

USO DO EXTRATO DE MASTRUZ NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS WISTAR

(*Use of mastruz extract in the healing of skin wounds in wistar rats*)

Júlia Stéfany Caixeta da SILVA; Guilherme Nascimento
CUNHA; Thalita Moreira PARAGUASSÚ*

Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Rua Major Gote, 808 – Caiçaras,
Patos de Minas/MG. CEP: 38.700-207. *E-mail: thalitamoreira47@gmail.com

RESUMO

O presente estudo avaliou a eficácia do extrato de Mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L) no tratamento de feridas cutâneas induzidas em ratos Wistar. Foram utilizados 15 ratos machos e hígidos, submetidos a duas incisões no dorso: Ferida Controle tratada com solução fisiológica a 0,9% e a Ferida Teste, tratada com extrato de mastruz. Os animais foram subdivididos em três subgrupos com cinco ratos cada: G3 biopsados ao 3º dia, G7 ao 7º dia e G21 ao 21º dia pós-cirúrgico. Foi realizada avaliação macro e microscópica das feridas nos períodos pré-determinados. Após a biópsia, foram realizados cortes histológicos corados pela Hematoxilina Eosina e Tricrômico de Masson. Referente a presença de crostas, prurido, secreção e coloração da ferida, observou-se diferenças biológicas apenas no 7º dia entre a Ferida Teste e a Controle. Quanto ao diâmetro de ferida, houve diferença estatística ao 7º dia apenas na Ferida Teste Final. Relacionado às análises histopatológicas, observou-se que as células inflamatórias da Ferida Controle ao 3º e 7º dia mostraram-se aumentadas em relação à Ferida Teste. Quanto aos fibroblastos e colagenização, não houve alterações entre as feridas. A organização das fibras colágenas apresentou diferença biológica entre 3º, 7º e 21º dias. A epitelização da Ferida Teste no 7º dia mostrou-se parcial, enquanto no 21º dia, ambas feridas apresentaram epitelização completa. Desta forma, concluiu-se que o uso do extrato de mastruz mostrou eficácia na supressão da resposta inflamatória com redução do diâmetro da ferida até o 7º dia. No entanto, não apresentou redução do tempo de cicatrização após esse período.

Palavras-Chave: Fitoterápicos, lesões, processo cicatricial, roedores.

ABSTRACT

*The present study evaluated the effectiveness of using Mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L) extract in the treatment of induced skin wounds in Wistar rats. Fifteen healthy male rats were used, submitted to two incisions on the back: Control Wound treated with 0.9% saline solution and Test Wound treated with Mastruz extract. The animals were divided into three subgroups with five rats each: G3 biopsied at day 3, G7 at day 7, and G21 at day 21. The evaluation of the wounds was made from the macro and microscopic point of view in the predetermined periods. After the biopsy, histological sections stained with Hematoxylin Rosin and Mason's Trichome were performed. Regarding the presence of scabs, pruritus, secretion, and wound color, biological differences were observed only on the 7th day between the Test Wound and the Control Wound. Regarding wound diameter, on the 7th day there was a statistical difference between the Wound Initial Test and Final Test. Regarding the histopathological analyses, it was observed that the inflammatory cells of the Control Wound on the 3rd and 7th day were increased in relation to the Test Wound. As for fibroblasts and collagenization, there were no changes between the wounds. There was a biological difference in the organization of collagen fibers between the 3rd, 7th and 21st days. The Test Wound showed partial epithelialization on the 7th day, while both wounds showed complete epithelialization on the 21st day. Therefore, it was concluded that the use of mastruz extract showed effectiveness in suppressing the inflammatory response with reduction of wound diameter until the 7th day. However, it did not result in reduced healing time after that period.*

Keywords: *Herbal medicines, injuries, healing process, rodents.*

INTRODUÇÃO

Feridas cutâneas são atendidas comumente na rotina clínica e cirúrgica. Em especial lesões de pele que acabam por ter cicatrização por segunda intenção, decorrente a lesões

extensas e contaminadas, ocasionando limitação a um tratamento cirúrgico efetivo no paciente (SANTOS *et al.*, 2019).

É possível saber que o início do processo cicatricial ocorre logo após a criação de uma ferida, ou lesão, onde agentes mecânicos ou térmicos ocasionam a ruptura tecidual causando lesão do endotélio e extravasamento de proteínas intravasculares e extravasculares (MEDEIROS e DANTAS-FILHO, 2016).

Assim, na tentativa de reduzir o tempo de cicatrização, tem-se observado uma busca crescente pelo uso de produtos que sejam naturais para realizar o tratamento de várias enfermidades, concomitantemente ao desenvolvimento de novas fórmulas farmacêuticas e técnicas para o controle de qualidade. Esses fatos têm impulsionado a pesquisa de novas substâncias ativas com base no conhecimento popular, obtendo métodos de tratamento de baixo custo, podendo estes serem testados de forma ampla (MALAQUIAS, 2015).

O uso de plantas medicinais pode ser entendido como uma prática milenar, estando historicamente presente na sabedoria do senso comum, articulando cultura e saúde, uma vez que estes aspectos não ocorrem isoladamente, mas estão inseridos em um contexto histórico (SILVA *et al.*, 2020). Ao longo dos séculos os produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diversas doenças, quer de forma tradicional, devido ao conhecimento das propriedades de determinada planta, quer pela utilização de espécies vegetais como fonte de moléculas ativas (MORESKI *et al.*, 2018).

O Brasil possui grande riqueza quando o quesito é biodiversidade vegetal, é muito conhecido por ser uma das mais ricas do mundo, tornando propício a utilização de diversas espécies de plantas como fitoterápico (MACÊDO *et al.*, 2017). O *Chenopodium ambrosioides* L. está incluído entre os vegetais presentes na diversidade da flora brasileira, sendo conhecido popularmente como Mastruz ou Erva de Santa Maria. Este é um vegetal nativo da América do Sul e Central sendo distribuída de forma ampla por todo o território nacional (TRINDADE *et al.*, 2015).

Esta planta possui propriedades de grande potencial antiparasitário, sendo considerada tóxica quando administrada em altas doses, independentemente da via de administração. Sua toxicidade pode estar diretamente relacionada à espécie animal à qual é administrada (TRINDADE *et al.*, 2021).

Existem inúmeros relatos sobre o uso do mastruz como planta medicinal na medicina popular, apresentando tratamento imunoestimulatório, anti-helmíntico, antitumoral, cicatrizante e antisséptico oral (BIESKI *et al.*, 2015). No Brasil, ele é amplamente utilizado, no estado de Minas Gerais as folhas e as sementes são utilizadas como anti-helmínticas, repelentes de insetos, contra contusões e corrimento vaginal; no Ceará, a infusão das folhas é utilizada contra gripe; no Distrito Federal as flores são utilizadas como laxante; no Rio Grande do Sul, é útil contra problemas de estômago, vermes, úlceras e para eliminar pulgas e piolhos; no Mato Grosso, como vermífugo e emoliente; no Pará, contra vermes e fraturas (RIBEIRO, 2014). O presente estudo objetivou avaliar a eficácia do uso do extrato aquoso de Mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L) no tratamento de feridas cutâneas induzidas em ratos Wistar.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalação animal de pesquisa e Aspectos Éticos

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo CEUA- Comitê de Ética e Pesquisa em Animais do UNIPAM, sendo identificado pelo nº 02/21. A pesquisa foi realizada utilizando-se ratos da linhagem Wistar com 9 semanas, provenientes do Biotério do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, Patos de Minas/MG. Este possui sistema de dois corredores (limpo e sujo) entre as salas de experimentação com fluxo de pessoas e insumos definido, protegidas com barreiras sanitárias (autoclave de barreira, sistema de filtração de ar, diferencial de pressão, air-lock, etc). A temperatura ambiente é controlada a 22 °C. Possui um sistema de insuflação, exaustão e filtração do ar das salas, com pressão positiva impedindo a dispersão da amônia no ambiente, realizando 15 a 20 trocas de ar/hora e o ciclo de luz é definido 12 horas de claro e 12 horas de escuro. Os animais foram acondicionados em rack ventilado, contendo cinco ratos em cada, se tratando de mini isoladores (264mm x 341mm) forrados com maravalha de pinus. A alimentação e água foram fornecidas *ad libidum* e todo o sistema se encontrava ligado a um gerador, que garantiu a manutenção, em caso de falta de energia elétrica. Além disso, foram utilizados enriquecimentos ambientais dentro dos mini-isoladores, sendo eles, sementes de girassol e palitos de madeira (abaixador de língua).

Grupos

Foram utilizados 15 ratos, machos, hígidos com peso aproximado de 250g. Estes foram submetidos a duas incisões sendo a mais caudal a Ferida Controle, tratada com solução fisiológica a 0,9% e a cranial, Ferida Teste, tratada com extrato de Mastruz. Os animais foram divididos em três grupos com cinco ratos cada: G3 - biopsiados no 3º dia, G7 - no 7º dia e G21 - ao 21º dia após a realização das feridas.

Protocolo Anestésico

Após contenção manual, por preensão digital da região dorsal, os animais foram submetidos à anestesia dissociativa injetável, utilizando a associação de midazolam na dose de 2mg/kg, cloridrato de xilazina (10mg/kg) e cloridrato de cetamina (70mg/Kg,) todos por via intraperitoneal (IP). Foi realizada a analgesia com tramadol, utilizando-se 8mg/kg por via subcutânea (SC). Em seguida os animais foram posicionados em decúbito ventral e foi realizada ampla tricotomia, na região torácica dorsal de cada animal, iniciando-se nas escápulas até o último par de costelas. Posteriormente à tricotomia, foi realizada antisepsia do campo cirúrgico com iodo povidona a 0,2%.

Procedimento Cirúrgico

Posteriormente à anestesia, as áreas das incisões circulares foram demarcadas no dorso dos animais utilizando-se um *punch keys* metálico de biópsia de 1cm de diâmetro. Este foi introduzido em dois locais na linha sagital mediana torácica dorsal, sendo a primeira no terço proximal e a segunda no terço médio. Após a demarcação foram realizadas as incisões circulares nas áreas delimitadas transpassando a pele e o subcutâneo com auxílio de bisturi (cabo nº 3 e lâmina nº 15), tesoura metzenbaum curva e pinça anatômica, realizando desta forma a exérese do fragmento da pele e consequentemente expondo a fáscia muscular dorsal. A hemostasia foi

realizada, quando necessária, através de tamponamento compressivo com gaze por aproximadamente três minutos.

Pós-operatório

Em seguida, os animais foram devidamente identificados com pincel atômico de diferentes cores e colocados em mini-isoladores individuais, a fim de evitar que outros animais pudessem mexer no ferimento e comprometer a cicatrização. O curativo tópico foi realizado diariamente, uma vez ao dia, sempre no mesmo período e pelo mesmo pesquisador sem a necessidade de anestesia. Os animais foram submetidos a dois curativos sendo a Ferida Controle tratada com solução fisiológica a 0,9% e a Ferida Teste com extrato aquoso de Mastruz. Nos três primeiros dias do pós-operatório foi administrado nos animais dipirona sódica, na dose de 300mg/kg, por via subcutânea, uma vez ao dia, para controle da dor.

Preparação do extrato de mastruz

O extrato aquoso do mastruz foi obtido a partir das folhas frescas da planta. As folhas foram lavadas em água corrente e posteriormente secas em estufa de ventilação forçada. Em seguida, elas passaram por maceração. Findado este processo, 10 gramas das folhas maceradas foram adicionadas a 100mL de solução fisiológica a 0,9%, obtendo uma solução a 10%. Após a junção, o líquido obtido foi filtrado primeiro em tela de polietileno e depois em papel filtro qualitativo para a obtenção do extrato aquoso, o qual foi acondicionado em embalagem própria (TRINDADE *et al.*, 2015).

Avaliação macroscópica, biópsia e eutanásia

Foi feita uma avaliação macroscópica das feridas, a cada três dias, utilizando um paquímetro digital (MTX, modelo em aço carbono 150mm, fabricado em Moscou-Rússia). Os valores encontrados foram adicionados em uma planilha para posterior análise estatística. Foram também avaliados aspecto, coloração do leito da ferida, presença de crostas, exsudação e prurido, sendo todas as lesões fotografadas posteriormente.

Findado os 3º, 7º e 21º dias pós-incisão, os animais foram submetidos à biópsia da cicatriz, utilizando-se bisturi nº 3, sendo realizada incisão elíptica e retirando-se todo o tecido cicatricial. A amostra foi armazenada em frasco devidamente identificado e fixada em solução de formaldeído a 10% tamponada. Os fragmentos de biópsias foram encaminhados ao Laboratório de Histopatologia do Centro Clínico Veterinário (CCV).

Imediatamente após a biópsia e com os animais ainda sob anestesia, os mesmos foram eutanasiados com dose letal, três vezes a dose utilizada para anestesia, de cetamina (240mg/kg) associada a xilazina (45mg/kg) e midazolam (6mg/kg).

Avaliação histopatológica

No Laboratório de Histopatologia do Centro Clínico Veterinário do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), as amostras foram fixadas, desidratadas e emblocadas em parafina. Em seguida foram realizados os cortes histológicos com 5µm de espessura e fixados dois cortes por amostra em cada lâmina para leitura dupla. Após, as lâminas foram coradas com Hematoxilina Eosina (HE) para avaliar globalmente os cortes de tecido, e pelo Tricrômico de Masson (TM) para avaliação das fibras colágenas.

A leitura das lâminas foi realizada em microscopia de luz com aumento de 40x e 100x. Nas observações de microscopia óptica, foi avaliada a presença de fibroblastos e a colagenização (fibras colágenas). Para tal, foram atribuídas três graduações pelo método de cruzes: 0 ausente, + moderada e ++ acentuada. Referente às células inflamatórias (linfócitos e monócitos), estas foram contadas em 10 campos, sendo então realizada a média. A avaliação da organização das fibras colágenas foi da seguinte forma: desorganizadas, organizadas parcialmente ou completamente. Para a reepitelização tecidual: 0 ausente, + parcial e ++ completa.

Análise estatística

Foram realizadas análises estatísticas descritiva absoluta (n) e relativa (%). Os resultados das análises histopatológicas foram analisados através do teste de Mann-Whitney, por se tratar de uma variável não paramétrica, qualitativa. Para análise das variáveis quantitativas, paramétricas (diâmetro da ferida) foi aplicado o teste Tukey, com o intervalo de confiança de 5% ($p<0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise macroscópica das Feridas Controle e Teste ao 3º dia não apresentaram alterações significativas. Na Ferida Controle, 60% apresentaram prurido, 40% desenvolveram crostas e 100% apresentavam secreção serosa. A coloração do leito da ferida se apresentava avermelhada e a contração estava ausente. Em contrapartida, a Ferida Teste, diferiu nos aspectos prurido, crostas e secreção, os quais apresentaram 100% ausente para prurido, 80% apresentaram crostas e em 60%, notou-se a presença de secreção. A coloração do leito da ferida e contração foram equivalentes em ambas as feridas. Estes achados encontram-se descritos na Tab. 01.

Tabela 01: Frequências, absoluta (n) e relativa (%), da presença de secreção, prurido, coloração do leito e crostas nas Feridas Controle e Teste no 3º dia pós cirurgia.

Grupos	Características Macroscópicas											
	Secreção		Prurido		Coloração da ferida				Crostas		Contração	
					Vermelha		Rosada					
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Controle	5	100	3	60	5	100	0	0	2	40	0	0
Teste	3	60	0	00	4	80	0	0	4	80	0	0

(Fonte: dados do autor, 2022)

Grassi *et al.* (2015) observaram ao utilizar uso tópico do fitoterápico *Chenopodium ambrosioides* a 10%, observaram que este apresentou efeito cicatrizante e que macroscopicamente as feridas cutâneas apresentaram um processo de cicatrização padrão ao 3º dia, estando de acordo com o presente trabalho nas variáveis secreção, coloração e crostas.

Ademais, Ribeiro (2014) em seu experimento com uso do mastruz (*Chenopodium*

ambrosioides) em feridas cutâneas em ratos Wistar observou a presença de crostas e secreção nos dois grupos ao 3º dia de pós-operatório, corroborando com o presente trabalho.

Referente a presença de prurido, foi notória sua presença em 60% das Feridas Controle, fato este não observado nas Feridas Teste. Macedo *et al.* (2017) relataram em seus estudos que o prurido ocorre por liberação de ocitocinas inflamatórias no local da lesão. No entanto, quando o animal apresenta dor este pode apresentar dificuldade para repousar, tentativas de lamber, coçar e/ou morder a região dolorida, o que também pode justificar o prurido. Sabe-se que a sua presença em uma ferida pode dificultar a cicatrização do local, devido às lesões mecânicas e estresse do animal.

No 7º dia observou-se que 100% das Feridas Controle avaliadas apresentaram crostas sem revelar contração. Em contrapartida, a Ferida Teste apresentou contração com presença de crosta em 100% dos animais, observando-se diferença biológica nos achados (Tab. 02).

Tabela 02: Frequências, absoluta (n) e relativa (%), da presença de secreção, prurido, coloração do leito e crostas nas Feridas Controle e Teste no 7º dia após a cirurgia.

Grupos	Características Macroscópicas											
	Secreção		Prurido		Coloração da ferida				Crostas		Contração	
					Vermelha		Rosada					
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Controle	5	100	0	0	5	100	0	0	5	100	0	0
Teste	0	0	0	0	5	100	0	0	5	100	5	100

(Fonte: dados do autor, 2022)

As diferenças macroscópicas no processo cicatricial podem ser observadas na Fig. 01.

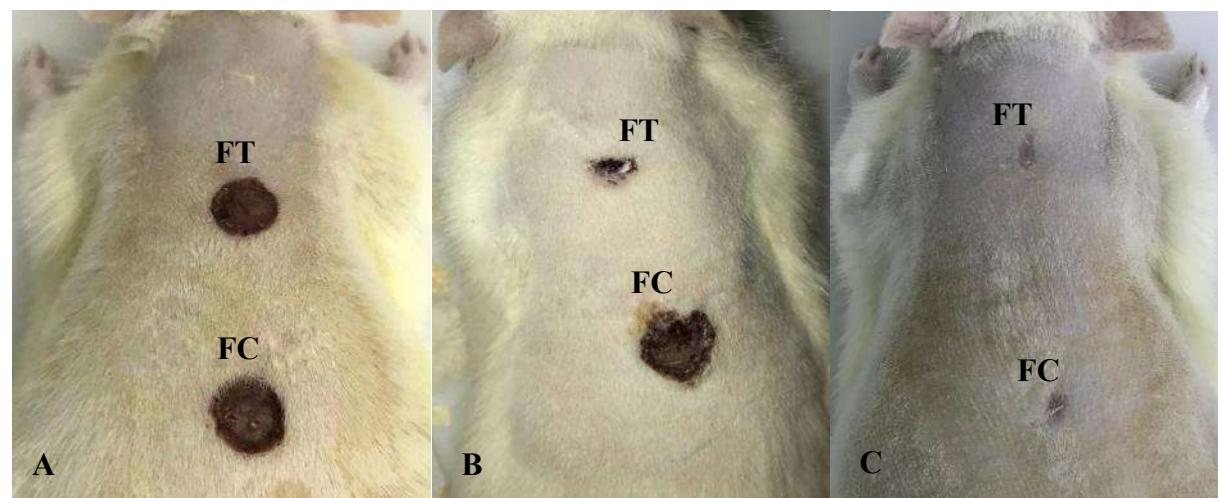


Figura 01: Fotografias das Feridas Controle (FC) e Teste (FT), realizadas na linha mediana dorsal de ratos Wistar em diferentes tempos.

Obs.: Tempos = A) 3º dia; B) 7º dia; C) 21º dia pós-operatório.

De acordo com Souza *et al.* (2020) que avaliaram a cicatrização em ratos Wistar utilizando extrato de mastruz (*Chenopodium ambrosioides*) a 10%, verificaram que houve

diminuição macroscópica biológica da área da ferida a partir do 7º dia, corroborando com o presente trabalho.

Nitz (2005) concluiu em seu estudo que o grupo que apresentar uma melhor cicatrização ao 7º dia, normalmente continuará desta forma em relação aos outros grupos em tempos de observação posterior. Isso pode ocorrer em decorrência de um maior número de fibroblastos no tecido de granulação neste período, visto que os fibroblastos são essenciais no processo de reparo.

As Feridas Controle e Teste do G21 (Grupo de 21º dias) apresentaram equivalência, notando-se ausência de secreção e crostas em ambos. Além disso, apresentaram coloração roseada e retração completa, sendo compatível com feridas totalmente epitelizadas (Tab. 03).

Tabela 03: Frequências, absoluta (n) e relativa (%), da presença de secreção, prurido, coloração do leito e crostas nas Feridas Controle e Teste no 21º dia após a cirurgia.

Grupos	Características Macroscópicas								
	Secreção	Prurido	Coloração da ferida		Crostas	Contração			
			Vermelha	Rosada		n	%	n	
	N	%	n	%	n	%	n	%	
Controle	0	0	0	0	0	5	100	0	0
Teste	0	0	0	0	0	5	100	0	0

(Fonte: dados do autor, 2022)

Resultados similares foram descritos por Sérvio *et al.* (2011), que ao avaliarem a cicatrização de feridas cutâneas em ratos Wistar utilizando extrato de mastruz a 1,3%, relataram retração significante da ferida teste a partir de 7º dia, porém, não houve retração significante entre os grupos após 14 dias.

No entanto, os resultados obtidos no presente estudo divergem daqueles descritos por Ribeiro (2014), que não corroboraram com as conclusões deste trabalho. O autor investigou o uso do sumo de *Chenopodium ambrosioides*, extraído a partir de 40g de folhas e caule da planta, que foram macerados com o auxílio de um pilão, no processo de cicatrização de feridas em ratos da linhagem Wistar. O autor observou que o fitoterápico promovia um aumento na contração das feridas nos 3º, 7º e 12º dias pós-operatórios, com retração completa das lesões aos 12 dias de tratamento.

A melhora do processo cicatricial com o uso do Mastruz provavelmente deve-se a seus compostos. Em suas pesquisas, Jesus (2019) realizou a identificação de dois compostos principais presentes no óleo essencial da *Chenopodium ambrosioides*: p-cimeno e ascaridol, sendo realizada por técnica conhecida como cromatografia gasosa (CG). O p-cimeno, é reconhecido como um anti-inflamatório potente e possui atividade citotóxica bem baixa. O ascaridol, também conhecido como ascarisina, possui propriedades sedativas, analgésicas e antifúngicas.

Referente ao diâmetro de ferida, a Ferida Controle e Teste Inicial e Final ao 3º dia não mostraram diferença estatística significativa. Ao 7º dia não houve diferença significativa entre as feridas exceto entre o diâmetro da Ferida Inicial e Teste Final. Ao 21º dia não foi

observado diferença estatística significativa apenas ao comparar o diâmetro da Ferida Controle Inicial com Teste Inicial e Ferida Controle Final com Teste Final. Essas alterações encontram-se descritas na Tab. 04.

Tabela 04: Média e desvio padrão de diâmetro de ferida (mm) observadas nas Feridas Controle (FC) e Teste (FT) de ratos Wistar ao 3°, 7° e 21° dia pós-operatório.

DIÂMETRO DA FERIDA (mm)				
Grupos	FT Inicial	FC Inicial	FT Final	FC Final
G3 (3 dias)	78,47±20,73 ^a	71,37±14,83 ^a	88,16±19,72 ^a	94,10±20,20 ^a
G7 (7 dias)	93,68±12,59 ^a	92,88±39,88 ^{ab}	25,34±16,45 ^b	76,00±44,03 ^{ab}
G21 (21 dias)	68,27±16,20 ^a	57,54±6,50 ^a	10,47±2,16 ^b	21,99±2,93 ^b

(Fonte: dados do autor, 2022)

*Comparação nas linhas letras diferentes, diferença significativa ($p<0.05$). Letras iguais não houve diferença.

Resultados similares foram descritos por Grassi (2011) em seu experimento com uso tópico do *Chenopodium ambrosioides* a 5% em ratos Wistar, em que notou diferença estatística significativa do diâmetro da ferida nos animais de 7° dia de tratamento, não sendo observado nos períodos de 14° e 19° dias.

Entretanto, Ribeiro (2014), ao avaliar feridas tratadas com o sumo de *Chenopodium ambrosioides L.*, observou que não houve diferença estatística significativa no dia seguinte ao tratamento, assim como no terceiro e sétimo dia após a aplicação. No entanto, foi registrada uma redução estatisticamente significativa no diâmetro da ferida no 12° dia de tratamento, o que contrasta com os resultados obtidos no presente estudo.

Os resultados observados por Ribeiro (2014) são reforçados por Nitz (2005), que explica que ao 7° dia a ferida que apresentou melhor cicatrização prevalecerá assim nos tempos posteriores, em decorrência de uma maior quantidade de fibroblastos, que por sua vez possuem grande importância na cicatrização.

Referente à análise histopatológica, as células inflamatórias ao 3° dia pós-operatório (G3) mostraram-se com diferença estatisticamente significativas ($p<0,05$), sendo a Ferida Controle com a maior presença destas células (Fig. 2A).

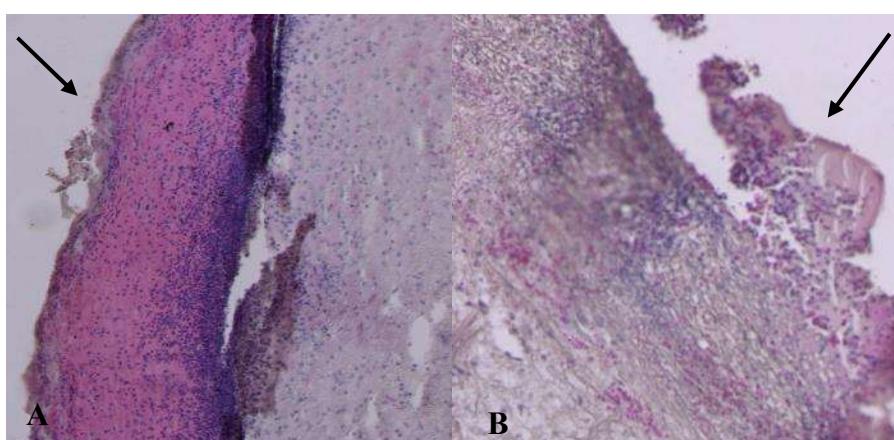


Figura 02: Microfotografia de pele da região cervical dorsal de ratos Wistar.

Obs.: A = Grupo Controle, animal 04; B = Grupo Teste, animal 03, ambos avaliados 3 dias após o início de tratamento, presença de coágulo e células inflamatórias (seta). (Coloração HE, 40x)

Quando comparando as feridas do G7 (Grupo de 7º dia de pós-cirúrgico) também notou-se diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$), sendo a Ferida Controle com o maior número de células inflamatórias (Fig. 3A).

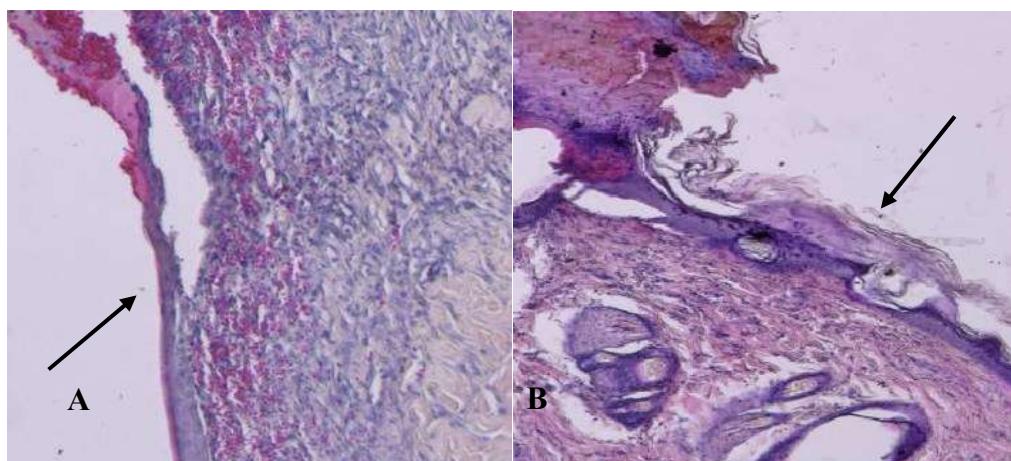


Figura 03: Microfotografia de pele da região cervical dorsal de ratos Wistar

Obs.: A = Grupo Controle, animal 07; B = Grupo Teste, animal 07, ambos aos 7 dias após o início de tratamento. Epitelização (seta). Nota-se em ambas a presença de epitelização (setas). (Coloração HE, 40x)

Por fim, as Feridas Controle e Teste avaliadas ao 21º dia não revelaram diferença estatística significativa entre si ($p>0,05$) (Fig. 4A e 4B) (Tab. 05).

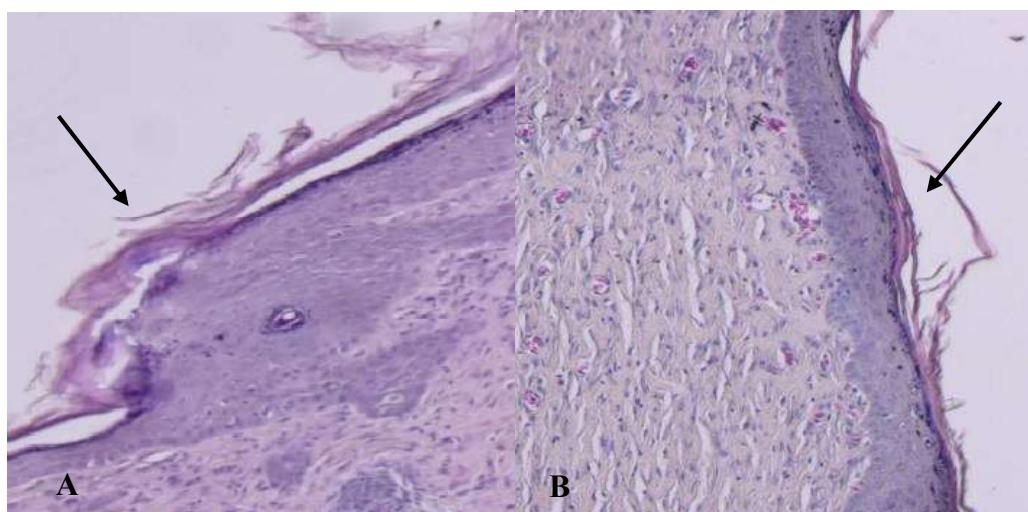


Figura 04: Microfotografia de pele da região cervical dorsal de ratos Wistar.

Obs.: A = Grupo Controle, animal 13; B = Grupo Teste, animal 11, ambos aos 21 dias após o início de tratamento. Epitelização com presença de queratina e organização das fibras colágenas (seta). (Coloração HE, 40x)

É possível perceber presença menos intensa de células inflamatórias na Ferida Teste nos tempos 3º e 7º dia, a qual corrobora com Souza *et al.* (2020) que obtiveram em suas pesquisas menor intensidade de células inflamatórias ao 3º, 7º e 14º dia de tratamento. A comparação dos resultados encontrados, com os de Souza *et al.* (2020) referentes ao 14º dia, não se mostraram possíveis, uma vez que este período não foi avaliado no presente estudo. No entanto, nota-se grande similaridade na evolução do processo cicatricial em ambos os estudos.

Tabela 05: Células inflamatórias, fibroblastos, fibras colágenas e reepitelização ($X \pm DP$) observadas nas Feridas Teste e Controle de ratos Wistar ao 3°, 7° e 21° dia pós-operatório.

CÉLULAS INFLAMATÓRIAS		
Tempo pós-cirúrgico	Tratamento	Controle
G3 (3 dias)	$55 \pm 3,16^{\text{aA}}$	$89 \pm 13,20^{\text{aB}}$
G7 (7 dias)	$40 \pm 4,66^{\text{bA}}$	$63 \pm 18,59^{\text{bB}}$
G21 (21 dias)	$0 \pm 0^{\text{c}}$	$0 \pm 0^{\text{c}}$

FIBROBLASTOS		
Tempo pós cirúrgico	Tratamento	Controle
G3 (3 dias)	$0 \pm 0^{\text{a}}$	$0 \pm 0^{\text{a}}$
G7 (7 dias)	$1 \pm 0^{\text{ab}}$	$1 \pm 0^{\text{ab}}$
G21 (21 dias)	$2 \pm 0^{\text{b}}$	$2 \pm 0^{\text{b}}$

FIBRAS COLÁGENAS		
Tempo pós-cirúrgico	Tratamento	Controle
G3 (3 dias)	$0 \pm 0^{\text{a}}$	$0 \pm 0^{\text{a}}$
G7 (7 dias)	$0 \pm 0^{\text{a}}$	$0 \pm 0^{\text{a}}$
G21 (21 dias)	$2 \pm 0^{\text{b}}$	$1 \pm 1^{\text{a}}$

REEPITELIZAÇÃO		
Tempo pós-cirúrgico	Tratamento	Controle
G3 (3 dias)	$0 \pm 0^{\text{a}}$	$0 \pm 0^{\text{a}}$
G7 (7 dias)	$0 \pm 1^{\text{ab}}$	$0 \pm 0^{\text{a}}$
G21 (21 dias)	$2 \pm 0^{\text{b}}$	$2 \pm 0^{\text{a}}$

(Fonte: dados do autor, 2022)

*Comparação nas colunas: letras minúsculas diferentes, diferença significativa ($p < 0.05$), letras minúsculas iguais sem diferença. Comparação nas linhas: letras maiúsculas diferentes, diferença significativa ($p < 0.05$). Letras maiúsculas iguais, sem diferença.

De acordo com os estudos farmacológicos realizados *in vitro* sobre o Mastruz desenvolvidos por Wei *et al.* (2013), a planta mostrou-se eficiente em sua ação bactericida e como um potente anti-inflamatório. Soares (2021) descreveu em seu estudo altas concentrações de tanino presente nas folhas de mastruz. O tanino é um composto antioxidante responsável por sequestrar radicais livres, ocasionar uma maior eliminação de água do interior da célula ao formar complexos com polissacarídeos e proteínas, e assim provocar a contração de fibras. Além disso, é capaz de formar complexos com íons metálicos como ferro, cálcio, alumínio, vanádio e cobre.

Quanto aos fibroblastos, estes não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p > 0.05$) entre as Feridas Teste e Controle ao 3°, 7° e 21° dia de pós-operatório. Essas alterações encontram-se descritas na Tab. 05. Resultados diferentes foram descritos por Souza *et al.* (2020) os quais notaram efeitos positivos sobre a eficiência da planta no processo cicatricial, encontrando um aumento estatisticamente significativo de fibroblastos nos tempos 3°, 7° e 14° dia pós-operatório.

Nitz (2005), que utilizou em suas pesquisas o mastruz para o tratamento de feridas em ratos Wistar notou uma presença significativa maior de fibroblastos em todos os tempos

observados, sendo 3°, 7° e 19° dia de pós-operatório.

Referente à colagenização, não houve diferença estatística entre o Grupo Controle e Teste ao 3°, 7° e 21° dia pós-operatório. No entanto, no 21° dia notou-se um aumento biológico de fibras colágenas no Grupo Teste em relação ao Controle, porém, sem diferença estatística significativa entre os achados. Essas alterações encontram-se descritas na Tab. 05.

Estes resultados mostraram-se em desacordo com os relatados por Nitz (2005), que observou em todos os grupos teste uma presença estatisticamente significativa maior de fibras colágenas.

Os resultados mostraram-se também diferentes dos descritos por Sérvio *et al.* (2011), em que trabalharam com o efeito do extrato de mastruz na cicatrização de feridas cutânea em ratos Wistar. Ao analisar a deposição de colágeno total estes autores perceberam que no 3°, 7° e 14° dia de pós-operatório ocorreu um aumento significativo. Souza *et al.* (2020) observaram em suas pesquisas aumento estatístico significativo de fibras colágenas nos tempos 3°, 7° e 14° dia pós-operatório.

O aumento das fibras colágenas presentes no 3° dia encontradas nos trabalhos de Sérvio *et al.* (2011) e Souza *et al.* (2020) reforçam os efeitos do matriz na aceleração do processo cicatricial, uma vez que conforme Moreski *et al.* (2018) a síntese do colágeno se inicia algumas horas após ocorrer uma lesão, porém, ela não é significativa até uma semana após ferimento.

Referente ao processo de reorganização das fibras colágenas ao 3° dia, ambas as feridas estavam 100% desorganizadas, no 7° dia, 20% das Feridas Controle e Teste, estavam desorganizadas com 80% destas parcialmente organizadas. No 21° dia, 100% apresentavam-se totalmente organizadas. Neste sentido pôde-se notar que não houve diferença significante ao comparar as Feridas Controle e Teste no 3°, 7° e 21° dia pós-operatório. Essas alterações encontram-se descritas na Tab. 06.

Tabela 06: Frequência relativa (%) referente à organização de fibras colágenas observadas nas Feridas Teste e Controle ao 3°, 7° e 21° dia, em ratos Wistar.

Período pós Operatório	Grupo	ORGANIZAÇÃO FIBRAS COLÁGENAS (%)		
		Desorganizadas	Organizadas Parcialmente	Organizadas
3° dia	Controle	100	0	0
	Teste	100	0	0
7° dia	Controle	20	80	0
	Teste	20	80	0
21° dia	Controle	0	0	100
	Teste	0	0	100

(Fonte: dados do autor, 2022)

Nesse sentido, quando foi comparada a organização das fibras de ambas as feridas dentro de cada tempo, além de não mostrarem diferença entre si, mostraram-se estar em acordo com o tempo normal em que ocorre a organização das fibras colágenas no processo cicatricial descrito na literatura (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013; MEDEIROS, 2016).

A epitelização ao 3° dia não apresentou alterações biológicas tanto na Ferida Controle quanto na Ferida Teste. No 7° dia a Ferida Controle apresentou epitelização ausente em 100%

dos animais, enquanto a Ferida Teste obteve epitelização parcial em 80% dos animais (Tab. 06), porém, sem apresentar diferença estatística (Tab. 05). No 21º dia a Ferida Teste e Controle mostraram epitelização completa em 100% dos animais. Estas alterações encontram-se descritas na Tab. 07.

Tabela 07: Frequência relativa (%) referente à presença de características microscópicas observadas nas Feridas Teste e Controle ao 3º, 7º e 21º dia em relação à epitelização.

Tempo pós-cirúrgico	Grupos	EPITELIZAÇÃO (%)		
		Ausente	Parcial	Completa
3º dia	Controle	100	0	0
	Teste	100	0	0
7º dia	Controle	100	0	0
	Teste	20	80	0
21º dia	Controle	0	0	100
	Teste	0	0	100

(Fonte: dados do autor, 2022)

Sérvio *et al.* (2011) observaram que não houve diferença estatística significativa entre o Grupo Teste e Controle a partir do 7º dia no quesito epitelização da ferida, o qual concorda com o presente estudo.

Ribeiro (2014) notou em seu estudo com o uso do mastruz, que não houve relevância estatística na epitelização dos grupos com tempo de 1º, 3º e 7º dia de pós-operatório, o qual está em acordo com o presente estudo. Porém, notou-se que houve relevância estatística no grupo de 12º dia pós-operatório. Ademais, a comparação dos resultados encontrados com Ribeiro (2014) ao 12º dia de tratamento não é possível, visto que este período não foi avaliado no presente estudo. No entanto, nota-se similaridade no processo cicatricial nos tempos 3º e 7º dia de pós-operatório.

Em última análise, pode-se perceber que na Ferida Teste, a fase inflamatória apresentou redução acentuada de células inflamatórias, fato este que não influenciou na quantidade de infiltração de fibroblastos. Consequentemente, observou-se melhora na contração da ferida ao 7º dia de pós-operatório, o qual corrobora com Grassi (2011) e Souza (2020). Porém, Ribeiro (2014) notou resultados diferentes, os quais houve redução estatística do diâmetro da ferida ao 12º dia de tratamento.

CONCLUSÕES

Pode-se concluir que o tratamento com extrato a 10% de mastruz demonstrou eficácia no processo de cicatrização por segunda intenção de feridas induzidas, especialmente ao reduzir a intensidade e a duração da fase inflamatória, com consequente diminuição do diâmetro da ferida. No entanto, ainda são necessários testes pré-clínicos em outras espécies para confirmar sua viabilidade como terapia para esse tipo de tratamento.

REFERÊNCIAS

- GRASSI, L.T. *Chenopodium ambrosioides- Erva de santa maria (Amaranthaceae): Estudo do potencial anti-inflamatório, antinociceptivo e cicatrizante*, 2011. 147p. (Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, Universidade do vale do Itajaí, 2011.
- GRASSI, L.T.; DEGENHARDT, R.T.; FARIA, I.V.; FRANCHI JR, G.C.; NOWILL, A.E.; BITTENCOURT, C.M.S.; WAGNER, T.; SOUZA, M.M.; CRUZ, A.B; MALHEIROS, A.; Caracterização e avaliação do potencial citotóxico do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v.26, n.1, p.56-61, 2015.
- JESUS, R.S. *Chenopodium ambrosioides L. Do uso popular aos ensaios pré-clínicos: análise química, potencial antiinflamatório e estudo da toxicidade*, 2019. 136p. (Tese de Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, 2019.
- JUNQUEIRA, I.L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 12. ed., Rio de Janeiro, 2013.
- MALAQUIAS, T.S.M. Tratamentos não convencionais para feridas: revisão integrativa da literatura. *Revista Contexto & Saúde*, UNIJUÍ, v.15, n.29, p.22-29, 2015.
- MACEDO, J.L.; PEREIRA. L.C.; OLIVEIRA.A.S.S.; MAGALHÃES. M.J.S. Eficácia da fitoterapia no processo de cicatrização tecidual de pacientes com diagnóstico de diabetes mellitus. *Reon Facema*, v.3, n.1, p.396-400, 2017.
- MEDEIROS, A.C.; DANTAS-FILHO, A.M. Cicatrização das feridas cirúrgicas. *Journal of Surgical and Clinical Research*, v.7, n.2, p.87-102, 2016.
- MORESKI, D.A.B.; LEITE-MELLO, E.V.S.; BUENO, F.G. Ação cicatrizante de plantas medicinais: um estudo de revisão. *Arquivo Ciência e Saúde*, UNIPAR, Umuarama, v.22, n.1, p.63-69, 2018.
- NITZ, A.C.; ELY, J.B.; ACAMPORA, A.J.; TAMES, D.R.; CORRÊA, B.P. Estudo morfométrico na cicatrização de feridas cutâneas em ratos, utilizando *Coronopus didymus* e *Calendula officinalis*. *Arquivos Catarinenses de Medicina*, v.35, n.4, p.1-6, 2005.
- RIBEIRO, R.V. Influência do sumo de *Chenopodium ambrosioides* l. (Erva de santa maria) na contração de feridas cutâneas induzidas em dorso de ratos da linhagem Wistar. *Connection Line-Revista Eletrônica do UNIVAG*, v.3, n.3, p.64-74, 2014.
- SANTOS, O.J.; MALAFAIA, O.; RIBAS-FILHO, J.M.; CZECKO, G.; SANTOS, R.H.P.; SANTOS, R.A.P. Efeito de *Schinus terebinthifolius raddi* (aroeira) e *Sarapa guianensis aublet* (andiroba) na cicatrização de gastrorrafias. *Revista ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, v.26, n.2, p.84-91, 2013.
- SANTOS, J.A.A.; SOUSA, M.F.A.M.; SILVA, E.L.V.; AGUIAR JÚNIOR, F.C.A. Avaliação histomorfométrica do efeito do extrato aquoso de urucum (norbixina) no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.16, n.3, p.637-643, 2014.

SANTOS, A.T.; JÚNIOR, J.M.; CUNHA, G.N. Cicatrização por segunda intenção de feridas cutâneas em ratos Wistar com uso de *Stryphnodendron adstringens*, **Revista Ciência Animal**, v. 29, n.1, p.15-29, 2019.

SÉRVIO, E.M.L.; ARAÚJO, K.S.; NASCIMENTO, L.R.S.; COSTA, C.L.S.; MENDES, L.M.S.; MAIA-FILHO, A.L.M.; SANTOS, I.M.S.P. Cicatrização de feridas com a utilização do extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) e cobertura secundária estéril de gaze em ratos. **ConScientiae Saúde**, v.10, n.3, p.441-448, 2011.

SILVA, I.A.; MENDES, D.P.C.; ABREU, C.R.C. Aspectos terapêuticos e farmacológicos na utilização da *Chenopodium ambrosioides* L. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, v.3, n.7, p.427-436, 2020.

SOUZA, C.K.A.C.; SANTANA, S.S.; GASPAR, L.M.A.C.; GARÇÃO, M.V.N.; COSTA, R.C.; MELO, T.G.C. O uso do mastroz como agente cicatrizante em feridas cutâneas. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, v.1, n.2, p.78-78, 2020.

SOARES, I.A.L. **Obtenção de extratos de folhas de mastroz (*Chenopodium ambrosioides* L.): Estudo experimental e otimização do processo**, 2021. 80p. (Tese de Doutorado em Engenharias de Processos). Programa de Pós-Graduação em Engenharias de Processos, Universidade Federal de Campina Grande, 2021.

TRINDADE, R.C.P.; FERREIRA, E.S.; GOMES, I.B.; SILVA, L.; SANT'ANA, A.E.G.; BROGLIO, S.M.F. Extratos aquosos de inhame (*Dioscorea rotundata* Poirr.) e de mastroz (*Chenopodium ambrosioides* L.) no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.17, n.2, p.291-296, 2015.

TRINDADE, G.D.; MAIA-FILHO, A.L.M.; RODRIGUES, J.S.; FERREIRA, D.C.L.; ARAÚJO, K.S. Efeitos de extrato em gel de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) no tratamento de lesões ósseas de ratas osteoporóticas. **Revista Eletrônica Acervo Odontológico**, v.3, n.1, p.e6260-e6260, 2021.

TRIVELLATO GRASSI, L.; MALHEIROS, A.; MEYRE-SILVA, C.; BUSS ZDA, S.; MONGUILHOTT, E.D.; FRÖDE, T.S.; SILVA, K.A.; SOUZA, M.M. Do uso popular à validação farmacológica: um estudo dos efeitos antiinflamatórios, antinociceptivos e cicatrizantes do extrato de *Chenopodium ambrosioides*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.145, n.1, p.127-138, 2013.

WEI, L.; YU, L.; XUE-ZHI, Z.; NING, L.; HONG, C. In vitro bactericidal activity of Jinghua Weikang capsule and its individual herb *Chenopodium ambrosioides* L. against antibiotic-resistant *Helicobacter pylori*. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v.19, n.1, p.54-57, 2013.