

CICATRIZAÇÃO GÁSTRICA COM USO DO EXTRATO DA EUPHORBIA TIRUCALLI L.: ESTUDO EM RATOS

Gastric healing process with raw extract of Euphorbia tirucalli L.: study in rats

Orlando José dos **SANTOS**¹, Francisco Felipe de **CARVALHO-JÚNIOR**², Euler Nicolau **SAUAIA-FILHO**²,
Rayan Haquim Pinheiro **SANTOS**³, Rennan Abud Pinheiro **SANTOS**², Wilwana Guimarães **BARBALHO**³

Trabalho realizado no ¹Departamento de Medicina II, Universidade Federal do Maranhão - UFMA; ²Hospital Universitário Presidente Dutra - UFMA, São Luís, MA; e ³Universidade Federal da Paraíba - UFPB, João Pessoa, PB, Brasil.

RESUMO - Racional - A utilização de plantas na prevenção e no tratamento de doenças é prática milenar. O aveloz (*Euphorbia tirucalli*) é uma planta originária da África e tem sido relacionada com efeitos antimicrobiano, antiulceroso, anticarcinogênico, antivirais, cicatrizante, antihelmíntico e antiesfílitico. **Objetivo** - Avaliar o uso do extrato bruto de *Euphorbia tirucalli* no processo de cicatrização de estômago de camundongo. **Métodos** - Dezesesseis camundongos da espécie Swiss, adultos, fêmeas foram submetidos à incisão longitudinal de 1 cm no corpo gástrico e síntese em plano único com pontos separados de polipropilene 6-0. Após o procedimento os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos de oito. Eles foram redistribuídos em quatro subgrupos: Aveloz (GA7) e Controle (GC7) com morte programada para 7º dia de pós-operatório e Aveloz (GA14) e Controle (GC14) com morte programada para 14º dia de pós-operatório. No seguimento o grupo GA utilizou-se 1 mL de solução hidroalcoólica do extrato bruto de *Euphorbia tirucalli* L. na concentração de 30 mg/ml por via oral através de gavagem e no GC, soro fisiológico 0,9%, no mesmo volume e via. Após a morte, foi realizado o inventário da cavidade abdominal e procedeu-se a retirada do estômago, fixação no formol e enviado para a análise microscópica. Na análise comparativa entre os dois grupos foram avaliados parâmetros macroscópicos e microscópicos da cicatrização. **Resultados** - Não foram detectados sinais de peritonite, fístulas ou hematomas nos animal. Houve aderências do estômago, principalmente, com o fígado e omento, nos animais dos 7º e 14º dias do período pós-operatório nos dois grupos. A análise dos parâmetros histológicos não demonstrou diferença estatisticamente significativa em nenhum dos parâmetros avaliados. **Conclusão** - A avaliação do uso do extrato bruto de *Euphorbia tirucalli* L. em cicatrização de lesões em estômago de camundongos mostrou equivalência em comparação ao grupo controle.

DESCRITORES - Fitoterapia. Estômago. Rato. Aveloz. *Euphorbia*.

Correspondência:

Orlando José dos Santos
E-mail: orlandojs@hotmail.com
orlandojs@hotmail.com

Fonte de financiamento: não há
Conflito de interesses: não há

Recebido para publicação: 16/04/2013
Aceito para publicação: 09/07/2013

ABSTRACT - Background - The use of plants in the prevention and treatment of disease is age-old practice. The aveloz (*Euphorbia tirucalli*) is a plant native of Africa and has been associated with antimicrobial, antiulcers, anticarcinogenic, antiviral, healing, anti-helminthic, antisiphilitic effects. **Aim** - To analyze the effect of the crude extract of *Euphorbia tirucalli* L. in the stomach healing process of mice. **Methods** - Sixteen Swiss mice, adult females were subjected to 1 cm longitudinal incision in the gastric body and sutured with 6-0 polypropylene stitches. After the procedure, the animals were randomly divided into two groups of eight animals. These were redistributed into four subgroups: Aveloz (GA7) and Control (CG7) with programmed death for 7th day postoperatively and Aveloz (GA14) and Control (GC14) with programmed death for 14 days postoperatively. The group GA used 1 ml of hydroalcoholic solution of the crude extract of *Euphorbia tirucalli* at 30 mg/ml orally by gavage route and the CG, 0.9% saline solution at the same volume and route. After death, the inventory of the abdominal cavity was conducted and the stomach removal was performed, fixing in formalin and sent for microscopic analysis. In the comparative analysis between the two groups were evaluated the macroscopic and microscopic parameters of healing. **Results** - There were no signs of peritonitis, fistulas or hematomas in the animals. There were adhesions of the stomach, especially with the liver and omentum in the animals at 7 and 14 days postoperatively in both groups. The analysis of histological parameters showed no statistically significant difference between groups in any of the parameters evaluated. **Conclusion** - The evaluation of the use of the crude extract of *Euphorbia tirucalli* L. on stomach wound healing in mice showed equivalence in comparison to the control group.

HEADINGS - Phytotherapy. Stomach. Mouse. Aveloz, *Euphorbia*.

INTRODUÇÃO

Brasil está entre os países com a maior diversidade ambiental que existe. No entanto, a pesquisa relacionada com os medicamentos fitoterápicos está ainda abaixo do potencial e dos benefícios que eles têm para o conhecimento científico mundial⁹. Apesar disso, atualmente muito se tem evoluído na busca de substâncias de efeitos anticâncer, antimicrobianos, cicatrizante, entre outros.

Espécies da *Euphorbia* têm sido descritas e utilizadas na medicina popular como antimicrobiano, antiúlceras, anticancerígenas, antivirais, cicatrizante, anti-helmínticos e anti-sifilíticos^{4,5,7,14}. *Euphorbia tirucalli* L. (*Euphorbiaceae*) é conhecida no Brasil como "aveloz".

Alguns autores têm estudado os benefícios cicatrizantes de espécies *Euphorbia*, e essa propriedade é explicada pela ação de fitoconstituintes desta planta, que aumentam o colágeno da matriz extracelular, como taninos e flavonóides^{3,10}.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do extrato bruto de *E. tirucalli* no processo de cicatrização de lesões no estômago de ratos, enfatizando suas características macroscópicas e histológicas.

MÉTODO

O projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), sob o protocolo n.º 00386/2004. O estudo seguiu as diretrizes para pesquisas com animais, tal como estabelecido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

A amostra foi composta de 16 camundongos Swiss machos (Swiss Webster, Rodentia Mammalia), fornecidos pelo Biotério da UFMA. Eles estavam entre 40 e 60 dias de idade (idade média de 46 dias). O peso era entre 24g e 30g (peso médio de 25,3 g). Eles foram mantidos em grupos de quatro por gaiola-padrão para a espécie no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Fisiologia, onde o ciclo claro-escuro foi de 12 horas e a umidade era a mesma que em ambiente normal, sem qualquer regulação artificial. A temperatura foi constante de 20±2º C. Os animais foram alimentados com ração comercial padrão e livre acesso à água durante todo o experimento.

Cada animal foi submetido à anestesia com cloridrato de xilazina à 2 % (5 mg/kg, IM - Kensol®) e cloridrato de quetamina à 5% (22 mg/kg, IM - Vetanarcol®), conjuntamente na mesma seringa.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos de oito, um grupo controle (GC) e um grupo Aveloz (GA). Cada grupo foi redistribuído em dois subgrupos GC7 e GC14 e subgrupos GA7 e GA14, conforme os dias da morte, programada para o 7º e 14º dias de pós-operatório, respectivamente.

O ato operatório seguiu metodização para os animais de ambos os grupos. Após anestesiado cada

camundongo foi posicionado em decúbito dorsal e imobilizado e preparado campo cirúrgico com técnica asséptica. Realizou-se laparotomia mediana longitudinal a partir de 1 cm abaixo do processo xifóide, estendendo-se por 3 cm caudalmente; procedeu-se a diérese da pele e do tecido celular subcutâneo com o bisturi lâmina n.º 15 e do plano musculoaponeurótico e peritônio com tesoura; inspecionou-se a cavidade abdominal, fez-se a identificação e exteriorização do estômago e realizou-se incisão longitudinal de 1 cm de comprimento ao maior eixo do mesmo na parede anterior do corpo gástrico, equidistante da pequena e grande curvaturas envolvendo todos os planos e sutura da lesão com quatro pontos separados com fio polipropileno azul (Prolene® Ethicon) 6-0 com agulha circular atraumática de 1,3 cm. Posteriormente realizou-se síntese do peritônio, plano musculoaponeurótico e pele, de forma contínua com fio monofilamentar de náilon preto (Mononylon® Ethicon)) 5-0 com agulha circular cortante de 2,5 cm. Neste momento fez-se analgesia com dipirona, 25 mg/ kg/ IM.

Após a recuperação anestésica, cada animal dos subgrupos controle (GC7 e GC14) recebeu via gavagem solução salina à 0,9% diariamente. Nos animais dos subgrupos aveloz (GA7 e GA14), administrou-se 100 mg/kg do extrato bruto de *Euphorbia tirucalli* L. na concentração de 100 mg/ml, pela manhã obedecendo os dias previamente estabelecidos de observação. Os animais foram colocados em suas gaiolas com livre acesso à água e ração, acondicionados nas mesmas condições de temperatura e luminosidade do pré-operatório. No seguimento foram avaliados parâmetros clínicos diariamente.

Na data programada de morte, os animais receberam dose letal de cloridrato de xilazina à 2 % (20 mg/kg/ IM) e cloridrato de quetamina à 5% (30 mg/kg/IM), sendo ambos aplicados conjuntamente na mesma seringa.

Após a morte foi feita a inspeção da cicatriz abdominal, avaliou-se a presença ou não de hematoma, infecção de sítio operatório e deiscências da ferida. Realizou-se em seguida a abertura da parede abdominal mediante duas incisões transversas e uma longitudinal ligando as anteriores, distando 1 cm à esquerda da cicatriz mediana decorrente do ato operatório prévio. Avaliou-se a presença de aderências perigástricas graduando-as segundo o escore de Nair, como também os aspectos da mucosa gástrica^{11,16}.

Procedeu-se a retirada do estômago, sendo ele fixado em formol a 10% no interior de frascos individuais e enviados ao estudo histopatológico. O patologista desconhecia o grupo correspondente a cada frasco.

Utilizou-se um microscópio tetraocular, no qual o campo histológico de cada lâmina da ferida da mucosa gástrica foi avaliado, utilizando-se as objetivas de 5, 10 e 40 vezes de aumento e ocular de 10 vezes. Os critérios histológicos incluíram: inflamação aguda, inflamação crônica inespecífica, proliferação fibroblástica, colagenização e epitelização da ferida, classificados em leve, moderado e intenso de acordo com a gradação de intensidade em cruzes.

Utilizou-se o programa Biostat 5.0 (Microsoft), os testes t de Student e Mann-Whitney, para análise dos dados que se obteve; o valor-p era significativo quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Na avaliação clínica todos os animais evoluíram de forma semelhante, com boa aceitação da dieta e ausência de secreções, abaulamento, retração, deiscência ou fístulas na ferida operatória.

A análise da cavidade abdominal dos animais em estudo mostrou que 25% do subgrupo GC7 apresentou aderências omentais e hepáticas, enquanto 50% do subgrupo GA7 revelaram a mesma alteração. Nos subgrupos cuja morte foi realizada no 14º dia de observação, tais alterações corresponderam a 50% no subgrupo controle e 75% dos animais do subgrupo aveloz. Não foi notado durante o tempo de estudo qualquer indicativo de peritonite ou outras coleções.

No âmbito da avaliação histológica, principal vertente desse estudo, os resultados obtidos encontram-se discriminados nas tabelas de 1 a 3. Somando-se ao restante da avaliação histológica, pode-se constatar a ausência, em todas as peças analisadas de hemorragia, atrofia glandular e metaplasia intestinal.

Aplicando os métodos estatísticos sobre as variantes classificatórias conseguidas a partir do estudo histopatológico, houve diferença tanto entre os subgrupos do 7º e 14º dias em comparação do aveloz com o grupo controle, sem no entanto ser estatisticamente significativa (Tabelas 1-3).

TABELA 1 - Avaliação histológica (gastrite crônica, atividade inflamatória, células mononucleares e polimorfonucleares) dos parâmetros de cicatrização de gastrorrafia em animais tratados com extrato bruto de *Euphorbia tirucalli* L. e controle (solução salina 0,9%).

Variáveis Histológicas	Dias/Grupos			
	7 dias		14 dias	
	Aveloz	Controle	Aveloz	Controle
Gastrite crônica /p	+ (1) ++ (3)	+ (1) ++ (3)	+ (2) ++ (2)	+ (1) ++ (1) +++ (2)
	0,124		0,500	
Atividade Inflamatória /p	+ (1) ++ (3)	+ (1) ++ (2) +++ (1)	+ (3) ++ (1)	- (1) ++ (1) +++ (2)
	0,124		0,500	
Células Mononucleares /p	++ (4)	+ (1) ++ (3)	+ (3) ++ (1)	+ (1) ++ (1) +++ (2)
	0,193		0,281	
Polimorfonucleares /p	- (1) + (1) +++ (2)	- (1) + (1)	+ (4)	- (1) + (1) +++ (2)
	0,281		0,500	

Legenda: As variáveis foram classificadas como ausente (-), discreta (+), moderada (++) ou intensa (+++), com base na intensidade relativa de gastrite crônica, atividade inflamatória, células mononucleares e polimorfonucleares por coloração H&E. O número entre parênteses corresponde ao de animais em cada classificação.

TABELA 2 - Avaliação histológica (reação gigantocelular, proliferação fibroblástica, angiogênese e crosta fibrinoleucocitária) dos parâmetros de cicatrização de gastrorrafia em animais tratados com extrato bruto de *Euphorbia tirucalli* L. e controle (solução salina 0,9%).

Variáveis Histológicas	Dias/Grupos			
	7 dias		14 dias	
	Aveloz	Controle	Aveloz	Controle
Reação Gigantocelular /p	- (2) + (2)	- (1) + (3)	- (1) + (3)	- (2) + (2)
	0,500		0,281	
Proliferação Fibroblástica /p	- (1) + (3)	+ (1) ++ (3)	+ (3) ++ (1)	- (1) + (2) +++ (1)
	0,281		0,156	
Angiogênese/p	+ (4)	+ (3) ++ (1)	+ (3)	- (1) + (2) +++ (1)
	0,124		0,281	
Crosta Fibrinoleucocitária /p	- (2) + (2)	- (2) + (2)	- (1) + (3)	- (2) + (2)
	0,2819		0,500	

Legenda: As variáveis foram classificadas como ausente (-), discreta (+), moderada (++) ou intensa (+++), com base na intensidade relativa de reação gigantocelular, proliferação fibroblástica, angiogênese e crosta fibrinoleucocitária por coloração H&E. O número entre parênteses corresponde ao número de animais em cada classificação.

TABELA 3 - Avaliação histológica (presença de hiperplasia foveolar, folículos linfóides e alterações epiteliais reativas/reparativas) dos parâmetros de cicatrização de gastrorrafia em animais tratados com extrato bruto de *Euphorbia tirucalli* L. e controle (solução salina 0,9%).

Variáveis Histológicas	Dias/Grupos			
	7 dias		14 dias	
	Aveloz	Controle	Aveloz	Controle
Hiperplasia Foveolar /p	- (2) + (2)	- (1) + (3)	- (1) + (3)	- (2) + (2)
	0,500		0,281	
Folículos Linfóides /p	- (2) + (2)	- (4)	- (5) + (2)	- (4)
	0,124		0,124	
Alterações Epiteliais Reativas/ Reparativas /p	+ (4)	+ (4)	- (1) + (3)	+ (4)
	0,281		0,500	

Legenda: As variáveis foram classificadas como ausente (-), discreta (+), moderada (++) ou intensa (+++), com base na intensidade relativa da presença de hiperplasia foveolar, folículos linfóides e alterações epiteliais reativas/reparativas por coloração H&E. O número entre parênteses corresponde ao de animais em cada classificação.

DISCUSSÃO

O efeito do extrato da *Euphorbia tirucalli* L. na cicatrização ainda não foi demonstrado cientificamente, apesar de ser usado na medicina popular como cicatrizante há longo tempo. Este fato leva à proposição deste estudo, e ao modelo experimental aqui utilizado. No entanto, várias propriedades farmacológicas foram demonstradas em trabalhos experimentais como o seu efeito anti-bacteriano, molucicida, anti-herpético e anti-mutagênico^{2,6,8,12,17}.

A gastrorrafia foi executada no corpo, equidistantemente da pequena e grande curvaturas em plano único e suturado com três pontos separados, por ser esta técnica habitualmente utilizada na literatura, de fácil execução e segura. A escolha do fio de polipropileno 6-0 foi pautada na sua força tênsil e resistência na confecção da sutura e pouca reação inflamatória; e, por estes motivos, ele é recomendado frequentemente em estudos semelhantes.

A sutura da parede abdominal foi avaliada diariamente. Nenhum dos animais apresentou deiscência e nem infecção. Vários graus de aderências foram vistos, sendo que o índice de aderências cresceu com o aumento do tempo de pós-operatório. Estes fatos já foram também reconhecidos por outros autores; contudo, eles não interferiram com as anastomoses que puderam ser analisadas com isenção de intercorrências¹³.

No referente à escolha dos animais, os camundongos foram os eleitos, pela maior facilidade de transporte e manuseio, pela alta resistência às infecções e para maior representatividade no analisar com outros trabalhos com objetivos semelhantes, pois os animais de pequeno porte são os mais presentes neste tipo de estudo. Exemplos são os de Silva et al.¹³ que pesquisou as propriedades cicatrizantes da *Passiflora edulis* (maracujá) em gastrorrafias de ratos e de Santos et al.¹⁵ que usou ratos adultos para testar possíveis efeitos pró-regenerativos do extrato de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira).

Escolheram-se os períodos de morte dos camundongos no 7º e 14º dias de pós-operatório para que se pudesse estudar a cicatrização gástrica em suas fases mais posteriores, contrapondo-se à maioria dos experimentos que utilizaram o 3º e o 7º dias. Exemplos são os de Batista et al.¹ que avaliaram a ação regenerativa do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) em lesões gástricas, e de Silva et al.¹⁵ no estudo morfológico e tensiométrico de gastrorrafias em ratos usando o extrato de *Passiflora edulis*.

A via de aplicação do extrato por gavagem, baseou-se na maior facilidade na realização das administrações diárias, para se evitar absorção mais rápida, manter a ação protetora da biotransformação hepática (primeira passagem), fatores protetores estes que não existiriam se fosse optada pela via parenteral. A via intra-peritoneal foi escolhida por alguns trabalhos, como o de Silva et al.¹⁵ que realizaram estudo morfológico com extrato de *Passiflora edulis* em gastrorrafias. A preocupação na manutenção destes elementos de defesa se faz necessária devido ao fato de existirem poucos trabalhos sobre a toxicidade dos derivados vegetais da espécie alvo.

O estudo histopatológico adotou como método de coloração a H&E que foi o padrão para outros experimentos com aroeira, o babaçu, pião roxo e maracujá^{1,2,13,15}.

Quanto aos resultados obtidos pode-se inferir que houve incidência 25% maior de aderências (gastrohepáticas e gastroepilólicas) nos subgrupos dos casos em comparação com os subgrupos controle

correspondentes; no entanto, na análise histológica não se notou qualquer diferencial estatisticamente relevante no tocante às variáveis estudadas. Portanto, o processo fibrótico que originou as aderências citadas não mantém relação ampla e direta com um favorecimento à cicatrização das gastrorrafias, até mesmo porque tal melhoria não foi notada.

CONCLUSÃO

A avaliação do uso do extrato bruto de *Euphorbia tirucalli* L. em cicatrização de lesões em estômago de camundongos mostrou equivalência no em comparação ao grupo controle.

REFERÊNCIAS

- Batista CP, Torres OJM, Matias JEF, Moreira ATR, Colman D, Lima JHF, Macri MM, Rauen RJ Jr, Ferreira LM, de Freitas AC: Effect of watery extract of *Orbignya phalerata* (babassu) in the gastric healing in rats: morfologic and tensiometric study. *Acta Cir Bras* 2006, 21:26-32.
- Betancur-Galvis LA, Morales GE, Forero JE, Roldan J: Cytotoxic and Antiviral Activities of Colombian Medicinal Plant Extracts of the *Euphorbia* genus. *Mem Inst O Cruz* 2002, 97:541-546.
- Goyal M, Nagori BP, Sasmal D: Wound healing activity of latex of *Euphorbia caducifolia*. *J Ethnopharmacol* 2012, 144:786-790.
- Hecker E: Co-carcinogenic principles from seed oil of *Croton tiglium* and other *Euphorbiaceae*. *Cancer Res* 1968, 28:2338-2349.
- Jahan N, Khalil Ur R, Ali S, Bhatti IA: Antimicrobial Potential of Gemmo-modified Extracts of *Terminalia arjuna* and *Euphorbia tirucalli*. *Int J Agric Biol* 2011, 13:1001-1005.
- Jurberg P, Cabral Neto JB, Schall VT: Molluscicide activity of the "Avelós" plant (*Euphorbia tirucalli*, L.) on *Biomphalaria glabrata*, the mollusc vector of schistosomiasis. *Mem Inst O Cruz* 1985, 80:423-427.
- Khan A, Ahmed Z, Kazmi N, Malik A: Further Triterpenes from the Stem Bark of *Euphorbia tirucalli*. *Planta Med* 1987, 53:577.
- Lirio LG, Hermano ML, Fontanilla MQ: Antibacterial activity of medicinal plants from the Philippines. *Pharm Biol* 1998, 36:357-359.
- Malafaia O, Campos ACL, Torres O, Goldenberg S: Phytotherapy and surgical wound healing. *Acta Cir Bras* 2006, 21:1.
- Omale J, Emmanuel TF: Phytochemical composition, bioactivity and wound healing potential of *Euphorbia heterophylla* (*Euphorbiaceae*) leaf extract. *IJBPR* 2010, 1:54-63.
- Qasim Khan A, Rasheed T, Najam-ul-Hussain Kazmi S, Ahmed Z, Malik A: Cycloeuophordenol, a new triterpene from *Euphorbia tirucalli*. *Phytochemistry* 1988, 27:2279-2281.
- Rezende J, Rodrigues S, Jabor I, Pamphile J, Rocha C: Efeito anti-mutagênico do látex de *Euphorbia tirucalli* no sistema metionina em *Aspergillus nidulans*. *Acta Sci* 2004, 26:481-484.
- Santos OJ, Ribas Filho JM, Czezczko NG, Castelo Branco Neto ML, Naufel C Jr, Ferreira LM, Campos RP, Moreira H, Porcides RD, Dobrowolski S: Evaluation of the aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) extract on the healing process of gastrorraphy in rats. *Acta Cir Bras* 2006, 21:39-45.
- Silva ACP, Faria DEP, Borges NBES, Souza IA, Peters VM, Guerra MdO. Toxicological screening of *Euphorbia tirucalli* L.: Developmental toxicity studies in rats. *J Ethnopharmacol* 2007, 110:154-159.
- Silva JRS, Campos ACL, Ferreira LM, Aranha Júnior AA, Thiede A, Zago Filho LA, Bertoli LC, Ferreira M, Trubian PS, Freitas AC: Extract of *Passiflora edulis* in the healing process of gastric sutures in rats: a morphological and tensiometric study. *Acta Cir Bras* 2006, 21:52-60.
- SK N, IK B, AL A: Role of proteolytic enzyme in the prevention of postoperative intraperitoneal. *Arch Surg* 1974, 108:849-853.
- Tiwari S, Singh P, Singh A: Toxicity of *Euphorbia tirucalli* Plant Against Freshwater Target and Non- target Organisms. *Pakistan J Biol Sci* 2003, 6:1423-1429.