



Análise clínica e histológica de feridas cirúrgicas de cadelas tratadas com um composto fitoterápico de *Calendula officinalis*, *Aloe vera*, *Symphytum officinale L.*, *Vitis vinifera*, D-Pantenol e Benzoato de Denatônio[®]

[Clinical and histological analysis of surgical wounds of female dogs treated with a phytotherapy compound of *Calendula officinalis*, *Aloe vera*, *Symphytum officinale L.*, *Vitis vinifera*, D-Panthenol and Denatônio Benzoate[®]]

"Artigo Científico/Scientific Article"

Maria Sheila da Silva **Ferreira**^{*}, Grazielle Anahy de Sousa **Aleixo**, Fábio de Souza **Mendonça**, Joaquim **Evêncio Neto**, Mauro Araujo **Penaforte Junior**, Sabrina Candido **Trajano**, Kleyton Domingos **Melo**, Saulo Romero Felix **Gonçalves**, Karine Silva **Camargo**, Gabriela Ratis **Galeas**

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil.

^{*}Autora para correspondência/Corresponding author: E-mail: sheilasnavet@gmail.com

Resumo

Esse experimento teve como objetivo avaliar o potencial cicatricial de uma loção fitoterápica formulada com *Calendula officinalis* – 1,0%, *Aloe vera* – 1,0%, *Symphytum officinale L.* – 1,0%, *Vitis vinifera* – 1,0%, D-Pantenol – 3,0% e Benzoato de Denatônio – 0,02%, (PSK Repair System[®]) que foi aplicada topicamente sobre feridas cirúrgicas de cadelas. O grupo experimental foi composto por 30 cadelas que foram submetidas à ovariectomia (OH), sendo realizada uma incisão de cinco centímetros na linha abdominal ventral para acesso cirúrgico, e a ferida foi dividida em duas partes iguais de 2,5 cm. No pós-operatório foi aplicada diariamente, durante sete dias, sobre a parte cranial a loção fitoterápica (Grupo Tratado - GT), enquanto que na parte caudal foi aplicada uma loção à base de vaselina (Grupo Controle - GC). Com sete (D₇), 14 (D₁₄) e 21 (D₂₁) dias foram escolhidas aleatoriamente cinco pacientes de cada grupo para realização de análise macroscópica da ferida cirúrgica e exame histopatológico. Clinicamente se observou que no GT houve melhora no processo de reparação tecidual, fato esse que foi reforçado pelo exame histopatológico no qual foi possível observar que a presença de infiltrados mononucleares foi menor, enquanto que a presença de fibroblastos e neovascularização se apresentaram de forma mais efetiva que no GC. Diante dos achados, conclui-se que a loção fitoterápica agiu sobre a ferida cirúrgica ajudando no reparo tecidual, suscitando subsídios científicos que fundamentem seu uso como cicatrizante na rotina cirúrgica veterinária.

Palavras-chave: cão; cicatrização; fitoterapia; pele.

Abstract

The objective of this experiment was to evaluate the healing potential of a lotion formulated with *Calendula officinalis* – 1,0%, *Aloe vera* – 1,0%, *Symphytum officinale L.* – 1,0%, *Vitis Vinifera* – 1,0%, D-Panthenol – 3,0% and Denatonium Benzoate – 0,02% (PSK Repair System[®]), which was applied topically on surgical wounds of female dogs. The experimental group consisted of 30 female dogs submitted to ovariohysterectomy (OH) where a 5 cm incision was made in the ventral abdominal line for surgical access, and the wound was divided into two equal parts of 2.5 cm each (caudal and cranial). After surgical procedure, the lotion was applied in the cranial part (Treatment Group – GT) daily for seven days, while in the caudal part a Vaseline-based lotion was applied (Control Group – GC). With seven (D₇), 14 (D₁₄) and 21 (D₂₁) days of postoperative five patients were randomly chosen for macroscopic analysis of the surgical wound and histopathological examination. Clinically it was observed that the GT have improved tissue repair, a fact that was reformed by histopathological examination where it was possible to observe lower presence of mononuclear infiltrates, while the presence of fibroblasts and neovascularization was more effective in the CG. Based on clinical and

Recebido 05 de junho de 2020. Aceito 15 de dezembro de 2021.

DOI: <https://doi.org/10.26605/medvet-v16n1-3611>

histopathological findings, it was concluded that the phytotherapy lotion acted on the surgical wound increasing tissue repair, provoking scientific subsidies that substantiate its use in the veterinary surgical routine.

Keywords: dog; healing; phytotherapy; skin.

Introdução

O termo cicatrização se refere ao processo pelo qual um tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado (Oliveira e Dias, 2012) e atualmente novas ferramentas para a cicatrização de feridas estão sendo utilizadas na rotina cirúrgica da Medicina Veterinária, que vão desde a utilização de terapias celulares, bem como o uso de fitoterápicos, que por sua vez, são largamente usados como adjuvantes no processo de cicatrização de feridas cirúrgicas (Montenegro, 2012). Esses agentes dispõem de várias funções e atuam em conjunto com outros tipos de células e substâncias pró-inflamatórias para regenerar os tecidos (Oliveira e Dias, 2012).

Calendula officinalis (Calêndula), *Aloe vera* (Babosa), *Symphytum officinale L.* (Confrei), *Vitis vinifera* (uva), D-Pantenol e Benzoato de Denatônio podem ser descritos como uma opção terapêutica para auxiliar nesse processo cicatricial (Simões et al., 2016).

A Calêndula tem a capacidade de aumentar o processo de revascularização, contribuindo para a atividade cicatrizante e a neovascularização (Carvalho e Silveira, 2010). A Babosa, uma das espécies mais destacadas do gênero *Aloe*, apresenta no parênquima de suas folhas mucilagem com propriedade cicatrizante, tendo como função a substituição do tecido lesionado, por conjuntos neoformados, realizando a cicatrização da lesão (Oliveira e Dias, 2012), enquanto que o sumo das folhas de Confrei tem sido empregado em compressas e unguentos para cicatrização de feridas, tratamento de fraturas, entorses, contusões e hematomas (Simões et al., 2016). A semente de uva possui em sua composição o tocoferol (vitamina E) que é um antioxidante que ajuda na regeneração do tecido cutâneo e ácido linoleico (ômega 6), que é um ácido graxo com propriedades anti-inflamatórias. A regeneração celular é acelerada com a aplicação tópica do D-Pantenol, formando uma epiderme com elevado nível organizacional e bons resultados estéticos (Polacow et al., 2005), enquanto que o Benzoato de Denatônio atua como agente aversivo, prevenindo

a ingestão acidental ou deliberada do produto (Carvalho e Silveira, 2010).

Com o intuito de auxiliar o processo de cicatrização de feridas cirúrgicas, esse experimento visou aplicar um composto fitoterápico de *Calendula officinalis* – 1,0% (Calêndula), *Aloe vera* – 1,0% (Babosa), *Symphytum officinale L.* – 1,0% (Confrei), *Vitis vinifera* – 1,0% (uva), D-Pantenol – 3,0% e Benzoato de Denatônio – 0,02% (PSK® Repair System) de forma tópica sobre as feridas cutâneas e avaliar o seu potencial cicatricial.

Material e Métodos

Durante o período de realização da pesquisa foram utilizadas 30 cadelas com peso e idade variando, respectivamente, entre sete e 13 kg e um e seis anos, provenientes da casuística no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, cujos tutores procuraram a referida instituição na intenção de realizar a castração cirúrgica dos seus animais.

Primeiramente se realizou exame clínico, hemograma, perfil bioquímico e exame de ultrassonografia abdominal, com o intuito de verificar o estado de saúde geral de cada uma. Amostras de sangue venoso foram coletadas através de punção da veia jugular com seringa estéril de 5 mL e, acondicionados em dois frascos separados, sendo o primeiro de plástico e contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) a 10% para realização do hemograma completo e o segundo também de plástico, contendo gel separador e ativador no fundo para obtenção do soro e realização das provas bioquímicas (alanina aminotransferase - ALT, aspartato aminotransferase - AST, fosfatase alcalina - FA, ureia e creatinina).

Em dia previamente agendado e após jejum alimentar de oito horas e hídrico de quatro horas, as pacientes foram encaminhadas para a sala de preparação cirúrgica onde foi executada a tricotomia da região abdominal.

O protocolo anestésico empregado constou de acepromazina, na dose de 0,1 mg/kg pela via intramuscular (IM) e diazepam (0,2 mg/kg, IM)

como medicação pré-anestésica (MPA). Na profilaxia analgésica e antimicrobiana foram administrados respectivamente, cloridrato de tramadol (4mg/kg/IM) e enrofloxacin (5 mg/kg) pela via subcutânea (SC). A indução anestésica foi efetuada com propofol (4 mg/kg) via intravenosa (IV) e seguida à intubação endotraqueal, procedeu-se a pré-oxigenação por cinco minutos com 100% de oxigênio e manutenção da anestesia com isoflurano com fluxo de 30 mL/kg em circuito anestésico semifechado. A paciente permaneceu em venóclise com administração de cloreto de sódio (NaCl) 0,9%, inserida a uma taxa de infusão de 10 ml/kg/hora durante todo procedimento cirúrgico.

As pacientes foram posicionadas na mesa sobre a calha cirúrgica em decúbito dorsal para permitir acesso à linha média ventral e a antisepsia da área cirúrgica foi realizada pela aplicação de solução de álcool a 70% e digluconato de clorexidina a 2%.

Para ter acesso à cavidade abdominal foi efetuada, a partir da cicatriz umbilical (em sentido caudal), uma incisão retilínea na linha média ventral de 5 cm de comprimento. Após o divulsionamento do tecido subcutâneo e localização da linha alba, a mesma foi incidida e então, a cirurgia de OH foi praticada, conforme técnica rotineiramente utilizada. Em seguida foi promovida a síntese da linha alba usando o padrão de sutura Sultan utilizando o fio sintético, absorvível, poliglactina 910, trançado, agulhado, n° 2,0, o mesmo tipo de fio foi usado para realizar a aproximação do subcutâneo utilizando o padrão de sutura intradérmico e para a síntese da pele foram confeccionados pontos de Wolff utilizando fio sintético não-absorvível de náilon monofilamentar agulhado n° 3-0, em quantidade suficiente para promover a reaproximação das bordas da ferida cirúrgica.

Nesse momento a ferida cirúrgica foi delimitada em dois quadrantes, cranial e caudal, assim, cada paciente pertenceu ao grupo controle (GC) e tratado (GT) simultaneamente. Nos 2,5 cm craniais foi aplicada a loção fitoterápica e nos 2,5 cm caudais foi aplicada uma loção à base de vaselina. Após a aplicação do composto e da loção, a ferida foi protegida com gaze e esparadrapo de micropore.

Após o procedimento cirúrgico e recuperação anestésica, as pacientes foram encaminhadas para o internamento particular de uma clínica 24h, onde permaneceram por um

período de oito dias, em que os curativos eram trocados diariamente. Após a retirada do esparadrapo e da gaze, as feridas eram limpas com solução fisiológica, secas com gaze, e após toda avaliação clínica um novo curativo era realizado. As mesmas foram clinicamente examinadas diariamente até o oitavo dia e nessa etapa também foi feita a administração de cefalexina, na dose de 20 mg/kg, duas vezes ao dia, pela via oral (VO), meloxicam, na dose de 0,1 mg/kg a cada 24 horas/VO e dipirona na dose de 25 mg/kg a cada 12 horas/VO, mantendo-se a administração de cada fármaco por sete, quatro e cinco dias, respectivamente.

Em toda a área da ferida cirúrgica foram avaliados a presença de edema, eritema, coloração e aspecto do tecido cicatricial, sendo as mesmas classificadas de acordo com uma escala de graduação adaptada para esse experimento, onde: Grau +: nenhuma alteração; Grau ++: alteração discreta/leve; Grau +++: alteração moderada e Grau ++++: alteração grave.

Em cada avaliação, as feridas cirúrgicas eram fotografadas com câmera fotográfica digital (Samsung Smart Cameras - PL100, 12.2 megapixels) para registro das alterações que ocorreram ao longo do experimento. Para obtenção da fotografia, a máquina digital foi posicionada sobre um tripé que se manteve sempre a distância focal (20 cm) entre a lente e o objeto a ser fotografado. As fotos foram digitalizadas com resolução de 640 pontos na horizontal e 480 pontos na vertical e 24 bits de cores.

No sétimo dia (D₇) os pontos cirúrgicos foram removidos e com sete (D₇), 14 (D₁₄) e 21 (D₂₁) dias de pós-cirúrgico foram selecionadas aleatoriamente cinco pacientes de cada tempo para realização de biópsia de pele. Após sedação das pacientes com acepromazina e diazepam (mesma dose da cirurgia) e dessensibilização da região pela infiltração local de cloridrato de lidocaína (7 mg/kg), as amostras foram obtidas usando um *punch* de 6 mm, imersas em solução tamponada de formaldeído a 10%, visando submeter esse tecido à análise histológica. A área da biópsia foi suturada empregando um padrão isolado simples com fio de náilon monofilamentar agulhado n° 3-0. Após esse procedimento foi mantida a administração do antimicrobiano, anti-inflamatório e analgésico (mesmo protocolo empregado no período pós-operatório).

As amostras previamente fixadas foram submetidas ao processamento histológico que

constituiu na desidratação em álcool decrescente, diafanização, embebição em parafina e inclusão em parafina histológica derretida a 60°C. Em seguida, foram submetidas à microtomia para a secção de cortes histológicos de 5 micrômetros que foram depositados em lâminas histológicas e corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE) e com tricômico de Gomori. Após a realização das colorações as lâminas foram avaliadas em microscópio óptico, utilizando o programa LASEZ 4.0 (Leica) e fotomicrografadas com objetiva de 40x. Com a coloração em HE foi possível analisar a presença de infiltrado mononuclear, fibroblastos e neovascularização.

Uma vez coradas com o tricômico de Gomori, as amostras foram fotomicrografadas com a objetiva de 40x, após isso foram analisadas no programa GIMP versão 2.8.8, onde foram divididas em dois campos: direita para o centro e esquerda para o centro. Os números obtidos em pixels em cada uma das análises de cada campo foram somadas e divididas por dois, obtendo-se assim, a densidade das fibras de colágeno de cada amostra.

Os dados foram representados utilizando gráficos de densidade e QQ para avaliar se havia semelhança com a distribuição normal, ou se os mesmos são normais. Depois foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Devido ao N amostral para cada variável nos diferentes tempos analisados (7, 14, 21) ser menor que 30, e o fato dos gráficos mostrarem que os dados não têm distribuição normal, foi empregado um teste não paramétrico. Utilizou-se o método estatístico de Wilcoxon, que permite comparar as médias (dois a dois grupos) das variáveis dos grupos tratados e

controle nos dias 7, 14, 21. Todos os dados foram analisados utilizando o *software* R 3.5.2 (R Core Team, 2018).

No oitavo dia (D₈) as pacientes receberam alta e foram entregues aos seus tutores, os mesmos foram orientados para não utilizarem nenhum produto sobre a ferida cirúrgica e com 15 dias (D₁₅) uma nova consulta foi realizada para a última avaliação clínica da região.

Resultados e Discussão

As feridas foram avaliadas clinicamente durante sete dias, período esse onde foi aplicado a loção fitoterápica (GT) e loção de vaselina (GC) e avaliados a presença de edema, eritema, coloração e aspecto do tecido cicatricial para preenchimento da escala de graduação utilizada nesse experimento.

Do D₁ ao D₇ com relação a edema, eritema e coloração não foram observadas alterações significativas no GT nem no GC. Com relação ao aspecto do tecido cicatricial foi observada diferença macroscópica entre o GT e o GC (Figura 1), fato esse que se explica pela presença do D-Pantenol, pois o mesmo quando aplicado de forma tópica é convertido a ácido pantotênico, um constituinte natural da pele favorecendo a cicatrização com bons resultados estéticos, corroborando assim, achados descritos por Polacow et al. (2005), em que o mesmo avaliou o efeito do ultrassom e do D-Pantenol na regeneração tecidual de ratos da raça wistar e observaram que, quando usados separadamente, os métodos foram efetivos pra o reparo tecidual, mas quando associados não houve diferença estatística entre eles.

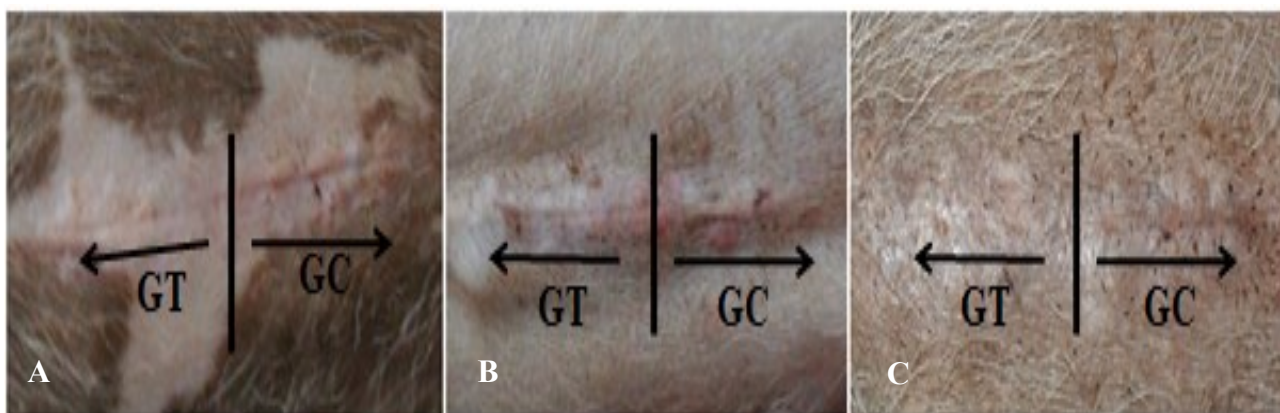


Figura 1. Análise clínica no D₇ (A), D₁₄ (B) e D₂₁ (C), com relação ao aspecto do tecido cicatricial. É possível observar melhora no processo de cicatrização do GT em relação ao GC, em cada um desses tempos pós-cirúrgicos.

Histopatologicamente, as amostras foram analisadas tanto no GT quanto no GC, de acordo

com a presença de infiltrado mononuclear, fibroblastos e neovascularização, elementos

importantes para o processo de cicatrização (Figuras 2 e 3).

No D₇ do GC foi observada uma extensa área de ulceração epidérmica (Figura 2A), enquanto que no mesmo período o GT (Figura 3A) apresentou uma área de ulceração mais uniforme, demonstrando que o processo de reparo tecidual estava ocorrendo de forma satisfatória. Esses achados corroboram os encontrados por Mendonça et al. (2009) em experimento semelhante, no qual foi testado *Aloe vera* isoladamente e associada à estimulação elétrica por microcorrentes em feridas cutâneas de ratos, e foi observada uma boa reepitelização aos sete dias.

Com relação à presença de infiltrado mononuclear, foi possível observar que no GC (Figura 2B) houve maior presença desses componentes quando comparados com o GT, demonstrando que a presença dessas células não favoreceram a cicatrização do GC, como foi possível observar no D₁₄ e no D₂₁ (Figuras 2C-2F), pois nesses tempos pós-cirúrgicos, a camada epidérmica ainda apresentava discreta ulceração e discreto infiltrado mononuclear, enquanto que no mesmo período do GT a epiderme encontrava-se preservada (Figuras 3C e 3D).

Em trabalho desenvolvido por Parente et al. (2009), no qual o efeito cicatrizante e antibacteriano de *Calendula officinalis* foi testado sobre feridas cutâneas de ratos, não houve diferença estatística entre os grupos com relação à variável infiltrado inflamatório, mas foi observado que a mesma favoreceu o processo cicatricial das feridas cutâneas dos ratos, fato esse que foi possível observar no presente estudo, uma vez que *Calendula officinalis* se faz presente no composto testado.

A angiogênese é o processo de formação de novos vasos sanguíneos, fator imprescindível para manter o ambiente da cicatrização da ferida. No D₁₄ o GC apresentou um número elevado de novos vasos, momento esse que os mesmos já deveriam estar diminuindo e se tornando mais calibrosos, esse achado pode ter levado a um retardo no processo de reepitelização, uma vez que no D₂₁ o GC ainda apresentou área de ulceração epidérmica. Já no D₂₁ os achados do GT deste experimento (Figura 3F), corroboram a pesquisa realizada por Takzare et al. (2009), em que foi utilizado gel de *Aloe vera* em feridas cutâneas de ratos e se observou baixas concentrações de vasos sanguíneos aos 21 dias de pós-operatório, além de epitélio completamente formado em feridas

cutâneas de ratos. Estudo de Estevão et al. (2013) também constatou que as feridas cutâneas aos 21 dias de pós-operatório estavam completamente reepitelizadas, fato presente neste experimento (Figura 3E).

Durante a fibroplasia há uma crescente produção de colágeno até aproximadamente 21 dias, período em que há um alcance da hemostasia e a taxa de degradação de colágeno é equilibrada a partir dessa síntese. Esse fato foi observado no GT, visto que houve um aumento da organização das fibras de colágeno à medida que se passaram os dias (Figura 3E), corroborando os achados de Parente et al. (2009), em que foi utilizado extrato etanólico (EEC) de *Calendula officinalis* em feridas cutâneas de ratos e se observou que o mesmo estimulou maior síntese de colágeno, atuando assim de forma positiva sobre a cicatrização de feridas cutâneas.

Após a contagem e obtenção dos números de cada amostra, os dados obtidos em cada tempo pós-cirúrgico (D₇, D₁₄ e D₂₁) foram organizados, distribuídos de forma descritiva e os resultados foram comparados de acordo com cada variável entre o GC e o GT.

Nas primeiras 24 e 48 horas após a injúria, as células predominantes são os neutrófilos, pois é a primeira linha de defesa eliminando os microorganismos invasores por meio da fagocitose. Em seguida, os monócitos sofrem estímulos de substâncias semelhantes aos dos neutrófilos, se infiltram e se diferenciam em macrófagos, que por sua vez desempenham importantes funções, como o debridamento da ferida (iniciado pelos neutrófilos) e secretam citocinas e fatores de crescimento, que contribuem significativamente na angiogênese, fibroplasia e síntese da matriz extracelular (MEC) (Oliveira e Dias, 2012).

Com relação à variável infiltrado mononuclear no D₇ não houve diferença estatística entre o GT e o GC, enquanto que no D₁₄ houve uma crescente no número de infiltrado mononuclear do GC, em relação ao GT, esse aumento levou a um retardo na qualidade da cicatrização pois quanto maior o número de células inflamatórias, mais demorado será a cicatrização. Esse fato corrobora o estudo desenvolvido por Aro et al. (2015), no qual foram provocadas lesões no tendão de Aquiles em ratos e observou-se que os infiltrados mononucleares permaneceram por tempo igual ao deste experimento. No D₂₁ não houve diferença estatística entre os grupos (Figura 4), pois à medida em que se apresentavam em maior número no

início da lesão diminuíram a medida em que os dias passaram, sendo esse o esperado no processo de cicatrização. Esse achado está de acordo com estudo semelhante desenvolvido por Faleiro et al.

(2009), em que foi testado o extrato das folhas de *Aloe vera* e observou-se a mesma contribuiu para a diminuição da inflamação em feridas cutâneas de ratos, favorecendo a cicatrização das mesmas.

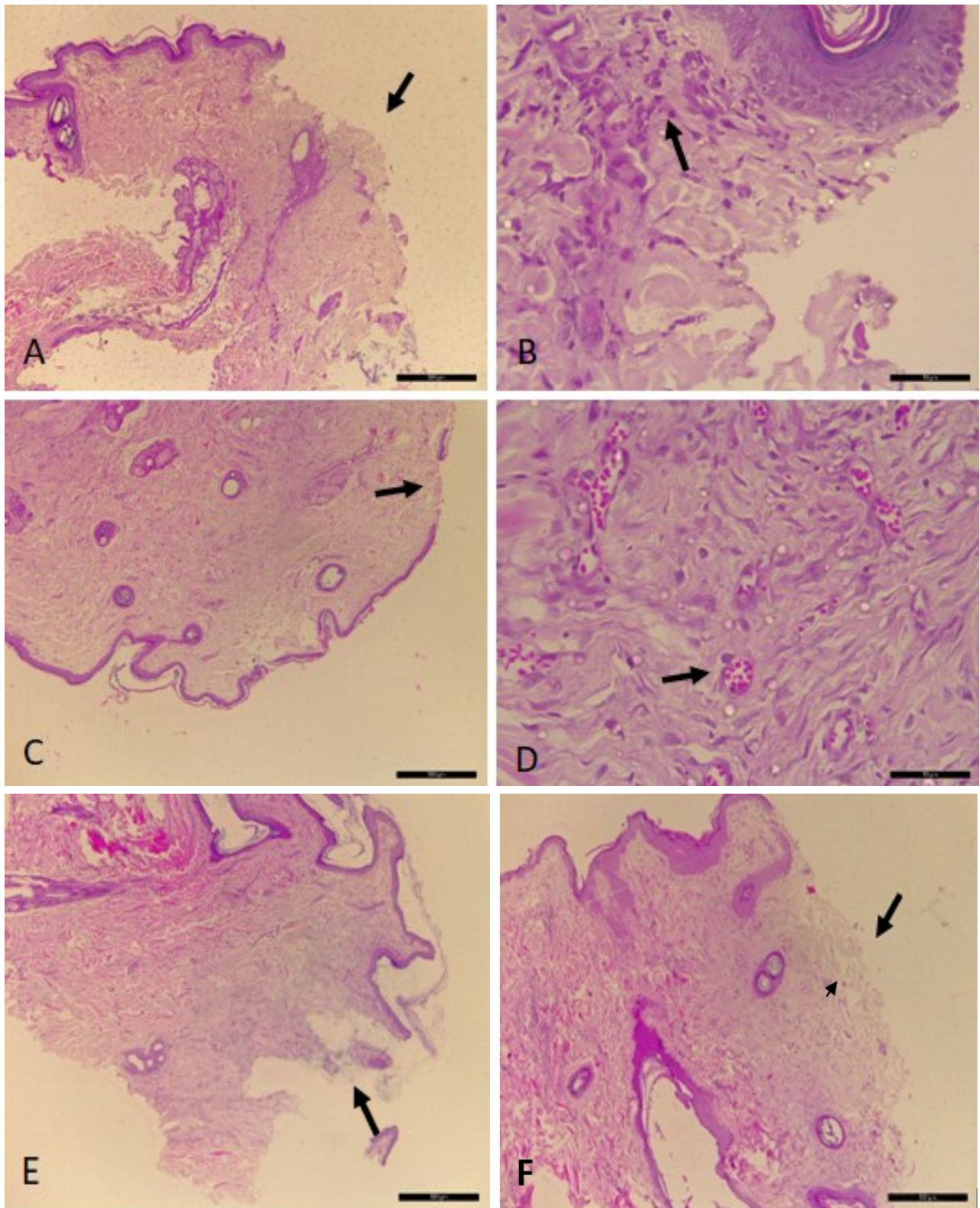


Figura 2. Fotomicrografia de pele do GC. 7 dias: A – Extensa área de ulceração epidérmica (seta). 40x. B – Infiltrado inflamatório mononuclear em porção adjacente à ulceração (seta). 400x. 14 dias: C – Camada epidérmica com discreta porção ulcerada (seta). 40x. D – Derme com área de intensa neovascularização (seta). 400x. 21 dias: E – Área de ulceração epidérmica (seta). 40x. F – Em associação à área ulcerada (seta), discreto infiltrado inflamatório mononuclear (ponta da seta). 400x. HE.

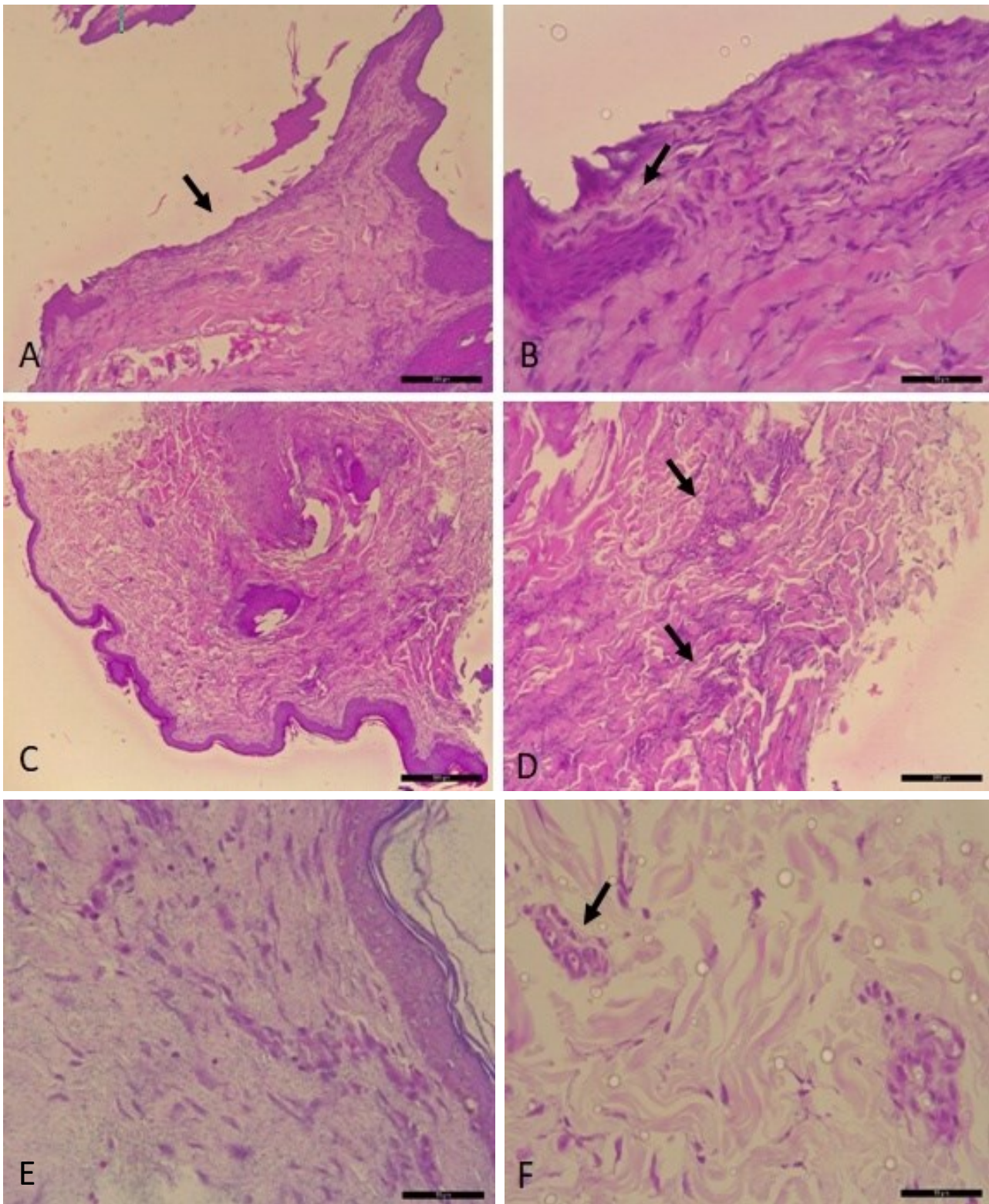


Figura 3. Fotomicrografia de pele do GT. 7 dias: A – Área de ulceração epidérmica (seta). 40x. B – Margem ulcerada com infiltração de epiderme em associação ao tecido conjuntivo (seta). 400x. 14 dias: C – Epiderme preservada (seta). 40x. D – Presença de fibroblastos (seta). 100x. 21 dias: E – Epiderme preservada (ponta da seta). Presença de fibras de colágeno (seta). 40x. F – Neovascularização em porção adjacente à área de cicatrização (seta). 400x. HE.

De acordo com Isaac (2010), na fibroplasia ocorre migração e proliferação de fibroblastos juntamente com a síntese de novos constituintes da MEC. Os fibroblastos aparecem por volta do segundo e terceiro dia após o trauma e são as principais células envolvidas na cicatrização, cuja

principal função é a manutenção da integridade do tecido conjuntivo, pela síntese dos elementos da MEC. Após a lesão, à medida em que o processo de cicatrização avança, os fibroblastos vão sendo sintetizados em miofibroblastos, dando origem às fibras de colágeno, quando esse mecanismo não

ocorre de forma adequada há interferência no tempo cicatricial e na aparência da cicatriz.

Para a variável fibroblasto realizada em cada tempo pós-cirúrgico de cada um dos grupos, foi possível observar diferença estatística entre eles. Do D₇ ao D₁₄ houve aumento no número de fibroblastos do GT em relação ao GC, demonstrando efetividade no processo de reparação tecidual, enquanto que no D₂₁ ocorreu uma diminuição desse componente no GT quando comparado com o GC (Figura 5).

Esse achado é importante para a cicatrização uma vez que nessa fase já deve ocorrer a mudança nos componentes da matriz extracelular, e na cicatrização do GC quando comparado ao GT. O mesmo foi possível observar em estudo desenvolvido por Pagnano et al. (2008), em que foi usado Calêndula sobre feridas cutâneas de coelhos e se observou que no D₇, a mesma teve influência maior na fibroplasia e conseqüentemente no número de fibroblastos. O mesmo foi observado em estudo desenvolvido por Aro et al. (2015), no qual se observou que a mesma agiu de forma satisfatória aumentando a concentração das proteínas colágenas, bem como na organização do colágeno na fase de cicatrização.

Para a variável neovascularização, a contagem de vasos sanguíneos realizada em cada tempo pós-cirúrgico de cada um dos grupos, mostrou que houve diferença estatística entre eles. No D₇ o GT apresentou maior neovascularização em relação ao GC, fato esse favorável, pois a angiogênese é um processo primordial para a cicatrização, ocorre em paralelo à fibroplasia, permitindo a troca de gases e nutrientes entre as células metabolicamente ativas.

Em estudo desenvolvido por Atiba et al. (2011), em que se utilizou a *Aloe vera* por via oral para o tratamento de feridas cutâneas em ratos portadores de diabetes tipo 2 foi observado que à medida em que a reepitelização avançava, o número de células inflamatórias e angiogênese diminuíam, acelerando a cicatrização das feridas abertas desses pacientes. O mesmo foi possível observar nesse experimento, em que no D₁₄ e no D₂₁ o GT apresentou um número de vasos menor que o GC (Figura 6), mostrando que houve uma redução gradativa ao longo do processo cicatricial, ao passo que o número de vasos do GC aumentou no D₁₄ e diminuiu no D₂₁, levando a um retardo no processo de reparo cicatricial do GC quando comparado ao GT.

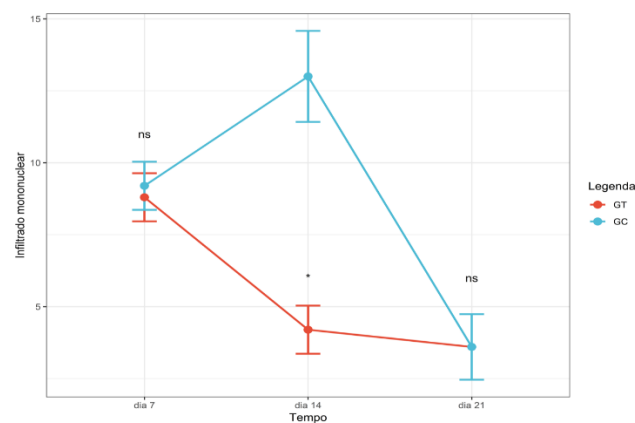


Figura 4. Comparação entre os grupos tratados (GT) e controle (GC) para as variáveis infiltrado mononuclear desde o dia 7 ao 21. As cores representam grupos diferentes. A sigla “ns” foi utilizada quando as comparações foram não significativas, um asterisco (*) quando foram significativas para $P \leq 0,05$ e dois asteriscos (**) quando foram significativas para $P \leq 0,01$. Os pontos representam a média dos dados e as barras o desvio padrão.

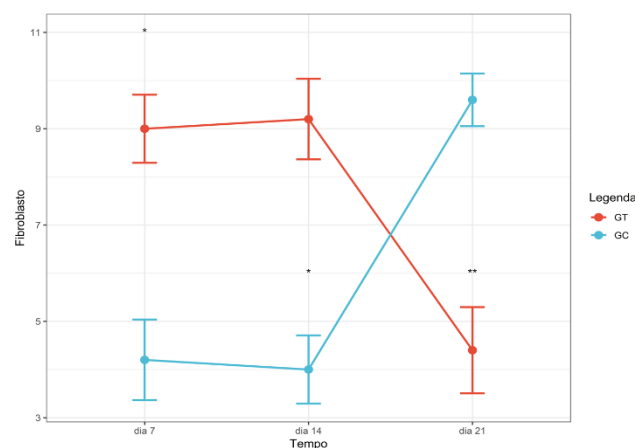


Figura 5. Comparação entre os grupos tratados (GT) e controle (GC) para as variáveis fibroblasto desde o dia 7 ao 21. As cores representam grupos diferentes. A sigla “ns” foi utilizada quando as comparações foram não significativas, um asterisco (*) quando foram significativas para $P \leq 0,05$ e dois asteriscos (**) quando foram significativas para $P \leq 0,01$. Os pontos representam a média dos dados e as barras o desvio padrão.

A fase de maturação ou remodelação tecidual finaliza o processo cicatricial da injúria, durante a qual a cicatriz ganha resistência e volume, havendo diminuição do eritema (Fonseca, 2015). Nessa fase da cicatrização o colágeno tipo III, que está presente em maior quantidade no tecido de granulação, sofre degradação, dando lugar a produção fibroblástica de colágeno tipo I. Também ocorre a reorganização das fibras de

colágeno que primeiramente estão distribuídas de forma aleatória e com o tempo se tramam e organizam-se em linhas, nesse estudo o tecido de granulação caracterizou-se pela proliferação fibroblástica e presença de capilares neoformados.

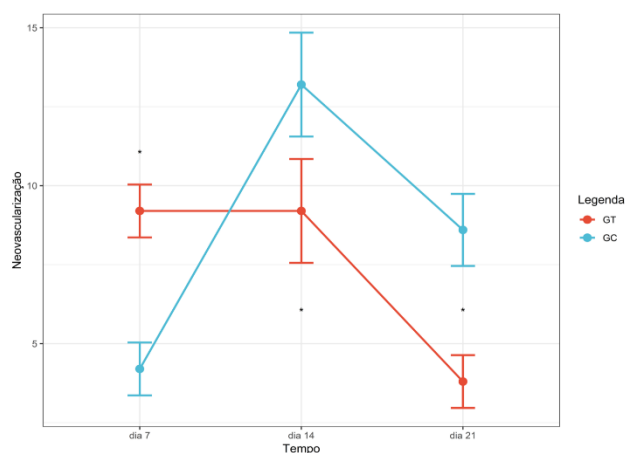


Figura 6. Comparação entre os grupos tratados (GT) e controle (GC) para as variáveis neovascularização desde o dia 7 ao 21. As cores representam grupos diferentes. A sigla "ns" foi utilizada quando as comparações foram não significativas, um asterisco (*) quando foram significativas para $P \leq 0,05$ e dois asteriscos (**) quando foram significativas para $P \leq 0,01$. Os pontos representam a média dos dados e as barras o desvio padrão.

Através da coloração de Tricômico de Gomori foi possível determinar a densidade das fibras de colágeno em cada grupo e os dados obtidos em cada tempo (D₇, D₁₄ e D₂₁) foram organizados, distribuídos de forma descritiva e os resultados foram comparados de acordo com a variável entre o GC e o GT.

Com relação à variável densidade das fibras de colágeno, observou-se que não houve diferença estatística entre o GT e o GC, no D₇ e D₁₄, porém no D₂₁ houve diferença estatisticamente significativa (Figura 7) entre os grupos experimentais. Isso se justifica pelo fato de que o maior número de fibras de colágeno pode ser determinado nesse período cicatricial que é quando há a substituição do colágeno tipo III para o colágeno tipo I. Esse fato foi observado visto que houve um aumento do número das fibras de colágeno à medida que se passaram os dias, sendo esse aumento maior no período de 21 dias que nos períodos de 7 e 14 dias, corroborando Costa et al. (2012) que utilizaram um nutracêutico composto por óleo de semente de uva e observaram que ao final do experimento houve melhora significativa

das rugas e da elasticidade na pele humana, com um aumento na produção de colágeno na pele.

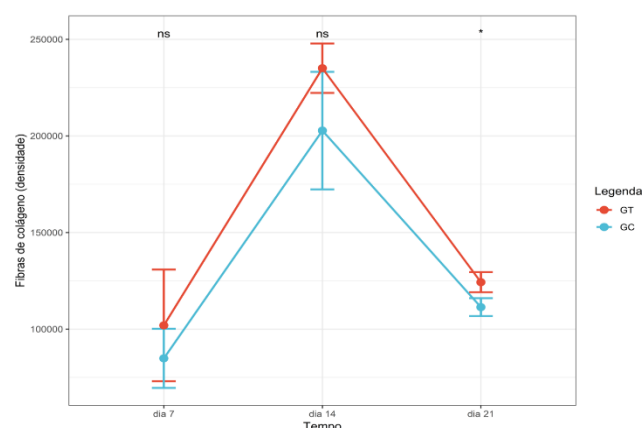


Figura 7. Comparação entre os grupos tratados (GT) e controle (GC) para a variável densidade de fibras de colágeno no dia 7 ao 21. As cores representam grupos diferentes. A sigla "ns" foi utilizada quando as comparações foram não significativas, um asterisco (*) quando foram significativas para $P \leq 0,05$ e dois asteriscos (**) quando foram significativas para $P \leq 0,01$. Os pontos representam a média dos dados e as barras o desvio padrão.

Conclusão

A utilização do composto de *Calendula officinalis*, *Aloe vera*, *Symphytum officinale* L., *Vitis vinifera*, D-Pantenol e Benzoato de Denatônio favoreceu a cicatrização de feridas cirúrgicas em cadelas, se tornando uma opção terapêutica para feridas em animais da espécie canina.

Conflito de Interesse

Os autores declaram não existir conflito de interesse.

Comitê de Ética

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) sob a Licença nº 60/2018.

Referências

- Aro, A.A.; Peres, M.O.; Vieira, C.P.; Esquisatto, M.A.; Rodrigues, R.A.; Gomes, L.; Pimentel, E. R. Effect of *Calendula officinalis* cream on achilles tendon healing. **The Anatomical Record**, 298(2): 428-435, 2015.
- Atiba, A.; Eno, H.; Uzuka, Y. The effect of *Aloe vera* oral administration on cutaneous wound healing in type 2 diabetic rats. **Journal of**

- Veterinary Medical Science**, 73(5): 583-589, 2011.
- Carvalho, A.C.B.; Silveira, D. Drogas vegetais: uma antiga nova forma de utilização de plantas medicinais. **Brasília Médica**, 48(2): 219-237, 2010.
- Costa, A.; Lindmark, L.; Arruda, L.H.F.; Assumpção, E.C.; Ota, F.S.; Pereira, M.O.; Langen, S.S.B. Clinical biometric and ultrasound assessment of the effects of daily use of a nutraceutical composed of lycopene, acerole extract, grape seed extract and Biomarine complex in photoaged human skin. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 87(1): 52-61, 2012.
- Estevão, L.R.M.; Mendonça, F.S.; Baratella-Evêncio, L.; Simões, R.S.; Barros, M.E.G.; Arantes, R.M.E.; Rachid, M.A.; Evêncio-Neto, J. Effects of aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) oil on cutaneous wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 28(3): 202-209, 2013.
- Faleiro, C.C.; Elias, S. T H.; Cavalcanti, L.C.; Cavalcanti, A.S.S. O extrato das folhas de babosa, Aloe vera na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos, num ensaio controlado por placebo. **Natureza online**, 7(2): 56-60, 2009.
- Fonseca, R.J.; Barber, H.; Frost, D.; Power, M. **Trauma bucomaxilofacial**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. 876p.
- Isaac, C.; Ladeira, P.R.S.; Rêgo, F.M.P.; Aldunate, J.C.B.; Ferreira, M.C. Processo de cura das feridas: cicatrização Fisiológica. **Revista de Medicina**, 89(3-4): 125-131, 2010.
- Mendonça, F.A.S.; Passarini Júnior, J.R.; Esquisatto, M.A.M.; Mendonça, J.S.; Franchini, C.C.; Santos, G.M.T. Effects of the application of *Aloe vera* (L.) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in wistar rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 24(2): 150-55, 2009.
- Montenegro, S. Proteína e cicatrização de feridas. **Revista Nutricias**, 1(14): 27-30, 2012.
- Oliveira, I.V.P.M.; Dias, R.V.C. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinária Brasileira**, 6(4): 267-271, 2012.
- Pagnano, L.O.; Baraldi-Artoni, S.M.; Pacheco, M.R.; Santos, E.; Oliveira, D.; Lui, J.F. Morfometria de fibroblastos e fibrócitos durante o processo cicatricial na pele de coelhos da raça Nova Zelândia Branco tratados com calêndula. **Ciência Rural**, 38(6): 1662-1666, 2008.
- Parente, L.M.L.; Silva, M.S.B.; Brito, L.A.B.; Lino-Júnior, R.S.; Paula, J.R.; Trevenzol, L.M. F.; Zatta, D.T.; Paulo, N.M. Efeito cicatrizante e atividade antimicrobiana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 11(4): 383-391, 2009.
- Polacow, M.L.O.; Dib-Giusti, H.H.K.; Leonardi, G.R.; Vieira, C.E.C.; Guirado, G.N.; Zague, V.; Di Pierro, R.; Ribeiro, M.C.A.P.; Pires-Campos, M.S.M. Efeito do ultrassom e do D-Pantenol na regeneração tegumentar. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, 9(3): 365-371, 2005.
- Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 502p.
- Takzare, N.; Hosseine, M.J.; Hasanzadeh, G.; Mortazavi, H.; Takzare, A.; Habibi, P. Influence of *Aloe vera* gel on dermal wound healing process in rat. **Toxicology Mechanisms and Methods**, 19(1): 73-77, 2009.