

## EXTRATO DE *Passiflora edulis* NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSE COLÔNICA EM RATOS: ESTUDO MORFOLÓGICO E TENSIOMÉTRICO<sup>1</sup>

Extract of *Passiflora edulis* in the healing of colonic anastomosis in rats: a tensiometric and morphologic study

José Antonio Ferreira Bezerra<sup>2</sup>, Antonio Carlos L. Campos<sup>3</sup>, Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos<sup>3</sup>, Jean Ricardo Nicareta<sup>4</sup>, Elaine Rossi Ribeiro<sup>5</sup>, Ana Paula Martins Sebastião<sup>5</sup>, Akihito Inca A. Urdiales<sup>4</sup>, Marlus Moreira<sup>4</sup>, Alessandra Miguel Borges<sup>4</sup>

1. Trabalho realizado no laboratório de pesquisas do centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão

2. Médico do Hospital da Universidade Federal do Maranhão

3. Professor Doutor em Cirurgia

4. Aluno de Pós-Graduação – Mestrado

5. Aluno de Pós-Graduação - Doutorado

### RESUMO

**Introdução:** Pesquisas de novas substâncias com finalidades terapêuticas têm sido realizadas procurando isolar, extrair ou purificar novos compostos de origem vegetal. A *Passiflora edulis* (maracujá), espécie pertencente à família *Passifloraceae*, originária das regiões tropicais e subtropicais do continente americano, é popularmente usada como sedativo, analgésico e anti-inflamatório e no tratamento de lesões cutâneas, feridas e erisipelas. **Objetivo:** Avaliar a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos, que receberam extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* no trans-operatório. **Métodos:** Foram utilizados 40 ratos Wistar, distribuídos em dois grupos de 20 animais cada, denominados: grupo *Passiflora* (GP) e grupo controle (GC). Os ratos de cada grupo foram separados em dois subgrupos de 10 animais cada, avaliados no 3º e 7º dia do pós-operatório. O procedimento cirúrgico constou de secção da alça colônica esquerda, 5cm acima da reflexão peritoneal com preservação da arcada vascular e anastomose término-terminal em plano único. O grupo *Passiflora* recebeu dose única intraperitoneal do extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* na dose de 250 mg/Kg. O grupo controle recebeu dose única de solução salina intraperitoneal em volume igual ao GP. Os parâmetros avaliados foram: aspectos macroscópicos da parede e cavidade abdominal, aderências perianastomóticas, pressão de ruptura à insuflação de ar, reação inflamatória tecidual da anastomose que constou de polimorfonucleares, monomorfonucleares e proliferação fibroblástica. **Resultados:** Os aspectos macroscópicos não apresentaram diferenças significantes entre os grupos. Não ocorreu nenhuma deiscência de anastomose nos grupos estudados. Com relação à pressão de ruptura à insuflação de ar, observou-se que a média foi significativamente maior no subgrupo que recebeu o extrato de *Passiflora* no 3º dia (P3), cuja pressão foi  $42,6 \pm 17,8$  mmHg em comparação ao subgrupo controle (C3), cuja pressão foi  $25,4 \pm 14,1$  mmHg,  $p=0,028$ . O mesmo não ocorreu no 7º dia, onde o subgrupo C7 apresentou pressão de ruptura de  $187,3 \pm 39,5$  mmHg, enquanto o subgrupo P7, apresentou pressão de ruptura de  $203,0 \pm 50,0$  mmHg,  $p=0,447$ . Na análise histológica, os polimorfonucleares foram mais frequentes no subgrupo C3, em comparação ao subgrupo P3, com diferença significativa ( $p=0,034$ ). Os monomorfonucleares (MMN) e proliferação fibroblástica foram mais frequentes no subgrupo P3, com diferença significativa, onde  $p=0,02$  para MMN, e  $p=0,001$  para proliferação fibroblástica. No 7º dia, houve diferença significativa em todas as variáveis histológicas coradas pela hematoxilina-eosina e Tricômico de Masson ( $p<0,05$ ) no subgrupo que recebeu o extrato de *Passiflora*. **Conclusão:** A administração peroperatória do extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* influencia de forma significativa na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos.

**Descritores:** Cicatrização de Feridas. *Passiflora* Anastomose Cirurgica. Ratos.

### ABSTRACT

**Introduction:** Investigation of new substances with therapeutic effects have been done trying to isolate, extract or purify new compounds of vegetable origin. The *Passiflora edulis* (maracujá) species from the Passifloracia family, originated from the tropical and subtropical regions of the american continent, is found all over Brazil. It is commonly used as a sedative, painkiller and anti-inflammatory drug and also for the treatment of skin wounds, lesions and Erisipelae. **Purpose:** To evaluate the wound healing in colonic anastomosis in rats that received an hydro-alcoholic extract of *Passiflora edulis* peri-operatively. **Method:** 40 wistar rats were used distributed into two groups of 20 rats each, named: *Passiflora edulis* group (GP) and control group (GC). The rats of each group were separated into two subgroups of 10 animals each and were evaluated on the 3rd and 7th postoperative days. The surgical procedure consisted of a section of the left colon, 5 cm above the peritoneal reflexion with preservation of the vascular elements. Intestinal continuity was restored by an end-to-end single layer anastomosis. The *Passiflora edulis* group received an intraperitoneal application of the hydro-alcoholic extract

in the dosage of 250 mg/kg. The control-group received one intraperitoneal dose of a saline with the same volume of the GP. The parameters evaluated were: macroscopic aspects of the wall and abdominal cavity, perianastomotic (adherences), bursting pressure, inflammatory tissue reaction on the anastomotic wound. **Results:** The macroscopic aspects did not differ between the groups. No rupture in the anastomotic wound was seen in any rat. Regarding the bursting pressure, it was noticed that the average pressure was significantly higher in the subgroup that received the *Passiflora edulis* extract on the 3rd day (P3) ( $42,6 \pm 17,8$  mmHg vs.  $25,4 \pm 14,1$  mmHg,  $p=0,028$ ), as compared to the control sub-group (C3). However, on the 7th day, bursting pressure was similar in both groups ( $p=0,447$ ). Rats from the C7 sub-group had a mean bursting pressure of  $203,0 \pm 50,0$  mmHg vs.  $187,3 \pm 39,5$  mmHg in the C7 sub-group. In the histologic analysis the polymorphic nuclear cells were more frequent in the C3 group, with significant differences ( $p=0,034$ ). The monomorphic nuclear cells (MMN) and the fibroblastic proliferation were more frequent in the P3 sub-group with a significant difference,  $p=0,02$  to MMN, and  $p=0,001$  to the fibroblastic proliferation. On the 7th day there was a significant difference in all histologic criteria stained by hematoxylin-eosin and Masson Trichomic ( $p<0,05$ ) in the sub-group that received the *Passiflora edulis* extracts. **Conclusion:** The peri-operative administration of the hydro-alcoholic extract of *Passiflora edulis* has a positive influence on the healing of colonic anastomosis in rats.

**Key Words:** Wound Healing, *Passiflora*, Anastomosis, Surgical, Rats.

## Introdução

A cicatrização é evento biológico complexo que envolve a inflamação, quimiotaxia, proliferação, diferenciação e remodelação<sup>1</sup>. Apresenta três fases consecutivas, de forma que em uma mesma fase podem ser encontrados os elementos das fases subseqüentes<sup>2</sup>.

A falha da anastomose é causa freqüente de morbidade e mortalidade nos procedimentos cirúrgicos sobre o cólon. Fatores como deficiência de vascularização, infecção, irradiação, anemia, diabetes, idade avançada e desnutrição, podem comprometer a cicatrização da anastomose intestinal<sup>3</sup>.

O uso de espécies vegetais com fins terapêuticos remonta ao início da civilização. Essa prática milenar ultrapassou obstáculos durante o processo evolutivo da humanidade, e chegou aos dias atuais<sup>4</sup>. Observa-se hoje o uso cada vez mais freqüente de plantas com fins medicinais<sup>5</sup>. A utilização de produtos naturais, especialmente de plantas medicinais, tem ocorrido de forma indiscriminada, com pouca base científica sólida, recebendo destaque exagerado como indispensáveis à boa saúde a ponto de despertar preocupação para botânicos, químicos, médicos e farmacêuticos<sup>6</sup>.

O Brasil é possuidor de solo riquíssimo, clima tropical favorável, portador de flora variada e volumosa, e grande biodiversidade<sup>7</sup>. Possui população habituada às propriedades medicinais da flora, culturalmente adaptada ao uso de plantas<sup>8</sup>. Dentre as plantas medicinais de uso freqüente no Brasil, encontra-se a *Passiflora edulis*, conhecida como maracujá e a espécie mais comum no Brasil<sup>9</sup>. Substâncias químicas, que são nela encontradas, incluem alcalóides (harmana, harmina, harmalina e harmol), flavonóides e carotenóides<sup>10</sup>.

Estudando as ações farmacológicas da *Passiflora edulis*, Silva et al<sup>11</sup>. em 2000 confirmaram a ação de depressão do sistema nervoso central. Em outro trabalho os mesmos autores demonstraram o efeito inibitório da função digestória. A atividade analgésica e anti-inflamatória do extrato etanólico da *Passiflora edulis* foi confirmado em 2001 também por Silva et al<sup>12</sup>.

Considerando-se que substâncias com efeito anti-inflamatório podem interferir no processo cicatricial, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito do extrato etanólico da *Passiflora edulis* na cicatrização das anastomoses colônicas

em ratos, mediante avaliação tensiométrica da anastomose pela pressão de ruptura e avaliação morfológica mediante o estudo macroscópico e microscópico da anastomose.

## Método

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís - MA., como parte do programa de Pós-Graduação do Mestrado Interinstitucional (MINTER) entre a Universidade Federal do Paraná (UFPR) e a Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Utilizaram-se as normas de Legislação de Animais de Experimentação, Lei Federal nº 6.638 (1979), as do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão Científica do Departamento de Medicina II da Universidade Federal do Maranhão.

### Descrição da amostra

Foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus albinus* – *Rodentia mammalia*), machos, adultos, jovens, da linhagem Wistar, com peso médio de 143,4g, sem sinais físicos de comprometimento da saúde, com idade de 50 a 60 dias. Eles foram confinados em gaiolas de plástico padronizadas para cinco animais, forradas com serragem com área de 0,15m<sup>2</sup>, com livre acesso a água e ração padrão para ratos. Foi respeitado período de aclimação de sete dias, em condições ambiente.

### Fitoterápico (material vegetal)

O fitoterápico utilizado foi a *Passiflora edulis* (maracujá), na dose 250mg/kg, em injeção intraperitoneal. O extrato hidroalcoólico foi preparado das folhas da planta adulta no Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da UFMA. As folhas foram secadas inicialmente em temperatura ambiente e, em seguida, em estufa para retirada da umidade a temperatura de 45 a 50°C por 24 horas. Posteriormente, foram submetidas ao processo de

moagem em moinho elétrico. Obteve-se pó de coloração esverdeada. O material foi pesado em balança comercial e, em seguida, adicionou-se solução hidroalcoólica a 70% na proporção 3:1 do pó. A cada duas horas, agitava-se a mistura manualmente por cinco minutos, por período de 12 horas. A mistura foi filtrada em funil de vidro simples e algodão, sob pressão baixa. Os procedimentos foram repetidos por duas vezes. Obteve-se, no final dessa filtração, extrato bruto de coloração verde escuro, o qual foi concentrado em evaporador rotativo sob pressão baixa a temperatura de 50 – 60°C para eliminação total do solvente. O material obtido se apresentou em forma de pasta. Estes procedimentos estão demonstrados na Figura 1.



**FIGURA 1** – Fases de preparação do extrato. Nota: A – Pó; B – Diluição; C – Filtração; D – Evaporação

Foram retiradas amostras para testes farmacológicos, realizados no Laboratório de Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFMA. O extrato apresenta a seguinte composição: proteínas, 9,98%; água, 58,63%; açúcares totais, 19,20%; lipídios, 5,24; sais minerais, 6,95; pH 5.1. A pasta final foi diluída em água destilada até a obtenção do extrato hidroalcoólico na concentração de 250mg/ml. O extrato líquido obtido foi acondicionado em recipiente de vidro fechado, mantido em refrigerador a 10°C, até a sua utilização.

A administração do extrato foi realizada após a execução da colotomia e da reconstituição do trânsito intestinal na solução de 250mg/ml do extrato, administrada com seringa em peritônio livre ao término da confecção da anastomose.

#### *Descrição dos grupos de estudo*

Os ratos foram distribuídos de forma aleatória em dois grupos de 20 animais cada e separados em dois subgrupos de 10 animais conforme descrição a seguir:

- Grupo *Passiflora edulis* (GP) - neste grupo os ratos foram submetidos à administração do extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* no volume de 0,11 a 0,17ml

na dependência do peso corpóreo, diretamente na cavidade peritoneal, logo após a realização da anastomose colônica e posteriormente, foram redistribuídos em dois subgrupos (GP3 e GP7), de acordo com o dia da morte, no 3° e 7° dia, respectivamente;

- Grupo controle (GC) - neste grupo, os ratos foram submetidos à administração isovolumétrica de solução salina a 0,9%, diretamente na cavidade peritoneal, após realização da anastomose colônica, conforme volume administrado no grupo *Passiflora edulis* (GP) e posteriormente foram redistribuídos em dois subgrupos (GC3 e GC7), de acordo com o dia da morte, no 3° e 7° dia, respectivamente.

#### *Experimento*

Doze horas antes do ato operatório, foi retirada a ração dos animais. Permaneceu livre o acesso a água. A indução anestésica foi feita com éter dietílico em campânula de vidro. Após o desaparecimento dos reflexos palpebrais, o rato foi pesado em balança eletrônica digital. Em seguida, ele foi posicionado sobre prancha cirúrgica de madeira (20cm x 30cm) em decúbito dorsal, fixado pelos membros torácicos e pélvicos com tensores elásticos. A manutenção da anestesia foi realizada com inalação intermitente do éter dietílico mediante vaporização artesanal<sup>13</sup>. Após a anestesia, realizou-se epilação da região ventral do abdome, seguida de anti-sepsia com solução de polivinil-pirrolidona-iodo e colocação do campo cirúrgico delimitando a região a ser operada. Não foi realizado preparo do cólon e não foram utilizados antibióticos.

Realizou-se incisão mediana com extensão de 4 cm. Foi realizada secção transversal total do cólon a 5 cm da reflexão peritoneal, com preservação da arcada marginal. Realizou-se anastomose das bordas em plano único com inversão da mucosa, com fio monofilamentar de polipropileno 6-0, com oito pontos, nós voltados para fora da luz intestinal e com justaposição das bordas do cólon.

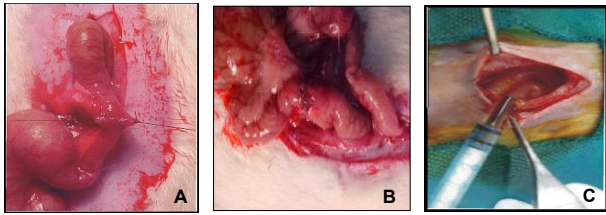
Após a anastomose, nos ratos do GP, procedeu-se à administração do extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* em dose única na cavidade peritoneal de 250mg/kg, cuja concentração foi 250mg/ml (Figura 2). Procedeu-se no GC, após a anastomose do cólon, administração intraperitoneal de solução salina a 0,9% em quantidade isovolumétrica. A síntese da parede abdominal foi realizada em dois planos com fio monofilamentar de nylon 5-0 em sutura contínua. Os ratos foram identificados com ácido pícrico: cabeça, cabeça-dorso, dorso, cauda e sem marca.

Após a operação, os animais foram acondicionados em gaiolas, contendo cinco ratos cada, e foram identificados conforme o grupo, período de aferição e o dia do ato operatório. Tiveram livre acesso a água e ração logo após a recuperação anestésica.

Os animais foram examinados e pesados diariamente. Verificaram-se a disposição para alimentação, atividade motora e complicações da ferida operatória.

Metade dos animais de cada grupo foi morta no 3° dia do pós-operatório e a outra no 7° dia do pós-operatório. A morte foi induzida com dose letal de éter sulfúrico inalatório. Em seguida, realizou-se laparotomia para-mediana direita





**FIGURA 2** – Fases do procedimento cirúrgico. Nota: A – Anastomose; B – Aspecto final da anastomose; C – Aplicação do Extrato

paralela à incisão mediana, com acesso à cavidade abdominal. Na seqüência, procedeu-se à retirada de segmento de 4 cm de comprimento do cólon, contendo a anastomose na porção média. As estruturas aderidas à anastomose do cólon foram retiradas em monoblocos. A peça foi lavada em água corrente. Observou-se o aspecto da anastomose pela face externa: presença de deiscências, fistulas e aderências, as quais foram classificadas conforme método de classificação de índice de Knighly<sup>14</sup> para aderências intra-abdominais, conforme demonstrado no Quadro 1.

**QUADRO 1** – Índice de aderência intra-abdominal proposto por Knighly<sup>14</sup>

GRAU	Característica
0	Ausência de aderências
1	Aderência única, fina e facilmente destacável
2	Aderências em pequena extensão, fracas e que se rompem com pequena tração
3	Aderências viscerais extensas que se estendem até a parede
4	Aderências numerosas, extensas e densas, que envolvem o mesentério, intestino, omento e parede abdominal

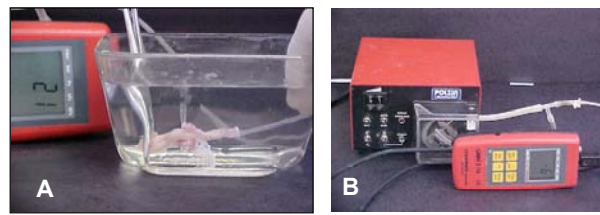
#### *Avaliação da pressão de ruptura por insuflação de ar*

A avaliação da pressão de ruptura por insuflação de ar foi realizada segundo a metodologia proposta por Warde<sup>15</sup>, e obedeceu às seguintes etapas:

- preparo da peça cirúrgica, mantendo-se as estruturas aderidas a ela;
- oclusão de uma das extremidades do cólon mediante ligadura com fio de algodão 2-0. Introdução de sonda de silicone nº 6 na outra extremidade do cólon e ligadura do cólon sobre a sonda com fio de algodão 2-0, a qual foi conectada à bomba de infusão que permitia a insuflação de ar na velocidade de 1mmHg/segundo, conectada a manômetro eletrônico, que media a pressão do ar insuflado em mmHg.

A peça foi colocada em submersão em recipiente (cuba de vidro) contendo água. Em seguida, procedeu-se à insuflação gradativa de ar até ocorrer borbulhamento na água, evidenciando a ruptura da peça. Registrou-se a pressão em mmHg, aferida no momento da ruptura. Estes procedimentos estão demonstrados na Figura 3.

#### *Avaliação microscópica*



**FIGURA 3** – Avaliação tensiométrica da anastomose. Nota: A – Momento da ruptura; B – Registro da pressão de ruptura

Os espécimes cirúrgicos do segmento colônico, envolvendo a anastomose, foram abertos longitudinalmente na borda antimesentérica, lavados com solução salina para retirada do resíduo fecal, fixados em formol a 10% e encaminhados ao Serviço de Patologia do Hospital Universitário Presidente Dutra da UFMA para processamento histológico. Foram realizados três cortes histológicos de 4µm de espessura, e as lâminas coradas pela técnica de rotina da hematoxilina-eosina (HE) para avaliação global dos cortes de tecido, e pelo Tricômico de Masson (TM), para demonstrar a presença de fibras colágenas existentes nos locais de fibrose do interstício. As peças foram examinadas através de microscópio óptico, com três objetivas: 4x, 10x, 40x e ocular de 10 vezes.

A análise dos cortes histológicos foi realizada pelo mesmo patologista, sem o conhecimento prévio da identificação dos grupos. Avaliaram-se, na área da anastomose, os parâmetros corados pela técnica da HE. Os dados obtidos dos parâmetros foram classificados em ausentes, discretos, moderados e acentuados, de acordo com a intensidade em que foram encontrados e transformados em variáveis quantitativas mediante atribuição de índice para o achado histológico. A presença de congestão, edema e polimorfonucleares foi indicativo de processo inflamatório agudo (fase inicial). A presença de monomorfonucleares, angiogênese (tecidos de granulação) e proliferação fibroblástica (fibrose); foram achados determinantes do processo inflamatório crônico. Aos índices do processo inflamatório agudo, foram atribuídos sinais negativos (-) e aos índices do processo inflamatório crônico, foram atribuídos sinais positivos (+). Quando ausente, o valor considerado foi zero (0), conforme demonstrado no Quadro 2.

Avaliou-se na área da anastomose a presença de colagenização corada pela técnica do Tricômico de Masson. A presença foi graduada em discreta, moderada e acentuada, sendo atribuído valores positivos +1, +2 e +3. Quando ausente, o valor considerado foi zero.

Após análise microscópica dos seis fatores e a somatória dos valores correspondentes à coloração pela técnica da HE, classificaram-se as reações inflamatórias de acordo com a fase de cicatrização, conforme demonstrado Quadro 3<sup>16</sup>.

Avaliou-se na área da anastomose a presença de colagenização corada pela técnica do Tricômico de Masson. A presença foi graduada em discreta, moderada e acentuada, sendo atribuído valores positivos +1, +2 e +3. Quando ausente, o valor considerado foi zero.

**QUADRO 2** – Classificação e atribuição de índices dos achados histológicos em HE (Hematoxilina-Eosina)

Achados HE	Intensidade dos achados			
	Ausente	Discreto	Moderado	Acentuado
Congestão	0	-1	-2	-3
Edema	0	-1	-2	-3
PMN	0	-1	-2	-3
Mononuclear	0	1	2	3
Prol. fibroblástica	0	1	2	3
Angiogênese	0	1	2	3

Após análise microscópica dos seis fatores e a somatória dos valores correspondentes à coloração pela técnica da HE, classificaram-se as reações inflamatórias de acordo com a fase de cicatrização, conforme demonstrado Quadro 3<sup>16</sup>.

**QUADRO 3** – Classificação da fase de cicatrização conforme análise do índice histológico obtido

Índice final de classificação	Fase da classificação
-9 a -3	Aguda (A)
-2,9 a + 2,9	Subaguda (B)
+3 a + 9	Crônica (C)

Processo inflamatório, foi considerado ausente, quando não se evidenciavam células inflamatórias; discreto, quando as células inflamatórias foram evidenciadas de forma isoladas, possibilitando visibilizar áreas livres de infiltrado; moderado, quando as células inflamatórias apareciam com maior frequência, constituindo agregados densos, mas possibilitando visibilizar áreas livres de infiltrado; e acentuado, quando as células inflamatórias foram evidenciadas com grande frequência, constituindo agregados densos e justapostos, sem áreas livres de infiltrados.

Proliferação fibroblástica, foi classificada em ausente, quando não se evidenciava proliferação de fibroblasto; discreta, quando havia esparsos fibroblastos proliferados em meio a tecidos conjuntivo frouxo; moderada, quando havia moderada quantidade de fibroblastos proliferados, constituindo pequenos feixes celulares multidirecionalmente; e intensa, quando havia grande quantidade de fibroblastos proliferados constituindo agregados compactos de células arranjadas multidirecionalmente.

Colagenização, classificou-se como ausente, quando não havia fibras colágenas depositadas; discreta, quando a deposição de fibras colágenas era em pequena quantidade, caracterizadas por fibras depositadas em meio aos fibroblastos proliferados; moderada, quando a deposição de colágeno formava feixes de fibras eosinofílicas espessas, intercaladas com áreas de tecidos conjuntivo frouxo e fibroblastos proliferados; e intensa, quando havia grande deposição de fibras colágenas, constituindo feixes de fibras eosinofílicas espessas, compactamente arranjadas em meio a fibroblastos proliferados e sem áreas de tecidos conjuntivo frouxo. Os dados coletados foram registrados em fichas individuais para cada animal.

### Análise estatística

Os dados obtidos da variável quantitativa foram expressos como média e desvio padrão. Foram analisados, utilizando-se programa Statistica for Windows 5.1. A pressão de ruptura por insuflação de ar foi analisada pelo teste t de Student. A avaliação das variáveis microscópicas e macroscópicas foi analisada pelo teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Para avaliar as proporções das reações inflamatórias, utilizou-se o teste  $\chi^2$ . O nível de significância (a) utilizado para se rejeitar a hipótese da nulidade foi de 5% ( $p < 0,05$ ). Foram feitas análises inter-grupos (*Passiflora* versus controle) no 3º e no 7º dia de pós-operatório com o objetivo de se avaliar o efeito da *Passiflora* no processo cicatricial. Também foram feitas análises intra-grupos (entre o 3º e o 7º dias) em cada grupo, para se avaliar a influência do tempo na cicatrização.

### Resultados

#### Avaliação macroscópica

Todos os animais recuperaram-se bem da anestesia, durante a evolução pós-operatória. Não houve mortalidade e não se observaram complicações de ferida operatória como hematoma, seroma, abscesso, evisceração ou eventração. Não houve diferença significativa no índice de aderência na análise inter-grupo entre os subgrupos controle e *Passiflora edulis* no 3º e 7º dia. ( $p=0,212$ ).

#### Avaliação tensiométrica

Na avaliação tensiométrica intergrupo, verificou-se maior média de pressão de ruptura por insuflação de ar no subgrupo P3 ( $42,6 \pm 17,8$  mmHg) em comparação ao subgrupo C3 ( $25,4 \pm 14,1$  mmHg), ( $p=0,028$ ). A avaliação tensiométrica do subgrupo P7 apresentou pressão de ruptura de  $203 \pm 50,0$  mmHg, enquanto o subgrupo C7 apresentou pressão de ruptura ( $187,3 \pm 39,5$  mmHg), não havendo diferença significativa ( $p=0,447$ ). Na avaliação intra-grupo verificou-se maior pressão de ruptura no 7º dia nos subgrupos controle e *Passiflora* quando comparado com os mesmos subgrupos no 3º dia havendo diferença significativa em ambos os grupos ( $p < 0,001$ ), conforme demonstrado na Figura 4.

#### Avaliação microscópica

A avaliação da inflamação aguda no 3º dia apresentou os polimorfonucleares mais frequentes no subgrupo P3, quando comparado ao subgrupo C3 com diferença significativa entre os subgrupos ( $p=0,034$ ). Não houve diferença significativa nas demais variáveis microscópicas da fase aguda entre os subgrupos controle e *Passiflora* no 3º dia, onde ( $p=0,131$ ) para congestão; ( $p=0,364$ ) para edema; ( $p=0,450$ ) para angiogênese; ( $p=1$ ) para colagenização, conforme demonstrado na Tabela 1. Os MMN e proliferação fibroblástica foram mais frequentes no subgrupo P3 que no subgrupo C3, com diferença significativa ( $p=0,002$ ) para primeira variável e

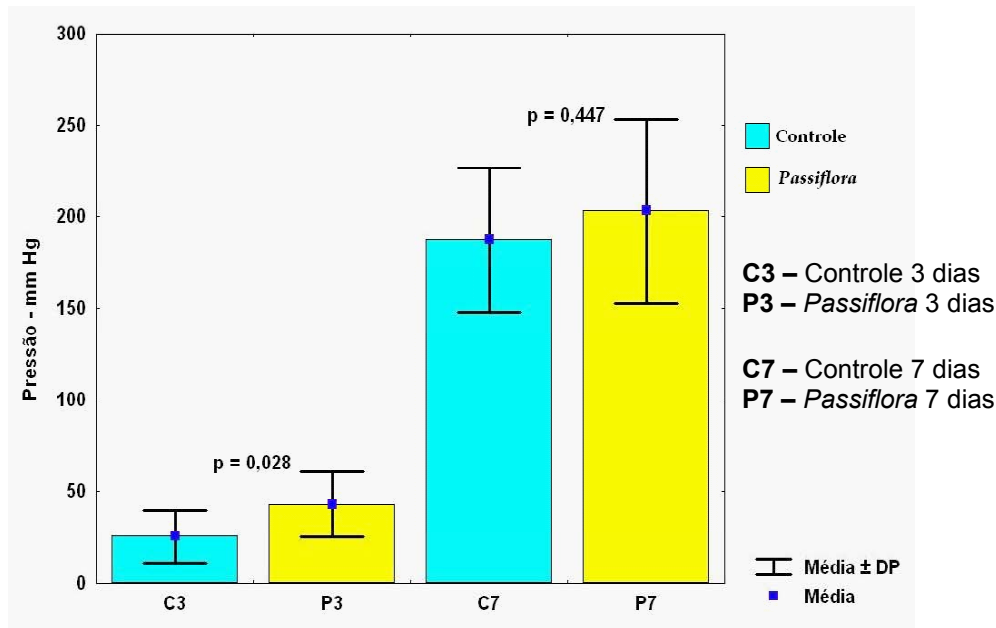


FIGURA 4 – Médias e desvio padrão da pressão de ruptura dos subgrupos C3, P3 E C7, P7

(p=0,001) para segunda variável, conforme demonstrado na Tabela 2 (Figuras 5 e 6).

A avaliação da inflamação crônica no 7º dia apresentou maior mediana em todas as variáveis microscópicas da fase aguda no subgrupo C7, quando comparado com o

TABELA 1 – Análise intergrupo das médias das variáveis microscópicas dos subgrupos C3 e P3. Mann-Whitney; Teste U. \*p = nível de significância estatística.

Variáveis	(C3)	(P3)	P
Congestão	-1,5	-1,0	0,131
Edema	-2,0	-1,0	0,364
PMN	-2,0	-3,0	*0,034
MMN	0,0	1,0	*0,001
P.fibroblástica	0,0	1,0	*0,001
Angiogênese	0,0	0,0	1
Colagenização	0,0	0,0	1

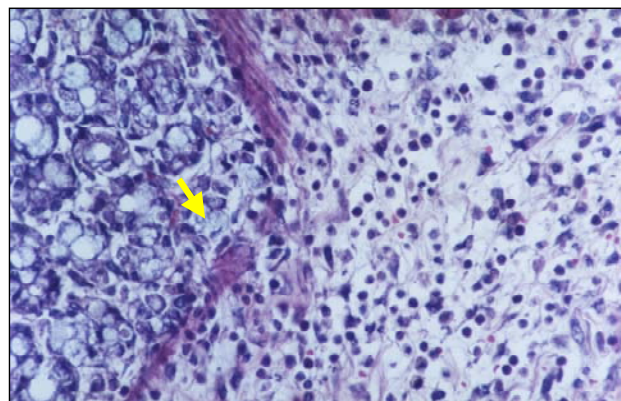


FIGURA 6 – Fotomicrografia de edema e infiltrado leucocitário moderado, animal *Passiflora* três dias. He 400x

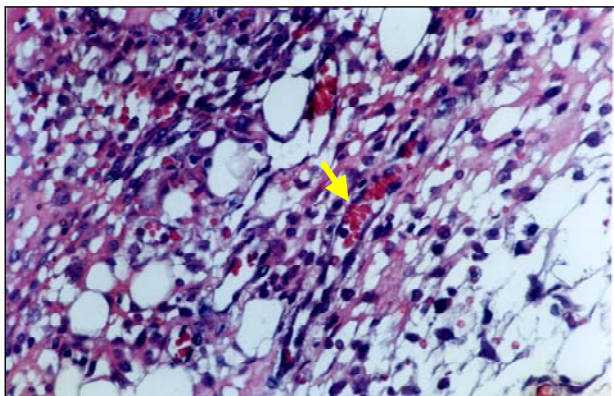


FIGURA 5 – Fotomicrografia de congestão vascular e edema, animal controle três dias. HE, 400 x

subgrupo P7, havendo diferença significativa. As variáveis microscópicas da fase crônica apresentaram medianas maiores no subgrupo P7, quando comparadas ao subgrupo C7, com diferença significativa, conforme demonstrado na Tabela 2 (Figuras 7 e 8).

A análise intragrupo das variáveis microscópicas dos subgrupos C3 e C7 não apresentou diferença estatística significativa, exceto a variável congestão, conforme demonstrado na Tabela 3.

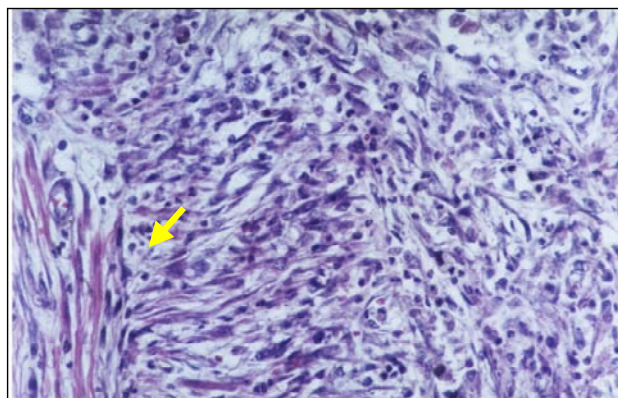
A análise intragrupo das variáveis microscópicas dos subgrupos C3 e C7 apresentou diferença significativa para as variáveis congestão e MMN (p<0,05). As demais variáveis não apresentaram diferença significativa (Tabela 3).

A análise intragrupo das variáveis microscópicas dos subgrupos P3 e P7 apresentou diferença significativa em todas variáveis. Observa-se que as microscópicas, que car-

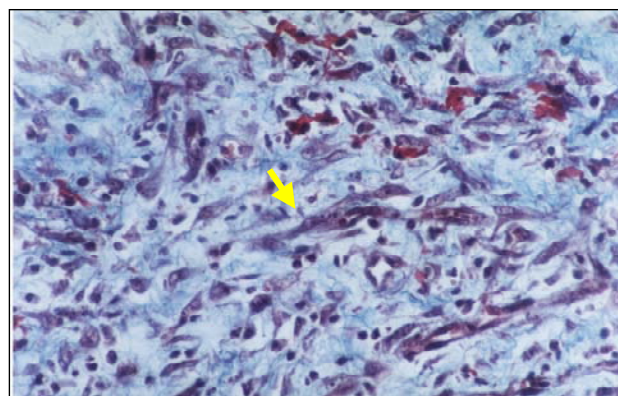


**TABELA 2** – Análise intergrupo das medianas das variáveis microscópicas dos subgrupos C7 E P7. Mann Whitney; Teste U. \*p = nível de significância estatística

Variáveis	(C3)	(P3)	P
Congestão	-1,0	0,0	*0,001
Edema	-2,0	0,0	*0,000
PMN	-2,0	-1,0	*0,008
MMN	1,0	3,0	*0,001
P.fibroblástica	0,5	3,0	*0,001
Angiogênese	0,0	1,0	*0,017
Colagenização	0,0	1,0	*0,002



**FIGURA 7** – Fotomicrografia de fibrogênese acentuada, animal *Passiflora* sete dias. H.E, 400x



**FIGURA 8** – Fotomicrografia de congestão vascular, edema moderado e fibrogênese discreta, animal controle sete dias. Tricômico de Masson, 400x

acterizam a fase aguda, são mais frequentes no subgrupo P3, enquanto as microscópicas que caracterizam a fase crônica são mais frequentes no subgrupo P7, conforme demonstrado na Tabela 4.

Foram avaliados os percentuais das reações inflamatórias agudas, subagudas e crônicas entre os subgrupos (C3 e P3) e (C7 e P7). Foram analisados estatisticamente pelo teste  $\chi^2$  para avaliar as proporções das reações inflamatórias que demonstrou diferença significativa ( $p=0,000$ ), conforme demonstrado nas Tabelas 5 e 6.

**TABELA 3** – Análise intragrupo das medianas das variáveis microscópicas dos subgrupos C3. Mann-Whitney; Teste U. \*p = nível de significância estatística

Variáveis	(C3)	(P3)	P
Congestão	-1,5	-1,0	*0,038
Edema	-2,0	-2,0	1
PMN	-2,0	-2,0	1
MMN	0,0	1,0	*0,002
P.Fibroblástica	0,0	0,5	0,059
Angiogênese	0,0	0,0	1
Colagenização	0,0	0,0	1

**TABELA 4** – Análise intragrupo das medianas das variáveis microscópicas dos subgrupos P3 E P7. Mann-Whitney; Teste U. \*p = nível de significância estatística

Variáveis	(C3)	(P3)	P
Congestão	-1,0	0,0	*0,000
Edema	-1,0	0,0	*0,000
PMN	3,0	-1,0	*0,000
MMN	1,0	3,0	*0,000
P.Fibroblástica	1,0	3,0	*0,000
Angiogênese	0,0	1,0	*0,002
Colagenização	0,0	1,0	*0,000

**TABELA 5** – Percentual das reações inflamatórias dos subgrupos C3 E P3. Teste  $\chi^2$  (2x2)=35,29. \*p=0,00

Reação Inflamatória	C3 (%)	P3 (%)
Aguda	100	70
Subaguda	0	30
Crônica	0	0

**TABELA 6** – Percentual das reações inflamatórias dos subgrupos C7 E P7. Teste  $\chi^2$  (2x3)=163,63. \* p=0,000

Reação Inflamatória	C7 (%)	P7 (%)
Aguda	60	0
Subaguda	30	0
Crônica	10	100

## Discussão

As espécies vegetais usadas pela população com finalidade terapêutica podem ser consideradas não só como matéria-prima, ponto de partida para descoberta de novos princípios ativos, mas também como recurso natural na forma de fitoterápico, de modo que a população com pouco poder aquisitivo encontra nos produtos de origem vegetal a única fonte de recurso terapêutico<sup>4</sup>.

Substâncias de origem vegetal são frequentemente pesquisadas com fins terapêuticos, procurando-se isolar, extrair ou purificar novos extratos. O maracujá, pertencente à família *Passifloraceae*, e a espécie *Passiflora edulis*, é a mais frequentemente encontrada em todo o Brasil. É popularmente usada como sedativo, analgésico e antiinflamatório. As soluções e cataplasmas produzidas a partir de suas folhas

são utilizadas popularmente para tratamento de infecções cutâneas, feridas e erisipelas.

O extrato aqui utilizado também foi produzido a partir das folhas da *Passiflora edulis*. O princípio ativo deve ser encontrado nas diversas substâncias químicas que incluem os alcalóides, flavanóides e carotenóides<sup>10</sup>. Silva et al. (2000)<sup>11</sup> confirmaram a ação inibitória da função digestória, mediante redução da motilidade, sugerindo atividade anticolinérgica da planta, semelhante à ação descrita por Carneiro et al. (1994)<sup>17</sup> no extrato da *Passiflora foetida*. A atividade analgésica e antiinflamatória encontrada por Silva et al. (2001)<sup>12</sup>, estudando o extrato etanólico da *Passiflora edulis* por via oral e intraperitoneal, foi observada através da redução do número de contorções abdominais induzidas por ácido acético, sugerindo ação semelhante aos medicamentos antiinflamatórios não-esteróides. O princípio ativo foi encontrado no caule do vegetal<sup>18</sup>, o mesmo ocorrendo com gênero *Passiflora* (passicol), que tem ação antifúngica e antibacteriana. Trabalhos deverão ser realizados para pesquisar, identificar, extrair e purificar as substâncias químicas encontradas nas folhas, no caule ou nos frutos com melhora no processo de obtenção do princípio ativo.

No estudo de Silva et al. (2001)<sup>12</sup>, a ação da *Passiflora* foi semelhante à da indometacina - medicamento antiinflamatório não esteróide -, cujo mecanismo de ação, é inibir a síntese de prostanoídes<sup>19</sup>. Sabe-se que os antiinflamatórios não-esteróides reduzem a colagenólise nos primeiros três dias da cicatrização intestinal e exercem efeito favorável na cicatrização intestinal por aumentarem a produção do colágeno, devido às suas atividades antiprostaglandina E2. O misoprostol, uma prostaglandina E1 sintética, tem ação inversa, elevando o conteúdo de colágeno das anastomoses, após 14 dias<sup>20</sup>.

Sabendo-se da atividade antiinflamatória da *Passiflora edulis*, procurou-se verificar o efeito dessa atividade no processo de cicatrização da anastomose colônica em ratos, uma vez que as anastomoses do intestino grosso apresentam maiores taxas de complicações, quando comparadas com as suturas do intestino delgado e estômago, apesar dos avanços de sutura intestinal, anestesia, antibióticos e fios de sutura<sup>16</sup>.

Neste trabalho, utilizou-se a administração do extrato hidroalcoólico da *Passiflora edulis* por via intraperitoneal porque produz o efeito mais rápido e expressivo, dada a maior rapidez de absorção das substâncias presentes no extrato<sup>21</sup>.

Não se observaram complicações, como fistulas ou abscessos intra-abdominais em nenhum dos grupos. Foram observadas aderências em ambos os grupos, sendo o índice de adesão mais freqüente o grau 2, sem diferença significativa entre os grupos. Esses resultados sugerem que o extrato da *Passiflora edulis* não induz à formação de aderências intrabdominais.

No presente estudo determinou-se a pressão de ruptura pela resistência à insuflação de ar, mediante a técnica preconizada em nosso meio por Warde em 1972<sup>15</sup>. Procurou-se não desfazer as aderências da peça cirúrgica, pois as manipulações indevidas na anastomose frágil, no estágio inicial, poderiam prejudicar a obtenção dos resultados mais

próximos do real<sup>21</sup>.

Observou-se baixa resistência cicatricial à pressão de ruptura por insuflação de ar no 3º dia do pós-operatório, porém esta foi estatisticamente maior no subgrupo que recebeu o extrato de *Passiflora edulis*. No 7º dia houve elevação da média de pressão de ruptura por insuflação de ar em ambos os grupos em relação ao 3º dia de pós-operatório, porém não houve diferença significativa entre os subgrupos ( $p=0,447$ ). A baixa pressão de ruptura está relacionada com maior colagenólise no 3º dia do pós-operatório.

Os resultados estatísticos demonstraram maior pressão no subgrupo P3 com diferença significativa, que pode resultar da ação antiinflamatória da *Passiflora edulis* que modelou a reação inflamatória aguda acentuada para reação moderada, ocorrência observada nos cortes histológicos, mediante redução do edema e do infiltrado inflamatório, quando comparado ao subgrupo C3. Essa atividade antiinflamatória se assemelha aos resultados obtidos por Silva et al. (2001)<sup>12</sup>. Portanto, a ação do extrato da *Passiflora edulis* pode associar-se a aumento da resistência à ruptura na fase aguda (3º dia) nas anastomoses colônicas em ratos. Houve presença acentuada de fibrogênese no subgrupo que recebeu *Passiflora edulis* avaliado no 7º dia, enquanto o edema e o infiltrado inflamatório predominaram no subgrupo controle avaliado no 7º dia. Entretanto, quando se comparou a pressão de ruptura entre os subgrupos, não houve diferença estatística significativa.

Observou-se, no presente estudo, que o subgrupo que recebeu *Passiflora edulis* logo após a anastomose, apresentou infiltrado inflamatório mais moderado tanto na fase aguda quanto na fase crônica em relação ao subgrupo controle. Esse fato sugere que a *Passiflora edulis* produziu aceleração da cicatrização nas duas fases do processo de reparação tecidual.

Outro fator favorável à idéia de que a *Passiflora edulis* influencia favoravelmente o processo inflamatório, foi observado no resultado final do somatório dos achados histológicos, o qual demonstrou que o subgrupo que recebeu *Passiflora edulis* e avaliado no 3º dia, apresentou reação inflamatória subaguda em 30% dos animais, enquanto o subgrupo controle apresentou 100% de reação inflamatória aguda. A reação inflamatória crônica, no 7º dia ocorreu em 100% dos animais do subgrupo *Passiflora edulis*, enquanto no subgrupo controle ocorreu somente em 10%.

O uso da *Passiflora edulis* associou-se a aumento da intensidade do infiltrado mononuclear, da proliferação fibroblástica (fibrose) e do tecido de granulação (angiogênese), achados histológicos típicos do processo inflamatório crônico. Isto reforça a idéia de que a *Passiflora edulis* interferiu na celularidade, moderando a reação inflamatória, a qual favoreceu a aceleração da cicatrização na fase aguda e crônica das anastomoses colônicas.

Uma questão que se poderia levantar é se o extrato de *Passiflora* teve efeito farmacológico, nutricional ou farmacnutricional (farmaconutriente). Alguns estudos demonstraram efeito de aminoácidos ou ácidos graxos na melhora da resistência tênsil de anastomoses colônicas em ratos. Greca et al. (2000)<sup>22</sup> avaliaram a ação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) na cicatrização do cólon de ratos submetidos



à operação de Hartmann, infusão de solução salina isotônica no grupo controle, e infusão de solução isomolar contendo AGCC no grupo experimento, por sete dias. Concluíram que a infusão intraluminal de AGCC aumenta a concentração de colágeno maduro e total na linha de sutura do cólon retal, quando comparado ao grupo controle.

Costa et al. (2003)<sup>25</sup> avaliaram a suplementação oral de glutamina, na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos, randomizados para receber diariamente por sete dias, no pré-operatório, solução isonitrogenada e isovolumétrica (1,5g/kg/dia) através de um tubo orogástrico. Concluíram que a suplementação oral de glutamina no perioperatório aumenta a força tênsil de ruptura e aumenta o percentual de colágeno maduro nos locais de anastomoses no 3º e 8º dias do pós-operatório.

### Conclusão

A administração da *Passiflora edulis* influencia positivamente e de forma significativa a cicatrização das anastomoses colônicas em ratos até o 3º dia do pós-operatório.

### Referências

- Clark RAF, Henson PM. The molecular and celular biology of wound repair. New York: Plenum Press; 1988.
- Modolin M, Bevilacqua RG. Cicatrização das feridas. Síntese das aquisições recentes. Rev Bras Clin Terap. 1985; 14:208-13.
- Irvin TT, Goligher JC. Aetiology of disruption of intestinal anastomoses. Br J Surg. 1973; 600:461.
- Stasi LC. Plantas medicinais: arte e ciência. São Paulo: UNESP; 1996.
- Muniz MS. O bem e o mal das plantas medicinais. Presença pedagógico. 1997; 3:80-4.
- Secco RS. Produtos naturais: alternativa segura? Rev Cien Cult. 1990; 42:807-10.
- Cysneiros RM. Mecanismo de ação hipotensora do extrato aquoso e frações purificadas de *Cecropia glazioui* sneth.[Tese-Doutorado]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina; 1996.
- Elisabetsky E. Pesquisa em plantas medicinais. Cien Cult. 1987;39: 649-702.
- Cavalcante PB. Frutos comestíveis da Amazônia. 2.ed. Belém: Habib Fraiha Neto; 1976.
- Lutomski J, Malek B, Rybacka L. Pharmacochemical investigations of the raw materials from *Passiflora* genus. 2. The Pharmacochemical estimation of juices from the fruits of *Passiflora edulis* and *Passiflora edulis* forma flavicarpa. Planta Med. 1975;27:112-21.
- Silva BTF, Freire SMF. Estudos farmacológicos do extrato etanólico de folhas de *Passiflora edulis* (maracujá amarelo) em ratos e camundongos. Rev Cien Saude. 2000; 2:21-4.
- Silva BTF, Nunes SFLC, Freire SMF. Efeito antiinflamatório, analgésico e antipirético do extrato etanólico de folhas de *Passiflora edulis* var. flavicarpa (maracujá amarelo). Cad Pesqui. 2001;11.
- Brito MVM, Brito NMB, Almeida AJB, Santos MRLC. Vaporizador artesanal de éter para cirurgia experimental em pequenos roedores. Acta Cir Bras. 1998;13:3-7.
- Knighthly JJ, Agostino D, Cliffton EE. The effect of fibrinolisin and heparin on the formation of peritoneal adhesions. Surg. 1962;52:250-8.
- Warde PJ. Anastomose colorretal experimental em um e em dois planos de sutura: Estudo comparativo. [Tese-Doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 1972.
- Soares EWS, Campos ACL, Matias JEF, Coelho JCU, Malafaia O. Influência da quimioterapia pós-operatória com 5-fluorouracil, na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2002;15:31-5.
- Carneiro AB, Fonteles MC. Efeitos autonômicos da *Passiflora foetida*. In: Simpósio de plantas medicinais do Brasil. 13.ed. Fortaleza; 1994.
- Nicolls JM, Birner J, Forsell P. Passicol, an antibacterial and antifungal agent produced by *Passiflora* plant species: qualitative and quantitative range of activity. Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization; 1972.
- Insel PA. Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: Molinoff PB, Ruddon RW, editores. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9.ed. New York: McGraw-Hill; 1996.
- Oliveira PG, Soares EG, Aprilli F. Influence of misoprostol, a synthetic prostaglandin E1 analog on the healing of colonic anastomoses in rats. Dis Colon Rectum. 1994;37:660.
- Hendriks T, Mastboom WJB. Healing of experimental intestinal anastomoses: parameters for repair. Dis Colon Rectum. 1990;33:891-901.
- Greca FH, Biondo-Simões MLP, Ioshi S, Santos EAA, Chin EWK, El Tawil II, Stalhschmidt FL. Cicatrização de anastomose do cólon esquerdo com doença inflamatória: estudo experimental em ratos. Acta Cir Bras. 2000; 15: 41-6.
- Costa MA, Campos ACL, Coelho JCU, Barros AM, Matsumoto HM. Oral glutamine and the healing of colonic anastomoses in rats. JPEN Parenter Enteral Nutr. 2003; 27:182-5.

---

**Correspondência:**

Av. Holanda, 9, Quadra 24, Ap 501  
Ed. Amsterdã  
Renasença II - São Luis -MA  
CEP: 65078-650

Conflito de interesses: nenhum  
Fonte de financiamento: Capes

Recebimento: 07/02/2005

Revisão: 03/02/2005

Aprovação: 12/05/2006

---

**Como citar este artigo:**

Bezerra JAF, Campos ACL, Vasconcelos PRL, Nicareta JR, Ribeiro ER, Sebastião APM, Urdiales AIA, Moreira M, Borges AM. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de anastomose colônica em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. Acta Cir Bras. [periódico na internet] 2006;21 Supl 3:16-25. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>

---

\*Figuras coloridas disponíveis em [www.scielo.br/acb](http://www.scielo.br/acb)