupos com erro padrão.

Análise Macroscópica das Lesões

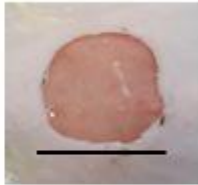
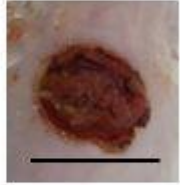
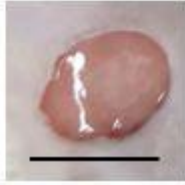
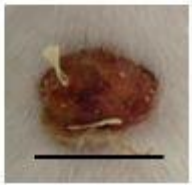

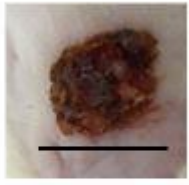
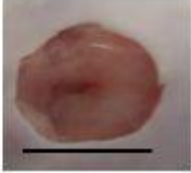

Grupo	Lesão inicial	Fase de Proliferação
Controle Salina		
Controle Hidroalcoólico 5%		
Experimental <i>O.h.</i> diluído a 1% (0,17 mg/mL)		
Experimental <i>O.h.</i> Puro (17 mg/mL)		

Figura 2. Fotografias dos grupos salina, Hidroalcoólico, Experimental *O. h.* diluído a 1% (0,17 mg/mL) e Experimental *O. h.* puro (17 mg/mL) no dia da cirurgia e 6 dias após injúria.

Análise histológica

A avaliação histológica da fase inflamatória no 6º dia pós injúria mostrou-se em todos os grupos de forma equivalente resposta à lesão com a migração e proliferação de células como fibroblastos, células endoteliais e epiteliais, e deposição de tecido conjuntivo e contração da ferida. Os achados histológicos comparativos mais relevantes podem ser observados na Figura 2.

No grupo controle salina o infiltrado inflamatório presente foi observado de forma mais concentrada na região periférica da ferida, mesmo assim ocorreu a formação de tecido de granulação com proliferação de fibroblastos e vasos sanguíneos. Enquanto que no controle hidroalcoólico a 5% houve presença exacerbada de células inflamatórias e poucos vasos sanguíneos, demonstrando assim um atraso da fase proliferativa quando

comparado aos demais grupos analisados. Já no grupo experimental tratado com o extrato comercial da Tintura de jalapa (Laboratório Sobral®) *Operculina hamiltonii* puro a presença dos fibroblasto e vasos sanguíneos no tecido de granulação foi menos evidente em relação ao extrato diluído ou ao grupo controle salina. Por outro lado no grupo experimental tintura de Jalapa (Laboratório Sobral®) *Operculina hamiltonii* diluído a 1% (0,17 mg/mL) a distribuição de células inflamatórias e fibroblastos foi mais difundida ao longo do tecido de granulação. Além disso, notou-se maior evidência dos vasos sanguíneos quando comparado ao controle hidroalcoólico e ao grupo experimental tratado com o extrato comercial puro. Ademais, a epiderme presente na região da reepitelização estava ligeiramente mais estratificada em relação aos demais grupos (Figura 3).

Análise histológica da cicatrização das feridas

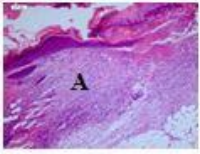
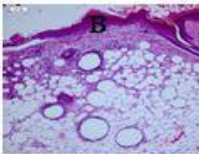
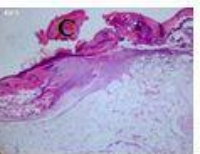
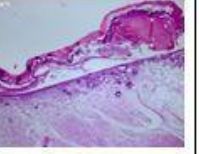
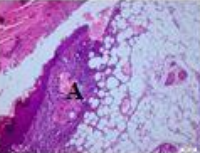
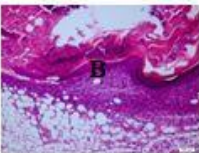
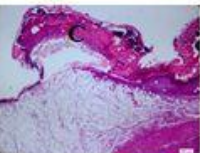
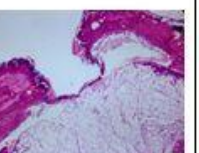
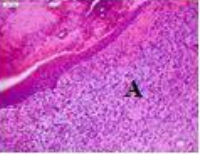
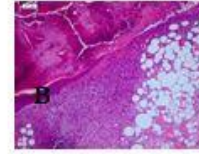
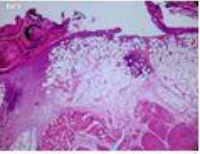

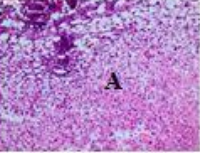
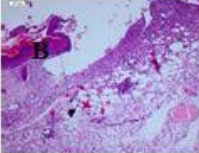

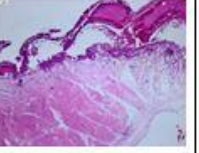
	TECIDO DE GRANULAÇÃO	REEPITEL.	BORDOS LATERAIS	PARTE CENTRAL DA LESÃO
Controle Salina				
Hidroalcoólico 5%				
Experimental <i>O.h.</i> diluído a 1% (0,17 mg/mL)				
Experimental <i>O.h.</i> Puro (17 mg/mL)				

Figura 3. Fotomicrografias das análises histológicas qualitativas nos diferentes grupos de acordo com os respectivos tratamentos e eventos observados. **A:** Tecido de granulação. **B:** Reepitelização na periferia da lesão. **C:** Presença da crosta na superfície da lesão. Aumento original de 10x nas colunas de Tecido De Granulação e Reepitel. e de 4x nas colunas de Bordos Laterais e Parte Central da Lesão.

DISCUSSÃO

A cicatrização de feridas é um processo complexo e sequencial que requer a participação de muitos tecidos e tipos de células. O processo envolve a proliferação e migração de queratinócitos nas bordas da ferida, bem como a formação de tecido de granulação. No presente estudo foi analisada a fase de proliferação do processo de cicatrização que é caracterizada pela migração celular envolvendo células tais como fibroblastos, células endoteliais e epiteliais, o que reflete tanto na deposição de colágeno quanto na fase de contração da ferida. O colágeno não só confere integridade com a matriz de tecidos, mas também apresenta papel importante na homeostase e na epitelização e também na última etapa do processo, caracterizado pela fase de maturação e remodelação (Agar et al., 2013).

A reepitelização é decorrente da alta atividade mitótica e migração de queratinócitos, bem como a formação de tecido de granulação consistente, compreendendo células e matriz extracelular (Lima et al., 2017). Nossos achados microscópicos obtidos com as análises histológicas qualitativas corroboram com os achados da literatura ao analisar as bordas da lesão verificando a reepitelização e a presença evidente do tecido de granulação. De acordo com as análises feitas, mostrou que em todos os grupos encontramos a reepitelização, mas no grupo experimental com o extrato comercial hidroalcoólico de *Operculina hamiltonii* 1% (0,17 mg/ml), foi visto que os rebordos estavam avançados, a parte da lesão mostrava mais coberta, por um tecido epitelial novo. De acordo com a literatura, nas primeiras 24 a 36 horas após a lesão começam a estimular a proliferação de células do epitélio. Na pele os queratinócitos são capazes de sintetizar diversas citocinas que estimulam a cicatrização das feridas cutâneas (Tazima et al, 2008).

Com o intuito de formar novas células na região da ferida ocorre a neo-angiogênese que é o processo de formação de novos vasos sanguíneos, etapa fundamental na formação do tecido de granulação. Dessa forma, além de restabelecer a nutrição do tecido e o aumento do aporte de células, como macrófagos e fibroblastos para o local da ferida (Tazima et al, 2008), esse tecido de granulação foi evidenciado em todos os grupos analisados no presente trabalho, incluindo nos controles. O aplicação tópica diária do extrato comercial hidroalcoólico de Tintura de Jalapa (*Operculina hamiltonii*) diluída a 1% (0,17 mg/ml) acelerou o processo de cicatrização. O que foi

evidenciado com a presença do tecido de granulação bem característico e em proporções maiores, apresentando vasos sanguíneos mais proeminentes.

Houve diferença qualitativa em relação a proliferação dos fibroblastos nos diferentes grupos analisados. Os fibroblastos são atraídos para o local inflamatório, onde se dividem e produzem os componentes da matriz extracelular. O fibroblasto só aparece no sítio da lesão a partir do 3º dia, quando os leucócitos polimorfonucleares já fizeram seu papel higienizador da área traumatizada. A função primordial dos fibroblastos é sintetizar colágeno, ainda na fase celular da inflamação. O colágeno é o material responsável pela sustentação e pela força tênsil da cicatriz, produzido e degradado continuamente pelos fibroblastos (Tazima et al, 2008).

Em conformidade com as análises realizadas na presente pesquisa o uso disseminado popularmente da tintura de Jalapa em lesões cutâneas poderia de fato até ser aceito como nova possibilidade de aplicação terapêutica em relação a fase proliferativa e com o extrato comercializado diluído. No entanto, análises complementares ainda são necessárias para confirmar os presentes achados histológicos observados na análise qualitativa, bem como os efeitos nas demais fases do processo de cicatrização das feridas.

CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia aplicada, nossos resultados sugerem que o tratamento tópico com extrato comercial hidroalcoólico de Tintura de Jalapa (*Operculina hamiltonii*) diluída a 1% (0,17 mg/ml) contribuiu no fechamento de feridas cutâneas ao favorecer a reepitelização e aumentar a angiogênese na formação do tecido de granulação da fase proliferativa do processo de cicatrização em camundongos.

REFERÊNCIAS

- Agra, I.K.R., Pires, L.L.S., Carvalho, P.S.M., Silva-Filho, E.A., Smaniotto, S., Barreto, E., 2013. Evaluation of wound healing and antimicrobial properties of aqueous extract from *Bowdichia virgilioides* stem barks in mice. *An. Acad. Bras. Cienc.* 85, 945–954. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652013005000049>
- Balbino, C.A., Pereira, L.M., Curi, R., 2005. Mechanisms involved in wound healing: A revision. *Rev. Bras. Ciências Farm. J. Pharm. Sci.* 41, 27–51. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000100004>
- Cardoso, S. H., de Oliveira, C. R., Guimarães, A. S., Nascimento, J., de Oliveira dos Santos Carmo, J., de Souza Ferro, J. N., Barreto, E. (2018). Synthesis of newly functionalized 1,4-naphthoquinone derivatives and their effects on wound healing in alloxan-induced diabetic mice. *Chemico-Biological Interactions*, 291, 55–64. doi:10.1016/j.cbi.2018.06.007
- Carmo, J., Cavalcante-Araújo, P., Silva, J., Ferro, J., Correia, A. C., Lagente, V., & Barreto, E. (2020). Uvaol Improves the Functioning of Fibroblasts and Endothelial Cells and Accelerates the Healing of Cutaneous Wounds in Mice. *Molecules*, 25(21), 4982. doi:10.3390/molecules25214982
- Coelho, A.G., De Freitas, R.M., Dantas Lopes, J.A., Lopes Resende De Santana, L.C., de Amorim Carvalho, F.A., da Costa Júnior, J.S., Araújo, B.Q., Das Graças Lopes Cito, A.M., 2011. EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS RAÍZES E TESTES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Operculina alata* (Ham) Urban. *Rev. Eletrônica Farmácia* 8. <https://doi.org/10.5216/ref.v8i3.15799>

- Gurtner, G.C., Werner, S., Barrandon, Y., Longaker, M.T., 2008. Wound repair and regeneration. *Nature* 453, 314–321. <https://doi.org/10.1038/nature07039>
- Kendir, G., Süntar, I., Çeribaşı, A.O., Köroğlu, A., 2019. Activity evaluation on *Ribes* species, traditionally used to speed up healing of wounds: With special focus on *Ribes nigrum*. *J. Ethnopharmacol.* 237, 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.03.038>
- Klein, T., Longhini, R., Bruschi, M.L., Mello, J.C.P., 2009. Fitoterpicos: Um mercado promissor. *Rev. Ciências Farm. Básica e Apl.* 30, 241–248.
- Lima, C. F. M., Vieira, A. L. F., Wanderley, C. L. A, Ferro, S. J N., Smaniotto, S, 2017. Topical Growth Hormone Accelerates Wound Healing in Mice. *Wounds*, 29, 387-392.
- Lopes, C.S., Junqueira, M.A., Cosme-Silva, L., Pegoraro, C. de O.R., Garbelini, C.C.D., Oliveira, T.M., Martins, N.S., Neves, J. dos S., Sakai, V.T., 2019. Initial inflammatory response after the pulpotomy of rat molars with mta or ferric sulfate. *J. Appl. Oral Sci.* 27, 1–11. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0550>
- Luo, Y., Zheng, S.G., 2016. Hall of fame among pro-inflammatory cytokines: Interleukin-6 gene and its transcriptional regulation mechanisms. *Front. Immunol.* 7, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00604>
- Mekonnen, A., Sidamo, T., Asres, K., Engidawork, E., 2013. In vivo wound healing activity and phytochemical screening of the crude extract and various fractions of *Kalanchoe petitiána* A. Rich (Crassulaceae) leaves in mice. *J. Ethnopharmacol.* 145, 638–646. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.002>
- Michelin, D.C., Finati, S.C.G., Sacramento, L.V.S., Vilegas, W., Salgado, H.R.N., 2010. Controle de qualidade da raiz de *Operculina macrocarpa* (Linn) Urb., Convolvulaceae. *Brazilian J. Pharmacogn.* 20, 18–22. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2010000100005>
- Minutti, C.M., Knipper, J.A., Allen, J.E., Zaiss, D.M.W., 2017. Tissue-specific contribution of macrophages to wound healing. *Semin. Cell Dev. Biol.* 61, 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.08.006>
- Pessoa, A.F.M., Florim, J.C., Rodrigues, H.G., Andrade-Oliveira, V., Teixeira, S.A., Vitzel, K.F., Curi, R., Saraiva Câmara, N.O., Muscará, M.N., Lamers,

- M.L., Santos, M.F., 2016. Oral administration of antioxidants improves skin wound healing in diabetic mice. *Wound Repair Regen.* 24, 981–993. <https://doi.org/10.1111/wrr.12486>
- Phillipson, M., Kubes, P., 2019. The Healing Power of Neutrophils. *Trends Immunol.* 40, 635–647. <https://doi.org/10.1016/j.it.2019.05.001>
- Reinke, J.M., Sorg, H., 2012. Wound repair and regeneration. *Eur. Surg. Res.* 49, 35–43. <https://doi.org/10.1159/000339613>
- Rodrigues, H.G., Vinolo, M.A.R., Sato, F.T., Magdalon, J., Kuhl, C.M.C., Yamagata, A.S., Pessoa, A.F.M., Malheiros, G., Dos Santos, M.F., Lima, C., Farsky, S.H., Camara, N.O.S., Williner, M.R., Bernal, C.A., Calder, P.C., Curi, R., 2016. Oral administration of Linoleic acid induces new vessel formation and improves skin wound healing in diabetic rats. *PLoS One* 11, 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165115>
- Souza-Moreira, T.M., Salgado, H.R.N., Pietro, R.C.L.R., 2010. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. *Brazilian J. Pharmacogn.* 20, 435–440. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2010000300023>
- Suroowan, S., Pynee, K.B., Mahomoodally, M.F., 2019. A comprehensive review of ethnopharmacologically important medicinal plant species from Mauritius. *South African J. Bot.* 122, 189–213. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.03.024>
- Tessema, Z., Makonnen, E., Debella, A., Molla, Y., 2018. Evaluation of in vivo wound healing and anti-inflammatory activity of crude extract of the fruits of *Brucea antidysentrica* in mice. *Wound Med.* 21, 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2018.05.005>

ANEXO A – Termo de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (CEUA - UFAL) sob protocolo de número 47/2017.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "*Avaliação do efeito biológico da Operculina alata (Ham.) Urban*", registrada com o nº 47/2017, sob a responsabilidade do pesquisador **Profa. Dra. Andreia Espíndola Vieira Ribeiro**, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (CEUA/UFAL), em reunião de 21.07.2017.

Vigência da autorização	01.09.2017 a 27.12.2019
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogênico / Swiss
Nº de animais	90
Peso/idade	20-35g / 42-60 dias
Sexo	Machos
Origem/Local de manutenção	Biotério Central da UFAL / Biotério do Laboratório de Biologia Celular – LBC/UFAL

Maceió, 25 de julho de 2017.

Profª. Drª. Silvana Ayres Martins
Coordenadora CEUA/UFAL

Profª. Dra. Silvana Ayres Martins
Coordenadora da Comissão de
Ética no uso de Animais
SIAPE 1120858