

EFETO DE *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI (AROEIRA) E *CARAPA GUIANENSIS* AUBLET (ANDIROBA) NA CICATRIZAÇÃO DE GASTRORRAFIAS

Influence of Schinus terebinthifolius Raddi (aroeira) and Carapa guianensis Aublet (andiroba) in the healing process of gastrorrhafies

Orlando José dos SANTOS¹, Osvaldo MALAFAIA², Jurandir Marcondes RIBAS-FILHO²,
Nicolau Gregori CZECZKO², Rayan Haquim Pinheiro SANTOS³, Rennan Abud Pinheiro SANTOS⁴

Trabalho realizado no ¹Departamento de Medicina II, Universidade Federal do Maranhão, Campus do Bacanga, São Luís, MA, Brasil, ²Faculdade Evangélica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil, ³Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil, ⁴Universidade Federal do Maranhão, Campus do Bacanga, São Luís, MA, Brasil.

RESUMO - Racional - A gastrorrafia isolada ou associada ao uso de adesivos biológicos constituiu ao longo da história da cirurgia a forma usual de promover a cicatrização nas lesões gástricas; entretanto, o uso de fitoterápico tem sido cada vez mais empregado para auxiliar o processo cicatricial. **Objetivo** - Avaliar a cicatrização de ferida provocada no estômago de ratos com uso do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi e óleo da *Carapa guianensis* Aublet. **Métodos** - Foram utilizados 90 ratos, adultos, machos, distribuídos em três grupos: grupo aroeira, grupo controle e grupo andiroba, os quais foram subdivididos em três subgrupos de cinco animais conforme o momento da morte induzida (sete, 14 e 21 dias). Todos foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico (lesão e rafia do estômago) diferindo apenas que os animais dos grupos aroeira e andiroba receberam dose diária de 100 mg/kg do extrato hidroalcoólico e do óleo, via gavagem, enquanto o grupo controle recebeu solução salina isotônica. Os parâmetros avaliados foram: alterações macroscópicas e microscópicas, teste de resistência à insuflação de ar atmosférico e teste pela força de tração. **Resultados** - Todos os animais demonstraram boa cicatrização da parede abdominal e das gastrorrafias, sem infecção e deiscência. Ambos os grupos apresentaram aderências à superfície das gastrorrafias com órgãos vizinhos. O teste de resistência por insuflação de ar atmosférico mostrou maiores médias de pressão no período de sete dias e o teste de força de tração revelou maiores forças de ruptura no período de sete e 14 dias nos grupos aroeira e andiroba. A intensidade da inflamação crônica revelou diferença estatisticamente significativa nas variáveis angiogênese e proliferação fibroblástica. **Conclusão** - O uso do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi e do óleo da *Carapa guianensis* Aublet favoreceu a cicatrização do estômago de ratos.

DESCRIPTORIOS - Ratos. Cicatrização. Insuflação. Tração.

Correspondência:

Orlando José dos Santos
e-mail: orlanddojs@hotmail.com

Fonte de financiamento: não há
Conflito de interesses: não há

Recebido para publicação: 16/10/2012
Aceito para publicação: 23/01/20123

ABSTRACT - Background - The gastrorrhaphy isolated or associated with the use of biological adhesives formed throughout the history of surgery the usual way to promote healing in gastric lesions; however, the use of herbal medicine has been increasingly employed to help the wound healing. **Aim** - To evaluate the wound healing caused in the stomach of rats using extract of *Schinus terebinthifolius* Raddi and *Carapa guianensis* Aublet oil. **Methods** - Ninety rats, adult males were divided into three groups: aroeira, andiroba and control group, which were subdivided into three subgroups of five animals according to the time of the deaths (seven, 14 and 21 days). All underwent the same surgical procedure (injury and suture the stomach) differing only to the animals in groups aroeira and andiroba that received a daily dose of 100 mg / kg of hydroalcoholic extract and oil, by gavage, while the control group received normal saline. The parameters evaluated were the macroscopic and microscopic test of resistance to air insufflation and test the traction force. **Results** - All animals showed good healing of gastric and abdominal wall without infection and dehiscence. Both groups presented neighboring organs adhesions on the gastric surface. The endurance test for air insufflation showed higher average pressure within seven days and the test revealed greater traction force of rupture between seven and 14 days in groups aroeira and andiroba. The intensity of chronic inflammation revealed statistically significant differences in angiogenesis and fibroblast proliferation. **Conclusion** - The use of extract of *Schinus terebinthifolius* Raddi and *Carapa guianensis* Aublet oil favored the gastric wound healing in rats.

HEADINGS - Rats. Healing. Insufflation. Traction.

INTRODUÇÃO

A reparação do tecido lesado é processo pelo qual as células destruídas são substituídas por células vivas, que podem ser derivadas do parênquima ou do estroma do tecido conjuntivo lesado. Tal evento é processo dinâmico que tem por objetivo garantir a restauração tissular. Em um determinado período de tempo as fases coincidem e acontecem simultaneamente, permitindo assim o sucesso da cicatrização⁷. Celsius, no primeiro século da era cristã, verificou que na fase inicial da reparação tecidual havia processo inflamatório responsável pelo rubor, edema, calor e dor. Hoje se sabe que a cicatrização constitui fenômeno químico, físico e biológico composto por três fases inter-relacionadas: a inflamatória (compreendendo as fases humoral e celular), a de formação do colágeno e a de remodelação dos tecidos³².

A aplicação de fitoterápicos na cicatrização de lesões de estômago, assim como de outros órgãos e tecidos, tem sido amplamente avaliada em estudos experimentais. A medicina no final do último milênio e começo do século XXI observou crescente emprego de drogas no tratamento das mais diversas afecções; e a propósito, as investigações não têm se limitado ao desenvolvimento de fármacos sintéticos, e sim na tentativa cada vez mais frequente de isolar princípios ativos de plantas e animais. A despeito disso, verifica-se grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Com o desenvolvimento de novas técnicas espectroscópicas, os químicos orgânicos têm conseguido descobrir rapidamente estruturas complexas de constituintes naturais, até outrora difíceis de serem elucidadas⁵.

É importante ressaltar que entre 250-500 mil espécies existentes somente cerca de 5% têm sido estudadas fitoquimicamente, e porcentagem menor avaliadas sob os aspectos biológicos. Desta forma, o sucesso das investigações dos princípios ativos de plantas e animais depende do grau de interação multidisciplinar, ou seja, da botânica, química e farmacologia⁵.

A espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi é uma anacardiaceae, comum no nordeste brasileiro, estendendo-se até a região sul e países vizinhos como Argentina e Paraguai, com origem no Peru. É amplamente utilizada na medicina popular tendo seu primeiro registro na literatura em 1926 pela Pharmacopeia Brasileira⁶. As cascas da aroeira da praia revelaram que são ricas em taninos, esteróides e fenóis. Muitas de suas propriedades ou de seus efeitos curativos podem ser atribuídos aos diferentes polifenóis que estão distribuídos de modo desigual nos diversos órgãos da planta, como cascas, folhas, flores, frutos e

sementes. Estes polifenóis são substâncias de grande importância para a fisiologia vegetal, contribuindo para o mecanismo de defesa²⁶. Sua utilização é mencionada contra doenças inflamatórias, infecciosas, antimicrobianas, anti-ulcerogênicas e nas gastrites, como atividades adstringentes, tônicas, antineurálgicas e hemostáticas, efeito mutagênico, antioxidantes e cicatriciais^{4,6,10,26,27,28,29,30,34}.

A *Carapa guianensis* Aublet, família *Meliaceae*, foi descrita pela primeira vez pelo botânico francês Jean-Baptiste Christopher Fuscé Aublet em 1775, na Guiana Francesa. Popularmente é conhecida como andiroba (nome oriundo do Tupi-Guarani: "landi"- óleo e "rob"-amargo), jandiroba, penaiba e carape. É árvore com 20 a 30 metros de altura que apresenta flores brancas, frutos redondos e sementes grandes e angulares. No Brasil, distribui-se por toda floresta amazônica e do Pará até a Bahia. Ocorre ainda no sul da América Central, Colômbia, Venezuela, Suriname, Guiana Francesa, Peru, Paraguai e nas ilhas do Caribe¹³.

As sementes encerram 70% de óleo insetífugo e medicinal. O processo tradicional de extração do óleo das sementes de andiroba é realizado com a coleta e seleção das mesmas, cozimento em água por 1-3 h, amassamento das sementes e colocando a massa em superfície inclinada deixando gotejar o óleo¹⁸. Neste destacam-se as atividades anti-inflamatórias, antiparasitárias, repelentes, anti-alérgicas, antitóxicas, no desenvolvimento de proles de ratas, na fase imatura de mosquitos *Aedes aegypti* e cicatrizante^{8,22,25}.

Esse estudo tem como objetivo analisar o efeito cicatrizante do extrato hidroalcolólico da aroeira e do óleo de andiroba por via orogástrica em gastrorrafias de ratos, através de análise morfológica e tensiométrica.

MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), obedeceu as normas de experimentação animal da Lei Sergio Arouca (nº-11794-2008) e foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual do Maranhão, sob o protocolo (027-2007).

Material botânico e preparação do extrato

As exsiccatas da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e andiroba (*Carapa guianensis* Aublet) foram catalogadas no Herbário Ático Seabra do Departamento de Farmácia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, sob os registros nº (488 e 01253), respectivamente. A aroeira na forma de entrecasca sofreu moagem, e o pó (2400 g) foi diluído com álcool absoluto e água destilada formando 3450 ml de extrato bruto, em que se calculou sua concentração em g/ml e rendimento. O extrato bruto foi concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida na temperatura de 55-60°C para

eliminação total do solvente. O material obtido depois da concentração apresentou-se em forma de pasta (596,85 g) da qual foi retirado 2,8 g do extrato bruto hidroalcolóico (etanólico) para diluição em 28 ml de solução salina, resultando em concentração de 100 mg/ml. A seguir foi armazenado em refrigerador à 10°C. Este material (50 ml) sofreu análise no Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos e Água do Departamento de Tecnologia Química da UFMA, com concentrações de açúcares (20,8%), proteínas (0,966%), lipídeos (22,93%), cinzas (0,5%), umidade (51,87%) e pH (3,9).

A amostra do óleo de andiroba utilizado foi proveniente do município de Axixá – MA, Brasil, e 50 ml submeteu-se à análise pelo laboratório supra citado com a seguinte composição graxa: ácido mirístico (18,1%); ácido oléico (58,9%); ácido linoléico (9,2%) e ácido palmítico (9,3%). Dentre os compostos não graxos, destacam-se os triterpenos e taninos, além de dois alcalóides: a andirobina e a carapina.

Manipulação dos animais e distribuição dos grupos

Foram utilizados 90 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia Mammalia*) da linhagem Wistar, machos, com idade variando entre 50 a 60 dias, pesando em média 141,2 g. Foram adaptados por sete dias em condições ambientais de temperatura e umidade em ciclo claro e escuro de 12 horas.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente durante o ato operatório em seis grupos (G) de 15: grupo aroeira insuflação (GAI) de 1 a 15, grupo aroeira tração (GAT) de 16 a 30, grupo controle insuflação (GCI) de 31 a 45, grupo controle tração (GCT) de 46 a 60, grupo andiroba insuflação (GANI) de 61 a 75 e grupo andiroba tração (GANT) de 76 a 90. Cada um dos subgrupos de cinco animais foi morto a cada intervalo de sete dias (sete,14,21) respectivamente.

Após sete dias de adaptação, realizou-se o ato operatório com a retirada da ração seis horas antes e livre acesso à água. Os ratos foram pesados e submetidos à anestesia intramuscular com 20 mg/kg de quetamina a 5% (Vetanarcol®) e 10 mg/kg de xilazina a 2% (Kensol®), sendo a aplicação realizada na face posterior da coxa.

Foi realizada laparotomia mediana longitudinal e exteriorização do estômago, no qual, realizou-se incisão longitudinal de 1 cm de comprimento e refia com quatro pontos separados de fio polipropileno azul 6-0 (Prolene®,Ethicon). Posteriormente realizou-se síntese da parede abdominal com fio monofilamentar de nylon 5-0 (Mononylon®,Ethicon) e analgesia com dipirona (25 mg/kg/dose) diariamente. Foram mantidos nas gaiolas, recebiam ração padrão, água e eram avaliados diariamente.

Nos animais do GA e GAN, aplicou-se por gavagem gástrica 100 mg/kg/dose do extrato hidroalcolóico da aroeira e 5 ml/kg/dose do óleo de andiroba diariamente, respectivamente e o mesmo volume de

solução salina isotônica a 0,9% nos animais do GC. Os animais foram avaliados clinicamente de acordo com a ficha de avaliação.

Foram mortos nos dias previamente estabelecidos com dose letal de xilazina e quetamina. Em seguida, retirou-se a peça cirúrgica contendo o estômago até o piloro com 4 cm do esôfago distal, não desfazendo as estruturas e órgãos aderidos à gastrorrafia a fim de não comprometer os testes de insuflação e tração. As aderências foram classificadas pelo escore de Nair²⁰.

Procedeu-se ao teste de resistência à insuflação de ar atmosférico que consistiu em introdução de sonda de silicone nº 6 no segmento esofágico e fixação dela com fio de algodão 2-0, conexão da sonda ao manômetro (Polzin®,Watson Marlow, Berlim, Alemanha), submersão da peça em água, insuflação com ar ambiente à velocidade de 0,1 ml/s até a ocorrência de liberação de bolhas de ar, sendo registrado a pressão no momento da ruptura da peça em mmHg.

Para estudo de resistência pela força de tração, os espécimes cirúrgicos foram para o Laboratório de Ensaios Mecânicos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA – MA), em máquina universal de ensaios, modelo Tiratest 2420, TIRA Maschinenbau GmbH. Imediatamente antes do ensaio mecânico, os estômagos foram abertos pela parede posterior e transformando-os em retângulos com comprimento e largura (6 x 3 cm), com a cicatriz centralmente, cada peça recebeu uma pré-carga de 2 N, com tempo de acomodação de 60 segundos. A velocidade estabelecida para todos os ensaios foi de 5 mm/min e as medidas foram realizadas a cada 0,5 mm. Os testes de tração originaram gráficos de força máxima (N) de ruptura versus tempo de evolução, obtidos de cada ensaio.

Os estômagos sofreram processamento histológico, as lâminas foram coradas pela hematoxilina e eosina, tricrômico de Masson e picrosirius red e analisadas em três campos por avaliação duplo-cega.

A avaliação histológica incluiu os seguintes parâmetros: infiltrado inflamatório agudo (polimorfonucleares), edema, congestão vascular e infiltrado inflamatório crônico (monomorfonucleares), angiogênese, proliferação fibroblástica e colagenização (fibrose). Foram adotados escores para quantificar as variáveis de acordo com a intensidade (ausente-0, discreta-1, moderada-2 e acentuada-3) e qualificado o colágeno em jovem e maduro³⁶.

Análise estatística

Os dados foram avaliados com auxílio do programa BioEstat 5.0 (2007). Eles foram expressos com média e desvio-padrão nas variáveis numéricas, através da análise de variância (ANOVA) e quando havia diferença significativa aplicava-se o teste de Dunn. Nas variáveis classificatórias (histológicas) foi aplicado o teste Mann – Whitney, independente para cada período de observação (sete, 14 e 21 dias). O nível de

significância para se rejeitar a hipótese de nulidade foi de 5%, ou seja, considerou-se como estatisticamente significativo valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Todos os animais demonstraram boa cicatrização da parede abdominal e do estômago, sem sinais clínicos de infecção ou deiscência. As aderências à superfície das suturas gástricas ocorreram com os órgãos vizinhos nos três grupos em estudo, principalmente com fígado, intestino e parede abdominal.

O teste de resistência à insuflação de ar atmosférico foi realizado em todos os ratos; a ruptura do estômago ocorreu na gastrorrafia. A média das pressões de ruptura foram maiores nos grupos aroeira e andiroba do que no controle no período de sete dias, porém sem revelar diferença estatisticamente significativa em tal período. No período de 21 dias houve diferença estatisticamente significativa (Figura 1).

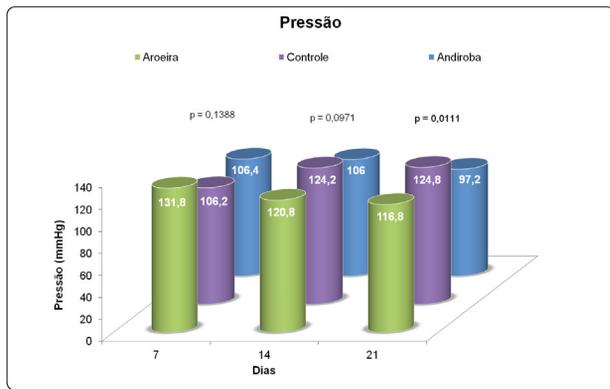


FIGURA 1 - Resultados das médias das pressões de ruptura do teste de resistência à insuflação de ar atmosférico

Em relação à resistência pela força de tração, as médias foram maiores nos grupos aroeira e andiroba no 7º, 14º e 21º dias, revelando diferença estatisticamente significativa nos grupos de 7 e 14 dias, mas não no 21º dia (Figura 2); favorecendo, portanto, os grupos aroeira e andiroba.

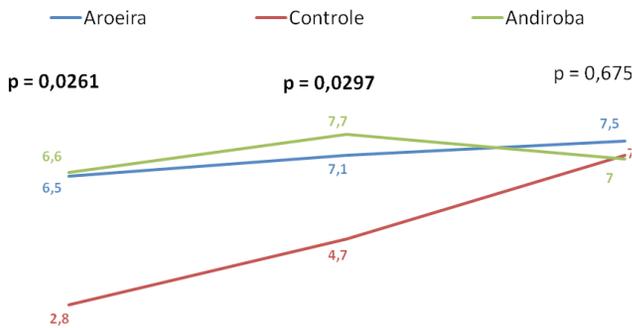


FIGURA 2 - Resultados das médias das forças de ruptura do teste de resistência à tração

A intensidade da inflamação aguda e angiogênese nas gastrorrafias dos ratos mostrou-se discreta na maioria dos animais dos grupos aroeira, controle e andiroba; porém, na variável angiogênese, houve predomínio de ratos com intensidade moderada e acentuada nos grupos aroeira e andiroba em relação ao grupo controle. Revelou-se, assim, diferença estatisticamente significativa na variável inflamação aguda no período de 14 dias e na angiogênese do 7º dia, favorecendo os grupos aroeira e andiroba. Já a intensidade da proliferação fibroblástica e colagenização foram moderadas na maioria dos ratos dos três grupos. Considerando-se a proliferação fibroblástica, houve diferença estatisticamente significativa no 14º dia devido ao fato de que o grupo controle nesse período apresentou quatro ratos com classificação acentuada. Em relação à colagenização, houve diferença estatisticamente significativa no 7º e 14º dias, sendo que no período de sete dias houve favorecimento do grupo aroeira e controle em relação ao da andiroba; no período de 14 dias os grupos favorecidos foram controle e andiroba (Tabela 1). A intensidade da inflamação aguda e crônica estão demonstradas na Figura 3 (A, B, C, D, E e F).

TABELA 1 - Avaliação histológica (teste Mann-Whitney) dos parâmetros de cicatrização de gastrorrafia em animais tratados com extrato hidroalcoólico de aroeira, solução salina à 0,9% (controle) e óleo de andiroba

Variáveis Histológicas / p	7 dias			14 dias			21 dias		
	Aroeira	Controle	Andiroba	Aroeira	Controle	Andiroba	Aroeira	Controle	Andiroba
Inflamação aguda / p	+ (3)	+ (6)	+ (5)	+ (7)	+ (10)	- (1)	+ (9)	+ (6)	- (1)
	++ (7)	++ (4)	++ (5)	++ (3)		+ (9)	++ (1)	++ (4)	+ (8)
									++ (1)
		0,404			0,0374*				0,1313
Angiogênese / p	+ (5)	- (1)	+ (3)	+ (7)	+ (10)	- (1)	+ (8)	+ (8)	+ (8)
	++ (4)	+ (8)	++ (7)	++ (3)		+ (7)	++ (2)	++ (2)	++ (2)
	+++ (1)					++ (2)			
		0,0213*			0,1532				1
Proliferação fibroblástica / p	+ (2)	++ (10)	++ (10)	+ (2)	++ (6)	++ (9)	++ (10)	+ (1)	+ (1)
	++ (8)			++ (8)	+++ (4)	+++ (1)		++ (8)	++ (7)
								+++ (1)	+++ (2)
		0,1260			0,0206*				0,8123
Colagenização / p	+ (5)	+ (3)	+ (9)	+ (2)	++ (5)	++ (6)	++ (7)	+ (1)	++ (9)
	++ (5)	++ (7)	++ (1)	++ (8)	+++ (5)	+++ (4)	+++ (3)	++ (5)	+++ (1)
								+++ (4)	
		0,0254*			0,0135*				0,5258

Intensidade relativa de inflamação aguda, angiogênese, proliferação fibroblástica e formação de colágeno (hematoxilina e eosina e tricrômico de Masson): ausente (-), discreta (+), moderada (++) ou acentuada; ()= número de animais em cada classificação; * implica significância estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Intensidade relativa de inflamação aguda, angiogênese, proliferação fibroblástica e formação de colágeno (hematoxilina e eosina e tricrômico de Masson): ausente (-), discreta (+), moderada (++) ou acentuada; ()= número de animais em cada classificação; * implica significância estatística entre os grupos ($p < 0,05$).

A densidade do colágeno jovem mostrou-se majoritariamente muito acentuada (> 75%) no 7º dia;

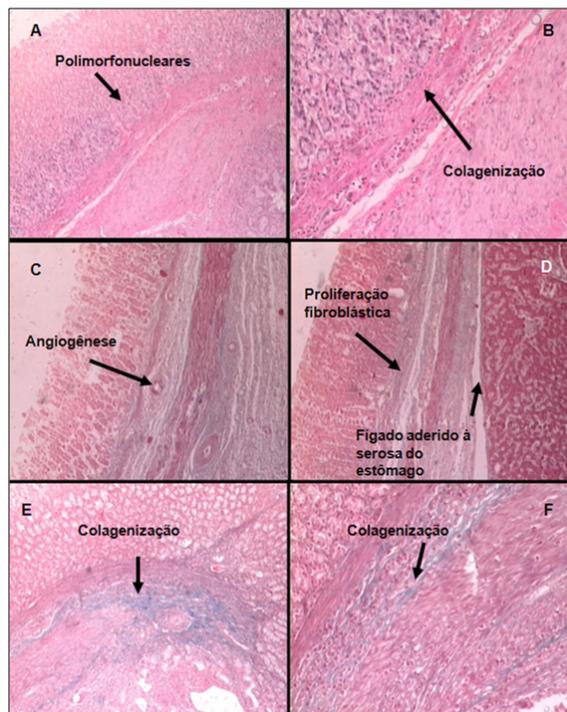


FIGURA 3 - Intensidade da inflamação aguda e crônica (hematoxilina e esina e tricrômico de Masson): A) polimorfonucleares, grupo aroeira, 7ºd, 100X; B) colagenização, grupo controle, 14ºd, 200 X; C) angiogênese, grupo andiroba, 14ºd, 200 X; D) proliferação fibroblástica, grupo andiroba, 21ºd, 100 X; E) colagenização, grupo aroeira, 21ºd, 100X; F) colagenização, grupo andiroba, 21ºd, 200X

moderada em 14 e 21 dias (25% a 50%) em todos os grupos; porém, houve diferença estatisticamente significativa no período de sete dias demonstrando maior formação de colágeno jovem nos grupos aroeira e controle. Em relação ao colágeno maduro, a densidade no 7º dia mostrou-se discreta (< 25%) na maioria dos ratos dos três grupos; no 14º dia, tal densidade foi acentuada (50% a 75%) nos grupos aroeira e andiroba e moderada no grupo controle; no 21º dia, foi predominantemente acentuada nos grupos aroeira e controle e muito acentuada no grupo andiroba, demonstrando maior formação de colágeno maduro nos grupos aroeira e andiroba. Desse modo, houve diferença estatisticamente significativa no 14º e 21º dias (Tabela 2). A densidade do colágeno jovem e maduro estão demonstradas na Figura 4 (A, B e C).

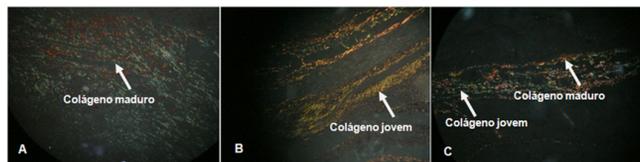


FIGURA 4 - Densidade do colágeno jovem e maduro em picrosirius red: A) colágeno maduro em vermelho, grupo aroeira; B) colágeno jovem em amarelo ou verde, grupo controle; C) colágeno jovem e maduro, grupo andiroba

TABELA 2 - Avaliação histológica (teste de Mann-Whitney) dos parâmetros de colágeno jovem e maduro em cicatrização de gastrorrafia de animais tratados com extrato hidroalcolóico de aroeira, controle (solução salina à 0,9%) e óleo de andiroba

Grupos	7º dia		14º dia		21º dia	
	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro
Aroeira	+++ (1)	+ (5)	+ (2)	++ (2)	+ (1)	+++ (7)
	++++ (9)	++ (3)	++ (4)	+++ (7)	++ (7)	++++ (3)
		+++ (1)	+++ (4)	++++ (1)	+++ (2)	
Solução salina 0,9%		++++ (1)				
	+++ (1)	- (1)	+ (2)	- (1)	+ (3)	+ (1)
	++++ (9)	+ (9)	++ (4)	+ (3)	++ (4)	++ (4)
			+++ (3)	++ (6)	+++ (2)	+++ (5)
Andiroba		++++ (1)			++++ (1)	
	+ (1)	- (2)	+ (2)	+ (3)	+ (4)	++ (1)
	+++ (4)	+ (4)	++ (4)	+++ (7)	++ (5)	+++ (2)
	++++ (5)	+++ (2)	+++ (4)		+++ (1)	++++ (7)
		+++ (2)				
P	0,0497*	0,1065	0,9826	0,0002*	0,3947	0,0021*

Densidade relativa de colágeno jovem e maduro, pela coloração de picrosirius red: ausente (-); discreta (+) < 25%; moderada (++) (25-50%); acentuada (+++) (50-75%) ou muito acentuada (++++) (> 75%); () = número de animais em cada classificação; * implica significância estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Densidade relativa de colágeno jovem e maduro, pela coloração de picrosirius red: ausente (-); discreta (+) < 25%; moderada (++) (25-50%); acentuada (+++) (50-75%) ou muito acentuada (++++) (> 75%); () = número de animais em cada classificação; * implica significância estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

DISCUSSÃO

Escolha do modelo experimental e fitoterápicos

Neste estudo escolheram-se duas plantas usadas comumente pela população e o rato, como animal de experimentação, por facilidade de manuseio e acomodação, resistência à manipulação, agressões cirúrgicas e a processos infecciosos e também pelo fato deste animal já ter sido padronizado por muitas pesquisas no estudo da cicatrização¹⁹. Escolheram-se os machos devido às variações hormonais do ciclo estral de fêmeas, que podem interferir no mecanismo de reparação tecidual. Foi utilizado o estômago como órgão experimental por possuir as mesmas características morfológicas do humano e realizou-se a gastrorrafia na região do corpo devido à facilidade técnica; entretanto, um estudo analisando o padrão de cicatrização em feridas incisionais nas paredes do estômago e duodeno de ratos com fio polipropileno, concluiu que, dos tecidos intactos, o fundo é mais extensível do que a porção do corpo, antro e duodeno, requerendo maior energia de ruptura^{2,28,29,31,33}.

No presente estudo a dose do extrato hidroalcolóico da aroeira escolhida foi de 100 mg/kg/dose via oral (gavagem) mediante o cálculo da DL-50; outro estudo utilizou a aroeira do sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) da mesma família do *Schinus* na dosagem de 200 mg/kg/dose³⁵. A mesma dosagem foi aplicada da andiroba⁸.

Foram analisados três momentos na avaliação: 7º, 14º e 21º dia de pós-operatório. O 7º dia representa a

fase inicial do processo cicatricial enquanto o 14º e 21º dias fase intermediária ou avançada.

Procedeu-se a gastrorrafia no corpo do estômago envolvendo todos os planos com Prolene®, por ser relativamente inerte, provocar mínima reação inflamatória aguda e não estar sujeito à degradação ou enfraquecimento pela ação enzimática tecidual pelo período aproximadamente de dois anos¹¹. O envolvimento de todos os planos da parede gástrica na confecção da sutura é discordante com outros estudos que realizaram secção apenas das túnicas serosa e muscular. Optou-se por utilizar o mesmo calibre do fio para uniformizar o método e afastar qualquer possibilidade de variação na resposta aos tecidos³.

No pós-operatório imediato, a dieta hídrica foi instituída e a ração evitada nas primeiras seis horas após à intervenção cirúrgica para não favorecer possíveis deiscências³; outros autores indicam jejum de 48 horas¹⁶. A boa aceitação da alimentação e a manutenção do estado geral na avaliação clínica diária permitiram caracterizar a boa evolução do processo cicatricial das suturas gástricas, fato corroborado pela avaliação macroscópica na necropsia.

Análise dos parâmetros de cicatrização

A presente pesquisa procurou analisar a cicatrização pela macroscopia, resistência mecânica da cicatriz e pelo estudo morfológico e morfométrico tecidual¹. Há, contudo, opiniões divergentes sobre os métodos de mensuração. Existe publicado o não paralelismo entre o ganho da resistência de uma anastomose à insuflação com a quantificação das taxas de hidroxiprolina²¹; outros apresentaram boa evolução quanto à cicatrização da parede abdominal e estômago com utilização dos fios Mononylon® e Prolene® respectivamente por suas características vantajosas na cicatrização. Estudos com outros fios (Maxon® e PDS®) na síntese da parede abdominal, anastomoses gástrica e intestinal afirmaram que os parâmetros principais na escolha de fios continuam sendo os seguintes: características biológicas dos tecidos, taxa de recuperação da resistência tênsil e velocidade com que o material de síntese perde a resistência¹⁴. Alguns autores discutem intensamente o estabelecimento dos padrões de análise da histocompatibilidade dos fios aos tecidos; entretanto, outros não definem critérios, mas comparam as pregas mucosas no sítio anastomótico¹²; ainda outros estabelecem formas para avaliar a presença de esporão, necrose e reação à presença de fios na linha de sutura^{3,21}. Notou-se nesta pesquisa a ocorrência de aderências ao nível da gastrorrafia, sendo que a estrutura mais frequentemente envolvida foi o fígado, ao contrário de outros estudos com o omento maior³.

Teste de resistência à insuflação de ar atmosférico e força de tração

Aqui ficou demonstrado que o grupo aroeira e andiroba apresentaram maiores médias de pressões à insuflação no 7º dia; porém, neste teste, o grupo

controle foi melhor do que os experimentos, quando avaliado o 21º dia. As médias de forças de trações foram maiores nos períodos de sete e 14 dias, o que mostrou melhor cicatrização para a aroeira e andiroba. A ruptura ocorreu ao nível da linha de sutura em todos os animais, assim como as pressões e forças elevaram-se de acordo com períodos avaliados.

A resistência mecânica da cicatriz através do teste de resistência à insuflação de ar atmosférico é um dos principais parâmetros para avaliação da integridade de anastomose nos primeiros dias do pós-operatório¹⁵. A determinação da resistência mecânica de uma cicatriz pode ser realizada por duas técnicas: resistência à insuflação de ar ou água e tração linear. Quando o objeto de análise está relacionado à víscera oca, como o tubo gastrointestinal, o teste de resistência à insuflação de ar é fisiológico por reproduzir os vetores de pressão que normalmente se transmitem sobre a parede do órgão, aproximando-se da situação clínica real, visto que o rompimento ocorrerá em função da distensão¹⁷. Neste estudo, tanto a medida da resistência à insuflação de ar como a força de tração foram realizados nos períodos preconizados corroborando com autores que realizaram pesquisas em tempos semelhantes²⁴. Contudo, é importante frisar que a resistência de uma anastomose no período tardio, após o 14º dia, é melhor avaliada pela tração linear com dinamômetros de precisão de uma faixa de tecido isolada.

A medição da pressão à insuflação de ar pode ser interpretada por influência da realização do teste in situ ou in vitro registrando o local exato do escape gasoso em relação à anastomose¹⁷. A maioria dos autores recomenda a retirada da peça cuidadosamente sem desfazer as aderências sobre ela e realização do teste in vitro, pois permite a melhor identificação do local exato do escape gasoso - informação importante para análise e conclusão da resistência mecânica⁹. É importante ressaltar que o rompimento pelo teste de insuflação ocorreu em ponto específico da linha de sutura (ponto mais frágil), podendo inferir que nesse local predomina colágeno jovem, enquanto a força de tração mostrou ruptura linear, ou seja, dependente da quebra tanto do colágeno jovem quanto do maduro.

Avaliação microscópica

O processo de cicatrização que se inicia com a reação inflamatória é tema de interesse permanente em cirurgia devido à utilização de suturas, ligaduras ou adesivos biológicos como forma de aproximação dos tecidos; um dos principais critérios a ser observado é a intensidade da reação tecidual induzida pelo fio, uma vez que a resposta inflamatória excessiva pode comprometer o processo de cicatrização. Na presente pesquisa, menor reação inflamatória aguda foi observada no grupo aroeira e andiroba, comparada com o controle.

A resposta inflamatória ausente ou excessiva compromete sobremaneira a cicatrização dos tecidos. Estudos afirmaram que à medida em que o tempo de

observação se prolonga ocorre a regressão da resposta inflamatória aguda e predomina a crônica²³.

No presente estudo, para colorações das lâminas, utilizaram-se as de hematoxilina e eosina, tricrômico de Masson e picrosirius red nas quais diferentes indicadores foram classificados e quantificados de acordo com sua presença e intensidade. Adotou-se a classificação do processo inflamatório em: agudo, correspondendo à fase I ou inflamatória do processo cicatricial (infiltrado neutrofilico, edema intersticial e congestão vascular), e crônico, correspondendo à fase II ou proliferativa do processo cicatricial (infiltrado mononuclear, proliferação fibroblástica/fibrose, colagenização e tecido de granulação). O picrosirius red foi utilizado não apenas para verificar a área e densidade do colágeno total, mas também para avaliar a área e densidade do colágeno formador de fibras, pela diferenciação das fibras jovens e maduras, diferindo de outros estudos que utilizaram somente as colorações hematoxilina e eosina e tricrômico de Masson, que avaliam apenas o colágeno total. Na presente pesquisa, notou-se que apesar das variáveis, proliferação fibroblástica e colagenização favorecerem o grupo controle, percebeu-se, através da coloração de picrosirius red, que o colágeno formado nesse grupo foi predominantemente jovem, enquanto que nos grupos aroeira e andiroba prevaleceram o colágeno maduro. Este fato foi o responsável pela melhor cicatrização promovida nesses dois últimos grupos.

CONCLUSÃO

O uso do extrato hidroalcoólico de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet) acelerou o processo de cicatrização do estômago.

REFERÊNCIAS

- Ballantyne GH. Intestinal suturing: review of the experimental foundations for traditional doctrines. *Dis. Colon Rectum* 1983, 26:836-843.
- Batista CP, Torres OJM, Matias JEF, Marias JEF, Moreira ATR, Colman D, Lima JHF, Macri MM, Rauen Jr RJ, Ferreira LM, Freitas ACT. Efeito do extrato de *Orbignya phalerata* (Babaçu) na cicatrização do estômago em ratos. *Acta Cir. Bras.* 2006, 21: 26-32.
- Bornemisza G, Furca J, Tarsoly E, Mikó I. Sutures inserted into the gastric wall an experimental study. *Acta Chirurgica Hungarica* 1983, 24:9-16.
- Carlini EA, Duarte-Almeida JM, Rodrigues E, Tabach R. Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira da praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 2010, 20:140-146.
- Cechinel Filho V, Yunes RA. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Química Nova* 1998, 21: 99-105.
- Ceruks M, Romoff P, Fávero AO, Lago JHG. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (anacardiaceae). *Química Nova* 2007, 30:597-599.
- Corsi RCC, Corsi PR, Pirana S, Muraco FAE, Jorge D. Cicatrização das feridas – Revisão da Literatura. *Rev. Bras. Cir.* 1994, 21(1): 17-24.
- Costa-Silva JH, Lima CR, Silva EJ, Araújo AV, Fraga MC, Ribeiro E Ribeiro A, Arruda AC, Lafayette SS, Wanderley AG. Acute and subacute toxicity of the *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae) seed oil. *J Ethnopharmacol* 2008,116(3):495-500.
- Cronin K, Jackson DS, Dunphy J E: Changing bursting strenght and collagen content of the hearing colon. *Surg Gynecol. S. Obstet.* 1968, 126:747-753.
- de Melo Júnior EJ, Raposo MJ, Lisboa Neto JA, Diniz MF, Marcelino Júnior CA, Sant'Ana AE. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: microbiological and microscopic analysis. *Phytomedicine.* 2002 Mar;9(2):109-16.
- Fagundes DJ, Kharmandayan P. O fio cirúrgico. *Acta Cirúrgica Brasileira* 1991, 6:177-181.
- Faria PA, Pasqualucci ME, de Medeiros RR, Mantovani M, Vieira RW. Estudo comparativo de materiais de sutura no estômago de cães com técnica de síntese extramucosa. *Rev. Ass. Med. Bras.* 1969, 15(1):3-10.
- Ferraz IDK, Camargo JLC, Sampaio PTB. Sementes e plântulas de Andiroba (*Carapa guianensis* Aublet e *Carapa procera* D. C.): aspectos botânicos, ecológicos e tecnológicos. *Acta Amazônica* 2002, 32(4): 647-661.
- Foresman PA, Edlich RF, Rodeheaver GT. The effect of new monofilament absorbable sutures on the healing of musculoaponeurotic incisions, gastrotomies, and colonic anastomoses. *Arch. Surg.* 1989, 124:708-710.
- Gotttrup F. Healing of incisional wounds in stomach and duodenum: Influence of long-term healing on mechanical strength and collagen distribution. *Acta Chirurgica Scandinavica* 1983, 149:57-62.
- Hagio M, Koike T, Sakai T. Experimental studies in intestinal healing of the dog, III. An. end-to-end intestinal anastomosis using a descalcified bone tube. *Japanese Journal of Veterinary Research* 1976, 24:25-30.
- Koruda MJ, Rolandelli RM. Current research review: Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. *Journal of Surgical Research* 1990, 48:504-515.
- Mendonça AP, Ferraz IDK. Óleo de andiroba. processo tradicional da extração, uso e aspectos sociais no estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amaz* 2007, 37:353-364.
- Moraes SP, Melro APC, Longo A, Gun PR, Silva MAJ, Reis Neto JAM. Influência de bloqueadores H2 no processo de cicatrização gástrica. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões* 1999, 26:153-155.
- Nair SK, Bhat IK, Aurora AL. Role of proteolytic enzyme in the prevention of postoperative intraperitoneal adhesions. *Archives of Surgery* 1974, 108:849-853.
- Naresse LE, Lucchiari PH, Angeleli AYO, Burini RC, Rodrigues MAM, Curi PR, Bobayasi S. Estudo comparativo de anastomoses no intestino delgado de cão: estudos de força de ruptura, hidroxiprolina tecidual e anatomopatológico. *Acta Cir. Bras.* 1988, 3(4): 106-112.
- Nayak BS, Kanhai J, Milne DM, Swanston WH, Mayers S, Eversley M, Rao AVC. Investigation of the Wound Healing Activity of *Carapa guianensis* L. (Meliaceae) Bark Extract in Rats Using Excision, Incision, and Dead Space Wound Models. *Journal of Medicinal Food* 2010, 13(5):1141-1146.
- Nigro AJT, Hirota RT, Paula RM, Simões AGS, Vieira WTT. Estudo comparativo, em cães, das gastrorrafias feitas com fios de polipropileno ou de ácido poliglicólico. *Acta Cir. Bras.* 1993, 8(3):118-123
- Petroianu A, Cavalcante AMT, Pereyra WJF, Santos BMR. Tensão de ruptura dos órgãos que constituem o tubo digestivo com e sem o uso de corticóide em camundongos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões* 1999, 27:69-82.
- Prophiro JS, Silva MAN, Kanis LA, Silva BMS, Duque-Luna JE, Silva OS. Evaluation of time toxicity, residual effect, and growth-inhibiting property of *Carapa guianensis* and *Copaifera* sp. in *Aedes aegypti*. *Parasitology Research* 2012, 110(2): 713-719.
- Queires LCS, Rodrigues LEA. Quantificação das substâncias fenólicas totais em órgãos da aroeira *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 1998, 41:247-253.

27. Santos ACA, Rossato M, Serafini LA, Bueno M, Crippa LB, Sartori VC, Dellacassa E, Moyna P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2010, 20:154-159.
28. Santos OJ, Barros-Filho AKD, Malafaia O, Ribas-Filho JM, Santos RHP, Santos RAP. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) in the healing process of gastrorrhaphy in rats. *Arq Bras Cir Dig* 2012, 25(3):140-146.
29. Santos OJ, Ribas Filho JM, Czczeko NG, Branco Neto MLC. Avaliação do extrato de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2006, 21:39-45.
30. Santos SB, Lima ACA, Melo ARS, Frazão CS, Cherpak GL. Comparação da eficácia da aroeira oral (*Schinus terebinthifolius* Raddi) com omeprazol em pacientes com gastrite e sintomas dispépticos: estudo randomizado e duplo-cego. *GED Gastroenterologia Endoscopia Digestiva* 2010, 29:118-125.
31. Silva JRS, Campos ACL, Ferreira LM, Aranha Jr AA, Thiede A, Zago-Filho LA, Bertoli LC, Ferreira M, Trubian OS, Freiras ACT. Efeito do extrato da *Passiflora edulis* na cicatrização de gastrorrafias em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. *Acta Cir. Bras.* 2006, 21: 52-60.
32. Tazima MFGS, Vicente YAMVA, Moriya T. Biologia da ferida e cicatrização. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2008, 41:259-64.
33. Vale JR, Czczeko NG, Aquino JU, Ribas-Filho JM, Bettega L, Vasconcelos PRL, Correa Neto MA, Nassif PAN, Mazza M, Henriques GS. Estudo comparativo da cicatrização de gastrorrafias com e sem o uso do extrato de *Jatropha gossypifolia* L. (pião roxo) em ratos. *Acta Cir. Bras.* 2006, 21: 40-48.
34. Valera-Barca FNT, Agnez-Lima LF, Medeiros SRB. Base excision repair pathway is involved in the repair of lesions generated by flavonoid-enriched fractions of pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) stem bark. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2007, 48:672-681.
35. Viana GS, Bandeira MAM, Matos FJA. Analgesic and anti-inflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* Allemão. *Phytomedicine* 2003, 10: 189-195.
36. Vizotto Jr AO, Noronha L, Scheffel DLH, Campos ACL. Influência da cisplatina administrada no pré e no pós-operatório sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* 2003, 39:143-149.