

USAMA BILAL ANWAR

**Effect of topical application of monocerin on surgical wounds in murine
model**

São Paulo

2020

RESUMO.

ANWAR, U. B. **Efeito da aplicação tópica da monocerina em feridas cirúrgicas em modelo murino** 2020. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Em alguns casos, o processo de cicatrização de feridas exige tratamento por muito tempo, principalmente em situações complexas como queimaduras na pele de grau severo que requerem remodelação do tecido sem formação de cicatrizes ou queloides na pele do paciente. Metabólitos secundários produzidos por micro-organismos têm sido explorados como uma fonte de moléculas que podem ser aplicadas na área farmacêutica para diversas aplicações e estudos anteriores mostraram que o metabólito secundário monocerina produzido pelo fungo *Exserohilum rostratum* induz proliferação em células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs) e em fibroblastos humanos normais (FN1). no processo de cicatrização de feridas em modelo murino. Neste estudo, o composto monocerina foi obtido a partir da cultura do fungo *E. rostratum* e após processo de purificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi incorporado em formulação em creme nas concentrações de 0,0006 e 0,005%. O efeito das formulações foi avaliado no tratamento de ferida cirúrgica induzida no dorso de camundongos Balb/c machos, e como grupos controles foram empregados animais sem tratamento, animais tratados com a pomada comercial Kollagenase mais cloranfenicol (colagenase 0,6 U/ g + cloranfenicol 0,01 g/g, Cristália), e animais tratados com o veículo da formulação em creme. Os animais foram tratados por 1, 3, 7 e 14 dias e o tamanho da ferida foi medido diariamente com paquímetro digital e análise de raio-X. Ao final dos tratamentos o sangue dos animais foi coletado para análise hematológica e de citocinas/quimiocinas (IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β , FGF-2, VEGF). O tecido da área cicatricial foi coletado para dosagem de hidroxiprolina, análises histológicas (hematoxilina/eosina, tricrômio de masson e picrosírius red) e morfológicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e imunoistoquímica (MMP-3, MMP-9, TIMP-2, VEGF). Juntamente com os parâmetros hematológicos, dosagens de citocinas/quimiocinas, análise por MEV imunoistoquímica, os resultados indicam que o tratamento com monocerina a 0,005% foi capaz de induzir a cicatrização da ferida com regeneração tecidual e intensa formação de colágeno de forma mais efetiva que os grupos controles. com. O tratamento foi eficaz e nenhuma toxicidade foi observada nas feridas de camundongo, o que promove um processo de cicatrização eficiente sem cicatriz na pele regenerada.

Palavras-chave: Monocerina. Ferida cirúrgica. Cicatrização.

ABSTRACT.

ANWAR, U. B. **Effect of topical application of monocerin on surgical woundsine model.** 2020. PhD Thesis (Doctorate in Sciences) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, São Paulo, 2020.

In some cases, the wound healing process demands treatment for a long time, especially in complex situation such as skin burn with severe degree that requires tissue remodeling without scars or keloids on the patient's skin. Microorganism's secondary metabolites are being explored as a new source of molecules that could be applied on pharmaceutical area for several purposes. From the previous studies the secondary metabolite monocerin obtained from the fungus *Exserohilum rostratum* that induces proliferation in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) and in normal human fibroblasts (FN1). In this study, the monocerine compound was obtained from the culture of the fungus *E. rostratum* and after purification by high performance liquid chromatography (HPLC), it was incorporated into a cream formulation at concentrations of 0.0006 and 0.005%. The effect of the formulations was evaluated on surgical wounds induced on the dorsal part of male Balb/c mice, considering the control groups animals were received no treatment (Untreated), animals treated with commercial Kollagenase ointment plus chloramphenicol (collagenase 0.6 U / g + chloramphenicol 0.01 g / g, Cristália), and treated with the vehicle cream formulation. The animals were treated for 1, 3, 7 and 14 days and the wound size was measured daily with paquimeter and X-ray analysis. At the end of the treatments, the animal's blood was collected for hematological and cytokine / chemokine analysis (IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β , FGF-2, VEGF). The wounded tissue was collected for various morphological analysis hydroxyproline, histological (hematoxylin & eosin, masson trichrome and picrosirius red staining), scanning electron microscopy (SEM), and immunohistochemistry (MMP-3, MMP-9, TIMP-2, VEGF). This study was designed to evaluate the effect of secondary metabolite monocerin produced by the extremophile fungus *Exserohilum rostratum* on wound healing process induced in a murine model. Together with the hematological, cytokine, chemokine and *Immunohistochemistry* parameters, the results indicate that the treatment with monocerin was able to induce signs of proliferative effect and regenerative process with collagen formation. The treatment was effective and no toxicity was observed on the mouse wounds that promotes an efficient wound healing process without scar on the regenerated skin.

Keywords: Monocerin. Surgical wound. Wound healing.