

Avaliação do efeito cicatrizante do óleo essencial de *Copaifera sp*

Giuliano da Paz Oliveira (bolsista ICV-UFPI); Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima (colaborador, Dpto. Química, UFPI); Esmálio Barroso de Oliveira (colaborador, UFPI); Ivan de Rezende Almeida (colaborador, UFPI); Prof. Msc. Manoel Dias de Souza Filho (orientador, UFPI); Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo de Carvalho e Martins (co-orientadora, UFPI)

Introdução: A cicatrização constitui conjunto dinâmico de alterações teciduais importantes na manutenção da integridade do organismo, que envolve inflamação, quimiotaxia, proliferação celular, diferenciação e remodelação. Após um ferimento, inicia-se seqüência de eventos biológicos, dinâmicos e complexos, que visam promover o reparo da lesão que caracterizam a cicatrização (CARRICO et al., 1984). As plantas medicinais foram descobertas pelo homem através da procura por alimentos, e a partir de então, passaram a ser utilizadas empiricamente para o tratamento de doenças (WAGNER & WISENAUER, 2006). Atualmente, a Organização Mundial de Saúde considera fundamental que se realizem investigações experimentais acerca das plantas utilizadas para fins medicinais e de seus princípios ativos, para garantir sua eficácia e segurança terapêutica (CARLOS et al., 2000). Dentre as plantas de grande uso popular encontra-se a copaíba, pertencente ao gênero *Copaifera*. Os efeitos atribuídos ao óleo de copaíba na medicina popular incluem atividade anti-inflamatória, antisséptica, antibiótica e anti-tumoral. Além disso, tem sido utilizado para tratar bronquite, doenças de pele, úlceras e sífilis, bem como para a cicatrização de feridas (GOMES et al., 2007). O presente estudo tem por objetivo avaliar a cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos Wistar tratados com uso tópico do óleo de *Copaifera sp*.

Metodologia: *Rattus norvegicus* (191,0±16,5g), adultos, do sexo feminino, mantidos em jejum de sólidos por 12 horas, foram anestesiados com solução de quetamina (40mg/kg) e xilazina (5mg/kg) para produção de feridas cutâneas de 1cm² na região dorsal. Os animais foram distribuídos em grupos de dez animais/grupo e tratados durante sete ou 14 dias com azeite de oliva em volume suficiente para cobrir a ferida (grupo controle -GC), óleo-resina de *Copaifera sp*. 100 mg/mL (GT) ou acetato de clostebol/sulfato de neomicina (Trofodermin[®] - GP). O tratamento foi iniciado imediatamente após a cirurgia e realizado uma vez ao dia. As lesões foram avaliadas clinicamente considerando: medidas das lesões, presença ou ausência de secreção, reepitelização, formação de tecido de granulação, presença de fibrina, ocorrência de hemorragia e presença de edema. Ao final do experimento, a lesão residual foi fotografada por câmera digital, mantida em tripé a uma distância fixa. As imagens foram importadas para o *software* IMAGEJ[®], para o cálculo da área da lesão. A ferida cirúrgica foi dissecada com margem de 1 cm de pele íntegra em torno da lesão, com profundidade até a musculatura dorsal do animal. A peça foi colocada em recipiente plástico com formol a 10% para posterior processamento e análise histológica, avaliando proliferação vascular, células polimorfonucleares, células mononucleares, proliferação fibroblástica, fibras colágenas e reepitelização. Os dados foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (Dunn) e teste G para comparar as diferenças entre os grupos. O nível de significância foi estabelecido em p<0,05. Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (parecer 73/2010).

Resultados e Discussão: Não foi observada diferença entre os grupos nos parâmetros a seguir apresentados: médias das medidas (média horizontal ± EPM x média vertical ± EPM) das feridas dos animais após 14 dias de experimento (GC: 7,46 ± 2,57 x 7,54 ± 2,67; GP: 7,16 ± 2,84 x 7,45 ± 2,50; CT: 7,45 ± 2,63 x 7,47 ± 2,49); presença de secreção (GC: 71,4; GP: 28,6; GT: 71,4), reepitelização (GC: 57,1; GP: 42,9; GT: 57,1), fibrina (GC: 28,6; GP: 14,3; GT: 14,3) e edema (GC: 57,1; GP: 57,1; GT: 28,6). BRITO et al. (1996) avaliaram os aspectos morfológicos e morfométricos da cicatrização de feridas cutâneas de ratos tratados com óleo de copaíba e verificaram que a retração da ferida neste grupo foi retardada em relação ao grupo controle, resultado discordante com o obtido no presente estudo.

Tampouco houve diferença entre as médias de redução das áreas de cicatrização ao final de sete dias de tratamento. Estudo realizado com a aplicação de óleo de copaíba em feridas cutâneas abertas de ratos que analisaram os aspectos morfológicos e morfométricos da cicatrização concluiu que nas feridas tratadas com óleo de copaíba notou-se um aumento do tamanho das lesões e em torno da ferida ocorreu presença de escaras e perda de pêlos (BRITO et al., 1998). Por outro lado, PAIVA et al. (2002) comprovou que a aplicação tópica de óleo resina de *C. langsdorffii* acelerou a

retração das feridas apontando para o efeito benéfico da óleo resina na cicatrização de feridas. Os achados do presente estudo foram discordantes de ambos estudos.

A análise microscópica das feridas no sétimo dia de tratamento com azeite (GC) mostrou epitelização completa com queratinização e neovascularização, sem necrose ou coágulos. Observou-se ainda corpo estranho circundado por mononucleares e células gigantes (reação granulomatosa). As feridas dos animais tratados com pomada cicatrizante (GP) apresentaram ora epitelização completa com queratinização e infiltrado de mononucleares ora ausência de epitelização com úlcera e infiltrado de mononucleares e polimorfonucleares. Nos animais tratados com óleo de copaíba (GT), por sua vez, foi observada epitelização inicial apenas nas bordas laterais da úlcera, tecido de granulação logo abaixo com rica neovascularização e infiltrado de mononucleares. Foi percebida ainda reação granulomatosa circundando partículas de corpo estranho. Quando se compara a análise microscópica entre os grupos, observou-se que o tratamento com óleo de copaíba induziu intensa neovascularização, entretanto, não apresentou cicatrização eficaz. Por outro lado, os animais tratados com azeite demonstraram um processo mais avançado de cicatrização em relação aos demais grupos.

BRITO et al. (1999) compararam os aspectos microscópicos da cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos tratados com óleo de copaíba com o grupo controle evidenciando que nos animais tratados com copaíba o processo inflamatório, a quantidade de tecido de granulação e a contagem de vasos sanguíneos foi maior. Por outro lado, as fibras colágenas encontravam-se mais presentes no grupo controle. De maneira semelhante, ESTEVAO et al. (2009) constataram que a pomada contendo óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* na concentração de 10% aumenta a neoangiogênese do retalho cutâneo subdérmico em ratos. Nossos resultados estão parcialmente concordantes. De fato, observaram-se neovascularização e reação inflamatória nitidamente mais presentes no grupo tratado com o óleo (GT), todavia, no que se refere ao tecido de granulação, observou-se quantidades semelhantes entre os grupos GT e GC.

CAVALCANTI et al. (2005) comparou histologicamente o processo de cicatrização em feridas cutâneas de ratos tratados com duas aplicações tópicas diárias da óleo-resina de copaíba com um grupo tratado com solução fisiológica. Ao final de sete dias, as feridas de ambos grupos estavam completamente epitelizadas, resultado diferente do obtido no presente estudo em que a epitelização foi completa apenas para os animais pertencentes ao GC. CAVALCANTI et al. (2005) constatou ainda que os animais tratados com óleo de copaíba apresentaram um processo de reparo do tecido conjuntivo mais lento, semelhantemente ao que foi observado no presente estudo

Conclusão: O uso tópico do óleo essencial de *Copaifera sp.* em feridas cutâneas de *Rattus norvegicus* não foi capaz reduzir as dimensões das lesões. Quando se analisa as feridas quanto à presença de variáveis indicativas de cicatrização (edema, secreção, fibrina e reepitelização), verifica-se que o padrão de cicatrização foi semelhante entre os animais, independentemente do grupo ao qual pertenciam. À microscopia, observou-se que o tratamento com óleo de copaíba induziu intensa neovascularização e reação inflamatória, entretanto, não apresentou epitelização completa. O emprego do óleo essencial de *Copaifera* no processo de cicatrização de feridas cutâneas em seres humanos permanece ainda campo aberto a estudos.

Apoio: UFPI

Referências Bibliográficas:

1. CARRICO TJ, Mehrhof AI Jr., Cohen IK. Biology of wound healing. *Surg Clin North Am.* 1984; 4(4):721-33.
2. WAGNER, H; WISENAUER, M. Fitoterapia: Fitofármacos, Farmacologia e Aplicações clínicas. 2 ed. São Paulo: *Pharmabooks*, 2006.
3. CARLOS, I.C.C.; PESSOA, M..T.F.C.; SIQUEIRA, R.L.C.L. Registro de medicamentos fitoterápicos. Fortaleza, Secr. Saúde do Estado do Ceará, 37p., 2000.
4. GOMES NM, REZENDE CM, FONTES SP, MATHEUS ME, FERNANDES PD 2007. Antinociceptive activity of Amazonian copaiba oils. *J Ethnopharmacol* 12: 486-492.
5. BRITO NMB. Aspectos morfológicos e morfométricos da cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos tratados com óleo de copaíba. [Dissertação- Mestrado]. São Paulo: Programa de Pós-graduação em Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, Escola

Paulista de Medicina, Universidade de São Paulo; 1996. BRITO NMB, SIMÕES MJ, PESSOA AF & MELO MCF (1998) Efeitos do óleo de copaíba na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos. *Revista Paraense de Medicina* 12 (1): 28-32.

6. PAIVA LA, DE ALENCAR CUNHA KM, SANTOS FA, GRAMOSA NV, SILVEIRA ER & RAO VS (2002) Investigation on the wound healing activity of oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. *Phytotherapy Research* 16 (8): 737-9.
7. BRITO NMB, SIMÕES MJ, GOMES PO, PESSOA AF, MELO MCF. Aspectos microscópicos da cicatrização de feridas cutâneas abertas tratadas com óleo de copaíba em ratos. *Rev Par Med* 1999;13:12-17.
8. ESTEVAO, LRM et al . Neoangiogênese de retalhos cutâneos em ratos tratados com óleo de copaíba. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 44, n. 4, Apr. 2009 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2009000400011&lng=en&nrm=iso>. access on 26 Aug. 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2009000400011>.
9. CAVALCANTI NETO AT, ARRUDA TEP, ARRUDA TTP, PEREIRA SLS & TURATTI E (2005) Análise comparativa entre e óleo-resina de copaíba e o digluconato de clorexidina no processo de cicatrização tecidual. estudo histológico em dordo de ratos. *Revista de Odontologia da UNESP* 34 (2): 107-112.

Palavras-Chave: Copaíba, cicatrização, feridas cutâneas; *Copaifera*.