

## Efeitos do ultra-som associado ao *Stryphnodendron pollyphyllum* M em lesão cirúrgica em ratos

### *Effects of the ultrasound associated to Stryphnodendron pollyphyllum M in chirurgical lesion in rats*

Célio Marcos dos Reis Ferreira<sup>1</sup>; Vitória Regina Moraes Cardoso<sup>2</sup>  
Thiago Henrique Ferreira Vasconcellos<sup>3</sup>; Dulcinéa Gonçalves Teixeira<sup>4</sup>  
Norberto Cysne Coimbra<sup>5</sup>; Lucélio Bernardes Couto<sup>6</sup>

1. Professor doutor do curso de Fisioterapia do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, Faculdade de Ciências da Saúde-FACISA.
2. Graduanda em Fisioterapia pelo Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM.
3. Graduando em Psicologia pelo Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM.
4. Professora doutora dos cursos de Fisioterapia e Psicologia do UNIPAM, Faculdade de Ciências da Saúde-FACISA.
5. Professor doutor do Departamento de Farmacologia da Universidade de Ribeirão Preto-USP, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-FMRP.
6. Professor doutor do Departamento de Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto-UNAERP

---

**Resumo:** O trabalho mostrou a eficácia da associação da tintura de *Stryphnodendron pollyphyllum* M (Mimosidae) com o ultra-som (US), no reparo de lesões induzidas cirurgicamente na região ântero-lateral do abdome de ratos. Os animais foram divididos em 4 grupos: I) controle, sem nenhum tratamento; II) aplicação diária de pomada de barbatimão contendo 3% de fenóis totais obtidos a partir da tintura de *S. pollyphyllum* M; III) aplicação diária do US (1MHz, 0,5 w/cm<sup>2</sup>, pulsado a 20%, durante 5 minutos); e IV) associação concomitante de pomada e US (fonoforese). Nos períodos de 1, 3, 7 e 14 dias de tratamento, 3 animais de cada grupo foram sacrificados e foi retirada cirurgicamente amostra do tecido lesado para análise histopatológica. Os resultados sugerem uma ausência de significância na redução da área da lesão  $p > 0,05$ ; as análises histopatológicas demonstraram que procedimentos com fonoforese apresentam efeito anti-inflamatório e proliferativo no reparo tecidual.

**Palavras-chave:** Ultrassom. Gonoforese. *Stryphnodendron pollyphyllum* M. Barbatimão. Reparo tecidual.

**Abstract:** The present work aimed at evaluating the effectiveness of the concomitant association of the dye of *Stryphnodendron pollyphyllum* M (Mimosidae) with the therapeutic ultrasound (US), a process called phonophoresis, in the repair of induced injuries chirurgical in the region lateral of abdomen of rats. The animals have been divided in 4 groups: I) control group, without treatment; II) daily application of pomade of *S. pollyphyllum* M I containing 3% of total phenols taken from the dye of *S. pollyphyllum* M; III) daily application of US pulsed 1:4 (frequency of

1,0 MHz, intensity of 0,5 W/cm<sup>2</sup>, during 5 minutes); and IV) concomitant association of pomade and US (phonophoresis). In the periods of 1, 3, 7 and 14 days of treatment, 3 animals of each group have been sacrificed and a sample of the fabric injured was taken chirurgically for histopathologic analysis. The histopathologic results demonstrate that an absence of significance in the reduction of the lesion are  $p > 0,05$ ; the histopathologic analyses demonstrated that the procedures with phonophoresis presented anti-inflammatory and proliferative effect in the tissue repair, reducing its time, when compared with the treatments separately.

**Keywords:** Ultrasound. Phonophoresis. *Stryphnodendron pollyphyllum* M. Barbatimão. Tissue repair.

---

## 1. Introdução

O *Stryphnodendron pollyphyllum* (Martius) Coville (Mimosidae), comumente conhecido como barbatimão, é uma planta medicinal, encontrada nos cerrados brasileiros. Conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (1959), a casca da planta possui tanino que apresenta uma valiosa atividade farmacológica em ratos, como ações inflamatórias (LIMA, 1998), cicatrizantes em ferida dérmica (PANIZZA, 1998) e úlcera duodenal (RIZZINI, 1976). O referido princípio ativo também auxilia no tratamento de eczema, com a vantagem de não gerar efeitos colaterais observados comumente nas terapias em uso de altas doses de glicocorticoides (MROWIETZ; TERNOWITZ, WIEDOW, 1991). Vários estudos têm investigado a composição de tanino em 3 espécies de barbatimão, *S. pollyphyllum*, *S. adstringens* e *Dimorphandra mollis* (SANTOS, 2002) sendo estes avaliados farmacologicamente (MELLO; PETEREIT; NAHRSTEDT, 1996a e 1996b).

O ultrassom terapêutico (US) é um método amplamente utilizado para acelerar o processo de reparo tecidual, sendo sua atuação decorrente dos efeitos mecânicos (térmicos e atérmicos) gerados pelas ondas ultrassônicas sobre os tecidos lesados. Relaciona-se também ao aumento do coeficiente de difusão do estrato córneo para moléculas hidrofóbicas de baixo e alto peso molecular (MITRAGOTRI, 2001), podendo ser aplicado conjuntamente com facilitadores químicos (TEZEL *et al.*, 2002), potencializando a absorção de diversos fármacos, sendo este processo chamado de fonoforese.

Desta forma, um maior número de estudos se torna necessário para conhecer melhor as interações físicas do ultrassom, bem como estabilizar princípios e modelos farmacêuticos (MEIDAN *et al.*, 1995) e investigar, *in vivo*, a tolerância e o transporte transdermal (administração de princípios ativos por meio da pele para a distribuição sistêmica) (MATCHED; BOUCAUD, 2002).

Portanto, o objetivo do trabalho é avaliar as possíveis alterações histológicas no reparo em lesões induzidas cirurgicamente em ratos pela administração associada de pomada de barbatimão (com concentração a 3% de fenóis totais) e ultrassom em fonoforese.

## 2. Material e método

### 2.1. Animais

Para o estudo experimental foram utilizados ratos albinos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) machos, pesando aproximadamente 180 a 200g, originários do Biotério Central do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM).

Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas de 50cm x 30cm (4 animais por gaiola), sob condições ideais de temperatura (22-23°C) e no ciclo claro/escuro 12/12 horas (luzes ligadas às 18h30min horas). Durante toda a experimentação tiveram livre acesso à ração para roedores (Nuvilab®) e água a vontade.

## **2.2. Lesão cirúrgica**

Após anestesia com pentobarbital sódico (40mg/kg) foi realizada depilação e lesão cirúrgica com *punch* metálico de 2,0 cm de diâmetro na região ântero-lateral do abdome dos animais.

## **2.3 Preparação e administração da pomada de *S. pollyphyllum* M.**

A preparação e análise dos fenóis totais da pomada de *S. pollyphyllum* M foi realizada pelo Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto. A pomada de barbatimão foi preparada à base de Carbowax® em várias combinações (750g de Carbowax® 400; 1875,5g de Carbowax® 1500 e 187,5g de Carbowax® 4000), 187,5g de propilenoglicol, 187,5 g de água destilada e pó de barbatimão, na concentração de 3% de fenóis totais.

O pó da planta foi obtido a partir da secagem da tintura na estufa à temperatura de 60°C. Utilizaram-se 200g de cascas, maceradas durante 15 dias em uma mistura com álcool de cereais: água (2:1) filtrada após a maceração e o volume obtido completado para 1,0 litro, a mesma foi levada em rotaevaporador sob vácuo à temperatura  $\leq 60^\circ\text{C}$ . A determinação de tanino obedeceu o preconizado em 1970 pela *Association Of Official Analytical Chemical* (AOAC) (TEIXEIRA; SOARES; SCOLFORO, 1990).

Já a administração diária de 1,25g de pomada de barbatimão foi feita a 3%, por cm<sup>2</sup> de área de lesão em cada rato, e na mesma quantidade associada com o ultrassom terapêutico (fonoforese).

## **2.4. Ultrassom terapêutico (US)**

O US (1MHz, pulsado 1/5 (20%), intensidade de 0,5 W/cm<sup>2</sup>) foi empregado durante 5 minutos diariamente; já na fonoforese utilizou-se a técnica indireta luva (luva posicionada entre a lesão cirúrgica e o cabeçote do ultrassom) contendo 200 ml de água destilada e aplicados 2,5 ml de gel em contato com o transdutor do ultrassom terapêutico. Em se tratando do contato com a ferida, aplicaram-se 2,5g da pomada base sem o pó de barbatimão ou com 2,5g da pomada de barbatimão a 3% de fenóis totais.

## **2.5. Avaliação experimental**

Decorridas 24 horas, os animais foram divididos em 4 grupos (n=48) e submetidos à avaliação experimental: I) grupo controle (submetido a cirurgia sem que os animais fossem tratados com as técnicas propostas); II) aplicação diária de pomada de barbatimão a 3% de fenóis totais; 3) aplicação diária do ultrassom; 4) aplicação diária do ultrassom associado a pomada de barbatimão a 3% (fonoforese).

## **2.6. Análise histopatológica**

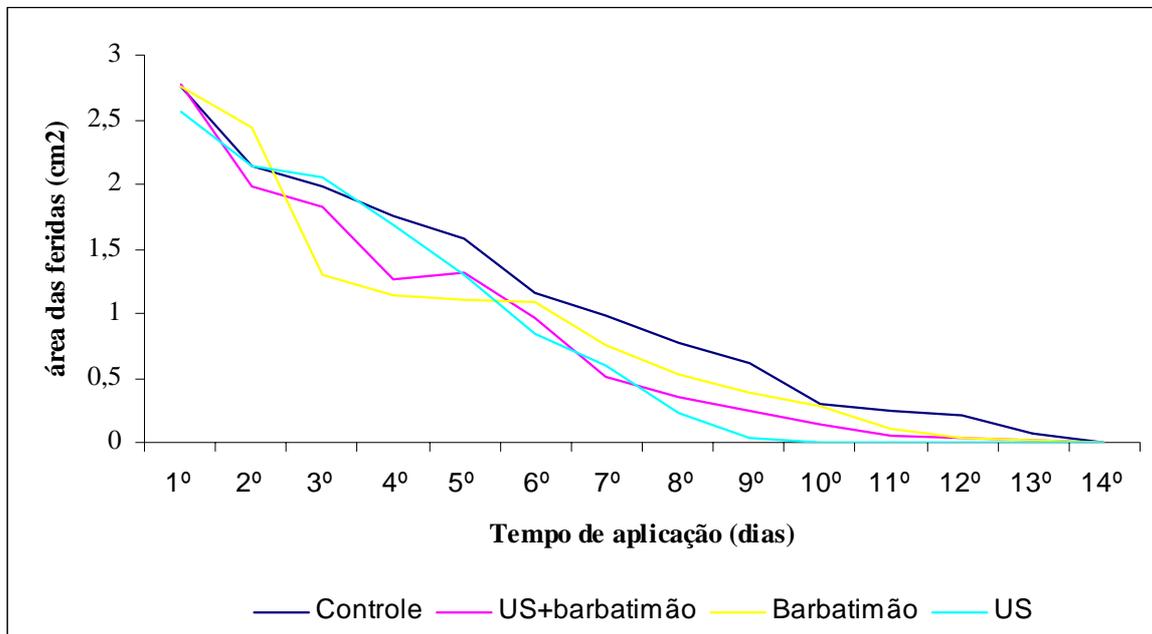
O experimento foi realizado durante 14 dias, sendo que 3 ratos de cada grupo foram sacrificados por inalação de éter etílico em 4 tempos (1, 3, 7 e 14 dias da aplica-

ção), retirada a lesão e armazenada em formalina tamponada a 10%.

As lâminas para análise histopatológica das amostras foram realizadas no Laboratório de Patologia da Beneficência Portuguesa e analisadas nas dependências da Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto, levando em consideração os dados obtidos comparados com o grupo controle (Grupo I).

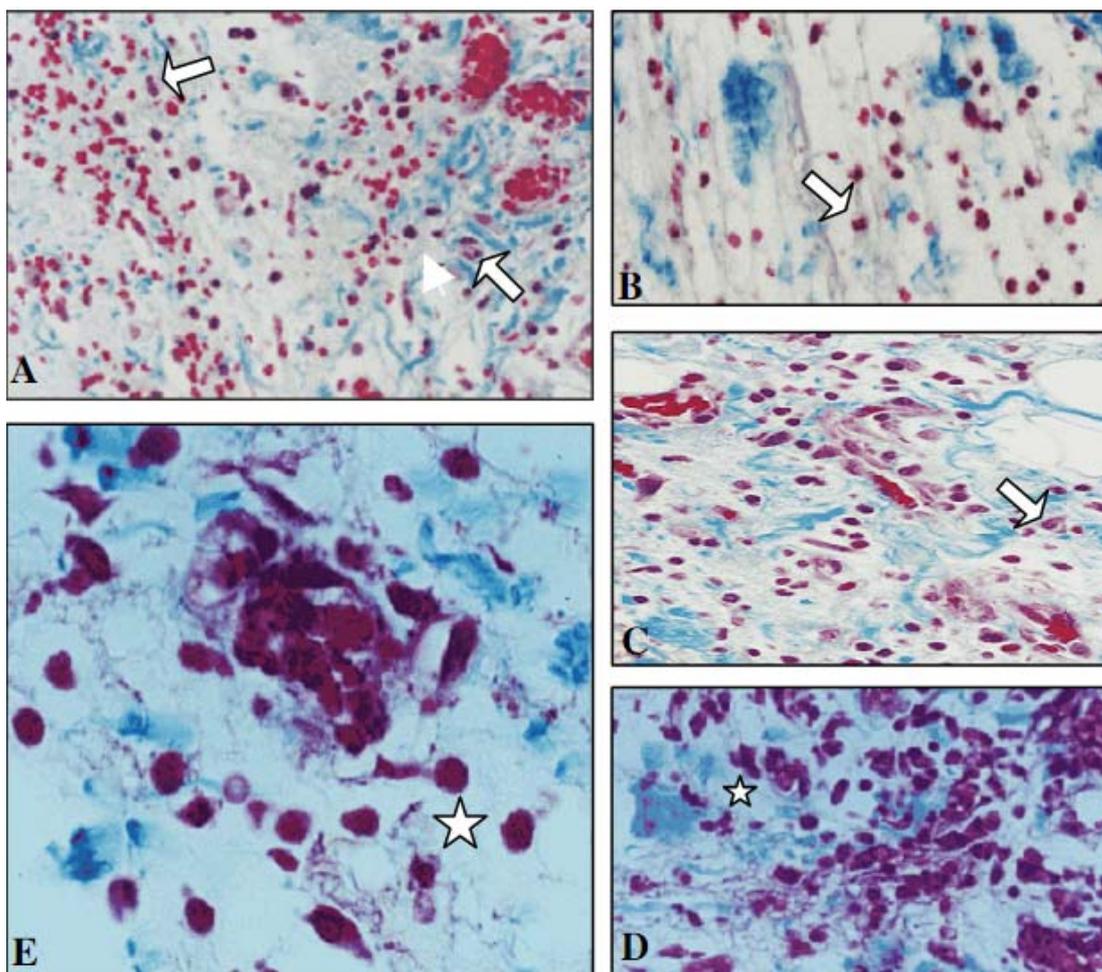
### 3. Resultados

Os testes de *Anova* e *post hoc duncan* mostraram uma ausência de significância no processo cicatricial da área da lesão no decorrer dos 14 dias de experimento entre os diferentes grupos tratados, como também observado em relação ao grupo controle ( $p>0,05$ ). (Ver gráfico 1). Mesmo não havendo uma diferença estatística, podemos observar uma melhora no reparo tecidual em relação ao tempo, quando comparamos com o grupo controle.



**Gráfico 1:** Relação entre a área da lesão com os dias de tratamentos, grupos tratados e a especificidade do controle, nível de significância ( $p>0,05$ ).

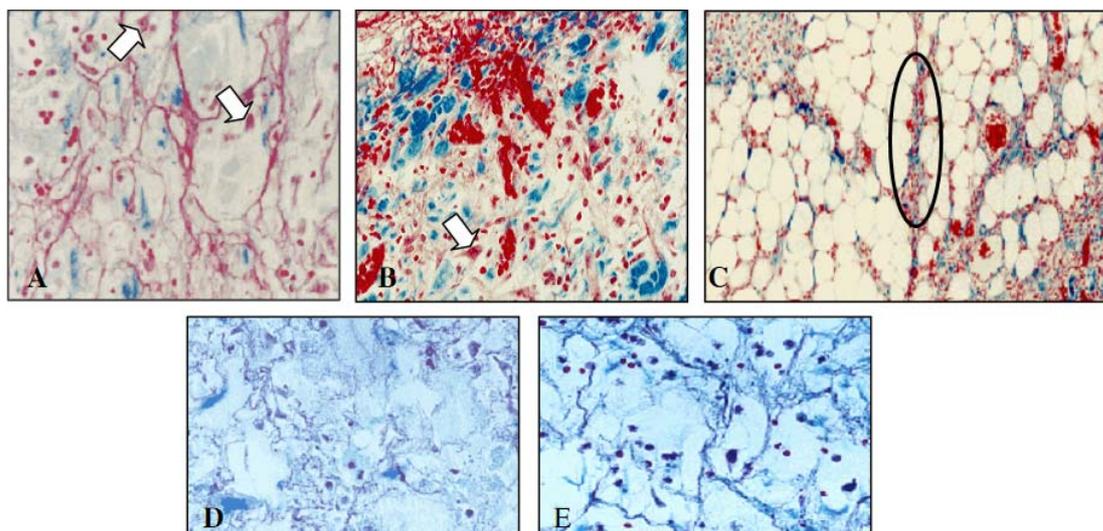
Após 1 dia de tratamento foi observado no grupo I - (controle) sem nenhum tratamento (Fig. 1A), II - grupo tratado com pomada de barbatimão (Fig. 1B) e III - grupo tratado com ultra-som (Fig. 1C), um grande aumento de fibras colágenas de tecido conjuntivo, congestão ativa com grande extravasamento de hemácia e leve aumento na quantidade de leucócitos. No grupo IV - grupo tratado com fonoforese associado com pomada de barbatimão (fig. 1D), o edema persistiu e pode ser visto em maior aumento (Fig. 1E).



**Figura 1:** Fotomicrografia do estrato dérmico da parede ântero-lateral do abdome de rato (1 dia). A - evidenciando no animal controle, edema com dissociação de fibras colágenas (cabeça de seta) e a presença de leucócitos (seta branca): assim como acontece nos animais com barbati-mão (B), com o uso do ultrassom (C) e na fonoforese (D e E). [Tricômio de Gomori: A-400x; C-400x; D-400x; E-100x e F-400x]

Com 3 dias de tratamento observou-se ainda no grupo I a presença de fibroblas-tos jovens e uma leve diminuição do edema (Fig. 2A). No grupo II ocorreu o aumento de fibroblastos jovens (células de formato piramidal) e edema persistente (Fig. 2B).

Visualizado em maior aumento, nota-se a presença de traves de fibroblastos jovens entremeados pelo tecido adiposo (Fig. 2C), resultados estes semelhantes ao gru-po III (Fig. 2D). No grupo IV, o início do processo de reparação é evidente, observan-do-se uma diminuição da atividade leucocitária e do edema, um aumento de tecido conjuntivo com fibroblastos jovens, mas sem formação, ainda, de novas fibras coláge-nas. (Fig. 2E).



**Figura 2:** Fotomicrografia do estrato dérmico da parede ântero-lateral do abdome de rato em 3 dias de tratamento: A - mostrando nos animais controle presença de fibroblastos jovens (setas brancas) e diminuição do edema. B - no grupo com barbatimão aumenta quantidade de fibroblastos jovens e o edema persiste; com um aumento maior, observa-se a presença de traves de fibroblastos jovens (elipse) entremeados pelo tecido adiposo, assim como acontece no grupo com ultrassom (D). Na fonoforese (E), há diminuição de leucócitos e do edema, aumento de fibroblastos jovens, mas sem formação de novas fibras colágenas [Tricômio de Gomori: A e B-100x; C, D e E - 400x]

Aos 7 dias de tratamento, a reparação do tecido no grupo I apresentou poucas fibras colágenas (Fig. 3A), mas no grupo II o depósito de colágeno (colageinização) estava evidente, e também originou-se a reação gigante-celular de corpo estranho (Fig. 3B), que reúne células gigantes multinucleadas (histiócitos e macrófagos) envolvidas por fibras colágenas, além da neovascularização.

No grupo III foram encontrados fibroblastos, proporcionando um tecido de sustentação provisório (Fig. 3C), enquanto que no grupo IV a fonoforese favoreceu a formação de tecido conjuntivo colágeno que se apresentou diminuta na superfície da pele para iniciar o processo de formação dérmica e a regeneração de células epiteliais (Fig. 3D).

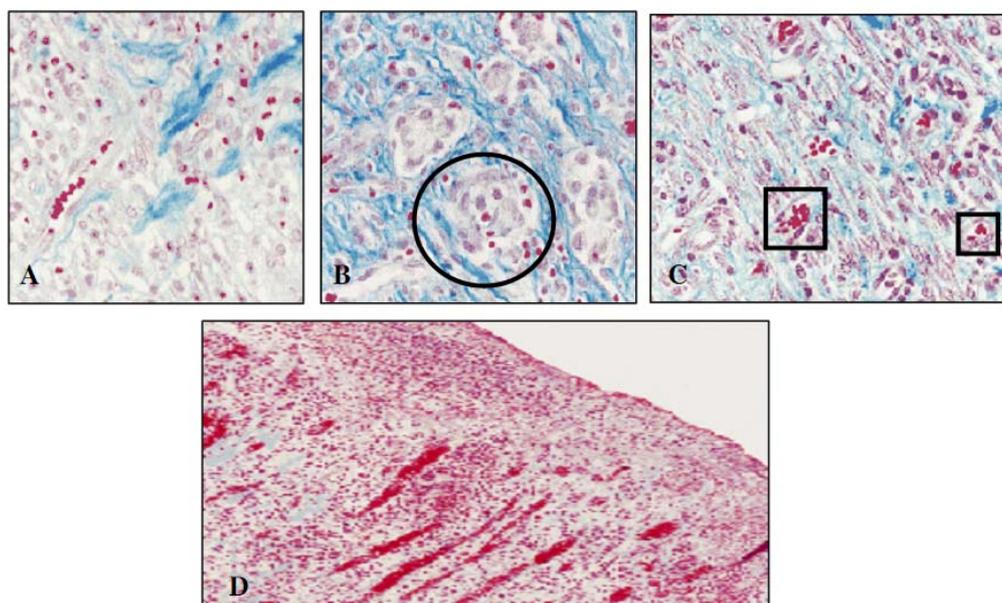
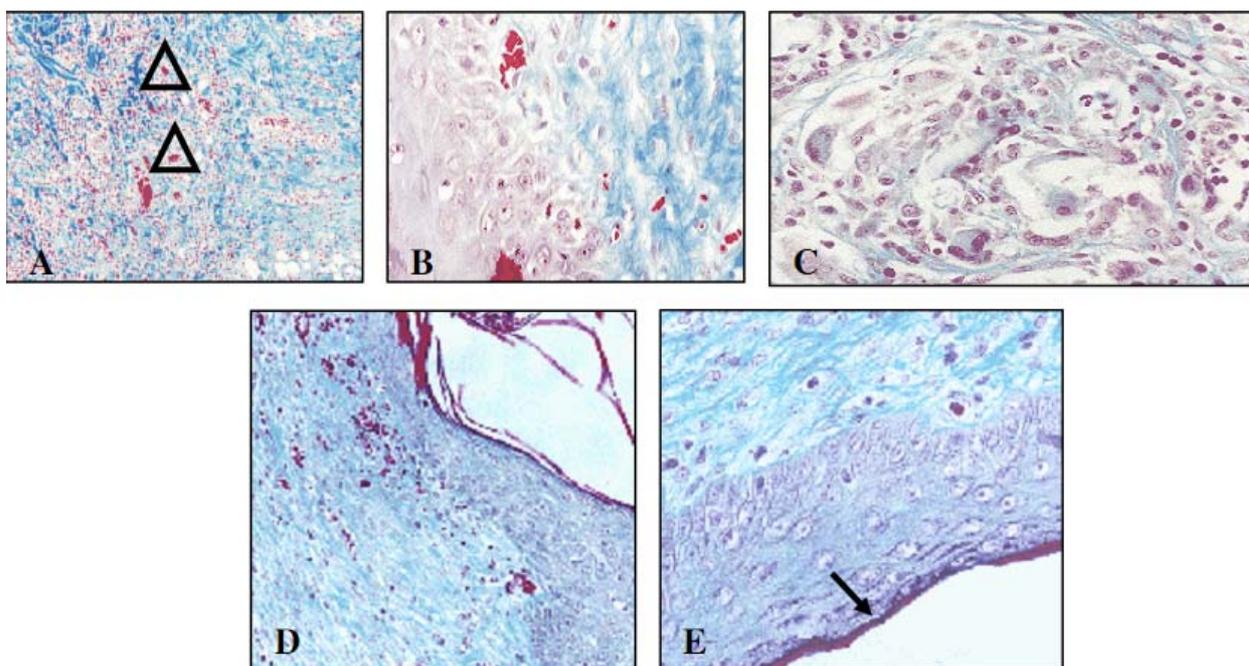


Fig. 3 (página anterior) – Fotomicrografia do estrato dérmico da parede ântero-lateral do abdome de rato após 7 dias de tratamento: A – no grupo controle, observa-se poucas fibras colágenas, mas no grupo com barbatimão (B) há colageinização e reação giganto-celular de corpo estranho (círculo). C – No grupo com aplicação de ultrassom há formação de tecido de sustentação provisório (quadrado). D – na fonoforese há diminuição de colágeno na superfície (setas pretas) para iniciar a formação dérmica de células epiteliais [Tricômio de Gomori: A, B e C-100x; D-400x].

Com 15 dias de tratamento evidencia-se no grupo I a presença do colágeno e neovascularização (Fig. 4A), mas no grupo II, o efeito do barbatimão acelerou o processo de cicatrização, caracterizado pela distribuição homogênea do tecido conjuntivo colágeno próximo à camada basal e pela presença da reação giganto-celular (Fig. 4B e 4C).

Contudo, não se pode deixar de ressaltar que o ultrassom (Grupo III) estimulou a formação do estrato basal até o estrato granuloso (Fig. 4D e 4D), e no grupo IV a cicatrização se completou com a formação do estrato córneo da epiderme, com poucos vasos sanguíneos e colágeno denso (Fig. 4E).



**Figura 4:** Fotomicrografia do estrato dérmico da parede ântero-lateral do abdome de rato após 14 dias de tratamento: A – no grupo controle observa-se a presença de colágeno e neovascularização (triângulo), mas no grupo com barbatimão (B e C) ocorre distribuição homogênea do tecido conjuntivo próximo à camada basal e a presença da reação giganto-celular. D – no grupo com utilização do ultrassom estimula-se a formação do estrato basal até o estrato granuloso. E – na fonoforese a cicatrização se completa com formação do estrato córneo da epiderme (seta preta), com poucos vasos sanguíneos e o colágeno denso [Tricômio de Gomori: A-100x; B, C, D, E - 400x]

#### 4. Discussão

A fitoterapia é uma fonte promissora de princípios farmacologicamente ativos para o tratamento dos distúrbios da pele e feridas, sendo utilizado um terço da medicina tradicional com extratos de plantas medicinais comparadas com 1 a 3% das drogas modernas (MANTLE, 2001).

O *S. pollyphyllum* M., conhecido como barbatimão, possui como princípio ativo o tanino, com propriedades adstringentes. Os mesmos são fenóis solúveis em água, que formam complexos com proteínas e polissacarídeos, formando camadas protetoras acima da pele ou mucosas danificadas, permitindo a ocorrência do processo natural do reparo (HASLAM, 1996).

Por meio deste trabalho, observou-se que o barbatimão apresentou uma atividade anti-inflamatória, aumento da quantidade de colágenos e neovascularização, acelerando o processo de reparo tecidual, o que confirma a consideração de Panniza *et al.* (1988) que recomenda o uso tópico do decocto da casca da planta como cicatrizante em feridas e processos ulcerativos.

A presença da reação gigante-celular de corpo estranho nos grupos onde está presente o barbatimão é uma característica normal que sempre está presente nos processos de cicatrização.

O ultrassom de baixa intensidade tem sido utilizado no tratamento de feridas agudas ou crônicas para aumentar o processo reparativo (KITCHEN; PARTRIDGE, 1990). Byl *et al.* (1992) estudaram a aceleração do reparo tecidual em modelos animais com feridas cirúrgicas, constando que o ultra-som de baixa intensidade promoveu aumento da força tênsil, de depósito de colágeno, redução do tamanho de ferida e degranulação de mastócitos.

Dyson e Luke (1986) consideram que a degranulação dos mastócitos pelo ultrassom induzem a inflamação, permitindo uma resposta fisiológica necessária para acelerar a cicatrização da ferida, o que confirma os resultados apresentados na histopatologia dos grupos tratados com ultrassom, que apresentaram uma maior atividade inflamatória quando comparados com a fonoforese.

O ultrassom terapêutico, principalmente em frequência mais baixa (1 MHz), é mais efetivo para induzir o efeito cavitacional, o qual aumenta a permeabilidade de drogas através do estrato dérmico (MITRAGOTRI, 2001), além de ter que controlar a intensidade, frequência, modo, assim como o aquecimento ultrassônico na pele, o qual é influenciado pelo movimento do transdutor, local anatômico e a quantidade e veículo/meio de acoplamento (MEIDAN; WALMSLEY; IRWIN, 1995).

Portanto, nesse trabalho utilizamos o ultrassom de baixa intensidade (1MHz, intensidade de 0,5 W/cm<sup>2</sup>, pulsado, por 5 minutos, diariamente) e o seu efeito fonorético associado com o *S. pollyphyllum* M. na reparação tecidual em lesões induzidas cirurgicamente na região ântero-lateral do abdome em ratos. A pomada de barbatimão a 3% foi escolhida por permitir um melhor acoplamento da luva contendo água destilada, e consequentemente do transdutor na pele do rato, por apresentar também homogeneidade e viscosidade necessárias de fácil aplicação, com características hipoalergênica e não comedogênica.

Para Mitragotri (2001) o US (1MHz) aumenta o transporte transdermal de drogas através do efeito do coeficiente de difusão em até 15 vezes, assim como proteínas de alto peso molecular (JOSHI; JAIDEEP, 2002). Portanto a permeabilidade do tecido pelo ultrassom de baixa intensidade possibilitaria a penetração do princípio ativo do *Stryphnodendron pollyphyllum* M., tanino, fenóis de alto peso molecular, no tecido lesado e consequentemente o aumento do processo de reparação.

## **Conclusão**

O trabalho histológico demonstrou potencialização do processo da reparação tecidual, cerca de 3 a 5 dias, através da fonoforese *S. pollyphyllum* M no tecido lesado. Portanto há necessidade de novos estudos para comprovar a permeabilidade do fitoterápico na pele e a adesão da energia ultrassônica pela forma farmacêutica através da pomada.

## **Agradecimentos**

Agradecemos a Prof. Dr. João Carlos Nunes de Oliveira, do Curso de Ciências Farmacêuticas da UNAERP (Universidade de Ribeirão Preto), pela preparação e análise da dosagem de fenóis totais da pomada de barbatimão.

## **Referências**

BYL, N. N., *et al.* Low dose ultrasound effects on wound healing: a controlled study with Yucatan pigs. *Arch Phys Med Rehabil.* 73: 656. 1992.

FARMACOPÉIA Brasileira. 2 ed. São Paulo: Siqueira, 126. 1959.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. *J. Nat. Prod.* 59, 205-215. 1996.

JOSHI, A.; JAIDEEP, R. Sonicated transdermal drug transport. *Journal of Controlled Release* 83, 13-22. 2002.

KITCHEN, S.S.; PARTRIDGE, C.J. A review of therapeutic ultrasound: II. The efficacy of ultrasound. *Physiotherapy* 76, 595. 1990.

LIMA, J.C.S; MARTINS, D.T.O; SOUZA, P.T. Jr. Experimental evaluation of stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville for anti-inflammatory activity. *Phytotherapy Research* 12, 218-220. 1998.

MATCHET, L.; BOUCAUD, A. Phonophoresis: efficiency, mechanisms and skin tolerance. *International Journal of Pharmaceutics* 243, 1-15. 2002.

MEIDAN, V.M.; WALMSLEY, A.; IRWIN, W.J. Phonophoresis - is it a reality? *International Journal of Pharmaceutics* 118, 129-149. 1995.

MELLO, J.C.P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Prorobinetinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry* 42, 857-862, 1996a

MELLO, J.C.P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Flavan-3-ols and Prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry* 41, 807-813, 1996b

MITRAGOTRI, S. Effect of therapeutic ultrasound on partition and diffusion coefficients in human stratum corneum. *Journal Controlled Release* 71, 23-29. 2001.

MROWIETZ, U.; TERNOWITZ, T.; WIEDOW, O. Selective inactivation of human neutrophil elastase by synthetic tannin. *Journal of Investigation Dermatology* 97, 529-533. 1991.

PANIZZA, S.; ROCHA, A.B.; GECCHI, R.; SILVA, R.A.P.S. *Stryphnodendron barbadetiman* (Vellozo) Martius: teor em tanino na casca e sua propriedade cicatrizante. *Revista Ciência Farmacêutica* 10, 101-106. 1988.

RIZZINI, C.T.; MORS, W.B. *Botânica Econômica Brasileira*. São Paulo: Edusp, 207. 1976.

SANTOS, S.C.; COSTA, W.F.; RIBEIRO, J.P.; GUIMARÃES, D.O.; FERRI, P.H.; FERREIRA, H.D.; SERAPHIN, J.C., Tannin composition of barbatimao species. *Fitoterapia* 73, 292-299. 2002.

TEIXEIRA, M.L.; SOARES, A.R.; SCOLFORO, J.R. Variação do teor de tanino da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) em 10 locais de Minas Gerais. *Ciência Prática de Lavras*, 14(2), 229-232. 1990.

TEZEL, A.; SENS, A.; TUCHSCHERE, J.; MITRAGOTRI, S. Synergistic effect of low-frequency ultrasound and surfactants on skin permeability. *Journal Pharmaceutic Science* 91, 91-100. 2002.