

CARACTERIZAÇÃO DO COLÁGENO EM FERIDAS CUTÂNEAS TRATADAS COM *Triticum aestivum*

MENDES, Cláudia Beatriz M.¹; TILLMANN, Mariana T.²; ALVES, Gabriela H.³; VARELA JÚNIOR, Antônio Sérgio⁴; NOBRE, Márcia O.⁵.

¹UFPel - Medicina Veterinária; ²UFPel - Programa de Pós Graduação em Veterinária; ³UFPel - Programa de Pós-Graduação e Bioprospecção; ⁴FURG - Instituto de Biologia; ⁵UFPel - Departamento Clínicas Veterinária. claudiabeatrizmm@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo, recobrimdo toda a sua superfície, sendo dividida em duas camadas: a epiderme e a derme. A epiderme é formada por tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado e a derme por tecido conjuntivo frouxo e denso, sendo encontrado nessa porção do tecido epitelial, fibroblasto, células de defesa, fibras elásticas e colágenas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Em uma lesão cutânea, o colágeno tem um papel importante por ser fundamental na arquitetura tecidual da pele, pois fornece resistência ao tecido. Na pele são encontradas as fibras de colágeno dos tipos I e II, sendo que as do tipo I são mais densas e conseqüentemente mais resistentes (ROCHA, 2004).

A cicatrização de feridas cutâneas é um processo complexo que envolve uma cascata de eventos celulares e moleculares (MANDELBAUM et al., 2003), o qual é dividido em três fases: inflamatória, proliferativa e de remodelagem (MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009). A fase inflamatória ocorre imediatamente à lesão, onde ocorre fagocitose e preparação para a formação de um novo tecido. Na fase proliferativa ocorre a migração de células e conseqüente diferenciação celular para a formação do tecido de granulação, este suportado por matriz contendo colágeno dos tipos I e II. Na fase de remodelagem o tecido de granulação preenche totalmente a lesão, as fibras de colágeno do tipo I estão mais organizadas e presentes em maior quantidade ocorrendo a epitelização total da ferida (BALBINO et al., 2005).

Nos últimos anos tem sido estudado o uso de fitoterápicos na medicina, pela sua atividade terapêutica e o seu baixo custo. O *Triticum vulgare* é sinônimo de *T. aestivum*, embora atualmente seja preconizada a utilização da segunda nomenclatura (DAUPHINÉ, 1787; BARBIERI; STUMPF, 2008). O extrato vegetal de *T. vulgare* (*syn. T. aestivum*) tem atividade cicatrizante, por estimular a mitose e a migração dos fibroblastos, reduzindo o tempo de cicatrização de feridas (GODEIRO et al., 2010). O objetivo desse estudo foi caracterizar o colágeno quanto ao seu tipo e organização em feridas cutâneas abertas tratadas com extrato aquoso de *Triticum aestivum*.

2 METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPel (número de registro 5104). Foram utilizados coelhos Nova Zelândia, machos com peso variando entre 2-3 Kg, mantidos em gaiolas individuais, de acordo com as condições de bem-estar animal. Os animais receberam anestesia dissociativa (xilazina 5mg/kg e quetamina 75 mg/kg) e foram realizadas incisões na pele com *punch* número 8 paralelas a coluna vertebral, foram realizadas três

incisões por coelho, totalizando 21 feridas cutâneas em sete coelhos. Estas foram aleatoriamente divididas em três grupos, cada um com sete feridas. No grupo I foram tratadas com extrato aquoso de *Triticum aestivum* veículo contendo creme não iônico a 2mg/mL, no grupo II com extrato aquoso de *Triticum aestivum* veículo contendo creme não iônico a 10mg/mL e no grupo III (controle) com creme não iônico. Os curativos eram realizados a cada 24 horas, sendo previamente feito a limpeza da ferida com solução fisiológica 0,9% e após os tratamentos conforme descrito. Ao final dos curativos era realizada proteção das feridas com gaze hidrófila e malha cirúrgica, as quais eram trocadas diariamente. Aos 21 dias foram realizadas as eutanásias dos animais, de acordo com a Resolução nº 714, 20 de Junho de 2002 do CFMV, e obtidas amostras de pele para estudo da caracterização do colágeno.

Para o estudo do colágeno a análise realizada foi a coloração de picrosirius associada a microscopia de polarização, sendo avaliada a presença ou ausência do colágeno, assim como o seu tipo em I ou II e a organização das fibras de tropocolágeno. As amostras de tecido foram colocadas em solução de formol 10%, desidratadas em banhos de álcoois de teor crescente (álcool 70%, 80%, 90% e 100%) e diafanizadas com xilol durante 30 minutos. Após foram incluídas em parafina e cortados com 5µ de espessura em micrótomo automático e realizada a coloração das lâminas. A leitura das lâminas foi feita em microscópio de luz polarizada acoplado a uma câmera digital. Para a análise de caracterização do colágeno os resultados foram determinados por frequência (Stastix 9.0).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observada a presença de colágeno em todas as feridas dos três grupos experimentais. O colágeno do tipo I esteja presente em 100% (7) das amostras estudadas do grupo II, em 85,7% (6) das amostras do grupo I e em 71,4% (5) das amostras estudadas do grupo III. A presença de colágeno de ambos os tipos, tipos I e II, estiveram presentes em 14,3% (1) das amostras estudadas do grupo I, em 28,6% (2) das amostras estudadas do grupo III e foi ausente no grupo II (Fig. 1). O *T. vulgare* (*syn. T. aestivum*) estimula a mitose e motilidade dos fibroblastos, levando a produção de colágeno (GODEIRO et al., 2010). Os colágenos I e II estão presentes na matriz que sustenta o tecido de granulação (BALBINO et al., 2005). O colágeno do tipo I é a fibra colágena mais densa e mais abundante, fornecendo uma alta resistência a pele (ROCHA, 2004). Esta resistência é dada pela quantidade de colágeno depositada e pela forma como as fibras estão organizadas (BALBINO et al., 2005). O colágeno tipo II é encontrado principalmente em locais que resiste a grandes pressões, como cartilagens e discos vertebrais, não sendo abundante no tecido epitelial, e conforme o amadurecimento do processo cicatricial esse tende a desaparecer (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). A coloração utilizada no presente estudo diferencia o colágeno tipo I do tipo II, através da coloração com siruis red. Esse reagente cora a proteína de colágeno, e com a utilização de microscopia de polarização, ambos os colágenos apresentam-se na coloração vermelho e amarelo sendo que o tipo I apresenta intensa birrefringência (brilhante) e o tipo II birrefringência menos intensa. (JUNQUEIRA et al., 1979; MARTINS et al., 2002).

O grupo I apresentou maior percentual 85,7% (6) de fibras de tropocolágeno organizadas, seguido do grupo III 71,4 % (5) e do grupo II 57,1% (4) (Fig. 2). As moléculas de tropocolágeno quando polimerizadas formam o colágeno.

A deposição das fibras é feita aleatoriamente e com a evolução do processo cicatricial formam-se fibras maiores de colágeno que resultam numa configuração mais regular (BALBINO et al., 2005).

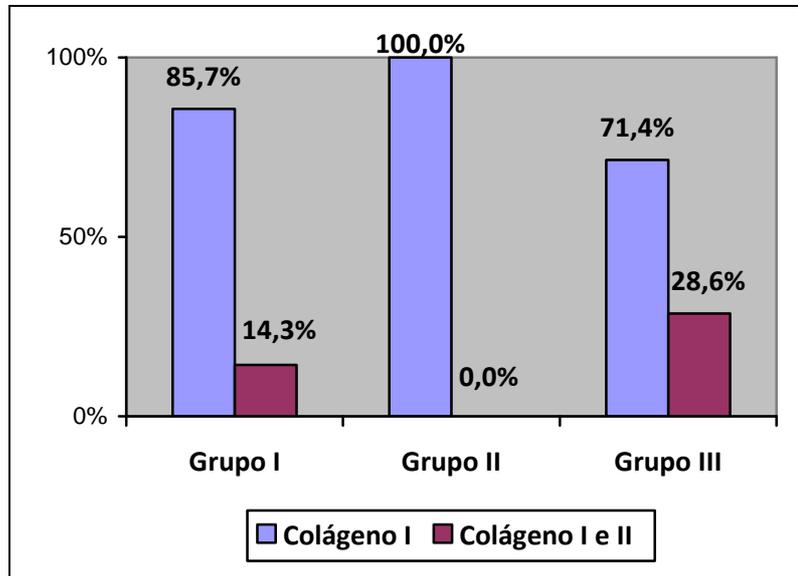


Figura 1 - Frequência do tipo de colágeno (tipo I ou presença de ambos, tipo I e II) presente nas feridas cutâneas abertas de coelhos tratadas por 21 dias com *Triticum aestivum* na concentração de 2mg/mL (Grupo I), *Triticum aestivum* na concentração de 10mg/mL (Grupo II) e creme não iônico (Grupo III).

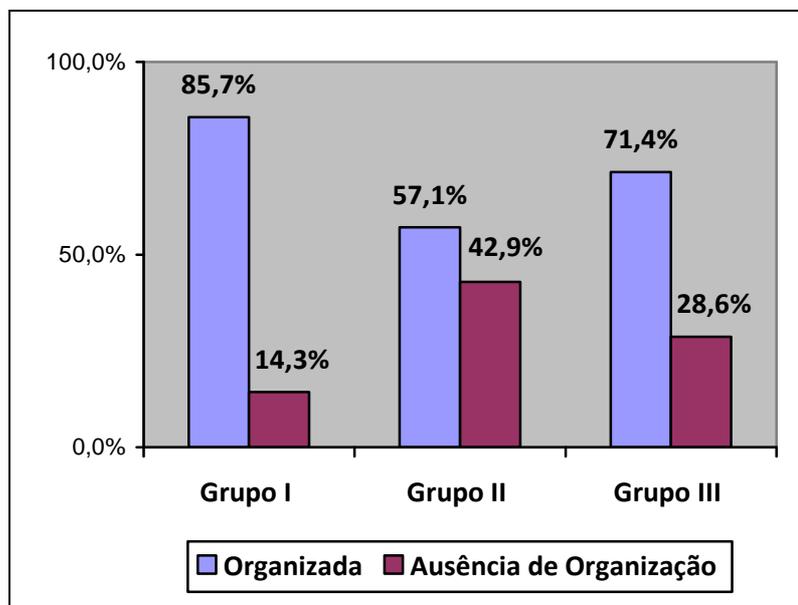


Figura 2 - Frequência da organização ou ausência de organização, das fibras de tropocolágeno presente nas feridas cutâneas abertas de coelhos tratadas por 21 dias com *Triticum aestivum* na concentração de 2mg/mL (Grupo I), *Triticum aestivum* na concentração de 10mg/mL (Grupo II) e creme não iônico (Grupo III).

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que feridas abertas tratadas com extrato aquoso de *Triticum aestivum* a 10mg/mL, apresentam presença de colágeno tipo I e as tratadas com *Triticum aestivum* na concentração de 2 mg/mL há presença de colágeno tipo I e II, embora nesse as fibras de tropocolágeno apresentem melhor organização no processo cicatricial.

5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro (481605/2010-0) e concessão de bolsa de iniciação científica; a CAPES pela concessão de bolsa de doutorado; ao laboratório de Histologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) pelo auxílio nas análises microscópicas e ao Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) pelo desenvolvimento da experimentação animal.

6 REFERÊNCIAS

- BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.41, p27-51, 2005.
- BARBIERI, R. L; STUMPF, E. R. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. 1 ed. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2008.
- DAUPHINÉ, 1787. In: www.tropicos.org. Acessado em 20 de maio de 2012 às 15 horas
- GODEIRO, J.R.G.; BATISTA, J.S.; REIS, P.F.C.C.; OLINDA, R.G.; VALE, R.G.; CALADO, E.B; BARROS, L.E.S.; OLIVEIRA, A.F.; FEIJÓ, F.M.C.F. Avaliação da atividade cicatrizante de creme à base de *Triticum vulgare* em feridas cutâneas de gatas submetidas à ovariossalpingohisterctomi. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, p.78-85, 2010.
- JUNQUEIRA, L.C., BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochemical Journal**, v.11, p 447-55, 1979.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2004
- MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M. H. S. cicatrização I: conceitos atuais e recursos auxiliares- Parte I. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 78, p. 393-407, 2003.
- MARTINS, A.M.C.R.P.F.; TAMASO, E.; GUERRA, J.L.Histochemical study of fibrillar proteins of the extracellular matrix in benign and malignant mammary neoplasms in dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v.39, p. 43-49, 2002.
- MENDONÇA, R.J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, p. 257-262, 2009
- ROCHA, J.C.T. Terapia laser, cicatrização tecidual e angiogenese. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v.17, p 44-48, 2004.