

Clarissa C Faleiro^{1,2}, Sandro TH Elias^{1,3}, Luiz C Cavalcanti^{1,4} & Áurea SS Cavalcanti^{1,5}

O extrato das folhas de babosa, *Aloe vera* na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos, num ensaio controlado por placebo⁶

The extract of medicinal aloe leaves, *Aloe vera*, on the healing of experimental wounds in the rat skin, in a placebo controlled essay

Resumo O *Aloe vera* (L.) Burm. f., apresenta no parênquima de suas folhas mucilagem com ação cicatrizante, antibacteriana, antifúngica, antiinflamatória e antivirótica proporcionadas pela presença de antraquinonas como aloenina, barbaloina e isobarbaloina em sua composição química. Estas propriedades fitoterápicas conferem-lhe destaque dentre as demais espécies do gênero *Aloe*. Para avaliar a capacidade cicatrizante do Extrato Glicólico do *Aloe vera*, comparou-se com o efeito do propilenoglicol em feridas provocadas experimentalmente na pele de *Rattus norvegicus* machos, da linhagem Wistar. O processo de cicatrização foi acompanhado por 06 (seis) dias, tendo-se executada avaliação macroscópica diária e, ao final, foi realizada avaliação microscópica da reepitelização. Os dados obtidos pelas análises executadas evidenciaram que o processo de cicatrização foi facilitado pela utilização do fitoterápico na forma de extrato glicólico, uma vez que este proporcionou maior contração das feridas experimentais. Também se pode afirmar que o veículo testado, solução de propilenoglicol a 50%, não apresentou diferenças significativas quando comparado ao grupo controle.

Palavras-chaves Cicatrização de feridas; ratos; propilenoglicol; *Aloe vera*; babosa.

Abstract *Aloe vera* (L.) Burm. f. leaves parenchyma has a kind of mucilage which shows healing, antibacterial, antifungal, anti-inflammatory and antiviral effects, caused by the presence of anthraquinones such as aloene, barbaloin and isobarbaloin in their chemical constituency. These phytotherapeutic properties set them apart among the other species in the *Aloe* genus. In order to assess this healing capacity of the *Aloe vera* Glycolic Extract, it was compared to the effect of propylene glycol on wounds experimentally effected on the skin of male *Rattus norvegicus*, of the Wistar lineage. The healing process was followed up for a period of six days, with daily microscopic verification. Finally, a

microscopic evaluation of reepithelization was carried out. Results obtained show that the healing process was facilitated by the use of the phytotherapeutic in the form of glycolic extract, since such extract promoted greater contraction of the experimental wounds. It can also be stated that the tested vehicle, that is, a propylene glycol solution at 50%, did not show relevant differences, when compared to the control group.

Keywords Wound healing, rats, propylene glycol, *Aloe vera*, medicinal aloe.

Introdução

Aproximadamente 80% da população brasileira não têm acesso aos medicamentos essenciais. Como as plantas medicinais apresentam maior facilidade quanto ao acesso, custo e manipulação, passam a atuar como a primeira ou talvez única escolha para o acesso à saúde (Nolla & Severo, 2005).

O *Aloe vera* (L.) Burm. f., *Aloe barbadensis* Miller ou, popularmente, Babosa é utilizado há muito tempo como medicamento (Schimid, 1991). Dentre seus fins diversos destacamos seu uso como cicatrizante que será demonstrado neste estudo por meio da aplicação do extrato glicólico de *Aloe vera* em feridas cutâneas abertas em *Rattus norvegicus* machos, da linhagem Wistar. É uma planta pertencente à família Liliaceae, proveniente da África do Sul e da Ásia. Foi introduzida no Brasil no início da colonização, se adaptando bem em várias regiões de nosso país (Newall et al., 2002; Trolles, 1999).

O propilenoglicol é um solvente viscoso, utilizado em uma grande variedade de formulações farmacêuticas de uso tópico, devido à sua propriedade emoliente (Diemunsch & Marthis, 1980; Wade & Weller, 1994).

Do parênquima das folhas da babosa pode se extrair um gel incolor (McKeown, 1987) com ação cicatrizante, antibacteriana, antifúngica e antivirótica pela presença das antraquinonas como aloenina, barbaloina e isobarbaloina em sua composição química (Kuzuya et al., 2001; Steinert et al., 1996) e que tem sido utilizado para curar queimaduras, cicatrizar feridas, aliviar

1 Centro Universitário Vila Velha - UVV. Rua Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista, Vila Velha, Espírito Santo, Brasil. CEP 29102-770

2 clarissacf@hotmail.com

3 sandro.farmacia@terra.com.br

4 cavalcanti@uvv.br

5 aurea@uvv.br

6 Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Farmácia da UVV.

dores, além de ser um poderoso agente hidratante (Grindlay, 1986; Madis Laboratories, 1983). Tendo grande capacidade de regenerar tecidos lesados, o gel contido na planta, onde estão presentes alguns tipos de glicoproteínas e polissacarídeos, pode ser usado seguramente sobre a pele na forma de emplastro (Reynolds & Dweck, 1999).

A cicatrização de feridas consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a reepitelização e a reconstituição do tecido. Tal evento é um processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos que se comportam de forma harmoniosa a fim de garantir a restauração tissular. Como desencadeante da cicatrização, ocorre a perda tecidual, a partir da qual o fisiologismo volta-se completamente para o reparo de um evento danoso ao organismo (Mandelbaum et al., 2003; Cotran et al., 2000.).

Ao estimular a cicatrização, o *Aloe vera* estimula a produção de anticorpos e a varredura dos radicais livres produzidos pelos neutrófilos. As propriedades antiinflamatórias da *Aloe vera*, diferente dos esteróides, ao mesmo tempo em que bloqueiam a inflamação estimulam o crescimento dos fibroblastos e a aceleração da cicatrização. (Davis, 1997).

Este trabalho objetiva comparar o processo de cicatrização, em feridas cutâneas abertas em *Rattus novergicus* machos, da linhagem Wistar, sob influência do tratamento tópico com extrato glicólico de *Aloe vera* e com solução de propilenoglicol a 50%.

Métodos

Este estudo foi realizado no Laboratório de Fisiologia do Centro Universitário Vila Velha, Vila Velha – ES. Neste local, os animais foram mantidos durante todo o período experimental e foram coletados dados para avaliação clínica e histológica. As peças cirúrgicas foram analisadas no Laboratório de Histopatologia da instituição e foram obedecidos os princípios éticos em experimentação animal preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

Foi utilizado extrato glicólico de *Aloe vera*, Lote PROD004125, fabricado em 07/02/2008 por Mapric Produtos Farmacocosméticos Ltda e válido até 07/02/2011. Os ensaios biológico utilizou 16 *Rattus novergicus* machos, da linhagem Wistar, com peso médio de 230g ± 20g, procedentes do Biotério do Centro Universitário Vila Velha (UVV). Os animais foram dispostos em gaiolas plásticas individuais, com livre acesso à água e alimentação padrão. Aleatoriamente eles foram divididos em 03 (três) grupos. O Grupo teste (Extrato Glicólico de *Aloe vera*) (n= 8), grupo placebo (Propilenoglicol) n= 4 e o grupo controle (lavagem com soro fisiológico) n= 4.

Os animais foram submetidos à anestesia intra-peritoneal com 0,6 mL de tiopental sódico a 0,25% em soro fisiológico como veículo. Logo após, efetuou-se uma epilação por tração manual na parte externa da coxa de cada animal, para posteriormente ter uma melhor visualização da ferida confeccionada.

As feridas foram confeccionadas no dia 09/05/2008 e consistiram em cortes de 0,7cm no centro da área epilada. Os ferimentos foram produzidos com auxílio de um bisturi com lâmina nº24. Logo após, as feridas foram lavadas com soro fisiológico, e o sangue estancado.

Então, deu-se início às aplicações de extrato glicólico de *Aloe vera*, para o grupo teste, e propilenoglicol que funcionou como placebo, em solução aquosa a 50%. Foi efetuada limpeza das feridas diariamente, utilizando soro fisiológico em abundância. As aplicações foram repetidas diariamente, sempre no mesmo horário.

Todos os animais tiveram suas lesões fotografadas diariamente com auxílio de câmera digital Fujifilm, Finepix Z, 10.0 Megapixels, sem aproximação de zoom e mantida em tripé a distancia de 15 cm.

O grupo teste, recebeu uma aplicação diária de 0,5 mL do extrato glicólico de *Aloe vera*. E o grupo placebo recebeu uma aplicação diária de 0,5mL de solução de propilenoglicol a 50%. O grupo como controle não recebeu nenhum tipo de tratamento além da lavagem com soro. Todas as aplicações foram feitas com o auxílio de uma seringa plástica descartável de 1 mL sem agulha, sendo a mesma descartada após cada aplicação. A influência das substâncias testadas pôde ser macroscopicamente comparada por meio da avaliação das fotografias das feridas, registradas diariamente.

Passados seis dias, prazo em que se verificar uma cicatrização expressiva, todas as cobaias foram submetidas à anestesia intra-peritoneal com 0,6 mL de Tiopental Sódico diluído a 0,25% em soro fisiológico, tendo-se efetuado então a biopsia. A cicatriz foi excisada com corte em forma de barca, com margem de 0,5 cm de pele integra em torno da lesão, em profundidade até a fáscia muscular. Cada peça foi identificada individualmente, colocada em formol tamponado e encaminhada ao Laboratório de Histopatologia do Centro Universitário Vila Velha, onde foram confeccionadas as lâminas para avaliação histológica.

A análise microscópica foi feita por meio de fragmentos de pele coletados, fixados em paraformaldeído a 3.5% em solução tampão fosfato, pH 7,6, adicionado de 1% de sacarose, estocada por 12 horas a 4°C, antes do uso. A fixação se processou por 20 horas, após as quais os fragmentos foram desidratados em etanol a concentrações crescentes (água destilada; 50% v/v; 70% v/v; 90% v/v; 100% v/v). O material desidratado foi clarificado em xilol P.A. e banhado duas vezes em parafina, antes de ser definitivamente incluído (Behmer et al., 1976)

Os blocos obtidos foram seccionados em micrótomo, em espessuras de 5 a 6 µm, e as seções foram distendidas

em lâminas de vidro, a fim de serem submetidas à técnica de coloração. Para tanto, as seções, distendidas em lâminas, foram desparafinadas em três banhos sucessivos de xilol P.A., e hidratadas em concentrações decrescentes de etanol (vide acima) até água destilada. Em seguida foi feita a coloração pela técnica da Hematoxilina & Eosina (Lillie & Fullmer, 1976), para análise da morfologia geral da pele, as seções foram coradas por 2 minutos em solução de hematoxilina de Harris e por 30 segundos em solução de eosina Y a 5%; em seguida, foram lavadas, desidratadas e montadas entre lâmina e lamínula com bálsamo do Canadá.

Microfotografias foram obtidas de lâminas de cortes histológicos da área lesada após 06 dias de tratamento. Para a captura das microfotografias foram utilizados os softwares Motic Mccamera 1.1 e Motic Images Plus 2.0ML.

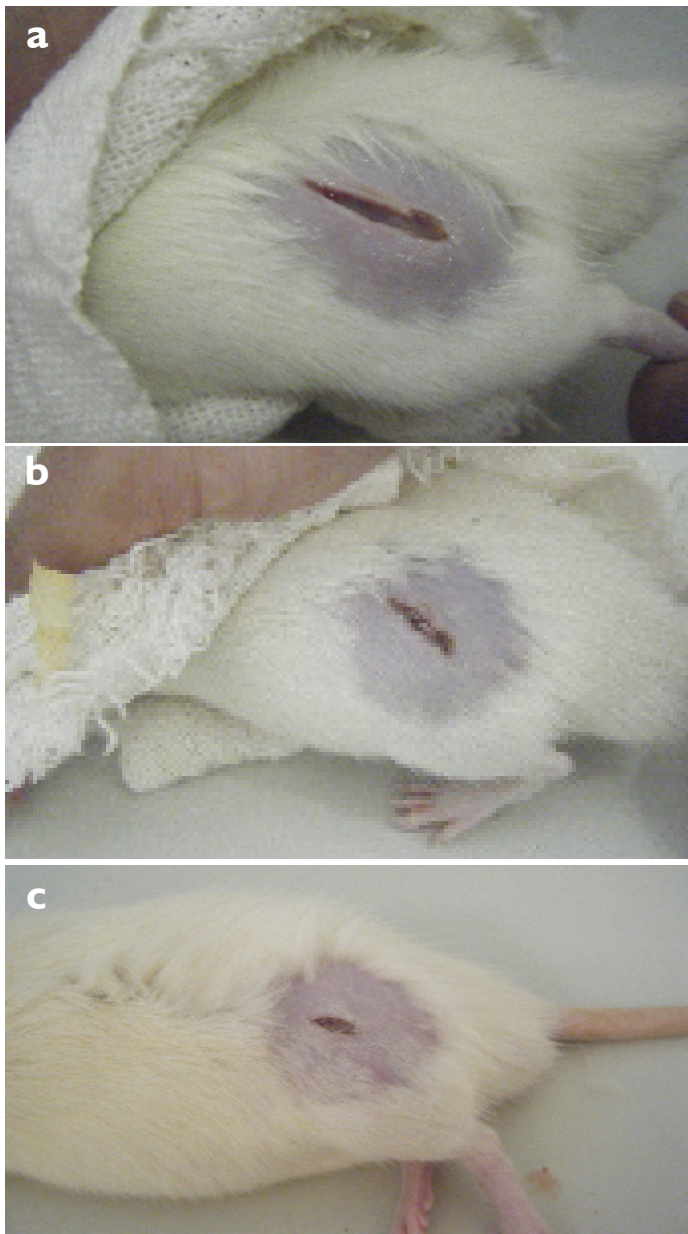


Figura 1 Rato do grupo controle, que recebeu apenas lavagem das feridas com soro fisiológico, em relação ao tempo transcorrido a partir das incisões. **a:** logo após a incisão; **b:** três dias após; **c:** seis dias após.

Resultados e Discussão

O rato da linhagem Wistar foi o animal escolhido devido à facilidade de aquisição e manipulação, tamanho (pequeno porte), acomodação, por ser resistente às agressões cirúrgicas e aos processos infecciosos e com baixa mortalidade (Marchini et al. 1998). Foram utilizados ratos machos, pois, segundo Teves et al. (1986) variações dos ciclos hormonais das fêmeas poderiam interferir no mecanismo do processo de reparação tecidual.

Durante seis dias o processo de cicatrização foi observado e registrado fotograficamente. As Figuras 1 (a, b, c), 2 (a, b, c) e 3 (a, b, c) mostram a evolução macroscópica da cicatrização de pele dos ratos do grupo controle, do grupo placebo e do grupo teste.

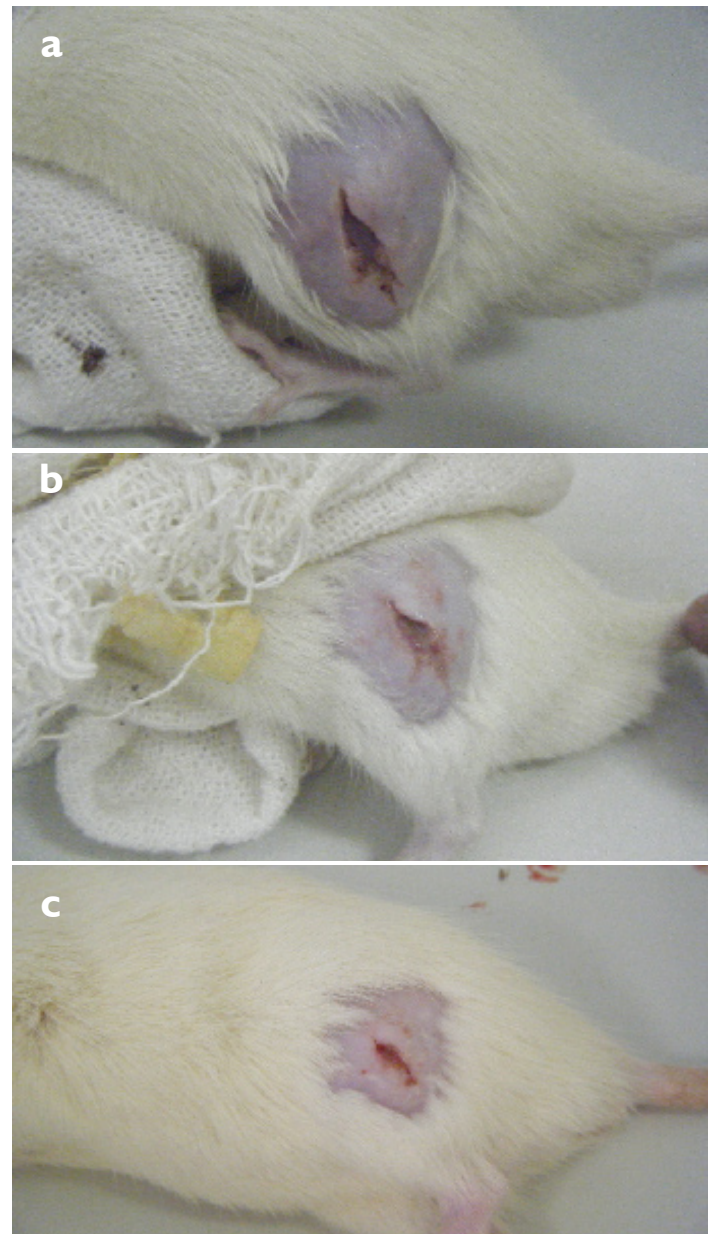


Figura 2 Rato do grupo placebo que recebeu solução aquosa de propilenoglicol a 50% nas feridas em relação ao tempo transcorrido a partir das incisões. **a:** logo após a incisão; **b:** três dias após; **c:** seis dias após.

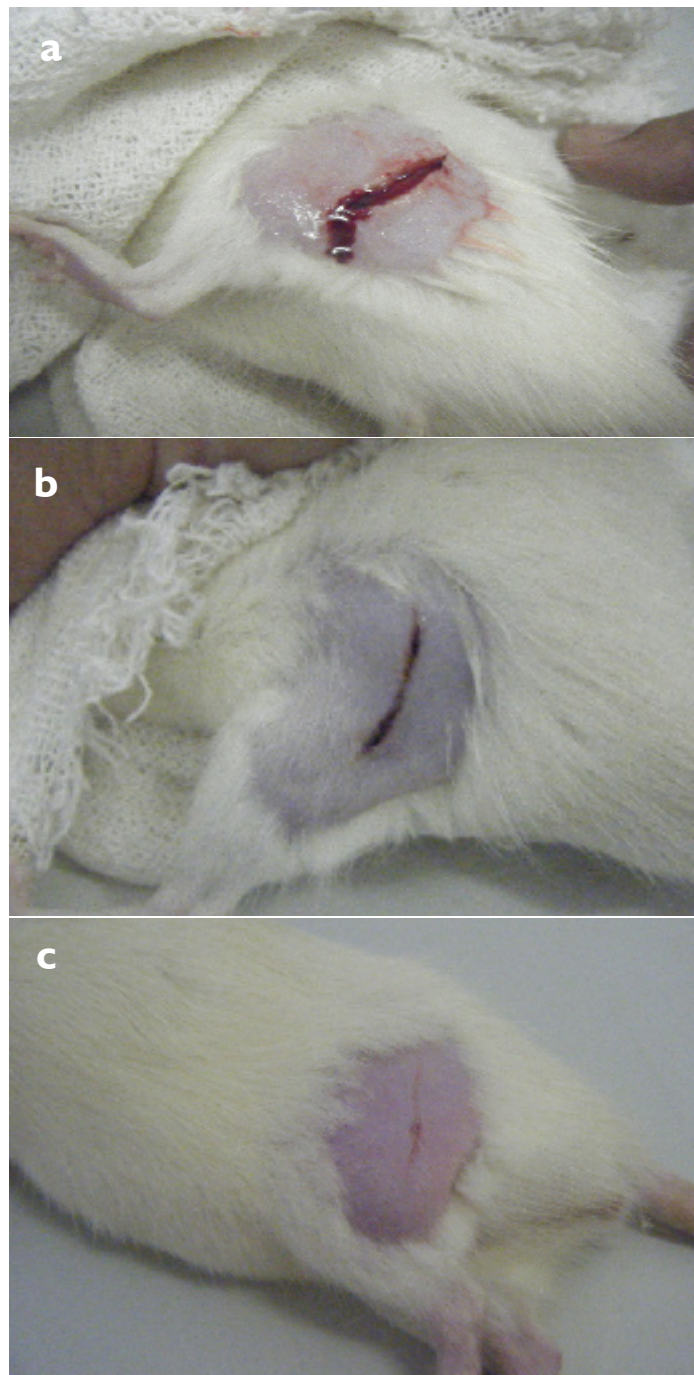


Figura 3 Rato do grupo teste que recebeu extrato glicólico de *Aloe vera* nas feridas em relação ao tempo transcorrido a partir das incisões. **a:** logo após a incisão; **b:** três dias após; **c:** seis dias após.

Assim como nos experimentos de Kiliç (2005), que observou dados clínicos do processo de cicatrização na presença do *Aloe vera*, relatando que este agente produziu uma melhora significativa na cicatrização quando comparado ao controle negativo e positivo, foi possível verificar neste estudo que a regeneração tissular nos ratos do grupo A, foi muito mais significativa quando comparada aos do grupo B ou C.

Os polissacarídeos que integram o parênquima do *Aloe vera* são constituídos por moléculas de manoses ligadas entre si. Quem direciona o fosfato de manose, que se encontra preso em uma das extremidades dos polissacarídeos que

compõem o *Aloe vera*, para o receptor dos fibroblastos é uma proteína presa na outra extremidade da cadeia polissacarídica. Acredita-se ser assim que a produção de colágeno e de proteoglicanos, indispensáveis ao processo de cicatrização, seja induzida pela *Aloe vera* (Davis, 1997).

Por meio da avaliação microscópica dos cortes histológicos pôde-se observar que, comparando a área de cicatrização tratada com extrato glicólico de *Aloe vera* (ratos do grupo A) com aquela tratada apenas com propilenoglicol (ratos do grupo B), a reepitelização e a reestruturação da derme apresentaram-se satisfatórias nos ratos do grupo A (Figuras 4a e 4b), ao contrário do grupo B onde não foi observada reepitelização e ainda restava crosta dificultando o processo cicatricial (Figuras 5a e 5b).

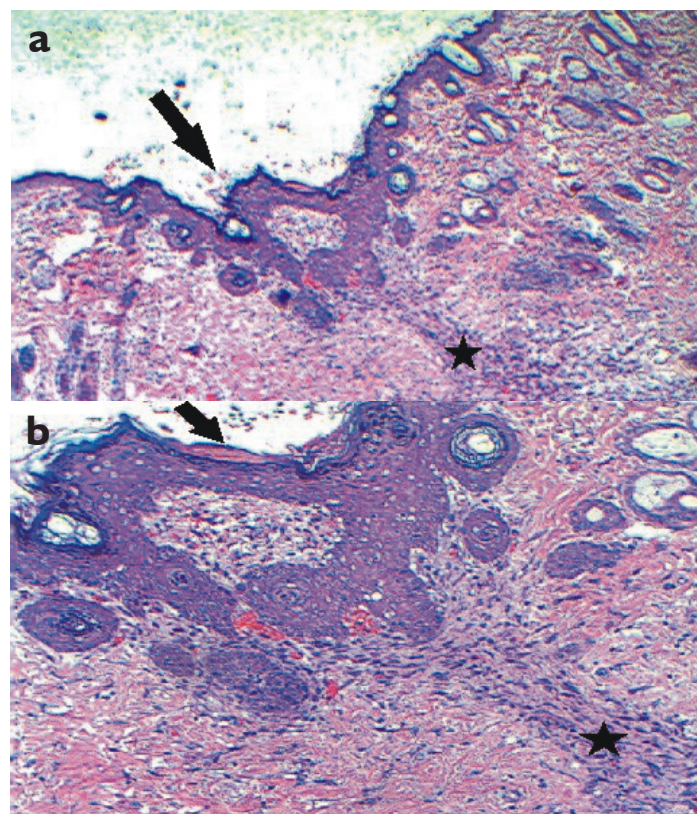


Figura 4 Área cicatricial de pele tratada com extrato glicólico de *Aloe vera*, evidenciando a reepitelização total (seta) e moderado processo inflamatório (estrela). **a:** Objettiva 4x; **b:** 10x.

Os processos de cicatrização tecidual, essenciais para a sobrevivência dos seres vivos, de um modo geral, são fenômenos que podem ser divididos didaticamente em quatro fases: (1) uma fase de Coagulação, de início imediato logo após o trauma, caracterizada pela formação de um tampão hemostático primário (crosta hemato-fibrinosa), formado por plaquetas, ativação dos fatores da coagulação e liberação de mediadores químicos solúveis, responsáveis pelo desencadeamento dos estágios subseqüentes; (2) uma fase inflamatória, responsável por alterações vasculares e influxo de células inflamatórias (polimorfonucleares,

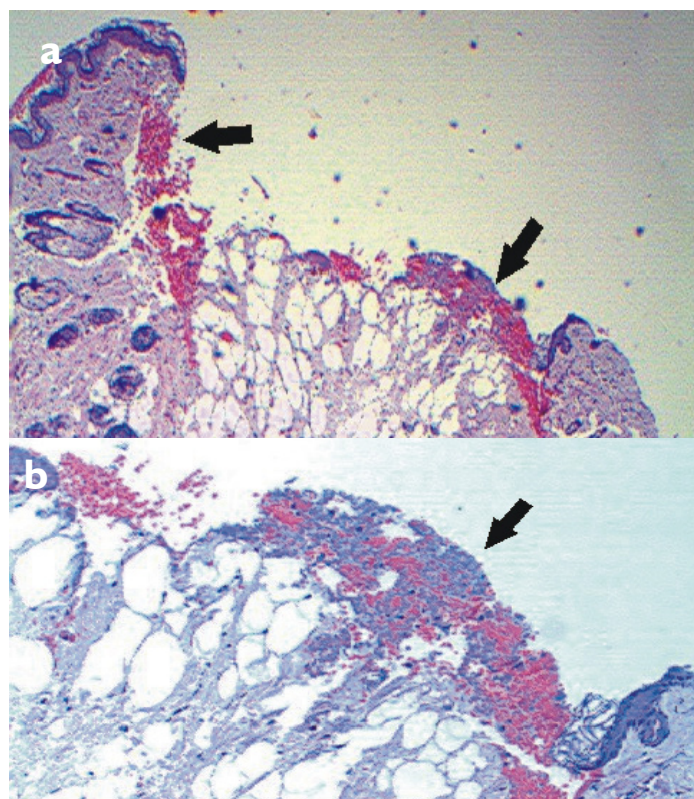


Figura 5 Área cicatricial de pele tratada com solução aquosa de propilenoglicol a 50%, evidenciando a formação de crosta (seta) em lugar do processo inflamatório. **a:** Objetiva 4x; **b:** 10x.

macrófago e linfócito) para o sítio da lesão; (3) uma fase de proliferação, caracterizada pela proliferação de células endoteliais de pequenos vasos sanguíneos (angiogênese), fibroblastos e produção de matriz colágeno, responsáveis pela formação do tecido de granulação, e início da proliferação de células epiteliais das camadas basais; e (4) uma fase reparadora, responsável pela remodelagem tecidual, com a substituição do tecido de granulação por tecido conjuntivo denso, e a recomposição celular da epiderme (Gonçalves & Parizotto, 1998; Balbino et al., 2005; Stevens & Lowe, 2000; Kumar et al.; 2005).

Através da avaliação do efeito da aplicação do extrato glicólico de *Aloe vera* sobre o processo de cicatrização e epitelização de feridas experimentais em pele de ratos, comparado à aplicação do veículo (solução de propilenoglicol) evidenciou-se macroscópica e microscopicamente que o processo de cicatrização foi facilitado pela utilização do fitoterápico, e também foi demonstrado que o veículo testado não apresentou diferenças significativas quando comparado ao grupo controle.

Referências

Balbino CA, Pereira LM & Curi R (2005) Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas** 41: 27-51.

- Behmer AO, Tolosa EMC & Freitas-Neto AG (1976) **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Edar.
- Cotran RS, Kumar V & Collins T (2000) **Robbins: patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Davis RH (1997) **Aloe vera: a scientific approach**. New York: Vantage Press
- Diemunsch AM & Marthis C (1980) Preparation et controle d'extraits végétaux à usage cosmétologique. **Labo-Pharma-Problèmes et Techniques** 294: 55-63.
- Grindlay D & Reynolds T (1986) The *Aloe vera* phenomenon: a review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. **Journal of Ethnopharmacology** 16: 117-151.
- Gonçalves G & Parizotto NA (1998) Fisiologia da reparação cutânea: atuação da fisioterapia. **Revista Brasileira de Fisioterapia** 3: 5-13.
- Wade A & Weller PJ (1994) **Handbook of pharmaceutical excipients**. 2 ed. Washington: American Pharmaceutical Association.
- Kiliç N (2005). The effect of *Aloe vera* gel on experimentally induced peritoneal adhesions in rats. **Revue de Médecine Veterinaire** 156: 409-413.
- Kuzuya H, Tamai I, Beppu H, Shimpo K & Chihara T (2001) Determination of aloenin, barbaloin and isobarbaloin in *Aloe* species by micellar electrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography** 752: 91-97.
- Lillie RD & Fullmer HM (1976) **Histopathologic technique and practical histochemistry**. New York: McGraw-Hill.
- Madis Laboratories. *Aloe vera* L and its products applications and nomenclature. **Cosmetics & Toiletries** 102: 64-65.
- Mandelbaum SH, Di Santis EP & Mandelbaum MH (2003) Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia** 78: 393-410.
- Marchini FB, Martins DMFS, Teves DC & Simões MJ (1998) Efeito do óleo de rosa mosqueta na cicatrização de feridas abertas. **Revista Paulista de Medicina** 106: 356.
- McKeown E (1987) *Aloe vera*. **Cosmetics & Toiletries** 102: 64-65.
- Newall CA, Anderson LA & Phillipson JD (2002) **Plantas medicinais: guia para profissionais de saúde**. São Paulo: Premier.
- Nolla D & Severo BMA (2005) **Plantas medicinais**. Passo Fundo: UPF.
- Reynolds T & Dweck AC (1999) *Aloe vera* leaf gel: a review update. **Journal of Ethnopharmacology** 68: 3-37.
- Kumar V, Abbas AK & Fausto N (2005) **Robbins e Cotran: Patologia – Bases patológicas das doenças**. 7 ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier.
- Schimid R (1991) An old medicinal plant: *Aloe vera*. **Parfümerie und kosmetik** 72: 146-150.
- Steinert J, Khalaj S & Rimpler M (1996) High-performance liquid chromatographic separation of some naturally occurring naphthoquinones and anthraquinones. **Journal of Chromatography A** 723: 206-209.
- Stevens A & Lowe J (2000) Respostas teciduais ao dano. In: **Patologia**. 2 ed. São Paulo: Manole, p. 35-50.
- Teves DC, Cabral ACV, Simões MJ & Kulay JRL (1986) Biologia das reparações teciduais. **Jornal Brasileiro de Medicina** 50: 39-44.
- Trolles R (1999) Babosa. **Ecologia e Desenvolvimento** 9:54-55.