Efeitos da andiroba associada ao microagulhamento na pele de ratos

Effects of Carapa guyanensis associated to microneedling in mice skin

DOI: http://www.dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.20181041279

RESUMO

Introdução: O microagulhamento é uma técnica utilizada para o tratamento de cicatrizes e apresenta cada vez mais destaque na Dermatologia. Nesse contexto, em associação com o microagulhamento, drogas e ativos podem ser administrados por meio da técnica conhecida como drug delivery. Destaca-se o uso da vitamina C, por sua já comprovada ação antioxidante. Outro exemplo é a andiroba *(Carapa guianensis Aubl.),* por suas propriedades anti-inflamatória, analgésica, antisséptica e cicatrizante.

Objetivo: Avaliar os efeitos da andiroba associada ao microagulhamento.

Métodos: Foram utilizados 31 ratos machos distribuídos em cinco grupos: GPi (piloto), com três animais; GM (microagulhamento); GMA (microagulhamento + andiroba); GMV (microagulhamento + vitamina C); e GOM (microagulhamento + óleo mineral), com sete animais em cada grupo. Os animais foram submetidos à técnica do microagulhamento no D0 (dia 0) e à aplicação da substância do seu respectivo grupo, na pele, pela manhã, durante sete dias.

Resultados: Houve diferença significativa entre a intensidade de proliferação fibroblástica e a vascularização observadas no tecido dos animais dos grupos GM e GMV. Já a intensidade de fibras colágenas foi superior nos animais do grupo GMV. Conclusões: O óleo de andiroba como drug delivery obteve resultados inferiores à vitamina C.

Palavras-Chave: Ácido ascórbico; Colágeno; Ratos

ABSTRACT

Introduction*: Microneedling is a technique used to treat scars with increasing popularity in dermatology. In this context, associated to micro-needling, drugs and active substances can be administered through the technique known as drug delivery. We highlight the use of vitamin C, due to its known antioxidant properties. Another example is Carapa guianensis Aubl., due to its anti-inflammatory, analgesic, antiseptic and healing properties.*

Objective*: To evaluate the effects of Carapa guyanensis associated to microneedling.*

Methods*: Thirty-one male mice, distributed into five groups, were used: GPi (pilot), with three animals; GM (micro-needling); GMA (micro-needling + Carapa guyanensis); GMV (microneedling + vitamin C); and GOM (microneedling + mineral oil), with seven animals in each group. The animals were submitted to the microneedling technique on D0 (day 0) and to the application of the substance of its respective group in the skin, in the morning for seven days.*

Results*: There was a significant difference between the expression of fibroblast proliferation and vascularization observed in the tissue of animals in groups GM and GMV. The expression of collagen fibers was superior in animals in the GMV group.*

Conclusions: *Carapa guyanensis oil had inferior results as drug delivery when compared to vitamin C.*

Keywords: *Ascorbic acid; Collagen; Rats*

INTRODUÇÃO

O microagulhamento é uma técnica utilizada para o tratamento de cicatrizes, que vem apresentando cada vez mais destaque na Dermatologia.[1] Consiste em utilizar um cilindro agulhado de polietileno contendo microagulhas de aço inoxidável, estéreis, com comprimento entre 0,25mm a 2,5mm, que é aplicado sobre a pele, realizando de 10 a 15 repetições, sendo, portanto, responsável por 250 a 300 micropunturas por cm^2.[2]

A partir dessas múltiplas micropunturas, ocorrem micro-hematomas na derme, que estimulam a liberação de cito-

Artigo Original

Autores:
Caroline da Silva Alves Palheta [1]
Paulo Ricardo Garcia da Silva [1]
Ana Carolina Maués de Oliveira [1]
Andressa Miléo Ferraioli Silva [1]
Diego Rodrigues Dantas [1]
Tiago Braga Duarte [1]
Josie Eiras Bisi dos Santos[1]
Luciana Mota Silva [1]

[1] Departamento de Dermatologia, Universidade do Estado do Pará - Belém (PA), Brasil.

Correspondência:
Andressa Miléo Ferraioli Silva
Tv. Dom Romualdo de Seixas, 799 - Apto 601
Bairro: Umarizal
66055-200 Belém (PA)
Email: andressa_ferraioli_@hotmail.com

Data de recebimento: 08/11/18
Data de aprovação: 10/12/2018

Trabalho realizado na Universidade do Estado do Pará - Belém (PA), Brasil.

Suporte financeiro: Nenhum.
Conflito de interesse: Nenhum.

CC BY

cinas, como IL-1 e TNF-α, as quais promovem a formação de novo colágeno em um processo denominado indução percutânea de colágeno. Diante disso, o processo cicatricial causado pelas microagulhas pode ser dividido didaticamente em três fases:

1. Fase de injúria, na qual ocorre liberação de plaquetas e neutrófilos que produzem citocinas, estimulando queratinócitos e fibroblastos;
2. Fase de cicatrização, quando ocorre a formação da matriz de fibronectina, onde será depositado o colágeno tipo III;
3. Fase de maturação, na qual o colágeno tipo III é substituído por colágeno tipo I, mais resistente.[3]

Nesse contexto, em associação com o microagulhamento, drogas e ativos podem ser administrados, tendo em vista que há formação de canais gerados pelo trauma tecidual das microagulhas. Esta associação é também conhecida como *drug delivery*, destacando-se como exemplo de droga administrada a vitamina C, por sua já comprovada ação antioxidante.

Além dela, outras vitaminas também podem ser utilizadas, como as vitaminas A e B3, além de peptídeos de cobre, zinco, ácido hialurônico e fatores de crescimento.[4] Em outro estudo, foi efetuado *drug delivery* com extrato de copaíba, revelando maior produção de colágeno e fibroblastos na pele de rato.[1]

Nesse sentido, outro extrato vegetal muito estudado é o da andiroba (*Carapa guianensis Aubl.*), em cuja composição química estão estearina, ácidos graxos, oleico e mirístico, e, em menor quantidade, os ácidos palmítico e linoleico. Dentre suas propriedades pode-se destacar ação anti-inflamatória, analgésica, antisséptica, cicatrizante e ação no trato respiratório.[3]

Diante disso, partindo da importância do uso de extratos vegetais em pesquisas, bem como da presença de resultados significativos com extrato semelhante, o presente estudo tem por objetivo avaliar o efeito do microagulhamento associado ao *drug delivery* do extrato de andiroba na pele de ratos.[1]

OBJETIVOS

Objetivo geral: avaliar o efeito do microagulhamento associado ao uso da andiroba na pele de rato.

Objetivos específicos: descrever os aspectos morfológicos e morfométricos dos efeitos na pele de rato resultantes da aplicação do microagulhamento associado à andiroba.

MÉTODOS

Foram utilizados 31 ratos da espécie *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, machos, com peso entre 220g e 250g, com aproximadamente 120 dias, solicitados ao biotério de criação do Instituto Evandro Chagas (Belém, Pará, Brasil). Os animais ficaram alocados a uma temperatura de aproximadamente 22 ± 2°C, com umidade adequada (em torno de 55 ± 10% de umidade relativa do ar), sendo a luminosidade artificial de um fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando-se o período de luz das 6 às 18h, com ruídos controlados, acondicionados de acordo com seu grupo em gaiolas plásticas forradas com maravalha estéril, tendo água e ração oferecidas *ad libitum* durante todo o estudo. A limpeza das gaiolas foi realizada em dias alternados.

Distribuição dos grupos do experimento: os animais foram distribuídos randomicamente em cinco grupos:

• Grupo piloto (GPi), contendo três animais, nos quais foram treinadas as técnicas utilizadas nesse estudo;

• Grupo microagulha (GM), contendo sete animais que foram submetidos à técnica do microagulhamento no D0 (dia zero) e eutanásia no D30 (dia 30) do procedimento, a fim de se recolher a amostra de tecido para avaliação histopatológica;

• Grupo microagulha + andiroba (GMA), contendo sete animais que foram submetidos à técnica do microagulhamento no D0 e aplicação de 1ml de extrato de andiroba na ferida pela manhã, durante sete dias, com eutanásia no D30 do procedimento, a fim de se recolher a amostra de tecido para avaliação histopatológica;

• Grupo microagulha + vitamina C (GMV), contendo sete animais que foram submetidos à técnica do microagulhamento no D0 e aplicação de 1ml de vitamina C líquida na ferida pela manhã, durante sete dias, com eutanásia no D30 do procedimento, a fim de se recolher a amostra de tecido para avaliação histopatológica;

• Grupo microagulha + óleo mineral (GOM), contendo sete animais que foram submetidos à técnica do microagulhamento no D0 e aplicação de 1ml de óleo mineral na ferida pela manhã, durante sete dias, com eutanásia no D30 do procedimento, a fim de se recolher a amostra de tecido para avaliação histopatológica. O óleo mineral foi utilizado como grupo controle positivo por ter constituição com base oleosa e, por isso, aproximar-se de um possível efeito do líquido contendo o extrato da andiroba quando aplicado na pele. Já a vitamina C será usada a fim de se compararem seus efeitos com os do extrato vegetal, já que o mesmo é rico em tal nutriente.

Técnica

a) Microagulhamento – Os ratos foram colocados em decúbito dorsal. Procedeu-se à tricotomia de área de 5 x 5cm na região dorsal. Em seguida, com o auxílio de dispositivo com microagulhas de 0,5mm, foi realizado o microagulhamento com o *roller* posicionado entre os dedos indicador e polegar, tendo sido o microagulhamento aplicado com força moderada em movimentos com uma única direção, até que fosse obtido um padrão uniforme de petéquias (cerca de 10 vezes).

b) Aplicação do líquido contendo extrato da andiroba - No grupo de microagulhamento + andiroba, foi realizada a aplicação imediata após o microagulhamento, e também pela manhã, durante sete dias, de 1ml de extrato de andiroba.

c) Aplicação de óleo mineral - No grupo de microagulhamento + óleo mineral, foi realizada a aplicação imediata após o microagulhamento, e também pela manhã, durante sete dias, de 1ml de óleo mineral.

d) Aplicação de vitamina C - No grupo de microagulhamento + vitamina C, foi realizada a aplicação imediata após o microagulhamento, e também pela manhã, durante sete dias, de 1ml de vitamina C líquida.

e) Análise histopatológica - O material coletado foi acondicionado e corado pelas técnicas de hematoxilina & eosina e picrosírius para avaliação das fibras colágenas. As lâminas foram analisadas pelo patologista por meio da microscopia óptica com

observação e classificação dos seguintes achados: intensidade de fibras colágenas, de infiltrado inflamatório e proliferação vascular, com a seguinte pontuação: 0 = ausente, 1 = leve, 2 = moderado e 3 = intenso, acrescidos da avaliação da espessura da epiderme (μm).

f) Análise estatística - Os dados obtidos pelo estudo foram guardados em planilha Excel 2010 para posterior análise estatística de múltiplas comparações, realizada pelo teste ANOVA, seguida do teste t de Student. À presença de diferença estatisticamente significativa, empregou-se o teste de Tukey, adotando-se como nível de significância α=0,05. Para tanto, foi utilizado o software Bioestat® 5.3 (Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Brasil).

RESULTADOS

Em relação à proliferação fibroblástica, a única diferença significativa encontrada foi entre a intensidade de proliferação observada no tecido dos animais dos grupos GM e GMV, correspondendo aos níveis medianos classificados como 'leve' e 'moderado', respectivamente (p=0,0127; figura 2). De modo semelhante, só houve diferença significativa entre estes mesmos grupos quando avaliada a intensidade de vascularização, tendo o grupo GM apresentado nível mediano classificado como 'leve' e o grupo GMV, nível mediano 'moderado' (p=0,0436).

A intensidade de fibras colágenas foi superior nos animais do grupo GMV quando comparada à observada no tecido dos animais dos demais grupos em estudo, sendo considerado intenso neste (Med=3), leve nos grupos GM e GMA (Med=1) e moderado no grupo GMO (Med=2) (p=0,0006; figura 3).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de colágeno dos tipos I (p=0,1491) e III (p=0,1777) em função de determinado grupo.

No entanto, observou-se diferença significativa entre a densidade de colágeno do tipo I e III dentro de cada grupo, sendo que o colágeno tipo I esteve presente em maior concentração em todos os grupos avaliados.

DISCUSSÃO

Henriques, em 2014, descreveu os benefícios do óleo de andiroba no processo anti-inflamatório e cicatricial da pele. Entretanto, com relação à proliferação dos fibroblastos, não foi observado neste estudo um resultado satisfatório em comparação às outras substâncias. Tal fato pode ser explicado pelas fases de cicatrização da pele.[5]

Sabe-se, portanto, que a técnica de microagulhamento gera um processo de cicatrização com a indução inicial de uma fase de injúria que desencadeia uma série de eventos inflamatórios para que, posteriormente, na segunda fase, a de cicatrização, os neutrófilos sejam substituídos por monócitos e ocorra a proliferação de fibroblastos, seguida da produção de colágeno tipo III. Após alguns dias, a matriz de fibronectina está formada, possibilitando o depósito de colágeno logo abaixo da camada basal da epiderme. Na terceira fase, ou fase de maturação, o colágeno tipo III, que é predominante na fase inicial do processo de cicatrização, vai sendo lentamente substituído pelo colágeno tipo I, mais duradouro, persistindo por anos. Portanto, mais estudos devem ser realizados de modo a esclarecer se a propriedade anti-inflamatória do óleo de andiroba promove alguma alteração nas fases de cicatrização o que, por conseguinte, geraria uma diminuição da proliferação de fibroblastos e colágeno.[3,6]

De acordo com outro autor, em 2014, as vitaminas tópicas, a exemplo da vitamina C, promovem o aumento da produção de tecido conjuntivo e de células epiteliais quando associadas ao microagulhamento. Além disso, são necessárias para potencializar o efeito da técnica na regeneração da pele. Tal estudo está em consonância com os resultados encontrados, uma vez que o grupo que fez uso da vitamina C em conjunto com o microagulhamento obteve maior êxito na intensidade de proliferação fibroblástica em relação aos outros grupos. Sendo assim, evidenciam que o uso da vitamina C irá gerar, posteriormente, uma quantidade de colágeno maior do que as outras substâncias testadas.[7]

Logo, o microagulhamento tem como objetivo principal estimular a produção de fibras colágenas. Segundo Lee, em 2014,[8] e Seo, em 2013,[9] estes efeitos são aprimorados e potencializados quando o procedimento é combinado com a aplicação tópica de vitamina C. Resultados semelhantes foram encontrados no presente estudo, uma vez que o grupo GMV obteve uma intensidade de fibras colágenas superior quando comparado ao da andiroba, que não mostrou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo que realizou somente o microagulhamento. Entretanto, esta observação está em discordância com os estudos de Palheta, em 2017,[1] que encontraram uma produção maior de fibras colágenas quando se associou o óleo de copaíba ao microagulhamento. Com relação ao óleo mineral, pode-se perceber uma intensidade maior de fibras do que quando utilizado o óleo de andiroba. Por isso, são necessários mais estudos aprofundados sobre as propriedades da andiroba.[8,9,10]

É válido ressaltar que, de acordo com o processo natural de cicatrização, o presente estudo evidenciou uma homogeneidade nas etapas de cicatrização dos grupos, uma vez que todos os grupos já estavam na fase de maturação, com troca efetiva dos colágenos comprovada pelo predomínio de colágeno tipo I, presente em todos os grupos em relação ao tipo III.[11]

Em relação à neovascularização, foi observada diferença estatisticamente significante entre os grupos microagulhamento e vitamina C, apesar de todos terem mostrado algum grau de neoangiogênese. Não existem na literatura relatos de estudos que tenham utilizado a andiroba com tal finalidade. Entretanto, esse achado vai ao encontro dos trabalhos de Silva, em 2015, que, ao avaliarem o efeito da andiroba na cicatrização de colorrafias, obtiveram resultados mais significativos nos animais em que foi utilizado o extrato da planta. Além disso, no mesmo estudo, observou-se melhor condução do processo inflamatório naqueles animais que utilizaram a vitamina C durante o período estudado, tais como os dados encontrados na presente pesquisa. [11]

O microagulhamento é realizado a partir da perfuração do estrato córneo, sem que haja danos à epiderme. Esse processo permite a liberação de fatores de crescimento que irão incentivar a produção de colágeno e elastina na derme papilar. Neste

estudo, o grupo vitamina C obteve maior espessura de derme quando comparado aos demais grupos, com o grupo da andiroba produzindo efeitos diferentes do esperado.[12]

O tempo de aparecimento do padrão de petéquias varia com a espessura da pele tratada e o comprimento da agulha escolhida. Sendo assim, a pele mais fina e frouxa, comumente fotoenvelhecida, apresentará padrão uniforme de petéquias mais precocemente do que a pele espessa e fibrosada observada na região dorsal dos animais utilizados no experimento, por exemplo. Sendo assim, a escolha do comprimento da agulha está na dependência do tipo de pele a ser tratada e do objetivo final do procedimento.[2]

CONCLUSÃO

A utilização do óleo de andiroba como *drug delivery* no procedimento de microagulhamento em pele de ratos obteve resultados inferiores quando comparado à vitamina C. Foram obtidas maior espessura dérmica, maior proliferação de fibras colágenas e fibroblastos e melhor angiogênese no grupo de animais em que foi usada a vitamina C.

AGRADECIMENTO

Agradecimentos: Agradecemos a Deus sobre todas as coisas bem como a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para este projeto. ●

REFERÊNCIAS

1. Palheta CSA, Silva WMP, Couteiro RP, Silva PRG, Souza RMT, Dias DV, et al. Efeito do óleo de copaíba associado ao microagulhamento na pele de ratos. Surg Cosmet Dermatol. 2017; 9(4):290-5.
2. Lima EVA, Lima MA, Takano D. Microagulhamento: estudo experimental e classificação da injúria provocada. Surg Cosmet Dermatol. 2013;5(2):110-4.
3. MONTEIRO MVM. et al. Avaliar a atividade antimicrobiana de óleos essenciais citronela (cymbopogon winterianus) e andiroba (carapa guianensis aubl) em cepas clínicas de staphylococcus aureus e escherichia coli. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Sergipe, 2017.
4. Albano RPS, Pereira LP, Assis IB. Microagulhamento - a terapia que induz a produção de colágeno - Revisão de literatura. Saúde Foco. 2018;10:455-73.
5. Henriques MD, Penido C. The therapeutic properties of Carapa guianensis. Curr Pharm Des. 2014;20(6):850-6.
6. Singh A, Yadav S. Microneedling: Advances and widening horizons. India Dermatol Online J. 2016;7(4):244-54.
7. Zeitter S, Sikora Z, Jahn S, Stahl F, Straub S, Lazaridis A, et al. Microneedling: Matching the results of medical needling and repetitive treatments to maximize potential for skin regeneration. BURNS. 2014;40(5):966-73.
8. Hee Jung Lee, Eo Gin Lee, Sangjin Kang, Jong-Hyuk Sung, Hyung-Min Chung, Dong Hyum Kim. Efficacy of Microneedling Plus Human Stem Cell Conditioned Medium for Skin Rejuvenation: A Randomized, Controlled, Blinded Split-Face Study. Ann Dermatol. 2014;26(5):584-91.
9. Seo KY, Kim DH, Lee SE, Yoon MS, Lee Hj. Skin rejuvenation by microneedle fractional radiofrequency and a human stem cell conditioned medium in Asian skin: A randomized controlled investigator blinded split-face study. J Cosmet Laser Ther. 2013;15(1):25-33.
10. Tizzato VF, Carrer T, Schuster RC. Efeitos da terapia por indução de colágeno na qualidade de cicatrizes de queimaduras - relato de caso. Rev Bras Queimaduras. 2015;14(1):49-53.
11. Silva CES, Santos OJ, Ribas-Filho JM, Tabushi FI, Kume MH, Jukonis LB, et al. Efeito da Carapa guianensis Aublet (Andiroba) e Orbignya phalerata (Babaçu) na cicatrização de colorrafias em ratos. Rev Col Bras Cir. 2015;42(66):399-406.
12. 12- Lima AA, Souza TH, Grignoli LCE. Os benefícios do microagulhamento no tratamento das disfunções estéticas. Revista Científica da FHO-Araras. 2015;3(1):92-9.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES:

Caroline da Silva Alves Palheta | ORCID 0000-0001-8989-9101
Concepção e planejamento do estudo; participação efetiva na orientação da pesquisa.

Paulo Ricardo Garcia da Silva | ORCID 0000-0002-9379-9311
Aprovação da versão final do manuscrito; concepção e planejamento do estudo; elaboração e redação do manuscrito; obtenção, análise e interpretação dos dados.

Ana Carolina Maués de Oliveira | ORCID 0000-0003-2224-6709
Aprovação da versão final do manuscrito; concepção e planejamento do estudo.

Andressa Miléo Ferraioli Silva | ORCID 0000-0001-8276-0676
Aprovação da versão final do manuscrito; elaboração e redação do manuscrito; obtenção, análise e interpretação dos dados; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica da literatura.

Diego Rodrigues Dantas | ORCID 0000-0003-1479-4377
Aprovação da versão final do manuscrito; elaboração e redação do manuscrito; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica da literatura.

Tiago Braga Duarte | ORCID 0000-0002-4216-1537
Aprovação da versão final do manuscrito; elaboração e redação do manuscrito; obtenção, análise e interpretação dos dados; revisão crítica da literatura.

Josie Eiras Bisi dos Santos | ORCID 0000-0001-8512-3920
Aprovação da versão final do manuscrito; obtenção, análise e interpretação dos dados.

Luciana Mota Silva | ORCID 0000-0002-4417-7401
Aprovação da versão final do manuscrito; obtenção, análise e interpretação dos dados; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados.