

**UNIVERSIDADE TIRADENTES
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA**

REJANE ARAÚJO DOS SANTOS
SALETE LUCY SANTOS

**AVALIAÇÃO DO USO DO ÓLEO ESSENCIAL *Alpinia zerumbet*,
ZINGIBERACEAE EM ATIVIDADE FOTOPROTETORA MEDIANTE
RADIÇÃO UVA/UVB EM MODELO MURINO**

Aracaju
2020

REJANE ARAÚJO DOS SANTOS

SALETE LUCY SANTOS

**AVALIAÇÃO DO USO DO ÓLEO ESSENCIAL *Alpinia zerumbet*,
ZINGIBERACEAE EM ATIVIDADE FOTOPROTETORA MEDIANTE
RADIAÇÃO UVA/UVB EM MODELO MURINO**

Trabalho de Conclusão de curso
apresentado à Universidade
Tiradentes como um dos pré-
requisitos para obtenção do grau de
Bacharel em Fisioterapia.

ORIENTADOR (A):

Dra. Prof.^a Edna Aragão Farias
Cândido

Aracaju

2020

**AVALIAÇÃO DO USO DO ÓLEO ESSENCIAL *Alpinia zerumbet*, ZINGIBERACEAE
EM ATIVIDADE FOTOPROTETORA MEDIANTE RADIAÇÃO UVA/UVB EM
MODELO MURINO**

Rejane Araújo dos Santos

Salette Lucy Santos

RESUMO

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, que pode sofrer alterações quando exposto a radiação ultravioleta principalmente pelo espectro UVA/UVB, podendo gerar efeito cumulativo sobre a pele a depender do grau de exposição, provocando o fotoenvelhecimento. O presente estudo tem como objetivo geral avaliar os benefícios do uso do óleo essencial *Alpinia Zerumbet Zingiberaceae* nas atividades fotoprotetora mediante radiação UVA/UVB em modelo murino. Trata-se de uma pesquisa experimental, realizado com 15 ratos (Wistar) escolhidos de forma aleatória, divididos em 3 grupos: Grupo controle Lesão sem proteção (GL), grupo lesão tratado com creme veículo (GV), e grupo lesão tratado com OEAz (GOEAz-0,3mg), ambos induzidos a irradiação UVA/UVB, e tratados por 28 dias. Para realizar a análise do padrão de neoformação do colágeno, utilizou-se a técnica histoquímica de Picrossírius. A análise estatística foi através do programa PRISMA 6.01.0, com análise das variáveis entre os grupos utilizando ANOVA ONE-WAY com pós-teste Tukey, onde $p < 0,05$ foi considerado significativo para as variáveis: espessura dos quatro estratos da derme e intensidade de colágeno tipo I e III. Nos resultados foi encontrado que o GL apresentou estrato germinativo maior, já o GV predominou o espinhoso, e no GOEAz-0,3mg o maior foi o granuloso, apresentando-se de forma significativa. Quanto à intensidade do colágeno, observou-se melhor intensidade de colágeno tipo III nos estratos germinativo e espinhoso, e colágeno tipo I no estrato córneo no GOEAz-0,3mg. Com o estudo, conclui-se que o grupo GOEAz-0,3mg apresentou-se mais adequado em relação à produção de colágeno no tecido epitelial de ratos induzidos ao fotoenvelhecimento.

Palavras-chave: *Alpinia*. Envelhecimento da pele. Óleo essencial.

**EVALUATION OF THE USE OF ESSENTIAL OIL *Alpinia zerumbet*,
ZINGIBERACEAE IN PHOTOPROTECTIVE ACTIVITY THROUGH UVA/UVB
RADIATION IN MURINE MODEL**

SUMMARY

The skin is considered the largest organ in the human body, which can suffer alterations when exposed to ultraviolet radiation mainly by the UVA/UVB spectrum, and may generate cumulative effect on the skin depending on the degree of exposure, causing photoaging. The general objective of this study is to evaluate the benefits of the use of essential oil *Alpinia Zerumbet Zingiberaceae* in photoprotective activities through UVA/UVB radiation in murine model. It is an experimental research, carried out with 15 rats (Wistar) chosen from were randomized, divided into 3 groups: Control Group Unprotected Injury (GI), Injury group treated with vehicle cream (GV), and Injury group treated with OEAz (GOEAz-9.000oz), both induced to UVA/UVB irradiation, and treated for 28 days. To perform the analysis of the collagen neof ormation pattern, the histochemical technique of Picrossirius was used. The statistical analysis was through the PRISMA 6.01.0 program, with analysis of the variables between the groups using ANOVA ONE-WAY with Tukey post-test where $p < 0.05$ was considered significant for the variables: thickness of the four strata of the dermis and intensity of collagen type I and III. In the results it was found that the GI presented a larger germinative stratum, while the GV predominated the thorny, and in GOEAz-9.000oz the largest was the granular, presenting significantly. As or collagen intensity, the best intensity of type III collagen was observed in the germinative an thorny strata, and type I collagen in the horny stratum in GOEAz-9.000oz. The study, concluded that the GOEAz-9.000oz group was more adequate in relation to the production of collagen in the epithelial tidsue of rats induced to photoaging.

Keywords: *Alpinia*. Skin aging. Essential oil.

1 INTRODUÇÃO

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano constituído por duas camadas: a epiderme e a derme, tecidos intimamente ligados que atuam em conjunto para desenvolver múltiplas funções, entre elas a de revestimento, pigmentação, absorção, termo-regulação e proteção contra agentes internos e externos, além de ser o mais exposto a essas radiações (MESSTERMANN et al., 2018).

A epiderme é formada por cinco estratos: o germinativo (rico em colágeno tipo III) composto por células basais (Merkel e Melanócitos) que irão sofrer divisão celular para formação das camadas superiores; o espinhoso (rico em colágeno tipo III) possui células com desmossomos e prolongamentos que as unem a células vizinhas, nesse estrato iniciam-se o processo de queratinização, as células de Langerhans presentes confere proteção imunológica ao tecido; o granuloso é formado por células cúbicas que acumulam grânulos de queratohialina, garantindo resistência à queratina, que quando se decompõe libera substâncias que ativam o fator de hidratação natural; o lúcido (composto por células anucleadas e achatadas) é responsável por deter células mortas ou em fase de regeneração; o córneo (rico em colágeno tipo I) é a camada responsável pela formação da barreira de proteção (queratina e lipídeos) contra agentes físicos, químicos e biológicos, além de promover impermeabilidade ao tecido (TOFFETI et al., 2006; MESSTERMANN et al., 2018; ALMEIDA, 2020).

A derme é formada por tecido conjuntivo, rico em fibras de colágeno e elastina, sendo a camada responsável pela nutrição e sustentação da epiderme (ALMEIDA, 2020).

O fotoenvelhecimento é provocado pela exposição prolongada aos raios ultravioleta (RUV), que ao penetrar na pele libera substâncias oxidativas e radicais livres alterando toda a mecânica celular, gerando lesões reversíveis ou não ao DNA, a depender do seu comprimento de onda, ocasionando flacidez muscular e cutânea, comprometimento da aparência externa do tecido, ou até mesmo o câncer, repercutindo na autoestima e qualidade de vida do indivíduo (SHIRATA, 2019; ALMEIDA, 2020). Tais alterações podem ser atenuadas com o uso de fotoprotetores, vestimentas e acessórios adequadas, diminuindo o risco de lesão, envelhecimento precoce, alterações cancerígenas, além da redução do colágeno e elastina (GONTIJO, 2015; ROMANHOLE et al., 2015).

A radiação por UVA acontece de forma indireta, incitando a produção de processos oxidativos e radicais livres, interferindo no fornecimento adequado de energia para a célula. Já a radiação pelo espectro UVB, atua de forma direta no desenvolvimento do ciclobutano de

pirimidinas e fotoproducto, gerando distúrbios de replicação e diferenciação celular (LOPES et al., 2017).

Entre as modificações histológicas provocadas pela luz ultravioleta (UV), destaca-se na epiderme o adelgaçamento da camada espinhosa e o achatamento da junção derme epidérmica, os queratinócitos envelhecidos ficam resistentes a apoptose, deixando-o favorável à mutação de DNA e conseqüentemente à Carcinogênese (FRUET, 2015).

Quanto às alterações bioquímicas, observa-se na pele fotoenvelhecida a perda da elasticidade, devido à diminuição de percussores de colágeno I, aumento de colágeno III acompanhado do processo degenerativo de elastina na barreira derme-epiderme, contribuindo com a formação de rugas (FRUET, 2015).

A fim de atenuar tais alterações, os filtros solares têm se destacado entre os diversos tipos de cosméticos disponíveis no mercado como meio de proteção a essas radiações, principalmente quando utiliza os filtros UVA e UVB em combinação. Os filtros dividem-se em: bloqueadores químicos (absorve a radiação solar tornando-a menos energética); e os bloqueadores físicos (refletem e dispersam as radiações). Porém, os filtros solares naturais vêm sendo estudados para formulações e estudos de moléculas com função fotoprotetora advindas de plantas que possuam substâncias antioxidantes (TOFFETI et al., 2006; FREITAS; JALIL, 2018; LOBOSCO et al., 2020).

Em estudo realizado Tu et al. (2015), foi relatado forte atividade antioxidante e antimelanogênica, de óleos essenciais de duas variações da *Alpinia zerumbet*, *Tairin* e *Shima*. Essa atividade evidenciou ação forte do *Tairin* contra uma série de enzimas envolvidas com o processo de envelhecimento, tais como colagenase, tirosinase, hialuronidase e elastase. Estudo de Shahinozzaman et al. (2018) encontrou resultado semelhante de efeito inibitório considerável nas vias inflamatórias e melanogênicas dos compostos naturais da folha *excelsa* da *Alpinia zerumbet*.

Nesse contexto tem-se a *Alpinia zerumbet*, Zingiberaceae, que possui grande propriedade fitoterápica, cujo efeito antioxidante, anti-inflamatório, entre outros. Seus princípios ativos são encontrados em maior quantidade no óleo essencial da *Alpinia zerumbet* (OEAz), onde se destaca os terpeno-4-ol com 37,62% e 1,8 cineol com 17,58% (SANTOS et al., 2011).

Estudos pré-clínicos utilizando o OEAz, tem evidenciado uma variedade de efeitos benéficos além da ação anti-inflamatória, como a regeneração do tecido conjuntivo e ação reguladora dos canais de cálcio. Tais efeitos deve-se a presença de terpenos na sua

composição, que age diretamente na inflamação, inibindo a produção de interleucinas e reduzindo a síntese Fatores de Necrose Tumoral alfa (TNF α) (CAL, 2005).

Baseado nos estudos acima é possível que os constituintes encontrados no OEAz possam diminuir os efeitos do fotoenvelhecimento na pele causado por radiação de espectro UVA/UVB, através de mecanismos de ação anti-inflamatória e antioxidante atenuando desta forma a lesão tecidual.

O presente estudo tem como objetivo geral avaliar os benefícios do uso do óleo essencial *Alpinia zerumbet* Zingiberaceae em atividades fotoprotetora mediante radiação UVA/UVB em modelo murino.

2 METODOLOGIA

2.1 Tipo de Estudo

Pesquisa do tipo experimental, com aprovação do Comitê de Ética em Animais/UNIT (CEUA) nº 040615 (ANEXO 1). Os animais (n=15) adultos de ambos os sexos, peso entre 200 e 350g e raça Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) foram provenientes do Biotério da Universidade Tiradentes.

2.2 Amostra e Doses de Tratamento

A confecção dos grupos foi de forma aleatória, divididos em 3 grupos: Grupo controle lesão sem proteção a RUV (GL), grupo tratado com creme veículo (GV), e grupo tratado com OEAz (GOEAz-0,3mg). Os tratamentos foram aplicados 30 minutos antes da exposição a radiação, durante 28 dias (período em que acontece o processo de regeneração tecidual) em volumes suficientes para cobrir a área de lesão de 2cm².

2.3 Procedimentos

Os animais foram pesados e acomodados de forma adequada em decúbito externo e dorso exposto para serem tricotomizados na região torácica, sempre que necessário para externar a área submetida aos tratamentos.

A indução do envelhecimento da pele por irradiação solar, foi realizada no dorso do animal seguindo as seguintes orientações: fonte de irradiação UVA-UVB produzida por

lâmpada de espectro contínuo entre 270 e 400nm, sendo 33% de UVA e 10% de UVB. A lâmpada foi disposta a uma distância de 20 cm da base de apoio onde os ratos foram submetidos a aplicações diárias de irradiações com duração de 5 minutos durante 28 dias, com uma dose diária de irradiação de 1,9 J/cm² (SERAFINI et al., 2014).

2.4 Eutanásia

Após o período de tratamento, os animais foram anestesiados com Cloridrato de Ketamina a 10% (95mg/kg), Cloridrato de Xilazina a 2% (12mg/kg) com aplicação intraperitoneal e eutanasiados em câmara de gás. Em seguida, foi realizado cortes histológicos longitudinal para biópsia do tecido dérmico, epiderme e hipoderme até o acesso as fâscias musculares.

2.5 Processamento do material biológico

As amostras teciduais foram impregnadas em formol tamponado a 10% em pH 7±0,2 por 48 horas e desidratadas em álcoois em concentrações crescentes até álcool absoluto, seguido de Xilol. Logo após foi realizada a infusão em parafina, e micro cortada em 5µm em Micrômetro semiautomático, prosseguindo para coloração tecidual em Picrossírius.

2.6 Análise de Picrossírius

A análise para caracterização histomorfopatológica foi realizada utilizando os materiais biológicos do tecido cutâneo já preparado em lâminas.

Para análise do padrão de neoformação do colágeno, foram confeccionados cortes histológicos em secções de 5 µm de espessura e corados pela técnica histoquímica do Picrossírius, seguido de análise sob luz polarizada (ALBUQUERQUE et al., 2009). Entretanto, utilizou-se polarizador para luz transmitida (45 MM U-POT, Olympus) acoplada a microscópio trinocular CX31 (Olympus), com sistema de captura de imagens C-70070 WIDE ZOOM Olympus.

A análise descritiva do padrão da formação do colágeno seguiu as seguintes variáveis: birrefringência (esverdeada ou amarelo-esverdeada para colágeno tipo III imaturo, e alaranjada ou avermelhada para colágeno tipo I maduro), espessura (delgado-delicada ou espesso-grosseira), e disposição (ondulada ou estirada).

A operacionalização desse estudo foi através da aquisição de imagens referente a cada caso. Cada lâmina foi fotomicrografada em 5 regiões diferentes com ampliação de 100x, para extensão total de cada tecido. As imagens capturadas foram digitalizadas por meio do software de captura de imagens Olympus 2000®. Logo após as imagens foram projetadas em monitor Samsung® de 14'', com sobreposição de um retículo contendo 100 pontos testes em quadrículas (totalizando 500 pontos contados em cada lâmina analisada).

2.7 Análise Semiquantitativa da Intensidade de Colágeno

Para análise semiquantitativa da intensidade de colágeno, foi realizada uma adaptação da escala de Albuquerque et al. (2009), que atribui a quantificação de colágeno em porcentagem de ocupação por área total. A quantificação de intensidade do colágeno foi classificada de ausência total à intenso (QUADRO 1).

Quadro 1. Descrição dos parâmetros para avaliação histológica da intensidade de colágeno.

(%) DE OCUPAÇÃO POR ÁREA TOTAL	SEMIQUANTIFICAÇÃO DA INTENSIDADE DE COLÁGENO
0 %	Ausente
<10%	Fraco
10% a 50%	Moderado
>50%	Intenso

Fonte: Adaptado de Albuquerque et al., 2009.

2.8 Tamanhos de Extrato Córneo

A espessura da epiderme dos extratos córneos das áreas submetidas às fotos lesões foi mensurada pelo programa AxionVision SE64 4.9.1. A mensuração foi em micrômetro de cada imagem adquirida em ocular também de 100x.

2.9 Análise Estatística

Os experimentos dos grupos seguiram divididos de acordo com as variáveis a serem estudadas, todos os valores foram expressos como média e desvio-padrão. O programa PRISMA 6.01 foi utilizado para análise estatística. E para analisar as variáveis entre os grupos, utilizou-se o teste ANOVA ONE-WAY com pós-teste Tukey para a comparação entre

os grupos após normalização dos dados pelo teste Shapiro-Wilk. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram demonstrados de acordo com a qualidade de regeneração que se expressa pela espessura dos cinco estratos da epiderme, apresentado entre os grupos (GL, GV e GOEAz), após 28 dias de tratamento. Foi mensurado o tamanho dos estratos e observado os tipos de colágeno (colágeno tipo I e tipo III) em cada estrato utilizando a técnica histoquímica de Picrossírius, baseado nos estudos apresentados por Rittié (2017).

Sobre o tamanho dos estratos, foi observado em nosso estudo que o grupo GL apresentou-se com o estrato germinativo maior em relação aos demais estratos de forma significativa ($p < 0,001$) quando comparado com os demais grupos, com média de $6,85 \pm 1,03$ representando intensa atividade mitótica. Os demais estratos apresentaram tamanhos de: estrato granuloso ($2,55 \pm 0,93$), estrato córneo ($1,76 \pm 1,18$) e espinhoso ($0,59 \pm 0,24$). Em relação ao grupo GV, foi observado predominância maior de forma significativa ($p < 0,001$) do estrato espinhoso responsável pelo processo de queratinização com média $6,87 \pm 1,18$ em relação ao estrato granuloso ($4,54 \pm 0,71$). Já em relação aos estratos germinativo e granuloso no mesmo grupo, não houve diferença significativa entre os mesmos.

Por sua vez, o grupo GOEAz apresentou estrato granuloso maior com média $1,10 \pm 0,13$ de forma significativa garantindo resistência aos queratinócitos e hidratação natural à pele, seguido do estrato germinativo ($0,84 \pm 0,28$) e estrato espinhoso ($0,67 \pm 0,17$) ((FIGURA 1A, 1B e 1C)).

Quanto ao estrato córneo, de forma isolada, foi observado um aumento considerável no grupo GL, com mediana e erro-padrão da média de $1,5 \pm 0,37$ quando comparado com o grupo GV ($0,22 \pm 0,27$; $p < 0,05$) e grupo GOEAz ($0,05 \pm 0,05$; $p < 0,001$). O grupo GL apresentou uma camada mais espessa, o que dificulta a permeabilidade seletiva de água no tecido, deixando os demais estratos desprotegidos (FIGURA 2).

Na figura 2, é possível verificar a qualidade de regeneração do tecido pelo tipo de colágeno e espessura dos estratos. As camadas lúcidas e córneas apresentaram-se espessas com células pouco arredondadas, apesar de anucleadas nos grupos GL e GV. O tecido espesso e denso foi observado nas demais camadas do grupo GL, enquanto no GV foi encontrado um tecido menos denso e mais frouxo. Já no grupo GOEAz-0,3mg a camada córnea associada à lúcida mostrou-se alinhada e mais delgada com células achatadas. Em relação às demais

camadas foram observado um tecido mais frouxo, com anexo de pêlos e mais espesso logo abaixo da camada córnea, visualizando a presença do estrato lúcido.

O tipo de colágeno é identificado na berrifrigência (Figura 3). No GL e GV é percebida a presença de colágeno tipo I nas camadas espinhosa, granulosa e lúcida/córnea, exceto na camada germinativa. Já no GOEAz-0,3mg foi observado intensa quantidade de colágeno tipo III em todas as camadas abaixo da lúcida/córnea.

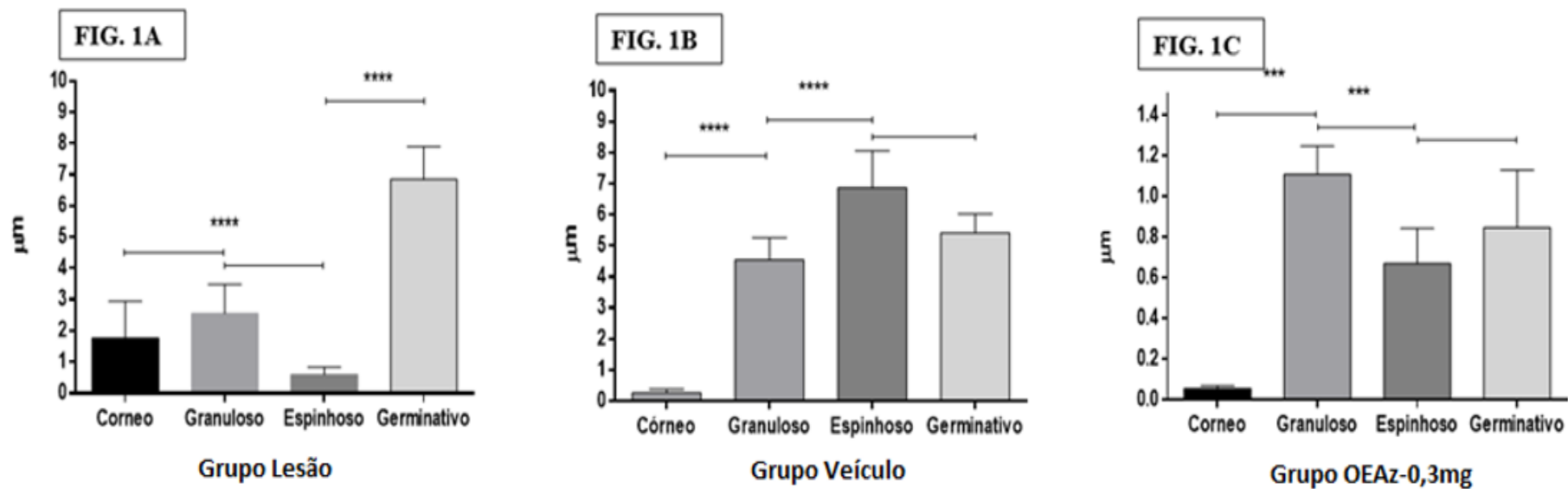


Figura 1: Tamanho dos estratos dérmicos em micrômetro após lesão por exposição de UVA/UVB em ratos submetidos ao tratamento tópico por 28 dias com óleo essencial de *Alpinia zerumbet*. Onde * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, quando aplicado o teste ANOVA ONE-WAY com pós teste Tukey.

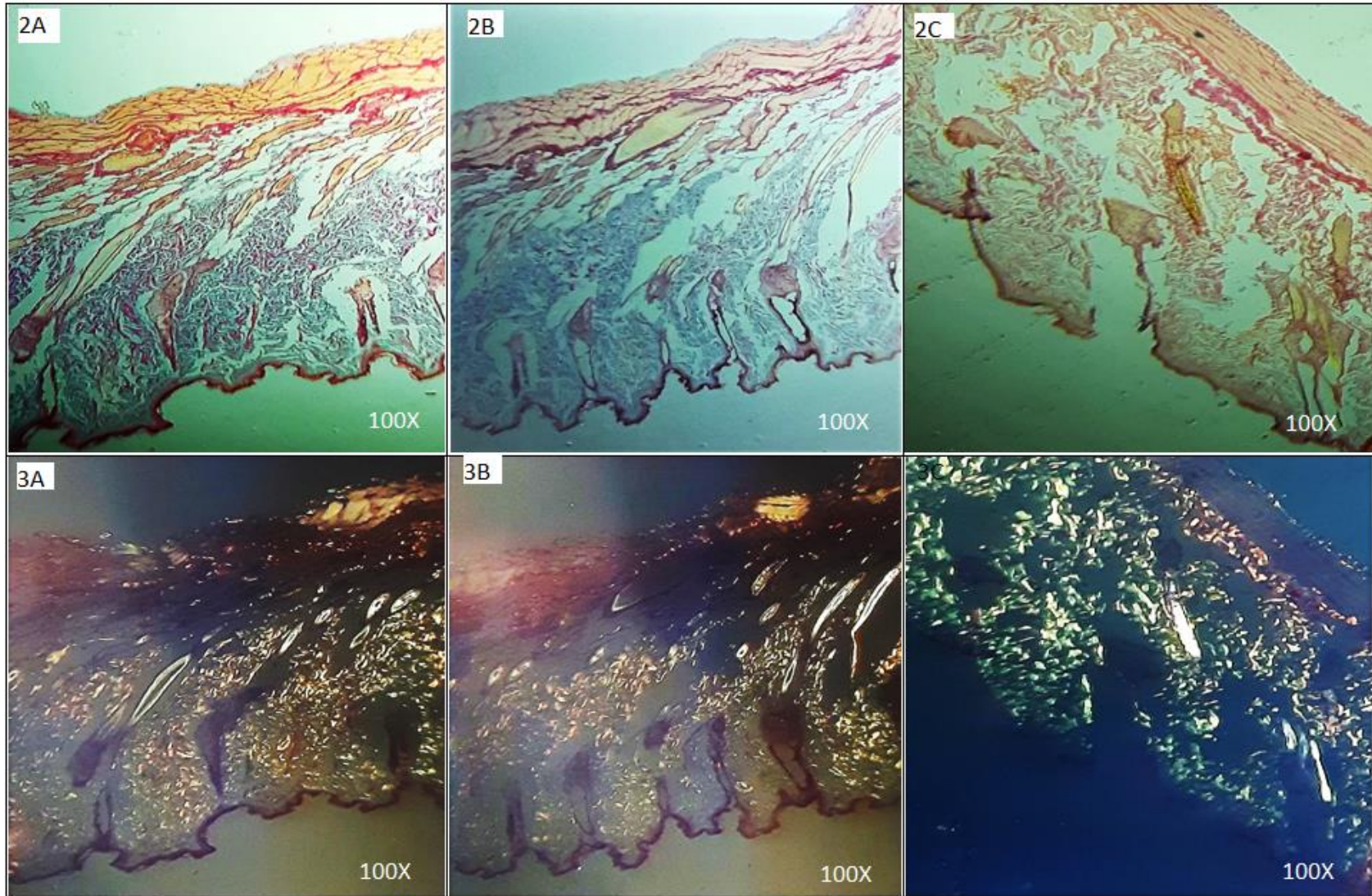
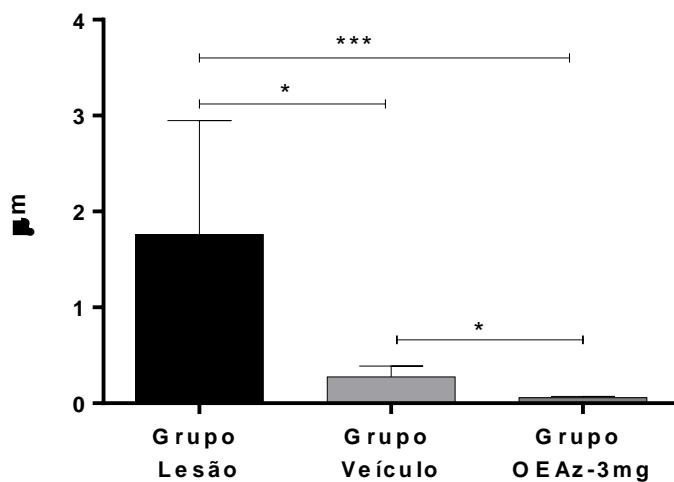


Figura 2 e 3: Tipos de colágeno nos estratos dérmicos do grupo Lesão (GL, 2A e 3A); grupo Veículo (GV, 2B e 3B) e no grupo óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (GOEAz-0,3mg, 2C e 3C) após lesão por exposição de UVA/UVB em ratos submetidos ao tratamento tópico por 28 dias.



Espessura do estrato córneo após 28 dias de tratamento

Figura 2: Tamanho dos estratos córneos em micrômetro nos três grupos avaliados após lesão por exposição de UVA/UVB em ratos submetidos ao tratamento tópico por 28 dias com óleo essencial de *Alpinia zerumbet*. Onde * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, quando aplicado o teste ANOVA ONE-WAY com pós teste Tukey.

Evitar o fotoenvelhecimento é um desafio, e substâncias antioxidativas podem se mostrar promissoras para a fotoproteção com regeneração mais adequada, refletindo melhor na qualidade de colágeno (ROMANHOLE et al., 2015; ALMEIDA, 2020).

Em estudo realizado por Garcés (2014), os diferentes parâmetros de organização estrutural envolvem o processo de envelhecimento e maturação da pele humana em diversas idades. Nesse processo, foi encontrado alta densidade de feixes de colágeno de forma crescente desde o nascimento até a idade adulta aumentando na derme papilar, ao mesmo tempo em que diminui de forma progressiva na derme reticular. Ainda segundo Garcés (2014), à medida que a síntese de colágeno diminui e ocasiona a perda dos feixes dos mesmos, foi observado um aumento da espessura na derme reticular durante a fase adulta quando comparado com as demais fases da vida anteriores.

Na tabela 2, que descreve a intensidade e tipos de colágenos nos quatro estratos dérmicos, foi encontrado o colágeno tipo I e tipo III em várias intensidades. O grupo GL apresentou fraca intensidade de colágeno tipo I apenas no estrato germinativo, enquanto os estratos espinhoso, granuloso e córneo foram intensos. Em relação ao colágeno tipo III, os estratos espinhosos, granulosos e córneos mostraram-se com fraca intensidade, enquanto o germinativo mostrou-se intenso. Já o grupo GV, o estrato córneo mostrou-se com colágeno do tipo I intenso, moderado para o estrato espinhoso e granuloso, e fraco para o germinativo.

Quanto ao colágeno tipo III, observou-se fraca intensidade nos estratos córneo, granuloso e espinhoso, enquanto o germinativo mostrou-se intenso. No grupo GOEAz, o colágeno do tipo I mostrou-se de moderado/intenso somente no extrato córneo, e fraco/moderado no granuloso, mostrando-se fraco nos demais estrato. Enquanto o colágeno tipo III apresentou-se intenso nos estratos germinativo e espinhoso, e fraco no córneo e granuloso.

Tabela 2: Intensidade de colágeno tipo I e III em tecido dérmico após lesão por exposição de UVA/UVB em ratos submetidos ao tratamento tópico por 28 dias com óleo essencial da *Alpinia zerumbet*.

GRUPO LESÃO	COLÁGENO TIPO I	COLÁGENO TIPO III
Germinativo	Fraco	Intenso
Espinhoso	Intenso	Fraco
Granuloso	Intenso	Fraco
Córneo	Intenso	Fraco
GRUPO VEÍCULO	COLÁGENO TIPO I	COLÁGENO TIPO III
Germinativo	Fraco	Intenso
Espinhoso	Moderado	Fraco
Granuloso	Moderado	Fraco
Córneo	Intenso	Fraco
GRUPO GOEAz-0,3mg	COLÁGENO TIPO I	COLÁGENO TIPO III
Germinativo	Fraco	Intenso
Espinhoso	Fraco	Intenso
Granuloso	Moderado/Fraco	Fraco
Córneo	Moderado/Intenso	Fraco

Ainda em relação à técnica histoquímica de Picrossírius (Rittié, 2017), quando possibilita a disposição das propriedades de birrefringência sob luz polarizada, destacando as fibras de colágeno tipo I e III, é possível mensurar a intensidade dessas berrifrigência nos tecidos. Nesse contexto foi possível a adaptação dessa quantificação de colágeno ajustada da escala proposta por Albuquerque et al. (2009). Assim foi possível identificar que as fibras de colágeno do tipo I e III, estavam com comportamento adequado e semelhante tanto no estrato córneo como no germinativo. O estrato germinativo precisa ser um tecido frouxo, rico em colágeno tipo III, porque segundo Borges et al. (2016), as fibras que compõem o colágeno tipo III são mais finas e não se agrupam em forma de feixes, deixando a pele menos consistente, facilitando assim a sua migração para formação dos demais estratos. Enquanto é

justificada a presença do colágeno tipo I no estrato córneo de forma mais intensa, pois segundo Lima (2020), o mesmo é responsável por 90% total de colágenos composto por fibras mais densa, conferindo resistência às estruturas do tecido.

Já no estrato espinhoso e granuloso, tanto no grupo Lesão como no grupo Veículo o colágeno tipo I se encontra intenso e moderado, respectivamente. Ou seja, inadequado uma vez que o estrato espinhoso apresenta células achatadas e nucleadas com feixes de filamentos de queratina mantendo coesão entre as células epidérmicas e resistência contra atrito entre as mesmas (Almeida, 2020), assim ao deixarem a camada germinativa, essas células começam a sofrer importantes transformações morfológicas constantemente até atingir a camada córnea (Borges et al. 2016), portanto esse tecido ainda precisa está frouxo, sem colágeno do tipo I, para que sua migração ocorra de forma adequada.

Estudo de Cerqueira (2015) realizado em ratos relaciona-se com o presente estudo, mostrando que o uso do OEAz é capaz de reverter alterações na espessura e organização do colágeno causado pela espasticidade por indução de lesão medular. O mesmo afirma que, características funcionais e histomorfológicas do grupo tratado com o bioproduto OEAz apresentaram-se semelhantes aos resultados do grupo sem lesão.

4 CONCLUSÃO

Com o estudo conclui-se que, o óleo essencial da *Alpinia zerumbet* Zingiberaceae possui ação fotoprotetora mediante radiação UVA/UVB em modelo murino, onde foi observado um efeito reparador considerável no tecido epitelial de ratos induzidos ao fotoenvelhecimento. Desse modo, foi observado no grupo tratado com OEAz-0,3mg um aumento significativo das camadas germinativa e granulosa quando comparado com as demais (espinhosa e córnea) do presente grupo, verificando intensa atividade mitótica da camada germinativa ao qual é responsável pela renovação da epiderme e nutrição dos tecidos.

Quanto à qualidade de formação tecidual no grupo tratado, evidenciou-se uma concentração considerável de colágeno tipo III (maleável/desejável) nas camadas germinativa e espinhosa, demonstrando positividade quanto à efetividade do uso do óleo essencial para fins desejados.

Sugere-se que, seja dada continuidade a esse estudo para que se possa analisar melhor a ação do OEAz na regeneração tecidual diante de lesão provocada pela UVA e UVB.

5 REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C., et al. Effect of bovine type-I collagen-based films containing red própolis on dermal wound healing in rodent model. **Int. J. Morphol.** v.27, n.4, p.1105 – 1110, 2009.

ALMEIDA, B. L., Modelo de pele humana reconstruída como plataforma para estudos de fotoenvelhecimento. **Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Amazonas**, 2020.

CAL, K. Effect of physicochemical properties of cyclic terpenes on their ex vivo skin absorption and elimination kinetics. **J Dermatol Sci**, v.41, p.137-142, 2005.

BORGES, F. S. et al.. **Terapêutica em estética: conceitos e técnicas**. 1.ed., São Paulo: Editora Phorte, 2016

CERQUEIRA, F. L. de C. et al. Efeitos da cinesioterapia associada ao bioproduto à base do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* sobre o colágeno dos tecidos musculares espásticos de ratos pós-lesão medular. **Inter Science Place – Revista Científica Internacional**, v.10, n.4, p.127 – 206, 2016.

FRUET, A. C.. Avaliação do efeito fotoprotetor de compostos fenólicos sobre culturas de células da pele irradiadas por UVA e UVB. **Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmaceuticas da Universidade de São Paulo**, 2015.

FREITAS, K. K.; JALIL, S. M. A.. Fotoproteção: radiação solar e seus efeitos. **Revista Conexão Eletrônica**, v.15, n.1, p.676 – 688, 2018.

GARCÉS, V.M. et al.. Age-related dermal collagen changes during development, maturation and ageing – a morphometric and comparative study. **Journal of Anatomy**, v.225, p.98 – 108, 2014.

GONTIJO, L. C. et al.. A fotoproteção como ferramenta de saúde pública no Brasil. **Revista Eletrônica Parlatorium**, v.9, n.1, p.4 – 10, 2015.

LIMA, et al.. Quantification of collagen types I na II in skin lesions of leprosy patients. **Revista Pan-Amaz Saúde**, v.11, p.2176-6223, 2020.

LOPES, L. G.. Efeitos biológicos da radiação ultravioleta e seu papel na carcinogênese de pele: uma revisão. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, v.6, n.2, p.117 – 130, 2017.

LOBOSCO, M. P. J. et al.. A relação entre a educação ambiental e protetores solares naturais: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v.9, n.6, p.1 – 12, 2020.

MESSTERMANN, A. et al.. Fotoenvelhecimento cutâneo e inovações em filtros solares. **Caderno de Graduação – Ciências Biológicas e da Saúde Unit**, v.5, n.1, p.67 – 82, 2018.

PEREYRA, B. B. S.. Efeito do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* em modelo murinho de fibrose pulmonar. **Dissertação (Mestrado em Saúde Ambiente)**. Universidade Tiradentes, 2016.

RITTIÉ, L.. Method for picrossirius red-polarization detection of collagen fibers in tissue sections. **Springer Science – Business Media**, v.1627, p.396-406, 2017.

ROMANHOLE, R. C. et al.. Update on ultravioleta A and B radiation generated by the sun and artificial lamps na their effects on skin. **International Journal of Cosmetic Science**, v.37, p.366 – 370, 2015.

SANTOS, B. A. et al.. Cardiodepressive effect elicited by the essential oil of *Alpinia speciosa* is related to L-type Ca²⁺ current blockade. **Phytomedicine**, v.18, p.539-543, 2011.

SERAFINI, M. R. et al.. UVA-UVB Photoprotective Activity of Topical Formulations Containing *Morinda citrifolia* Extract. **BioMed Research International**, v.2014, 2014.

SHAHINOZZAMAN, M. et al.. Anti- Inflammatory and Anti-Melanogenic Effects of Major Leaf Components of *Alpinia zerumbet* var. *excelsa*. **Pharmacognosy Magazine**, v.14, n.58, p.578 – 585, 2018.

SHIRATA, M. M. F.. Desenvolvimento e eficácia clínica de formulações dermocosméticas contendo tetra-isopalmitato de ascorbila e peptídeos para a pele jovem fotoenvelhecida. **Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP**, 2019.

TOFFETI, M. H. de F. C.; OLIVEIRA, V. R.. A importância do uso do filtro solar na prevenção do fotoenvelhecimento e do câncer de pele. **Investigação – Revista Científica da Universidade de Franca**, v.6, n.1, p.59 – 66, 2006.

TU, P. T. B. et al.. Anti-Oxidante, Anti-Aging, and Anti-Melanogenic Properties of the Essential Oils from Two Varieties of *Alpinia zerumbet*. **Molecules**, v.20, p.16726 – 16737, 2015.

ANEXO 1



UNIVERSIDADE TIRADENTES
DIRETORIA DE PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO ANIMAL - CEUA

DECISÃO DA CEUA-UNIT

O protocolo da pesquisa, "Avaliação do uso do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* zingiberaceae fotoprotetora mediante radiação UVA/UVB em modelo murino", processo nº 040615, foi submetido à avaliação na CEUA-UNIT, pelo pesquisador **Edna Aragão Farias Cândido**, onde recebeu o parecer de **Aprovado**, dos membros dessa comissão, na reunião realizada no dia 18 de junho de 2015.


Coordenadora da CEUA-UNIT

UNIVERSIDADE TIRADENTES - UNIT

Profa. Maria Júlia Sardelli
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso Animal

Vertical text: Digitalizado com CamScanner