

ALEXANDRE VIEIRA FERNANDES

**EFEITOS DO USO TÓPICO DE *Calendula officinalis*
NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM MUCOSA
PALATINA: estudo histológico em ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus
de Araçatuba, para obtenção do Título de Mestre em Odontologia.
Área de Concentração: Estomatologia

Orientadora: Prof^ª. Ass. Dra. *Ana Maria Pires Soubhia*

Araçatuba

2003

ALEXANDRE VIEIRA FERNANDES

**EFEITOS DO USO TÓPICO DE *Calendula officinalis*
NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM MUCOSA
PALATINA: estudo histológico em ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus
de Araçatuba, para obtenção do Título de Mestre em Odontologia.
Área de Concentração: Estomatologia

Orientadora: Prof^ª. Ass. Dra. *Ana Maria Pires Soubhia*

Araçatuba

2003

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOA / UNESP

F363e Fernandes, Alexandre Vieira
Efeitos do uso tópico de *Calendula officinalis* na cicatrização de feridas em mucosa palatina. Estudo histológico em ratos. / Alexandre Vieira Fernandes. - Araçatuba : [s.n.], 2003.
61 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2003
Orientador: Prof^ª. Dra. Ana Maria Pires Soubhia

1. *Calendula officinalis*. 2. Fitoterapia. 3. Cicatrização de feridas

Black D65
CDD 617.601

DADOS CURRICULARES

Alexandre Vieira Fernandes

NASCIMENTO: 22.12.1964 – UBERLÂNDIA/MG

FILIAÇÃO: Hélio Fernandes

Nilce Aparecida Vieira Fernandes

- 1982/1985 Curso de Graduação
Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de
Uberlândia
- 1987/1989 Curso de Pós-Graduação em Cirurgia e Traumatologia
Buco-Maxilo-Facial, nível de Mestrado, na Faculdade de
Odontologia de Araçatuba – UNESP
- 1991/1996 Curso de Pós-Graduação em Cirurgia e Traumatologia Buco
Maxilo-Facial, nível de Doutorado, na Faculdade de
Odontologia de Araçatuba – UNESP
- 1994/1995 Professor Assistente Substituto da Unidade de Diagnóstico
estomatológico, da Faculdade de Odontologia da
Universidade Federal de Uberlândia
- 2000/2002 Professor Assistente Substituto da Disciplina de Cirurgia e
Traumatologia Buço-Maxilo-Facial, da Faculdade de
Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia

DEDICATÓRIA

Aos queridos *Mariza e Lucas...*

...fontes de inspiração e razão de minha vida.

...que com muita compreensão e renúncia, incentivaram-me a realizar este desejo e permitiram vencermos juntos mais este desafio...

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível graças à colaboração direta ou indireta de muitas pessoas. Agradeço a todas elas e particularmente:

a Profa. Dra. Ana Maria Pires Soubhia, pelo exemplo de dedicação e amizade, e pela competência com que me conduziu na realização deste trabalho.

aos Profs. do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP e, em especial aos Profs. Drs. Alvimar Lima de Castro, Glauco Issamu Miyahara e Éder Ricardo Biazolla, que além de nos mostrar novos caminhos, dedicaram atenção e amizade.

aos amigos do Curso de Mestrado em Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP: “Tony”, Melaine, Rafael, Cristiane e Mariane, pelo apoio e companheirismo de sempre.

aos funcionários do Laboratório da Disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP e, em especial ao Sr. José Marcelo Tramarin, Sras. Elaine Cristina Francischini Ferreira, Luzia Maria de Oliveira Francischini e Maria Aparecida Martins da Silva, pela colaboração na execução nas diversas fases desse experimento.

às funcionárias da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação da Faculdade de Odontologia

de Araçatuba – UNESP e, em especial às Sras. Izamar da Silva Freitas e Isabel Pereira de Matos, pela revisão das referências bibliográficas e da formatação desta dissertação.

às funcionárias da Secretaria de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP e, em especial as Sras. Marina Midori Sakamoto Kawajoe e Adélia Barreto Claro da Silva, pela simpatia e atenção dispensadas.

aos colegas da Patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, Prof. Ivan Miguel Costa e Prof. Dr. Adriano Mota Loyola, pelo incentivo em dar mais este passo na busca do saber.

aos colegas da Cirurgia Buco-maxilo-facial da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia e, em especial ao Prof. Dr. Aparecido Eurípedes Onório Magalhães, pela compreensão e colaboração, durante a realização deste curso.

ao Sr. Eldre Henrique de Barros Moreira Netto, farmacêutico responsável da Pharmakon Farmácia de Manipulação, pela gentileza no fornecimento das preparações utilizadas neste experimento.

ao amigo Emerson que com muita dedicação, fez o tratamento digital das ilustrações e a impressão deste trabalho.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
3 PROPOSIÇÃO	21
4 MATERIAL E MÉTODO	23
5 RESULTADO	27
6 DISCUSSÃO	35
7 CONCLUSÃO	44
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
Ilustrações	Arquivo Anexo
Resumo	55
Abstract	57

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A fitoterapia pode ser definida como a ciência que trata dos problemas de saúde utilizando os vegetais. É considerado fitoterápico toda preparação farmacêutica que utiliza como matéria-prima, partes de plantas, com conhecido efeito farmacológico.

O tratamento fitoterápico como qualquer outro, requer um diagnóstico correto do problema, para que a planta utilizada seja eficaz. A utilização adequada dos fitoterápicos traz uma série de benefícios para a saúde. Associado às suas atividades terapêuticas está o seu baixo custo, a grande disponibilidade de matéria prima e a cultura relacionada ao seu uso.

Até pouco tempo, a prescrição de fitoterápicos não era aceita pelos próprios cientistas, porque era considerada uma medicina inferior, alternativa, devido aos benefícios propagados por charlatões. Porém, o conceito da fitoterapia vem sendo modificado, na medida em que os profissionais vêm utilizando produtos naturais que têm base científica comprovada.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) 80% das pessoas utilizam algum tipo de planta com finalidade de cura. O uso de fitoterápicos com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico, foi reconhecido oficialmente pela OMS em 1978 (BYK, 2002)¹⁰.

Pesquisas científicas na área da farmacologia vêm confirmando diversos efeitos terapêuticos de plantas, comumente, utilizadas como remédio. Nas últimas décadas, o interesse pelas ervas medicinais tem aumentado significativamente (Guia, 2003)²⁴.

A calêndula – *Calendula officinalis* – é uma das plantas mais versáteis e populares, por apresentar indicações para uso fitoterápico e homeopático (Luz, 1993)³².

A ação cicatrizante é uma das diversas atividades farmacológicas que tem sido atribuída à *Calendula officinalis*. Embora essa possível ação tenha sido objeto de algumas investigações, não foram encontrados na literatura científica consultada, estudos sobre efeitos do seu uso tópico, em feridas experimentais em mucosa palatina de ratos.

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

O termo fitoterapia vem do grego (phyton = vegetal; therapeia = tratamento) e significa tratamento através das plantas (Stern, 2003).⁴⁷

Os fitoterápicos são produzidos a partir de plantas medicinais, normalmente por extração com misturas de etanol-água, que às vezes são liofilizados ou evaporados (Barata, 2003).⁷

As plantas medicinais são as fontes mais antigas de medicamentos para o tratamento das doenças humanas. O reconhecimento de suas ações biológicas levou ao seu cultivo, desde a antiguidade, no Egito, Grécia e ao longo do Mediterrâneo. Na China, desde 3000 a.C., há relatos de curas obtidas através das plantas (Farkas, 1980).¹⁹

No Papiro de Ebers, datado de 1500 anos a.C., resquício da antiga civilização egípcia, estão descritas centenas de plantas medicinais e os métodos para sua utilização no combate às enfermidades. O período Hipocrático iniciou em 280 a.C. com a publicação do *Corpus Hippocraticum*, consagrando a terapia com os vegetais. Posteriormente, descobriram que poderiam extrair substâncias químicas dos vegetais, tais como, quinino, cafeína, codeína, morfina, efedrina, ergotamina, digitalina e muitas outras. Nas décadas de 50 a 70, as plantas medicinais foram praticamente esquecidas, cedendo lugar às drogas sintéticas. Porém, a

partir dos anos 80, constata-se crescente interesse pela fitoterapia e os grandes centros de pesquisas direcionam vultosos recursos, tanto institucionais como da iniciativa privada, para pesquisas sobre propriedades curativas de plantas medicinais (Laboratório, 2003).³⁰

Quando o Brasil foi descoberto, a fitoterapia reinava praticamente sozinha, não havia vacinas nem os medicamentos sintéticos, que só aparecem no final do século XIX com a aspirina. Sintetizada em 1896, por Felix Hofmann um químico da Bayer, esta molécula foi inspirada numa substância natural contida numa planta do gênero *Salix*, o Ácido Salicílico (Barata, 2003)⁷.

Segundo Marini-Bettòlo (1980)³³, aproximadamente 30% das preparações farmacológicas, são obtidas direta ou indiretamente das plantas. Farnsworth et al. (1985)²¹, já anteviam que nas duas décadas seguintes, outras drogas úteis, seriam isoladas a partir das plantas, e que a maioria dessas descobertas seriam feitas por pesquisadores altamente motivados, nos países em desenvolvimento.

O conhecimento empírico sobre plantas medicinais tem sido transmitido de geração a geração, através da tradição oral. O reino vegetal é fonte de potenciais medicamentos que ainda pode e deve ser explorada. Estima-se que menos de 10% do total de 500.000 espécies de plantas existentes, tenham sido investigadas, em relação aos seus constituintes ou à sua atividade biológica (Svendsen & Scheffer, 1982)⁴⁸.

Mello (1980)³⁶, já afirmava ser necessário realizar estudos científicos e metódicos, capazes de avaliar a eficácia das plantas medicinais usadas popularmente, já que nos centros de pesquisas brasileiros existem pesquisadores qualificados, com recursos e meios para desenvolvê-los.

Carlini (1983)¹², reforça a idéia de que estudos bem conduzidos por pesquisadores competentes, poderiam diminuir a resistência, em encarar a fitoterapia como terapêutica oficial.

A utilização inadequada dos fitoterápicos, como a automedicação, pode trazer uma série de efeitos colaterais. Além disso, é importante verificar possíveis interações medicamentosas entre drogas convencionais e as ervas medicinais, pois esta combinação pode alterar completamente o plano de tratamento proposto (Miller, 1998)³⁷.

Num país como o Brasil, onde a população carente não só tem dificuldades para obter medicamentos convencionais, mas também adoece muito mais, o uso criterioso de fitoterápicos no sistema público de saúde seria uma alternativa para reduzir os custos dos medicamentos. Entretanto, este não é um trabalho fácil, pois são necessários conhecimentos técnicos sobre as plantas, seus efeitos terapêuticos e tóxicos, parte utilizável, via de administração e um bom banco de dados de referências bibliográficas. Tudo isso só é possível através da pesquisa desenvolvida nas universidades. (Comciencia, 2003)¹⁵.

O Brasil é o país que possui a maior biodiversidade, com mais de 20% de todas as espécies de plantas, fungos e animais do planeta. É muito rico em termos de variedade da flora, certamente devido à sua grande diversidade geográfica. Apesar disso, representa menos de 5% da fitoterapia mundial. Isso significa um verdadeiro arsenal terapêutico de princípios ativos, que podem ser extraídos da natureza. Porém, nem 1% dessa diversidade biológica é conhecida, segundo estimativa do IPEA (Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada) (Byk, 2002)¹⁰.

Nosso país abriga 55 mil espécies de plantas, destas 10 mil podem ser medicinais ou aromáticas. O mercado mundial de produtos farmacêuticos, cosméticos e agroquímicos somam aproximadamente U\$ 400 bilhões ao ano, o que dá a dimensão da enorme oportunidade existente para os produtos brasileiros (Barata & Queiroz, 1995)⁸.

Nos últimos anos, um movimento crescente em busca de tratamentos naturais, mais baratos e menos agressivos ao organismo começou a ganhar força, tanto no Brasil quanto no exterior. Os grandes laboratórios e as universidades passaram a se interessar mais pelo assunto e buscar comprovação dos efeitos medicinais das plantas (Associação, 2003)⁶.

O interesse pelos produtos naturais tem origem em fatores comportamentais, biológicos, farmacológicos, biotecnológicos e químicos, que produziram uma mudança estratégica das empresas, as quais passaram visar um mercado promissor nos produtos originados de

plantas. Pesquisas farmacológicas vêm confirmando muitos efeitos terapêuticos de plantas, comumente usadas como remédio (Guia, 2003)²⁴

O Brasil também exporta plantas medicinais para serem processadas no exterior, embora tenha tecnologia para fazer isso internamente. Dados do Ibama apontam que o volume de plantas exportadas triplicou nos anos de 1993 a 1995. A quantidade de medicamentos patenteados pela indústria farmacêutica brasileira é praticamente nula, se comparada com a indústria estrangeira. Uma das limitações está no fato de que 70% do mercado é controlado por empresas transnacionais (Associação, 2003)⁶.

Scavone et al. (1979)⁴⁵, estudando a *Casearia sylvestris swartz*, planta medicinal mais conhecida como Guaçatonga, confirmaram sua ação cicatrizante em experimento realizado em pele de camundongos.

A *Calendula officinalis* também conhecida por “malmequer, maravilha dos jardins, margarida dourada”, dentre outros nomes, pertence à família das Compostas. Cultivada em todo o mundo, no Brasil, é encontrada mais comumente, nas regiões sul e sudeste (Plantas, 2003)⁴⁰.

Fossat (1973)²³, Sanguinetti (1989)⁴⁴, Teske et al. (1994)⁴⁹, relacionaram propriedades medicinais da *Calendula officinalis*, tais como, diurética, antiinflamatória, anti-séptica, bactericida, cicatrizante, colagoga, emenagoga, dentre outras. Caribe & Campos (1991)¹¹, afirmam que uma

pasta de flores e folhas maceradas pode ser empregada externamente, para auxiliar na cicatrização de feridas.

Apesar das diversas indicações terapêuticas da calêndula, ela não deve ser utilizada sem orientação profissional. Seu uso está contra-indicado durante a gravidez e a lactação, e além disso, a planta fresca pode produzir dermatite de contato (Medicina, 2003)³⁵.

Aguila et al. (2000)¹ relatam que dentre os componentes químicos mais abundantes na *Calendula officinalis* se encontram os flavanóides, carotenóides, polissacarídeos, saponinas, triterpenos, ácidos fenólicos, cumarinas e taninos.

Diversos estudos têm demonstrado que o princípio ativo presente na *Calendula officinalis*, e em outras plantas também, responsável por sua atividade antiinflamatória são os chamados Triterpenóides (Wilkomirski, 1985⁵⁰; Della Loggia et al., 1994¹⁸; Akihisa et al., 1996²).

Estudos demonstraram que feridas experimentais realizadas no dorso de ratos, tratadas com creme de *Calendula officinalis* isoladamente ou associado a alantoína, cicatrizaram mais rapidamente quando comparadas com os controles utilizados nessas pesquisas (Klouček-Popova et al., 1982²⁸; Carvalho et. al., 1991¹⁴).

Soluções hidro-alcoólicas de *Calendula officinalis*, isolada ou associada ao *Symphytum officinale* quando aplicadas em alvéolos após extração dental, em coelho e camundongo, também revelaram-se

eficazes na aceleração do processo de reparo alveolar (Alonso et al., 1995³, Roslindo et. al., 1999⁴³).

Jorge Neto et al. (1996)²⁶ concluíram numa avaliação clínica, que o tratamento com tintura e gel de *Calendula officinalis* associado ou não ao *Stryphnodendron barbadetiman* (Vellozo) Martius – Barbatimão - produziram rápida cicatrização e diminuição da dor em queimaduras domésticas e em úlceras varicosas.

Patrick et al. (1996)³⁹, demonstraram em feridas tratadas com extrato aquoso de *Calendula officinalis*, aumento significativo da atividade angiogênica e incremento da neoformação vascular, em relação ao controle.

Ansari et al. (1997)⁵, realizaram avaliações clínicas e microscópicas após aplicações tópicas de óleo à base de *Calendula officinalis* em feridas de pele de búfalos, e puderam concluir que este tratamento acelerou o processo cicatricial.

O modelo metodológico utilizando feridas experimentalmente induzidas em mucosa palatina de ratos foi utilizado por Kahnberg & Thilander (1982)²⁷, para estudar as fases do processo cicatricial, por Seymour et al. (1983)⁴⁶, para avaliar o efeito do ácido cítrico e ainda por Haugen (1980)²⁵, para verificar a ação de cimentos cirúrgicos, sobre a mucosa intacta e sobre a ferida.

Cooperação entre pesquisadores e indústria farmacêutica, tem resultado em significativo progresso na compreensão e no tratamento

das feridas. Dentre os esforços que se tem dedicado nesta área, o desenvolvimento de novos produtos utilizados como curativos e facilitadores do processo cicatricial, permitirão aos clínicos uma atuação mais ativa, buscando influenciar positivamente na cicatrização das feridas (Pollack, 1985)⁴¹.

PROPOSIÇÃO

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da aplicação tópica da preparação em orabase, de solução de Tintura-mãe de *Calendula officinalis* diluída a 10%, sobre a cicatrização de feridas experimentais em mucosa palatina de ratos.

MATERIAL E MÉTODO

4. MATERIAL E MÉTODO

Quarenta e oito ratos *norvegicus albinos*, Wistar, do gênero feminino, com 60 dias de idade, foram divididos em quatro grupos (I, II, III e IV), contendo 12 exemplares cada um. Todos os animais foram mantidos em condições laboratoriais adequadas e alimentados com ração e água *ad libitum* *

Os animais foram anestesiados por inalação de éter sulfúrico, para produção de uma ferida na mucosa palatina, após a terceira rugosidade palatina (Figura 1). Utilizou-se um *punch* com ponta ativa de quatro milímetros de diâmetro para realizar a incisão circular, seguida da remoção da mucosa palatina para produzir as feridas experimentais (Figura 2).

As feridas realizadas nos animais do grupo IV (controle) foram deixadas descobertas, ou seja, não receberam nenhum tratamento (Figura 3). As feridas produzidas nos animais dos grupos I, II, e III receberam a aplicação tópica de uma das seguintes substâncias experimentais (Figura 4):

- Veículo adesivo orabase (Gelatina, pectina e carboximetilcelulose em base de óleo mineral polietileno, em partes iguais – 20g).

* O presente estudo foi aprovado pela Comissão de ética em experimentação animal da Faculdade de Odontologia da UNESP.

- Preparação de calêndula em orabase (Tintura-mãe de *Calendula officinalis* 10% misturada ao referido veículo, qsp - quantidade suficiente para 20g).

- Preparação de Álcool 70% em orabase (Solução hidroalcóolica a 10% misturada ao referido veículo, qsp 20g).

Visando realizar um estudo cego, que permitisse a análise histológica sem que o patologista soubesse qual das substâncias foi aplicada em cada grupo, solicitou-se ao farmacêutico que codificasse os frascos utilizando apenas os termos genéricos: Controle I, Controle II e Controle III (Figura 5). Somente após as análises histológicas das feridas cirúrgicas e a descrição dos resultados, nos três períodos estudados, é que foram reveladas as identificações das substâncias utilizadas nos grupos experimentais:

Grupo I – Preparação de Calêndula em orabase

Grupo II – Preparação de álcool 70% em orabase

Grupo III – Veículo adesivo (orabase)

Grupo IV – Controle (sem tratamento)

O tratamento tópico das feridas, com exceção do grupo IV, consistiu no recobrimento, uma vez ao dia, com 0,1 mililitro de uma das referidas preparações em teste, utilizando uma seringa e agulha calibrosa para facilitar o escoamento das mesmas (Figura 6).

Nos grupos I, II, III, as substâncias foram aplicadas imediatamente após a realização das feridas e repetidas diariamente nas

próximas 72 horas. Após este período, não receberam nenhum tratamento adicional.

Três animais de cada grupo foram sacrificados, respectivamente, 3, 7 e 10 dias após a produção das feridas palatinas, com o objetivo de estudar possíveis efeitos sobre o processo de cicatrização da mucosa palatina, após a aplicação ou não das substâncias utilizadas.

Nos referidos períodos, após o sacrifício dos animais, a maxila contendo a ferida palatina foi removida em bloco, fixada em formalina 10%, descalcificada em solução de ácido fórmico e citrato de sódio, em partes iguais.

Em seguida, as maxilas foram seccionadas no eixo sagital, tendo como referência o centro da ferida. As peças obtidas foram desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina. Nos blocos de parafina foram realizados cortes seriados de seis micrômetros e corados pela Hematoxilina-Eosina (H.E.).

RESULTADO

5. RESULTADO

Os tecidos da região em estudo foram analisados em microscópio de luz, para verificar a existência ou não de diferenças qualitativas, nas diferentes fases da cicatrização das feridas palatinas experimentais, nos quatro grupos estudados.

3 Dias

Grupo I

Os cortes histológicos das feridas palatinas exibiram da superfície para o interior dos tecidos, epitélio de revestimento pavimentoso estratificado paraqueratinizado, mostrando discreta proliferação em direção à área ulcerada. Logo abaixo, observou-se faixa de tecido conjuntivo fartamente celularizado constituindo tecido de granulação. Na porção mais interna, notou-se o tecido ósseo palatino com sinais de vitalidade (Figura 7).

Grupo II

Os cortes histológicos analisados exibiram, da superfície para a região mais profunda das feridas, início de regeneração epitelial. Abaixo deste epitélio, notou-se estreita faixa de tecido de granulação, bem

restrita às extremidades da ferida. Em algumas áreas, o tecido ósseo palatino apresentou solução de continuidade (Figura 8).

Grupo III

A regeneração epitelial foi moderada quando comparada aos grupos anteriores. Houve formação de tecido de granulação apenas nas extremidades da ferida, porém o tecido conjuntivo que recobria o tecido ósseo palatino, apesar de bem celularizado, exibiu muitas células inflamatórias com predomínio das mononucleadas. Havia também polimorfonucleares, não constituindo, assim, um tecido de granulação com características histológicas típicas (Figura 9).

Grupo IV

A regeneração epitelial foi avançada quando comparada aos outros grupos e o tecido de granulação, apesar de bem celularizado mostrou discreta proliferação fibroblástica, associado a edema bem pronunciado. Mesmo assim, este tecido neoformado conseguiu preencher toda a extensão da ferida. O tecido ósseo palatino mostrou todas as características de vitalidade com osteócitos maduros e espaços medulares celularizados e vascularizados (Figura 10).

7 Dias

Grupo I

Nas extremidades das feridas palatinas notou-se discreta proliferação epitelial, com pequena quantidade de tecido de granulação neoformado. No entanto, este tecido limitava-se apenas às extremidades, pois todo o resto do tecido ósseo palatino apresentava-se desnudo. Este tecido ósseo, em sua porção mais superficial começava a exibir espaços medulares com aspecto de necrose (Figura 11).

Grupo II

A regeneração epitelial era muito discreta e o tecido conjuntivo em pequena quantidade apresentava intenso infiltrado inflamatório mononuclear, sem contudo, caracterizar um tecido de granulação. Notou-se que este conjuntivo limitava-se às extremidades das feridas e que o tecido ósseo palatino apresentava-se desnudo na sua porção mais central (Figura 12).

Grupo III

Os animais deste grupo, os tecidos continuavam exibindo uma regeneração epitelial bastante pronunciada. O tecido de granulação ainda com muitas células inflamatórias ocupava toda a extensão da ferida

cirúrgica. O tecido ósseo palatino apresentava osteócitos maduros e espaços medulares com sinais de vitalidade (Figuras 13 e 15).

Grupo IV

Tanto a regeneração epitelial, como a formação de tecido de granulação mostraram-se insignificantes. Notava-se um aglomerado de células inflamatórias mono e polimorfonucleares restritas, apenas às bordas da ferida cirúrgica. Importa ressaltar que o tecido ósseo palatino apresentava-se com aspectos de perda de vitalidade e que sobre ele, havia uma faixa irregular, basófila e fibrilar, assemelhando-se a restos necróticos, que recobriam toda a ferida cirúrgica (Figura 14).

10 Dias

Grupo I

Aos 10 dias pós-operatórios os cortes histológicos deste grupo mostravam ao exame histológico, o tecido ósseo palatino com pequeno número de osteócitos, muitos osteoplastos vazios. Os poucos espaços medulares existentes indicavam perda de vitalidade do referido tecido. Na superfície externa desse tecido ósseo, havia uma faixa de espessura irregular, basófila, fibrilar, sugerindo a presença de restos necróticos. É importante ressaltar que até este tempo pós-operatório estudado, não

ocorreu a regeneração epitelial sobre as feridas palatinas, e que o tecido de granulação presente restringiu-se a estreitas faixas nas bordas da lesão (Figura 16).

Grupo II

Os animais desse grupo, nesse tempo pós-operatório apresentaram indícios de melhor regeneração epitelial sem, contudo, provocar o fechamento completo da ferida palatina. A quantidade de tecido de granulação subepitelial é maior que no grupo anterior, porém o tecido ósseo palatino mostra-se desnudo e com sinais de alteração de vitalidade (Figuras 17 e 20).

Grupo III

A regeneração epitelial continuou proeminente no sentido das bordas para o centro da ferida, porém, não foi suficiente para recobrir toda a área operada. O tecido de granulação, localizado entre o epitélio e o tecido ósseo, era bem celularizado e vascularizado mostrando na sua porção mais superficial grande quantidade de polimorfonucleares (Figura 18).

Grupo IV

À semelhança do grupo I, a regeneração epitelial foi insignificante e o tecido de granulação neoformado restringiu-se a estreitas faixas nas bordas da lesão. O tecido ósseo palatino mostrava perda de vitalidade, com espaços medulares vazios e sobre este, estreita faixa irregular basófila e fibrilar, que se assemelhava a restos necróticos (Figura 19).

Tabela 1 – Avaliação qualitativa da regeneração epitelial e da formação do tecido de granulação subepitelial.

Períodos	Evento biológico	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
3 Dias	Reg. epitelial	++	++	+++	++++
	Form. Tec. Gran.	++++	++	++	+++
7 Dias	Reg. epitelial	++	+	++++	+
	Form. Tec. Gran.	++	+	+++	++
10 Dias	Reg. epitelial	+	+++	++++	+
	Form. Tec. Gran.	++	++	++++	++

* Legenda: + Muito discreta ++ Discreta +++ Moderada ++++ Avançada

Conforme demonstra a tabela 1, a regeneração epitelial foi considerada moderada ou avançada nos três períodos estudados, e a

formação de tecido de granulação foi também bem avaliada qualitativamente, aos 7 e 10 dias pós-operatórios.

A análise dessa tabela, revela que nas feridas dos animais dos grupos I e II, tanto a qualidade da regeneração epitelial como a da formação de tecido de granulação, foram restritas.

Houve atraso na cronologia do processo cicatricial das feridas em todos os grupos estudados, em relação ao que a literatura refere, em termos de evolução temporal deste processo biológico.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

A habilidade de reparação de danos inerentes ao organismo é fundamental para a continuidade da espécie. O padrão de cicatrização dos tecidos bucais é similar ao de qualquer outra região do corpo, embora este processo biológico possa ser alterado pela presença de dentes, saliva e bactérias (McMillan, 1986)³⁴.

As modalidades por meio das quais se processa a cura espontânea das feridas são várias. Os profissionais da saúde as devem conhecer, porque eles nada mais podem fazer além de favorecer, estimular, auxiliar, provocar ou corrigir esses processos naturais, para apressar a cura (Bogliolo, 1987)⁹.

Com o avanço da biologia celular e molecular, é provável que dentro em pouco se esteja fazendo uso dos fatores de crescimento, da aplicação de fibronectina, da laminina, das interleucinas, para acelerar a cicatrização das feridas, porém há necessidade de dosagens adequadas destas substâncias, que ainda não estão estabelecidas (Montenegro & Franco, 1999) ³⁸.

Paralelamente a estes estudos, alguns trabalhos têm sido desenvolvidos na Odontologia, visando avaliar terapêuticas complementares, que se propõem a atuar como facilitadores dos mecanismos de cura, utilizando substâncias que se encontram na própria natureza (Fernandes, 1996) ²².

A cura das feridas com restituição da integridade anatômica e funcional dos tecidos, ocorre através da regeneração do tecido epitelial e a cicatrização do tecido conjuntivo subjacente. Quando nas feridas há perda de tecido, a regeneração das células epiteliais não consegue reconstituir a arquitetura original e o tecido de granulação cresce a partir das margens para completar o reparo. Esta forma de cicatrização é referida como “segunda intenção” (Robbins, 2001) 42.

O processo de regeneração se faz em quatro estágios: inflamação, regeneração do epitélio sobre a superfície desnuda, multiplicação de novas células e diferenciação do novo epitélio. Na inflamação, a superfície desnudada é rapidamente recoberta por um coágulo de fibrina e por células sangüíneas, enquanto os tecidos adjacentes recobertos exibem uma resposta inflamatória aguda. A regeneração do epitélio sobre a superfície desnuda ocorre pela migração de células da margem do ferimento (Anderson, 1990) 4.

A cicatrização é uma interação complexa entre eventos mecânicos, fisiológicos e bioquímicos. Alterações em qualquer aspecto desse processo, inevitavelmente levará a uma cicatrização prolongada ou anormal. Diversos fatores sistêmicos modificam a gravidade da resposta inflamatória e a qualidade do reparo como nutrição do hospedeiro, condição imunológica, oxigenação tecidual e volume circulatório, os quais apresentam grande impacto no sucesso ou falha do processo cicatricial. (Carrico et al., 198413; Robbins et al, 200142). Por outro lado, há que se

preocupar com os fatores locais que influenciam na cicatrização como infecção, fatores mecânicos e corpos estranhos que impedem ou retardam esse processo.

Neste sentido, pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de testar novos produtos que possam auxiliar na cicatrização das feridas.

O rato foi escolhido como modelo experimental devido à facilidade de manuseio e o relativo baixo custo de manutenção. A realização de feridas palatinas em ratos tem se mostrado um bom modelo para avaliar efeitos de substâncias utilizadas sistemicamente ou aplicadas topicamente sobre as lesões experimentais (Cornelissen et al.,2000) 17.

Em condições normais, uma ferida palatina circular de 3mm de diâmetro, segue a seguinte cronologia durante o processo de cicatrização, no 10 dia pós-operatório (PO), um coágulo de fibrina e abundantes polimorfonucleares estão presentes. Após o 20 dia PO, o epitélio começa a proliferar entre o osso e a camada de fibrina. No 40 dia PO, os fibroblastos infiltram a ferida a partir das margens. Ao 80 dia PO, a ferida encontra-se completamente preenchida por tecido de granulação, que é formado por monócitos, granulócitos, fibroblastos, vasos neoformados e matriz celular desorganizada. A ferida deve estar completamente recoberta por epitélio, por volta de nove a dez dias após a sua realização (Cornelissen et al., 1999) 16.

Em nosso trabalho os resultados encontrados mostraram que ocorreu atraso na cronologia da cicatrização das feridas palatinas, pois ao final do período experimental de dez dias, o epitélio ainda não havia recoberto as feridas, em nenhum animal nos quatro grupos experimentais e diferentemente, dos achados de Patrick (1996)³⁹, não se observou aumento da neoformação vascular no tecido de granulação presente nas feridas palatinas.

Possíveis causas desse retardo, podem estar relacionadas à deposição de restos alimentares ou à fratura do osso palatino e conseqüente contaminação da ferida, provocada pela comunicação buco-sinusal.

Observou-se no presente estudo, em alguns animais, lacunas vazias de osteoblastos e fragmentos ósseos desnudos com áreas de necrose superficial, sugerindo ter ocorrido algum dano no osso palatino subjacente, quando da realização da ferida ou durante o processo cicatricial. Tais achados também foram descritos no trabalho de Kahnberg & Thilander (1982)²⁷, em que avaliaram histologicamente, durante três semanas, a cicatrização de feridas em mucosas palatinas de ratos, com 3 mm de diâmetro, também realizadas com um punch.

Anderson (1990)⁴, lembra que a presença de infecção é um importante fator prejudicial na cicatrização das feridas. Ele afirma que a superprodução de exsudato aumenta a extensão do ferimento, toxinas bacterianas provocam necrose e as enzimas fibrinolíticas destroem as

redes de fibrina, que são fundamentais para o crescimento dos fibroblastos e capilares.

Apesar deste fato, observou-se que as feridas tratadas, apenas pelo veículo orabase, nos animais do Grupo III, apresentaram uma cicatrização qualitativamente melhor do que as dos demais grupos.

O veículo orabase composto de gelatina, pectina e carboximetilcelulose, foi testado por Kutscher et al. (1959)²⁹, e tem a propriedade de manter as concentrações do agente ativo na mucosa, por períodos que variam de 15 minutos a mais de 2 horas, dependendo do grau de mobilidade da região e da lavagem pela saliva.

A cicatrização das feridas palatinas dos animais do grupo III mostrou-se nitidamente mais favorável que a cicatrização das feridas do grupo IV. A presença exclusiva da orabase, teria contribuído para que a cicatrização desenvolvesse melhor do que as feridas que não receberam nenhum tratamento?

Langlois & Devildos (1974)³¹, afirmam que o veículo orabase, forma uma película sobre a lesão, que exerce uma ação mecânica protetora contra os fatores locais irritantes.

Talvez esta propriedade da orabase possa justificar a diferença de comportamento biológico e uma cicatrização qualitativamente melhor das feridas do grupo III. As substâncias que constituem a orabase, teriam algum efeito capaz de minimizar os efeitos deletérios causados pela fermentação e/ou deposição de resíduos

alimentares. Entretanto, importa ressaltar que são necessários novos estudos, com maior amostragem, que possibilitem aplicação de testes estatísticos, para que esta hipótese possa ser confirmada ou rejeitada.

Optou-se por avaliar o efeito sobre a cicatrização da ferida palatina, da Tintura-mãe de calêndula (grupo I), bem como o efeito da solução hidro-alcoólica idêntica àquela utilizada para formulá-la (grupo II), ambas diluídas a 10%, e associadas ao veículo orabase. Nas soluções hidro-alcoólicas denominadas Tinturas-mãe, o álcool está presente numa proporção de 10% (Farmacopéia, 1977) 20.

Um fator que pode ter influenciado negativamente nos processos biológicos envolvidos na cicatrização da mucosa palatina, fato observado nos grupos I e II, pode ter sido a presença de concentrações inadequadas do álcool nas substâncias experimentais, utilizadas no tratamento das feridas dos animais desses grupos I.

Como se sabe, o álcool apresenta alta toxicidade dependendo da sua concentração, podendo destruir por contato as células nos tecidos. Futuros trabalhos, que se proponham a avaliar os efeitos de diferentes graus de diluição das soluções hidro-alcoólicas, utilizadas topicamente sobre feridas mucosas, poderão confirmar ou rejeitar esta hipótese.

Não foram encontrados na literatura científica consultada, outros estudos publicados, que tenham se proposto a avaliar o efeito tópico de preparações de *Calendula officinalis* sobre a cicatrização da

mucosa palatina em ratos, o que impossibilita uma comparação com os resultados observados neste trabalho.

Entretanto, os estudos realizados para avaliar o efeito tópico de substâncias à base de *Calendula officinalis* sobre a cicatrização de feridas em pele, são unânimes em confirmar seu efeito cicatrizante, já popularmente conhecido (Kloucek-popova, 198228; Carvalho et al., 199114; Jorge Neto, 199626; Ansari et al., 19975).

Pesquisas também foram realizadas para avaliar os efeitos da *Calendula officinalis* sobre a reparação alveolar após extrações dentárias. Alonso et al. (1995)³, num estudo longitudinal e comparativo realizado em coelhos, demonstraram em seus resultados estatisticamente significantes, que o extrato alcoólico de calêndula acelerou a neoformação de osso alveolar após extração dentária. Roslindo (1999) 43, administraram, por via oral, o complexo homeopático *Symphytum officinale* 6cH e *Calendula officinalis* 3cH antes e após extrações dentárias em camundongos e verificaram neoformação óssea alveolar mais acentuada nestes animais do que nos animais do grupo controle.

A propriedade terapêutica atribuída à *Calendula officinalis*, de facilitar a cicatrização de feridas abertas, tem sido comprovada cientificamente, através das pesquisas citadas anteriormente. No entanto, os resultados do presente estudo, que não evidenciaram superioridade da formulação de calêndula, em relação aos grupos controles, não podem ser tomados como argumentos contra a sua ação cicatrizante.

Diversos fatores podem ter influenciado negativamente a ação dos princípios ativos presentes na *Calendula officinalis*, que confeririam em tese, suas propriedades cicatrizantes. Dentre eles, o mais provável é que o álcool como um dos componentes da formulação experimental de calêndula, estava presente em concentrações acima do limite suportável pelas células, o que teria causado mais prejuízo do que benefício para o desenvolvimento do processo cicatricial.

Estudos realizados em que foram utilizados extratos aquosos de *Calendula officinalis*, têm demonstrado a presença dos mesmos princípios e constituintes encontrados em preparações farmacológicas reportadas pela literatura (Patrick et al, 199639; Aguila et al., 20001).

Dentro desta perspectiva, é recomendável a realização de novas pesquisas utilizando protocolo experimental semelhante a este estudo, com alteração da formulação das substâncias em teste. Eliminando-se o componente alcoólico, pode-se avaliar a eficácia da *Calendula officinalis*, sobre a cicatrização da mucosa palatina sem a possível interferência desse veículo.

Assim, este trabalho não deve ser considerado conclusivo, mas sim como o primeiro de uma série, que se propõem a avaliar o efeito da aplicação tópica da *Calendula officinalis* associada à diferentes veículos, sobre a cicatrização de feridas na mucosa palatina.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Os resultados histológicos obtidos no presente experimento, segundo a metodologia empregada permitiram concluir que:

. A aplicação tópica da preparação de Tintura-mãe de *Calendula officinalis* a 10% em orabase, não proporcionou cicatrização qualitativamente melhor das feridas experimentais do que a observada nos animais dos demais grupos.

. As feridas da mucosa palatina, tratadas topicamente, apenas com o veículo adesivo orabase, evoluíram qualitativamente melhor do que as feridas não tratadas e as que foram tratadas com as demais substâncias.

. O tratamento tópico das feridas da mucosa palatina, com a preparação de Tintura-mãe de *Calendula officinalis* a 10% em orabase, bem como com a preparação de álcool 70% em orabase, apresentaram a cicatrização qualitativamente pior do que nos animais dos demais grupos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

- 1 AGUILA GIL, B. A., MENENDEZ CASTILLO, R., GONZALEZ ROQUE, C., FERNANDEZ FERNANDEZ, D. Extracto acuoso de *Calendula officinalis*: estudio preliminar de sus propiedades. *Rev. Cuba. Planta. Med.*, v. 5, n. 1, p. 30-1, 2000.
- 2 AKIHISA, T., YASUKAWA, H., OINUMA, H., KASAHARA, Y., YAMANOUCHI, S., TAKIDO, M., KUMAKI, K., TAMURA, T. Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry*, v.43, n.6, p.1255-60, 1996.
- 3 ALONSO SÁNCHEZ, C., IBARRA MEDINA, H., INDA CARRILLO, R., RUIZ ORTEGA, S., TIZNATO OROZCO, G. Acción del extracto de "calendula officinalis" en la formación de hueso alveolar post extracción en conejo. *Rev. ADM*, v.52, n.2, p.89-94, 1995.
- 4 ANDERSON, *Pathology*. 9. ed. San Louis: Mosby Company, 1990. v.I, p. 67-110.
- 5 ANSARI, M. A., JADON, N. S., SINGH, S. P., KUMAR, A., SINGH, H. Effect of *Calendula officinalis* ointment, charmil and gelatin granules on wound healing in buffaloes: a histological study. *Indian. Vet. J.*, v.74, n.7, p. 594-7, 1997.

* De acordo com: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. Normas para publicações da UNESP. São Paulo: Editora UNESP, 1994, v. 4 : Referências Bibliográficas

- 6 ASSOCIAÇÃO Brasileira de Medicina Complementar. Fitoterapia. Disponível em: <http://www.medicinacomplementar.com.br/fitoterapia/fitoterapia.shtm>. Acesso em: 25 jan. 2003.
- 7 BARATA, L. E. S. Fitoterápicos. Disponível em: <http://www.comciencia.br/reportagens/fitoterapicos.htm>. Acesso em: 16 mar. 2003.
- 8 BARATA, L. E. S., QUEIROZ, S. R. R. *Contribuição efetiva ou potencial do PADCT para o aproveitamento econômico sustentável da biodiversidade: estudo elaborado para o programa de apoio ao desenvolvimento científico e tecnológico (PADCT), sub-programa de planejamento e gestão em ciência e tecnologia (PGCT), do Ministério da Ciência e Tecnologia. Campinas, outubro 1995.*
- 9 BOGLIOLO, L. *Patologia geral*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. p.85-p.
- 10 BYK química. *Natureza promete bons medicamentos*. Ciências e novidades Check-up, n.24, 2002.
- 11 CARIBE, J. C., CAMPOS, J. M. *Plantas que ajudam o homem: guia prático para época atual*. 5. ed. São Paulo: Cultrix: Pensamento, 1997. 321p.
- 12 CARLINI, E. A. Pesquisas com plantas brasileiras usadas em medicina popular. *AMB Rev. Assoc. Med. Bras.*, v.29, n.5/6, p.109-10, 1983.

- 13 CARRICO, T. J., MEHRHOF JÚNIOR, A. I., COHEN, I. K. Biology of wound healing. *Surg. Clin. North Am.*, v.64, n.4, p.721-33, 1984.
- 14 CARVALHO, P. S. P., TAGLIAVINI, D. G., TAGLIAVINI, R. L. Cicatrização cutânea após aplicação tópica de creme de calêndula e da associação de confrei, própolis e mel em feridas infectadas: estudo clínico e histológico em ratos. *Rev. Ciênc. Bioméd. São Paulo*, v.12, p.39-50, 1991.
- 15 COMCIENCIA Fitoterapia Disponível em:
<<http://www.comciencia.br/reportagens/fito1.htm>>. Acesso em:
25 jan. 2003.
- 16 CORNELISSEN, A. M. H., MALTHA, J. C., VON DEN HOFF, H. W., KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. Palatal mucoperiosteal wound healing in the rat. *Eur. J. Oral. Sci.*, v.107, n.5, p.344-51, 1999.
- 17 CORNELISSEN, A. M. H., MALTHA, J. C., VON DEN HOFF, J. W., KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. Local injection of IFN-gamma reduces the number of myofibroblasts and the collagen content in palatal wounds. *J. Dent. Res.*, v.79, n.10, p.1782-8, 2000.
- 18 DELLA LOGGIA, R., TUBARO, A., SOSA, S., BECKER, H., SAAR, ST, ISAAC, O. The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *calendula officinalis* flowers. *Planta Med.*, v.60, n.6, p. 516-20, 1994.
- 19 FARKAS, L. Active principles of plants of traditional medicine as models of new drugs. *J. Ethnopharmacol.*, v.2, n.2, p. 145-8, 1980.

- 20 FARMACOPÉIA homeopática brasileira: revista e complementada conforme a Portaria Ministerial nº 383/1977. São Paulo: Organização Andrei Ed., 1977. 115p.
- 21 FARNSWORTH, N. R., AKERELE, O., BINGEL, A. S., SOEJARTO, D. D., GUO, Z. Medicinal plants in therapy. *Bull. World Health Organ.*, v.63, n.6, p. 965-81, 1985.
- 22 FERNANDES, A. V. *Avaliação da Arnica montana L. 6 cH no controle da dor, edema e trismo após extrações de dentes impactados — Estudo clínico, randomizado, cruzado, duplo-cego e placebo controlado*. Araçatuba, 1996. 158p. Tese (Doutorado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 23 FOSSAT, A. G. *A cura pelas plantas: pelas folhas, pelos frutos, pelas raízes*, 9.ed : Rio de Janeiro: Eco, [199?] 157p.
- 24 GUIA do Buscador. Terapias. Disponível em:
<<http://www.guiadobuscador.com.br/terapias/texto=Fitoterap>>.
Acesso em: 25 jan. 2003.
- 25 HAUGEN, E. The effect of periodontal dressings on intact mucous membrane and on wound healing: a methodological study. *Acta Odontol. Scand.*, v.38, n.6, p. 363-70, 1980.
- 26 JORGE NETO J., FRACASSO, J. F., CAMARGO NEVES, M. C. L., SANTOS, L. E., BANUTH, V. L. Tratamento de úlcera varicosa e lesões de pele com *Calendula officinalis L.* e/ou *Stryphnodendron*

- Barbadetiman* (Vellozo) Martius. *Rev. Ciênc. Farm.*, v.17, p.181-6, 1996.
- 27 KAHNBERG, K. E., THILANDER, H. Healing of experimental excisional wounds in the rat palate. I. Histological study of the interphase in wound healing after sharp dissection. *Int. J. Oral Surg.*, v.11, n.1, p. 44-51, 1982.
- 28 KLOUCHEK-POPOVA, E., POPOV, A., PAVLOVA, N., KRUSTEVA, S. Influence of the physiological regeneration and epithelialization using fractions isolated from *Calendula officinalis*. *Acta Physiol. Pharmacol. Bulg.*, v.8, n.4, p.63-7, 1982.
- 29 KUTSCHER, A., ZEGARELLI, E. V., BEUBE, F. E., CHILTON, N. W., BERMAN, C., MERCADANTE, J. L., STERN, I. B., ROLAND, N. A new vehicle (Orabase) for the application of drugs to the oral mucous membranes. *Oral Surg.*, v.12, p.1080-9, 1959.
- 30 LABORATÓRIO Fitoterápico Panizza. Fitoterapia. Disponível em: <<http://www.fitoterapia.com.br/>>. Acesso em: 25 jan. 2003.
- 31 LANGLOIS, C. C., DEVILDOS, L. R. Effect of the topical application of triamcinolone on the healing of oral mucous membranes wounds: histologic study in rats. *Rev. Bras. Pesq. Méd. Biol.*, v.7, n.4, p.373-81, 1974.
- 32 LUZ, H. S. *Calendula officinalis*. *Cad. mat. méd*, v.1, p.95-104, 1993.
- 33 MARINI-BETTÒLO, G. B. Present aspects of the use of plants in traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.*, v.2, n.1, p.5-7, 1980.

- 34 McMILLAN, M. D. The healing of oral wounds. *N. Z. Dent. J.*, v.82, n.369, p. 112-6, 1986.
- 35 MEDICINA complementar – *Calendula officinalis*. Disponível em: <<http://www.medicinacomplementar.com.br/fitoterapia/bibliotecda/calendula.shtm>>. Acesso em: 25 jan. 2003.
- 36 MELLO, J. F. Plants in traditional medicine in brazil. *J. Ethnopharmacol.*, v.2, n.1, p.49-55, 1980.
- 37 MILLER, L. G. Herbal medicinals: selected clinical considerations focusing on known or potential drug-herb interactions. *Arch. Int. Med.*, v.15, p.2200-11, 1998.
- 38 MOTENEGRO, M. & FRANCO, M. *Patologia: processos gerais* 4^a ed. Editora Atheneu, 1999. 320p.
- 39 PATRICK, K. F. M., KUMAR, S., EDWARDSON, P. A. D., HUTCHINSON, J. J. Induction of vascularisation by an aqueous extract of the flowers of *Calendula officinalis* L. the european marigold. *Phytomedicine*, v. 3, n. 1, p.11-18, 1996.
- 40 PLANTAS medicinais. Produzido por Dra. Henriqueta Sacramento. Disponível em: <http://www.escelsanet.com.br/sitesaude/artigos_cadastrados/>. Acesso em: 25 jan. 2003.
- 41 POLLACK, S. V. Wound healing 1985: an update. *J. Dermatol. Surg. Oncol.*, v.11, n.3, p.296-300, 1985.

- 42 ROBBINS, S. L. *Patologia estrutural e funcional*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 766p.
- 43 ROSLINDO, E. B., SILVÉRIO, K. G., MALAGONI, D. M. Processo de reparo em feridas de extração dentária em camundongos tratados com o complexo *Symphytum officinale* e *Calendula officinallis*. *Rev. Odontol. Univ. São Paulo*, v.13, n.2, p.181-7, 1999.
- 44 SANGUINETTI, E. E. *Plantas que curam*. 2.ed. Porto Alegre: Rígel, 1989. 208p.
- 45 SCAVONE, O., GRECCHI, R., PANIZZA, S., SOUZA E SILVA, R. A. P. Guaçatonga (*Casearia sylvestris swartz*): aspectos botânicos da planta, ensaios fitoquímicos e propriedade cicatrizante da folha. *An. Farm. Quím.*, v.19, n.1, p.73-81, 1979.
- 46 SEYMOUR, G. J., ROMANIUK, K., NEWCOMB, G. M., Effect of citric acid on soft tissue healing in the rat palate. *J. Clin. Periodontol.*, v.10, n.2, p.182-7, 1983.
- 47 STERN M. Que é fitoterapia. Entrevista. Produzida pelo Saúde na internet. Disponível em: <http://www.saudenainternet.com.br/fitoterapia/fitoterapia>>. Acesso em: 25 jan. 2003.
- 48 SVENDSEN, A. B., SCHEFFER, J J. C. Natural products in therapy. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, v.4, 1982.
- 49 TESKE, M., TRENTINI, A. M. *Compêndio de fitoterapia*. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, 1994. 268 p.

50 WILKOMIRSKI, B. Pentacyclic triterpene triols from *calendula officinalis* flowers. *Phytochemistry*, v. 24, n.12, p. 3066-7, 1985.

FIGURAS



Figura 1 - Aspecto pré-operatório da mucosa palatina.



Figura 2 - Punch posicionado imediatamente após a terceira rugosidade palatina.



Figura 3 - Aspecto da ferida experimental realizada na mucosa palatina.



Figura 4 - Substância em teste recobrendo a superfície da ferida palatina.



Figura 5 - Frascos contendo as substâncias em teste.



Figura 6 - Seringa utilizada para depositar as substâncias sobre a ferida palatina.

3 DIAS

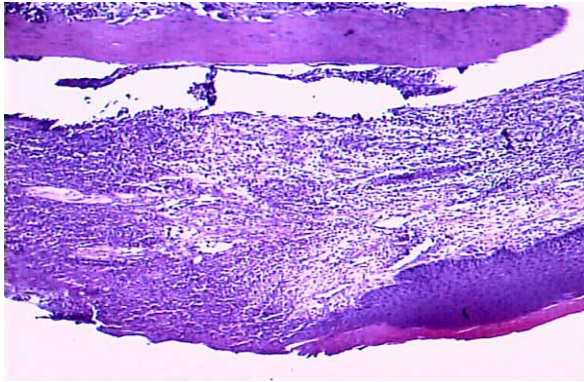


Figura 1 - 3DG1 - 10 X

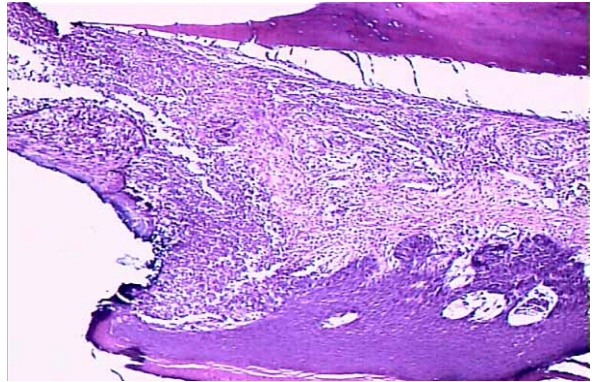


Figura 3 - 3DG2 - 10 X

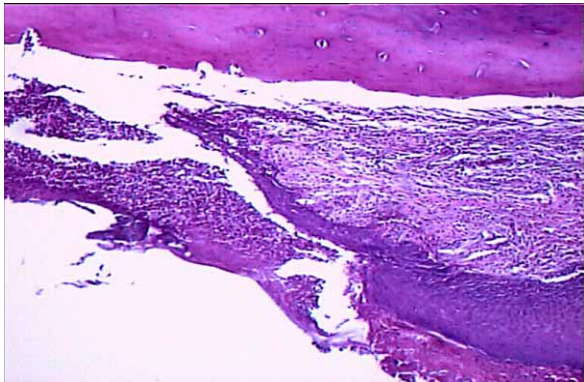


Figura 5 - 3DG3 - 10 X



Figura 7 - 3DG4 - 10 X

7 DIAS

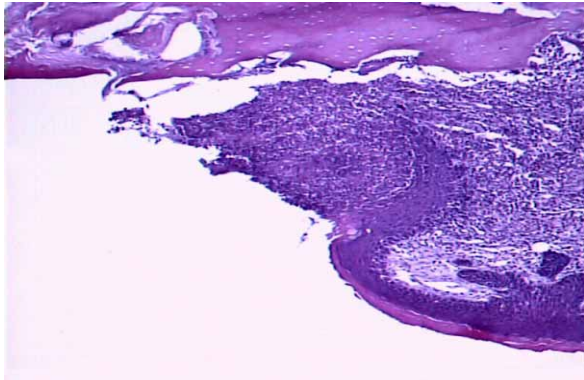


Figura 9 - 7DG1 - 10 X

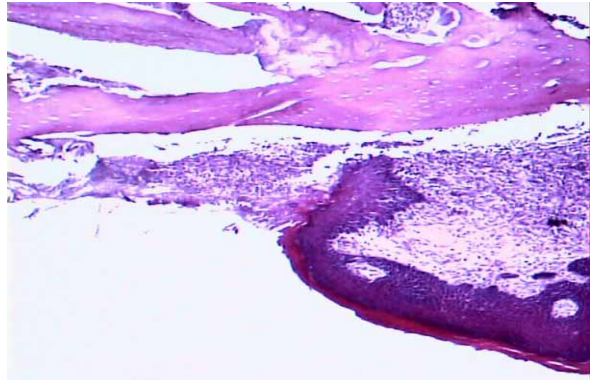


Figura 12 - 7DG2 - 10 X

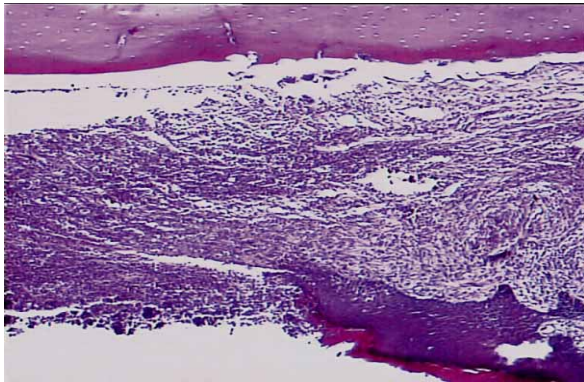


Figura 15 - 7DG3 - 10 X

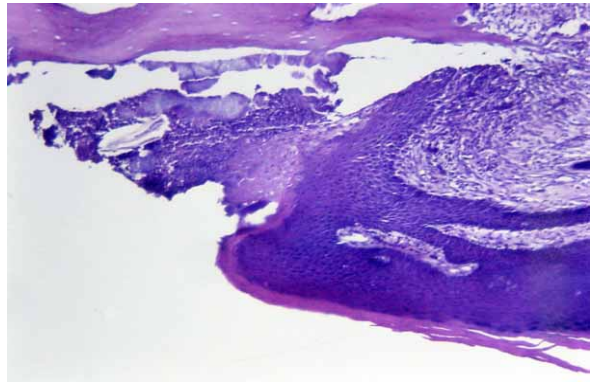


Figura 16 - 7DG4 - 10 X

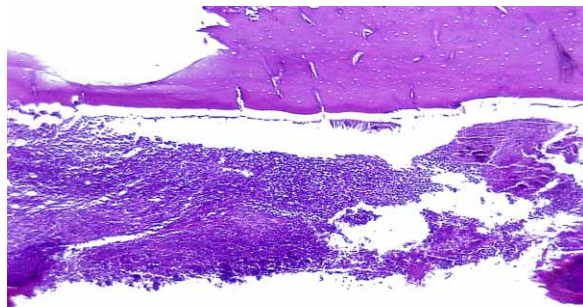


Figura 14 - 7DG3 - 5 X

10 DIAS

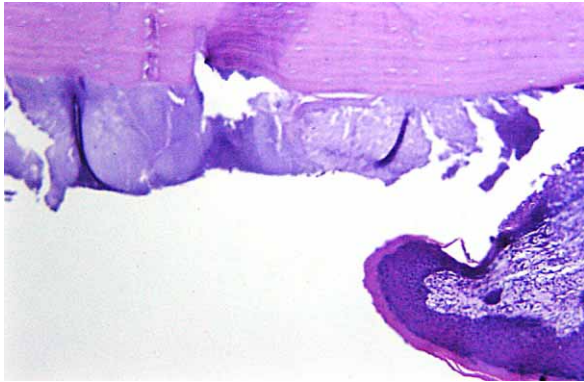


Figura 18 - 10DG1 - 10 X

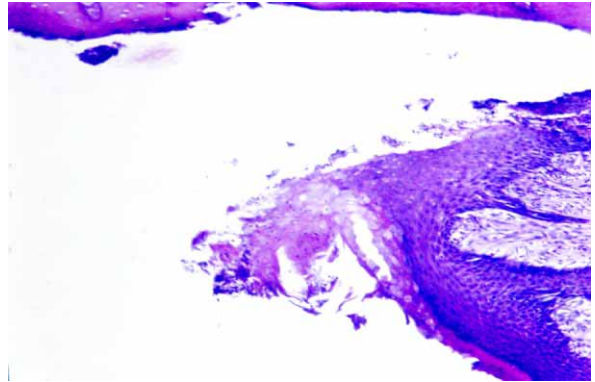


Figura 21 - 10DG2 - 10 X

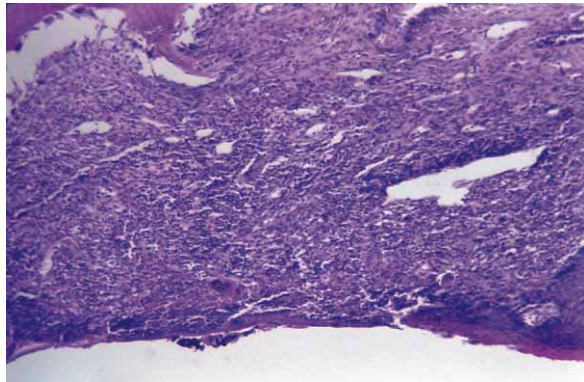


Figura 23 - 10DG3 - 10 X

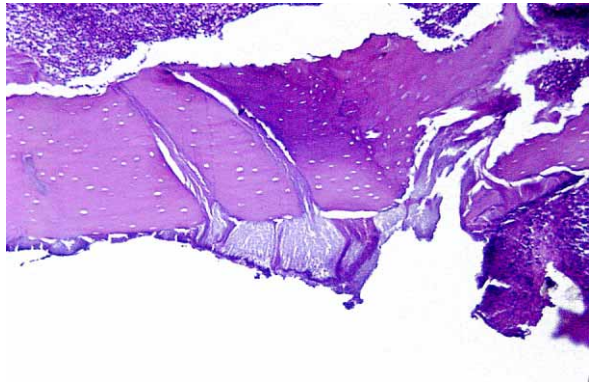


Figura 27 - 10DG4 - 10 X

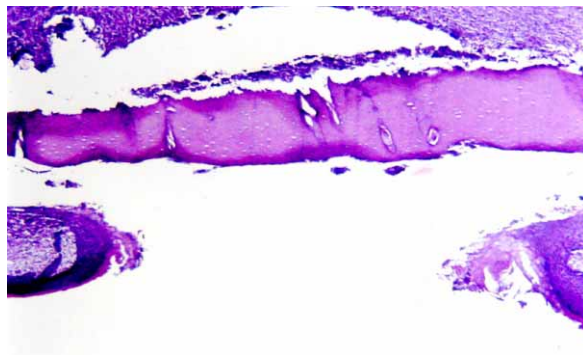


Figura 20 - 10DG2 - 5 X

FERNANDES, A. V. Efeitos do uso tópico de *Calendula officinalis* na cicatrização de feridas em mucosa palatina. Estudo histológico em ratos. Araçatuba, 2003. 61p. Dissertação Mestrado em Estomatologia – Faculdade de Odontologia. Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Desde as tradições dos povos mais antigos, tem sido atribuídas à *Calendula officinalis*, propriedades cicatrizantes quando aplicada topicamente em feridas expostas ao meio externo. Diversos trabalhos da literatura científica mundial vêm buscando comprovar essa propriedade terapêutica, bem como relacionar os elementos que a constituem. O presente experimento propõe avaliar os efeitos da aplicação tópica da preparação de Tintura-mãe de *Calendula officinalis* em orabase, sobre a cicatrização de feridas experimentais em mucosa palatina de ratos. Após realizar feridas palatinas padronizadas, quarenta e oito animais foram divididos em quatro grupos, para receberem a aplicação tópica de três diferentes tipos de preparações: Grupo I: Tintura-mãe de calêndula + orabase; Grupo II: Solução hidro-alcoólica + orabase; Grupo III: Orabase. Os animais do Grupo IV não receberam nenhum tipo de tratamento. Todos animais foram tratados com as referidas substâncias diariamente,

uma vez ao dia, por 72 horas, após a realização das feridas e sacrificados 3, 7 e 10 dias depois. A evolução do processo cicatricial foi avaliada histologicamente, através de microscopia de luz, por um patologista que ignorava a identificação dos grupos a que se referiam as lâminas (H.E.). Os resultados obtidos no presente experimento, segundo a metodologia empregada, permitiram concluir que as feridas na mucosa palatina, tratadas topicamente com a preparação de Tintura-mãe de *Calendula officinalis* em orabase, não apresentaram uma cicatrização qualitativamente melhor do que a observada nos animais dos demais grupos experimentais.

Palavras-chave: *Calendula officinalis*.; fitoterapia;
cicatrização de feridas

Fernandes, A. V. Effects of the topic use of *Calendula officinalis* in healing in palate wounds. Histologic studies in rats. Araçatuba, 2003. 62p. Dissertação Mestrado em Estomatologia – Faculdade de Odontologia. Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Since the most ancient people traditions, healing properties have been attributed to the *Calendula officinalis* when it is used topically in wound exposed to the external setting. Several studies in the scientific literature around the world have been trying to prove this therapeutic property and relating its elements as well. The present experiment proposes evaluate the effects of the topic use from the mother-tincture of *Calendula officinalis* in orabase , in healing of experimental wounds in the rat palate. After perform pattern palate wounds, forty eight animals were divided in four groups. They received topic application from three different type of preparation: Group I – Mother-tincture of calendula + orabase; Group II – Hydro-alcoholic solution + orabase; Group III – Orabase. The group IV animals did not receive any kind of treatment. After the wound completion, all of them were treated with the referred solutions daily, three times per day, during 72 hours and the animals were sacrificed in three, seven and ten days. The healing process evolution was evaluated by a pathologist

through optical microscope, without group identification in slides (blind analyze). According the methodology used, the results obtained in the present experiment allowed the following conclusion: the wounds in the rat palate treated topically with the mother-tincture from the *Calendula officinalis* in orabase, did not presented a qualitatively healing improvement than the observed in the other experimental groups.

Keywords: *Calendula officinalis*.; phytotherapy; wound healing