

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS DA MEDULA ESPINAL APÓS LESÃO MEDULAR EM ANIMAIS TRATADOS COM NANOFORMULAÇÃO A BASE DE ÓLEO ESSENCIAL DA *Alpinia zerumbet*

Michelle dos Santos Almeida¹ (PROVIC/FAPITEC); Maria Fernanda dos Santos Gonçalves² (PROVIC/FAPITEC); Cailane Léa Ataíde Fernandes¹ (PROVIC/FAPITEC); Edna Aragão Farias Cândido^{2,3} (Orientadora)
michelle.dalmeida@souunit.com.br;

¹Universidade Tiradentes/Medicina/Estância/SE.

²Universidade Tiradentes/Medicina/Aracaju/SE

³Instituto de Tecnologia e Pesquisa/Aracaju/SE

4.00.00.00-1 Ciências da Saúde; 2.05.00.00-3 Morfologia

RESUMO

Introdução: A lesão medular espinhal provoca comprometimento neuronal, resultando em déficits sensitivos, motores e autonômicos, frequentemente acompanhados de espasticidade e paralisia¹. O tratamento farmacológico da espasticidade pode incluir formulações fitoterápicas tópicas à base do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (OEAz), que apresenta eficácia moduladora, embora possa causar hipotensão arterial^{2,3,4,5}. Para otimizar a entrega e reduzir efeitos adversos, o uso de nanoemulsões do OEAz tem se mostrado promissor em estudos experimentais com roedores, incluindo análises recentes na medula espinhal⁶. **Objetivo:** Avaliar o efeito do tratamento com nanoemulsão à base do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* nas alterações histomorfológicas na medula espinhal após lesão medular. **Metodologia:** Estudo pré-clínico, randomizado, cego, quantitativo e analítico, aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Tiradentes (protocolo 030721R). As lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina para análise morfológica e contagem de motoneurônios e células gliais, além da medição da área e densidade do corno anterior da medula espinhal. As imagens obtidas em microscópio de luz polarizada (aumentos de 10x e 20x), foram processadas no software ImageJ, com dados tabulados no Microsoft Excel 2020 e analisados estatisticamente no GraphPad Prism 9.01, empregando ANOVA one-way, teste de Kruskal-Wallis e correlações de Pearson ou Spearman, considerando significância de $p < 0,05$. **Resultados:** O estudo demonstrou que o grupo Veículo teve menor número de motoneurônios no corno anterior da medula espinhal em comparação aos grupos Nano e Ziclague, enquanto estes apresentaram redução significativa em relação ao grupo Sham, sem lesão medular. Tal achado confirma a diminuição da densidade neuronal esperada diante da lesão medular. O grupo Ziclague exibiu aumento significativo do perímetro neuronal em relação aos grupos Nano e Lesão ($p < 0,01$), sugerindo resposta trófica e incremento da atividade neuronal possivelmente induzidos pelo tratamento. A densidade integrada foi significativamente maior nos grupos Veículo e Sham, indicando atividade neuronal mais preservada, ao passo que os grupos tratados (Nano, Lesão e Ziclague) apresentaram redução da atividade celular ($p < 0,05$ a $p < 0,0001$), refletindo a diminuição funcional pós-lesão compatível com a gravidade e a dificuldade de recuperação tecidual. Sobre às micróglias, o grupo Ziclague apresentou aumento expressivo em número quando comparado aos grupos Lesão, Nano, Sham e Veículo ($p < 0,001$ a $p < 0,0001$), indicando ativação microglial possivelmente associada à resposta inflamatória ou modulação do microambiente lesional. Todavia, não foram observadas diferenças significativas no perímetro das micróglias, sugerindo que os efeitos do tratamento se concentram em alterações funcionais, e não morfológicas. Por fim, o grupo Ziclague apresentou aumento significativo da densidade integrada em relação aos grupos Sham e Veículo ($p < 0,01$ e

$p < 0,05$), indicando potencial estímulo à atividade microglial e à modulação inflamatória local. **Conclusão:** A nanoemulsão de *Alpinia zerumbet* mostrou potencial terapêutico na modulação da resposta inflamatória e neurotrófica após lesão medular, indicando-se como estratégia promissora, porém ainda parcial, na recuperação estrutural e funcional do tecido nervoso.

PALAVRAS-CHAVE: *Alpinia*; Espasticidade Muscular; Traumatismos da Medula Espinal.

ABSTRACT

Introduction: Spinal cord injury causes neuronal impairment, resulting in sensory, motor, and autonomic deficits, often accompanied by spasticity and paralysis¹. Pharmacological treatment of spasticity may include injectable or topical herbal formulations based on the essential oil of *Alpinia zerumbet* (OEAz), which shows modulatory efficacy, although it may cause arterial hypotension^{2,3,4,5}. To optimize delivery and reduce adverse effects, the use of OEAz nanoemulsions has shown promise in experimental studies with rodents, initially focused on striated muscle and now extended to the evaluation of the spinal cord⁶. **Objective:** To evaluate the effect of treatment with nanoemulsion based on the essential oil of *Alpinia zerumbet* on histomorphological alterations in the spinal cord after spinal cord injury. **Methodology:** Preclinical, randomized, blinded, quantitative, and analytical study approved by the Animal Use Ethics Committee of Tiradentes University (protocol 030721R). Slides were stained with Hematoxylin-Eosin for morphological analysis and counting of motoneurons and glial cells, as well as measurement of the area and density of the anterior horn of the spinal cord. Images obtained under a polarized light microscope (10x and 20x magnifications) were processed using ImageJ software, with data tabulated in Microsoft Excel 2020 and statistically analyzed in GraphPad Prism 9.01, employing one-way ANOVA, Kruskal-Wallis test, and Pearson or Spearman correlations, considering significance at $p < 0.05$. **Results:** The study demonstrated that the Vehicle group had a lower number of motoneurons in the anterior horn of the spinal cord compared to the Nano and Ziclague groups, while the latter two showed a significant reduction relative to the Sham group, without spinal cord injury. This finding confirms the expected decrease in neuronal density following spinal injury. The Ziclague group showed a significant increase in neuronal perimeter compared to the Nano and Lesion groups ($p < 0.01$), suggesting a trophic response and increased neuronal activity possibly induced by treatment. Integrated density was significantly higher in the Vehicle and Sham groups, indicating more preserved neuronal activity, whereas the treated groups (Nano, Lesion, and Ziclague) showed reduced cellular activity ($p < 0.05$ to $p < 0.0001$), reflecting post-injury functional decline compatible with tissue damage severity and limited recovery. Regarding microglia, the Ziclague group showed a marked increase in number compared to the Lesion, Nano, and Sham groups ($p < 0.001$ to $p < 0.0001$), as well as compared to the Vehicle group, indicating microglial activation possibly associated with inflammatory response or modulation of the lesional microenvironment. However, no significant differences were observed in microglial perimeter, suggesting that treatment effects are mainly functional rather than morphological. Finally, the Ziclague group presented a significant increase in integrated density compared to the Sham and Vehicle groups ($p < 0.01$ and $p < 0.05$), indicating potential stimulation of microglial activity and local inflammatory modulation. **Conclusion:** The *Alpinia zerumbet* nanoemulsion showed therapeutic potential in modulating inflammatory and neurotrophic responses after spinal cord injury, representing a promising—though still partial—strategy for structural and functional recovery of nervous tissue.

KEYWORDS: *Alpinia*; Muscle Spasticity; Spinal Cord Injury.

REFERÊNCIAS/REFERENCES:

- [1] D'AMICO, J. M.; CONDLIFFE, E. G.; MARTINS, K. J. B.; BENNETT, D. J. Recovery of neuronal and network excitability after spinal cord injury and implications for spasticity. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, v. 8, p. 36, 2014. DOI: 10.3389/fnint.2014.00036. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnint.2014.00036/full> . Acesso em: 28 out. 2025.
- [2] MAIA, M. O.; DANTAS, C.G.; XAVIER-FILHO, L.; CÂNDIDO, E.A.; GOMES, M.Z. The Effect of *Alpinia zerumbet* Essential Oil on Post-Stroke Muscle Spasticity. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2016; 118: 58-62.
- [3] CÂNDIDO, E.A.F., XAVIER-FILHO, L. Viabilidade do uso do óleo essencial da *Alpinia zerumbet*, Zingiberaceae, na otimização do tratamento fisioterapêutico em paralisia cerebral espástica. *Arq Bras Neuroci*, v.31, n.3, 2012, p.110-115.
- [4] CÂNDIDO, E.A.F. et al. Influence of *alpinia zerumbet* essential oil in the kinesiotherapeutic treatment of patients with syndrome pyramidal. *International Journal of Development Research*. v.07, n.10, 2017, p.15837-15843.
- [5] GHANAVATIAN, S.; DERIAN, A. BACLOFEN. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2021. PMID: 30252293.

[6] Santos, A. M., Silva, M. A., & Oliveira, L. F. (2020). Efeitos de nanoemulsões contendo OEAz na medula espinhal de ratos Wistar: um estudo experimental. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 56(3), 1–10.