

FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS A TRATAMENTOS COM POMADAS E SPRAYS HOMEOPATICOS

Cutaneous wounds of wistar rats submitted to treatments with ointments and homeopathic sprays

Bethânia Elias COSTA^{1*}; Maria das Graças de Souza CARVALHO¹; Thais Cristina Ferreira dos SANTOS¹; Ciderléia Castro LIMA²; Jussara Maria de Oliveira MESQUITA³; Carlos Eduardo Carvalho SANTOS¹; Flávia Helena PEREIRA⁴; Nelma de Mello Silva OLIVEIRA¹; Patrícia Paiva CORSETTI¹ & José Antonio Dias GARCIA¹

¹ Programa de Reprodução Sanidade e Bem-estar Animal, Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, Minas Gerais, Brasil

² Curso de Medicina, Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, Minas Gerais, Brasil

³ Curso de Odontologia, Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, Minas Gerais, Brasil

⁴ Curso de Enfermagem, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – campus Passos, Passos, Minas Gerais, Brasil
*bethaniaelias@hotmail.com

Resumo

Introdução: Produtos e métodos estão sendo desenvolvidos para otimizar a cicatrização e o reparo tecidual das feridas cutâneas prevenindo a infecção. **Objetivo:** Avaliar e comparar o efeito cicatrizante de pomadas e sprays homeopáticos na cicatrização de feridas cutâneas. **Métodos:** Cirurgicamente foram realizadas feridas cutâneas de 15 mm de diâmetro na região dorso-cervical em 75 ratos Wistar. Divididos em 5 grupos (n=15) tratados com degermante neutro (CT); pomada 1 (P1) e spray 1 (S1) homeopático a base de *Bellis perennis* + *Calendula officinalis* + *Myristica sebifera*; pomada 2 (P2) e spray 2 (S2) homeopático a base de *Calendula officinalis* + *Equinacea angustifolia* + *Castor equi*, diariamente. No 3º, 7º e 14º dia pós cirurgia 5 animais/grupo foram eutanasiados, o fragmento de pele ao redor da ferida foi coletado e processado histologicamente. **Resultados:** Os medicamentos homeopáticos apresentaram eficácia à cicatrização, com exceção spray 2. Feridas sem sinais de infecções; bordas regulares com aumento da proliferação fibroblástica nos grupos P1 e S1; boa evolução quanto o número de neovasos, células mononucleares e entrelaçamento das fibras de colágeno com cicatrização completa do grupo P1 ao 11º e S1 ao 12º e P2 ao 13º dia de experimento. Divergências entre P1 versus S1 e P2 versus S2, foram decorrentes da apresentação, as pomadas fixaram melhor nas feridas; entre P1 e S1 versus P2 e S2, foram relacionadas a base dos medicamentos. **Conclusão:** As apresentações em pomadas em relação aos sprays com a mesma composição demonstraram maior eficiência na cicatrização. A pomada a base de *Bellis perennis* + *Calendula officinalis* + *Myristica sebifera* obteve melhor resultado dentre os tratamentos. Com isto, acredita-se que a terapêutica homeopática é uma opção viável e promissora no reparo de feridas cutâneas.

Palavras-chave: Cicatrização; Colágeno; Inflamação; Neovasos; Fibroblastos; Pele.

Abstract

Introduction: Products and methods are being developed to optimize tissue healing and repair of skin wounds by preventing infections. **Objective:** To evaluate and compare the healing effect of homeopathic ointments and sprays in the healing of cutaneous wounds. **Methods:** Skin wounds of 15 mm diameter were surgically made in the dorsocervical region in 75 Wistar rats. Divided into 5 groups (n=15) treated with neutral detergent (CT); homeopathic ointment 1 (P1) and spray 1 (S1) based on *Bellis perennis* + *Calendula officinalis* + *Myristica sebifera*; homeopathic ointment 2 (P2) and spray 2 (S2) based on *Calendula officinalis* + *Echinacea angustifolia* + *Castor equi*, daily. On postoperative days 3, 7 and 14, 5 animals/group were sacrificed, the skin fragment around the wound was collected and processed histologically. **Results:** Homeopathic medicines were effective in healing, with the exception of spray 2. Wounds without signs of infection; regular borders with increased proliferation of fibroblasts in groups P1 and S1; good evolution in terms of the number of neovessels, mononuclear cells and interlacing of collagen fibers with complete healing of group P1 on day 11 and S1 on day 12 and P2 on day 13 of the experiment. The differences between P1 versus S1 and P2 versus S2 were due to the presentation, the ointments fixed the wounds better; between P1 and S1 versus P2 and S2, were related to the base of the drug. **Conclusion:** The presentations in ointments in relation to aerosols with the same composition showed greater effectiveness in healing. The ointment based on *Bellis perennis* + *Calendula officinalis* + *Myristica sebifera* obtained the best result among the treatments. With this, homeopathic therapy is believed to be a viable and promising option in skin wound repair.

Keywords: Healing; Collagen; Inflammation; Neovessels; Fibroblasts; Skin .

1. INTRODUÇÃO

A pele é a primeira barreira de proteção do organismo contra agentes externos. Por isso está sujeita a constantes agressões e sua capacidade de reparação é muito importante para a sobrevivência¹. Sempre que ocorre a interrupção na continuidade do tecido corpóreo, caracterizamos uma ferida, que surge em maior ou menor extensão, ocasionada por trauma ou por afecção clínica cirúrgica². Com o rompimento tecidual, inicia-se o processo de reparo (cicatrização), que compreende uma sequência de eventos celulares e moleculares, objetivando a restauração do tecido lesado³. Esses eventos podem ser descritos em três fases sequenciais e interdependentes: fase inflamatória, caracterizada pela migração de macrófagos para área lesionada, que por sua vez secretam fatores de crescimento, citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias e fagocitam microrganismos; fase proliferativa, determinada pela proliferação de novos vasos sanguíneos; e fase de remodelamento ou maturação, onde ocorre a deposição de colágeno de maneira organizada⁴⁻⁵.

Inúmeros produtos e diversos métodos estão sendo desenvolvidos e empregados para acelerar o processo de cicatrização⁶ no atendimento da demanda clínica do tratamento de feridas cutâneas. A utilização dos produtos homeopáticos tem se destacado por apresentarem propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes e por promoverem e estimularem a produção de fibras de colágeno sem efeitos colaterais. Além disso, baixo custo em relação a outros produtos já existente no mercado⁷.

A Homeopatia efetivou-se, inicialmente, com o médico alemão Samuel Hahnemann no ano de 1796, baseada em preceitos de Hipócrates e Paracelso⁸; com o conceito da lei das semelhanças, ou seja, a doença é produzida pelos semelhantes, e através dos semelhantes o paciente retorna à saúde⁹.

O presente estudo teve por objetivo avaliar e comparar o efeito cicatrizante de pomadas e sprays homeopáticos à base de (*Bellis perennis* + *Calendula officinalis* + *Myristica sebifera*) e (*Calendula officinalis* + *Equinacea angustifolia* + *Castor equi*) no processo de cicatrização (reparo tecidual) de feridas cutâneas de ratos Wistar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de pesquisa da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS) em Alfenas. Utilizaram-se 75 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), brancos, machos, peso de ± 300 g, com 90 dias de idade, obtidos a partir do Biotério Central da UNIFENAS, Campus Alfenas. O protocolo experimental foi aprovado pelo comitê de ética de uso animal, parecer N°: 05A/ 2016.

As pomadas e sprays utilizados no experimento foram na composição de (*Bellis perennis* 7 CH + *Calendula officinalis* 7 CH+ *Myristica sebifera* 7 CH) e (*Calendula officinalis* 7 CH + *Equinacea angustifolia* 7 CH + *Castor equi* 7 CH).

Os animais foram submetidos à anestesia com associação de xilazina (10 mg/kg) e quetamina (100 mg/Kg) intraperitoneal (IP), posteriormente, incisão circular da pele, através de vazador de 15 mm de diâmetro (utilizado para demarcar a região), incisão na área delimitada transpassando a pele e o subcutâneo com auxílio de bisturi (cabo n° 3 e lâmina n° 11), tesoura metzenbaum reta e pinça anatômica, realizando-se, dessa forma, a exérese do fragmento da pele e, conseqüentemente, expondo a fáscia dorsal muscular. Após a incisão, os animais receberam, durante três dias, por via subcutânea (SC), Dipirona (10mg/kg) no período de 8/8 horas.

Os animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos experimentais (n=15), recebendo diariamente tratamento tópico das feridas após higienização com água e degermante neutro durante 14 dias; Os animais foram agrupados em: grupo controle (CT) ferida higienizada com água e degermante neutro; grupo pomada homeopática 1 (P1) (*Bellis perennis* 7 CH + *Calendula officinalis* 7 CH + *Myristica sebifera* 7 CH); grupo pomada homeopática 2 (P2) (*Calendula officinalis* 7 CH + *Equinacea angustifolia* 7 CH + *Castor equi* 7 CH); grupo spray homeopático 1 (S1) (*Bellis perennis* 7 CH + *Calendula officinalis* 7 CH + *Myristica sebifera* 7 CH); grupo spray homeopático 2 (S2) (*Calendula officinalis* 7 CH + *Equinacea angustifolia* 7 CH + *Castor equi* 7 CH).

Os ratos foram alojados separadamente em gaiolas metabólicas, uma vez que o contato social poderia comprometer a eficácia no processo cicatricial, visto que as feridas não receberam bandagens, e as soluções do tratamento do dia anterior eram removidas com a higienização diária. Todos os animais receberam ração padrão para roedores (Nuvital®, Brasil) e água filtrada “*ad libitum*”. No 3°, 7° e 14° dia de tratamento, foram eutanasiados 5 animais de cada grupo com overdose de Tiopental sódico (50 mg/kg) intraperitoneal (IP).

Posteriormente foi coletado material (fragmento de pele ao redor da ferida abrangendo uma margem de segurança de 4mm, com auxílio de uma pinça anatômica e tesoura cirúrgica). O material coletado no 3º, 7º e 14º dia, foi armazenado em frascos devidamente identificados, fixado em formalina a 10% por 48h e encaminhado ao laboratório de histopatologia para o processamento do material e a confecção das lâminas histológicas. Foram confeccionadas 150 lâminas, sendo que 75 receberam a coloração Hematoxilina-Eosina (HE) para análise morfológica geral, contagem de células mononucleares, neovasos e de fibroblastos. E as outras 75 lâminas foram coradas com Picrosírius Red para visualização da densidade das fibras colágenas. Os cortes histológicos em HE e Picrosírius Red foram escaneados pelo scanner Panoramic Desk da 3D Histech, com aumento de 400x e posteriormente analisadas através do programa Pannoramic Viewer.

Foram analisados oito campos de cada corte histológico por animal, calculando a média do número de células mononucleares, neovasos e fibroblastos. O resultado desta contagem foi avaliado estatisticamente pela ANOVA e comparado através do teste Tukey, com significância $p < 0,05$ e os resultados foram expressos pela média \pm erro padrão da média (média \pm EPM).

3. RESULTADOS

Na avaliação clínica das feridas cutâneas foram observadas algumas diferenças em relação a fixação do produto, aparência da lesão e ao tempo de cicatrização. A P1 apresentou boa fixação à ferida e observou-se que o grupo de animais tratados com essa pomada, desde o início do tratamento, apresentou uma boa evolução no processo de cicatrização, não predispôs acúmulo de crostas sobre a lesão e promoveu a cicatrização por completo no 11º dia. O grupo P2 também demonstrou boa aderência da substância à ferida com efetiva evolução ao processo cicatricial sem acúmulo de crosta, consolidando à ferida por completo ao 13º dia. Contrário as pomadas, os sprays não se fixaram bem a ferida, contudo, as feridas não apresentaram exsudato e crostas. No grupo S1 verificamos resposta cicatricial ao final do tratamento, completando a repitelização ao 12º dia. Porém, no grupo S2, assim como no grupo CT, observamos a não consolidação das feridas no período de experimento (Fig. 1).

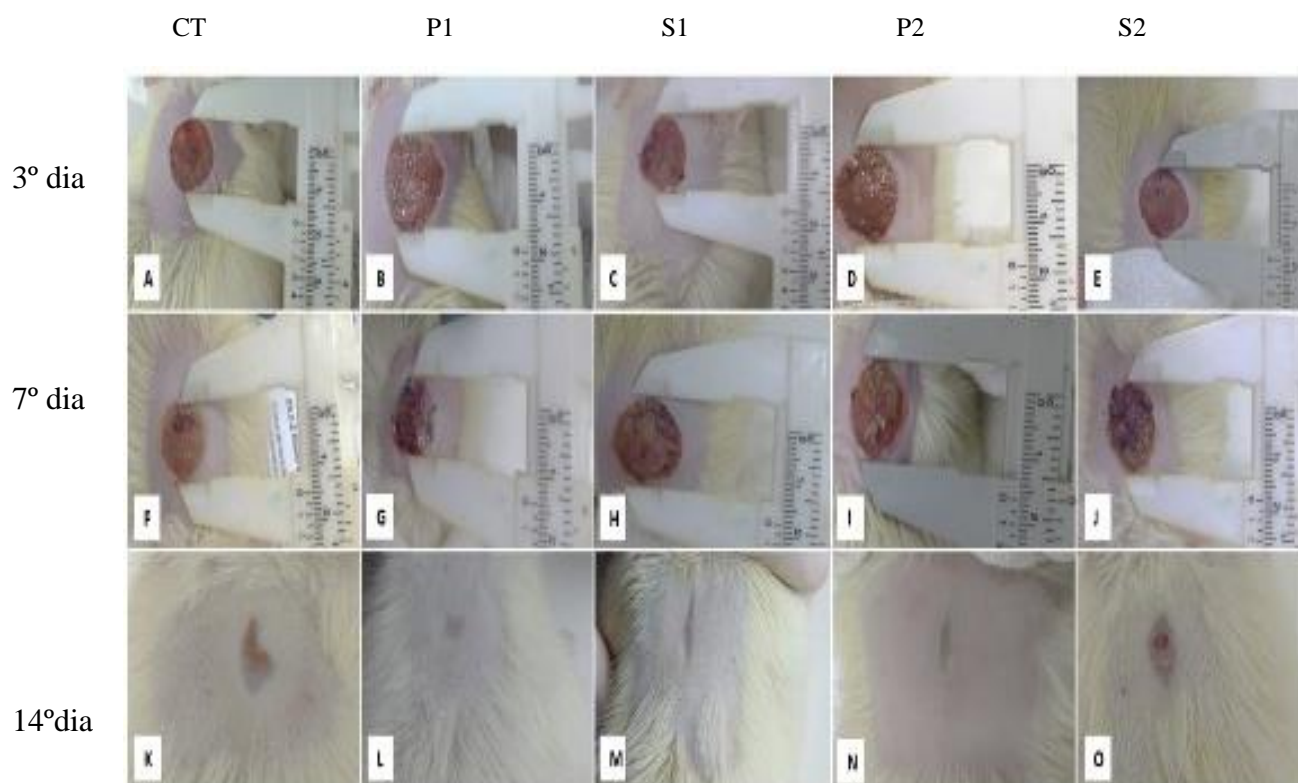


Figura 1: Imagem demonstrativa da evolução clínica das feridas cutâneas de ratos wistar (*Rattus norvegicus*), ao 3° dia (A-E), 7° dia (F-J), e 14° dia (K-O) de experimento dos grupos controle (CT) e nos grupos tratados com pomada homeopática (P1) e spray (S1) a base de *Calendula officinalis*, *Bellis perennis* e *Myrstica Serbifera*, pomada homeopática (P2) e spray (S2) a base *Calendula officinalis*, *Equinacea angustifolia* e *Castor equi*.

Na análise dos cortes histológicos das feridas cutâneas dos animais, ao 3° dia de experimento observou-se maior número de fibroblastos nos grupos P1, P2 e S1 quando comparado com os grupos S2 e CT, porém houve aumento significativo no 7° dia de tratamento nos grupos P1 e S1 e permaneceu aumentado no 14° dia, em comparação aos demais grupos estudados. Na avaliação do número de células mononucleares, ao 3° dia observou-se que não houve diferença significativa entre os grupos, entretanto notou-se diminuição progressiva destas células em todos os tratamentos. Na avaliação do número de neovasos, notou-se menor contagem no grupo P1 no 3° dia, persistindo durante todo o experimento. Nos grupos CT e S2, houve um aumento significativo de neovasos no 14° dia (Fig. 2, Tabela 1).

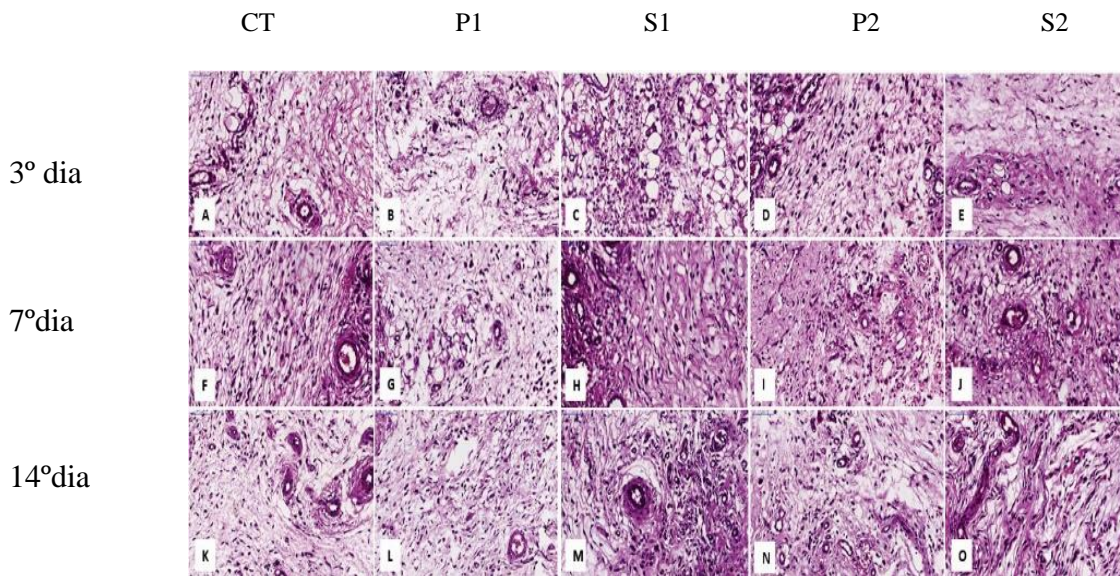


Figura 2: Fomicrografia de cortes histológicos das feridas cutâneas de ratos wistar (*Rattus norvegicus*), corados com Hematoxilina-Eosina (HE), ao 3º dia (A-E), 7º dia (F-J) e 14º dia (K-O) de experimento dos grupos controle (CT) e nos grupos tratados com pomada homeopática (P1) e spray (S1) a base de *Calendula officinalis*, *Bellis perenis* e *Myrstica Serbifera*, pomada homeopática (P2) e spray (S2) a base *Calendula officinalis*, *Equinacea angustifolia* e *Castor equi*. Aumento 400x. Demonstrando células mononucleares (quadrado), neovasos (circulo) e fibroblastos (seta).

Tabela1: Média do número de fibroblastos, células mononucleares e neovasos por campo das secções histológicas das feridas cutâneas de ratos wistar (*Rattus norvegicus*) dos grupos controle (CT) e nos grupos tratados com pomada homeopática (P1) e spray (S1) a base de *Calendula officinalis*, *Bellis perenis* e *Myrstica Serbifera*, pomada homeopática (P2) e spray (S2) a base *Calendula officinalis*, *Equinacea angustifolia* e *Castor equi*.

| | | CT | P1 | S1 | P2 | S2 |
|---------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 3º dia | Fibroblastos | 60±48 ^b | 80±08 ^{a,b} | 70±58 ^{a,b} | 90±53 ^a | 60±93 ^b |
| | Células mononucleares | 30±108 ^a | 30±43 ^a | 30±80 ^a | 30±58 ^a | 30±58 ^a |
| | Neovasos | 80±40 ^a | 50±58 ^b | 70±68 ^{a,b} | 80±88 ^a | 80±65 ^{a,b} |
| 7º dia | Fibroblastos | 70±50 ^b | 130±60 ^a | 140±85 ^a | 90±68 ^b | 90±68 ^b |
| | Células mononucleares | 20±80 ^{a,b} | 10±80 ^b | 20±50 ^{a,b} | 20±95 ^{a,b} | 20±75 ^{a,b} |
| | Neovasos | 70±78 ^{a,b} | 50±70 ^b | 70±98 ^{a,b} | 80±85 ^a | 60±35 ^{a,b} |
| 14º dia | Fibroblastos | 50±43 ^c | 111±13 ^a | 111±18 ^a | 60±15 ^{b,c} | 90±20 ^a |
| | Células mononucleares | 20±13 ^{a,b} | 10±35 ^b | 20±13 ^{a,b} | 10±70 ^{a,b} | 10±68 ^{a,b} |
| | Neovasos | 110±25 ^{a,b} | 50±23 ^c | 80±85 ^{a,b} | 80±53 ^{a,b} | 110±23 ^a |

Os resultados foram expressos Média±Erro Padrão da média (X±EPM). Duas médias seguidas pela mesma letra não diferenciam entre os tratamentos (P>0,05) ao teste de Tukey.

A organização das fibras de colágeno foi diferente entre os grupos no 3º, 7º e 14º dia de tratamento em relação à espessura das fibras e entrelaçamento. O grupo CT apresentou fibras de colágeno moderadamente espessas no 3º dia. No 7º e 14º, estas apresentaram-se mais delgadas, porém intensamente entrelaçadas. Entretanto, no grupo P1 verificamos fibras mais espessas no 3º dia, com um bom entrelaçamento, porém no 7º dia estas encontravam-se mais delgadas e entrelaçadas; e o mesmo observamos no 14º dia de tratamento. No grupo P2, as fibras estavam mais delgadas no 3º e 7º dia e moderadamente entrelaçadas; diferindo no 14º dia, com entrelaçamento maior. O grupo S1 apresentou evolução significativa do 3º ao 7º dia em relação ao entrelaçamento das fibras, e ao 14º dia com fibras mais delgadas e pouco entrelaçadas. O grupo S2 apresentou fibras pouco espessadas ao 3º dia, com entrelaçamento moderado. Ao 7º, dia as fibras tornaram-se mais espessas e entrelaçadas; ao 14º dia as fibras mantiveram espessas, porém com um agrupamento mais distante (Fig. 3).

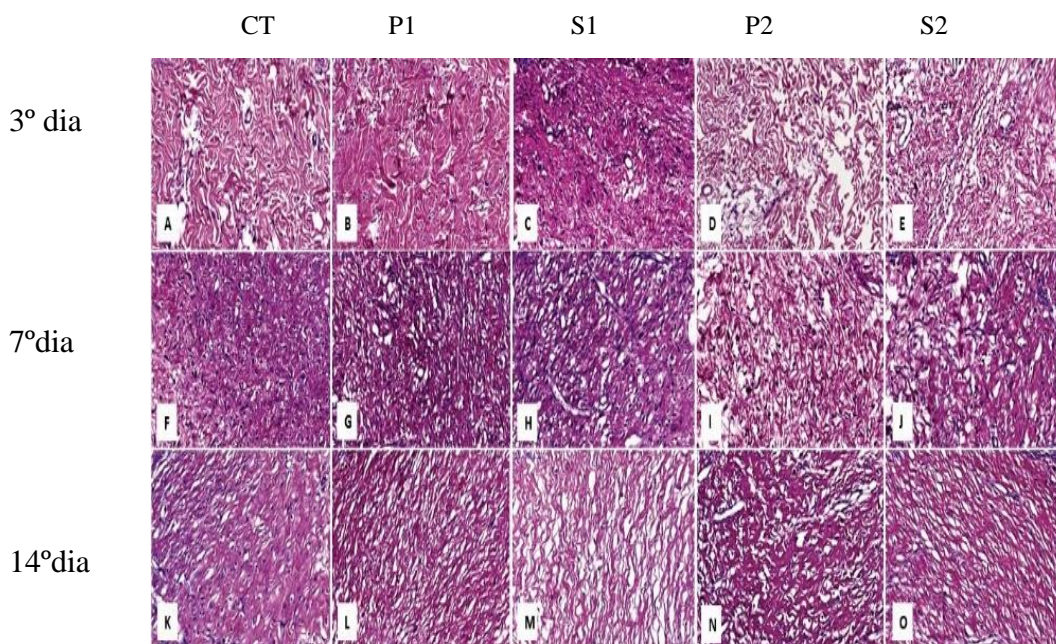


Figura 3: Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas cutâneas de ratos wistar (*Rattus norvegicus*), corados com Picrosírius Red, demonstrando a organização das fibras de colágeno ao 3º dia (A-E), 7º dia (F-J) e 14º dia (K-O) de experimento dos grupos controle (CT) e nos grupos tratados com pomada homeopática (P1) e spray (S1) a base de *Calendula officinalis*, *Bellis perennis* e *Myrstica Serbifera*, pomada homeopática (P2) e spray (S2) a base *Calendula officinalis*, *Equinacea angustifolia* e *Castor equi*. Aumento 400x.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo as divergências nos resultados entre P1 versus S1 e P2 versus S2, foram decorrentes da apresentação dos medicamentos, pois as pomadas fixaram melhor nas feridas e em consequência, proporcionaram um efeito prolongado das moléculas bioativas presentes no composto e a formação de uma barreira protetora na ferida cutânea, otimização na cicatrização quando comparadas aos seus respectivos sprays. Além disso, as divergências nos resultados entre os grupos P1 e S1 versus P2 e S2 foram relacionadas à base dos medicamentos.

As plantas *Bellis perennis*, *Calendula officinalis*, *Myristica sebifera* demonstraram em diferentes estudos propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e cicatrizantes¹⁰⁻¹². No presente estudo, os animais tratados com a pomada (P1) e spray (S1) homeopáticos à base dessas plantas (*Bellis perennis* + *Calendula officinalis* + *Myristica sebifera*), apresentaram eficácia e menor tempo no processo de cicatrização em relação aos demais grupos experimentais. Além disso, clinicamente, observou-se uma ferida com tecido viável sem sinais de infecção aparente, bordas regulares com ausência de exsudado, sem formação de crostas e cicatrização completa do grupo P1 ao 11º e S1 12º dia de experimento.

Na análise dos aspectos histológicos do grupo P1 e S1, notou-se evolução similar durante todo o experimento, porém, com maior eficiência do tratamento P1. As células mononucleares do grupo P1 e S1 apresentaram-se em evidência no início do processo cicatricial, representando a fase inflamatória da cicatrização e, ao longo do processo, células menos significativas. A participação dessas células juntamente com neutrófilos são essenciais para o processo de reparação, pois secretam citocinas, linfocinas e fatores de crescimento: derivado de plaquetas (PDGF), tumoral alfa (TGF- α), tumoral-beta (TGF- β), fibroblastos (FGF) e endotelial vascular (VEGF). Esses fatores de crescimento atuam como sinalizadores moleculares e proporcionam evolução da cicatrização para a fase proliferativa com desenvolvimento do tecido de granulação¹³⁻¹⁴. Contudo, neste estudo o processo inflamatório foi modulado pela ação das saponinas e flavonoides presentes na *Calendula officinalis*. Esses compostos são capazes de inibir a ciclo-oxigenase (COX) e a 5-lipoxigenase, as quais são enzimas importantes no metabolismo do ácido araquidônico¹⁵.

A partir da fase inflamatória e da liberação dos mediadores inflamatórios, no 7º e 14º dia de tratamento, observou-se grande quantidade de fibroblastos no grupo P1 e S1. Os fibroblastos são células fusiformes que secretam elastina, fibronectina, glicosaminoglicana, proteases e colágeno, principalmente colágeno tipo III, os quais são responsáveis pela regeneração tecidual¹⁶⁻¹⁷. O aumento

no número de fibroblastos nos grupos P1 e S1 pode ser pela ação das saponinas triterpenóides presentes na *Bellis perennis*, que promoveu a ativação e síntese do fator de crescimento transformador beta 1 (TGF-B1) e modificação das expressões dos receptores de fator de transformação do crescimento beta (TGF-B) nos fibroblastos da matriz extracelular¹⁸.

Estudo de Cabral (2015) demonstrou que a hipovascularização e a redução de neocapilares na fase de remodelamento do processo cicatricial pode ser benéfica na contração das bordas da ferida. No presente estudo, a associação das plantas *Bellis perennis* + *Calendula officinalis* + *Myristica sebifera* presente na pomada homeopática (P1) otimizou as fases de proliferação e remodelamento, favorecendo a repitelização da ferida antes dos demais grupos experimentais. Observou-se nesse grupo deposição, reorganização e bom entrelaçamento das fibras de colágeno, além da redução da neovascularização na fase de remodelamento. O colágeno tipo III, presente em maior quantidade no tecido de granulação, é degradado dando lugar à produção fibroblástica de colágeno tipo I, marcada pelo remodelamento tecidual, permanecendo apenas alguns capilares espessos²⁰.

As feridas dos animais tratados com *Calendula officinalis* + *Equinacea angustifolia* + *Castor equi* apresentado na forma em pomada P2 e spray S2 demonstraram evolução clínica satisfatória durante todo o experimento e ao final do 13º dia, as feridas cutâneas do grupo P2 se encontravam fechadas, enquanto que no grupo S2 não apresentaram fechamento ao final do experimento.

Por sua vez, a avaliação histológica das células mononucleares dos grupos P2 e S2, demonstraram similaridade com aos demais grupos tratados. Para Loggia et al. (1994) e Goel et al. (2002), as alcaminas poli-insaturadas presentes na *Equinácia angustifólia* e os triterpenóides presentes na *Calendula officinalis* possuem efeito anti-inflamatório. Essas capazes de inibir a atividade das enzimas ciclooxigenase e da lipooxigenase que são fundamentais na regulação do ácido araquidônico, resultante do processo inflamatório²³. Assim, a associação entre a *Equinácia angustifólia* e *Calendula officinalis*, demonstrou potencial anti-inflamatório nas duas formas de apresentações, observado ausência de crosta e o processo inflamatório não exacerbado nas feridas cutâneas dos grupos P2 e S2.

Durante a evolução da cicatrização, o número de fibroblastos no grupo P2 demonstrou destaque no início do processo de reparo e foi gradativamente diminuindo sua expressão durante os 14 dias de experimento. No entanto, o grupo S2 que possui a mesma composição, porém, apresentado em spray, notou-se a expressão inversa, menos expressiva no início e gradativamente aumentada. Os fibroblastos são células envolvidas na manutenção da integridade do tecido conjuntivo²⁴, e são

estimulados a produzir e depositar componentes na matriz extracelular da pele. Esses eventos são necessários para permitir e promover a reepitelização e organização das fibras colágenas²⁵⁻²⁶.

A presença significativa dos fibroblastos no início do processo de reparo do grupo P2, contribuiu para consolidação da ferida ao final do 13º dia, além de proporcionar maior entrelaçamento e reorganização das fibras de colágeno, conferindo ao tecido maior rigidez e resistência. Esse fato pode ser devido a forma de apresentação, visto que ambos os grupos P2 (pomada) e S2 (spray) apresentaram a mesma composição (*Calendula officinalis* + *Equinacea angustifolia* + *Castor equi*) e a pomada fixou melhor na ferida.

Os neovasos nos grupos P2 e S2 apresentaram-se eminentes no 3º dia se mantiveram durante todo o estudo. Contudo, a composição (*Calendula officinalis* + *Equinacea angustifolia* + *Castor equi*), na apresentação em spray (S2), se destacou no 14º dia por expressar significativamente esses neovasos, retardando o processo de cicatrização, quando comparado ao grupo P2. Parente et al. (2011) evidenciaram em seus estudos o efeito angiogênico de *Calendula officinalis*, os quais ocorrem devido à presença de triterpenos e esteróides em sua composição. Contudo, no presente estudo pode ter ocorrido um sinergismo retardado da *Calendula officinalis* com a *Equinacea angustifolia* e a *Castor equi*, pois este resultado não foi observado no grupo P1, que possui na sua fórmula a *Calendula officinalis*.

5. CONCLUSÃO

Os medicamentos homeopáticos de uso tópico utilizados neste estudo são opções viáveis e promissoras para o processo de reparação tecidual em feridas cutâneas. As apresentações em pomadas em relação aos sprays com a mesma composição demonstraram maior eficiência na cicatrização. Destarte, a associação *Bellis perennis* + *Calendula officinalis* + *Myristica sebifera* na apresentação em pomada demonstrou melhor potencial cicatrizante, com isso acredita-se que a sua utilização pode ser uma boa opção terapêutica para tratamentos de feridas cutâneas em animais.

AGRADECIMENTOS

À Universidade José do Rosário Vellano pela oportunidade do desenvolvimento do projeto dentro do programa de pós-graduação de Reprodução, Sanidade e Bem-estar animal.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nogueira RMB, Kitamura EA & Aguiar OM. Estudo clínico da reparação tecidual de feridas cutâneas de cães tratados com papaína e colagenase. *Nos Clín.* 2005; 8(43) [acesso em 04 abr 2020]. Disponível: <https://doi.org/10.21270/archi.v5i3.1316>.
2. Geovanini T. *Tratado de Feridas e Curativos: Enfoque Multiprofissional*. 1ª ed. São Paulo: Riedel; 2014.
3. Mendonça RJ & Coutinho-netto J. Aspectos celulares da cicatrização. *An Bras Dermatol.* 2009; 84(3) [acesso em 10 abr 2020]. Disponível: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962009000300007>.
4. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw JIDF. Diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011; 94(3) [acesso em 13 abr 2020]. Disponível: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.10.029>.
5. Oliveria IVPM & Dias RVC. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. *Acta Veterinaria Brasilica.* 2012; 6(4) [acesso em 10 abr 2020]. Disponível: <https://doi.org/10.21708/avb.2012.6.4.2959>.
6. Beheregaray WK, Gianotti GC, Garcez TNA, Fernandes AO, Contesini EA. Tratamento de ferida por eletroacupuntura em uma gata. *Acta Scientiae Veterinariae.* 2009; 37(3). [acesso em 10 abr 2020]. Disponível: <https://doi.org/10.22456/1679-9216.16349>.
7. Senel S & McClure SJ. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Adv. Drug Deliv. Reviews.* 2004; 56(10) [acesso em 10 abr 2020]. Disponível: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2004.02.007>.
8. Choi C, Nam J, WoonNah J. Application of chitosan and chitosan derivatives as biomaterials. *J Ind Eng Chem.* 2016; 33(3) [acesso em 10 abr 2020]. Disponível: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2015.10.028>.
9. Lockie A. *Enciclopédia de Homeopatia: Guia prático de remédios homeopáticos para os principais problemas de saúde*. Lisboa: Livraria Civilização Editora. 2000.

10. Avato P & Tava A. Acetylenes and Terpenoids of *Bellis perennis*. *Phytochemistry*. 1995; 40(1) [acesso em 12 abr 2020]. Disponível: [https:// 10.1016/0031-9422\(95\)00183-8](https://10.1016/0031-9422(95)00183-8).
11. Zitterl-Eglseer K, Reznicek G, Jurenitsch J, Novak J, Zitterl W, Franz C. Morphogenetic variability faradiol monoesters in marigold *Calendula officinalis* L. *Phytochemical analysis*. 2001; 12(3) [acesso em 12 abr 2020]. Disponível: <https://10.1002/pca.582>.
12. Fugh-Berman A & Ernst E. Herb-drug interactions: review and assessment of report reability. *Br J Clin Pharmacol*. 2001; 52(5) [acesso em 12 abr 2020]. Disponível: <https://doi:10.1046/j.0306-5251.2001.01469.x>
13. Steenkamp V, Mathivha E, Gouws MC, Van Rensburg CE. Estudos sobre estimulação antibacteriana, antioxidante e de fibroblastos de remédios para cicatrização de feridas da África do Sul. *J. Ethnopharmacol*. 2004; 95(2-3) [acesso em 13 abr 2020]. Disponível: <https://doi:10.1016/j.jep.2004.08.020>.
14. Park JE & Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *American Journal of Surgery*. 2004; 187(5A) [acesso em 1 de Mar 2020]. Disponível: [https://doi: 10.1016/S0002-9610\(03\)00296-4](https://doi:10.1016/S0002-9610(03)00296-4).
15. Vieira GT. Avaliação do efeito cicatrizante de *Ingasubnuda* e *Pseudopiptadenia contorta* em feridas cirúrgicas em coelhos [tese]. Viçosa (MG): Universidade Federal de Viçosa; 2015.
16. Mandelbaum S, Di Santis H, Mandelbaum P. (2003). Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte II. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2003; 78(5) [acesso em 1 mar 2020]. Disponível: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962003000400002>.
17. Issac C, Ladeira PRS, Rêgo FMP, Aldunate JCB, Ferreira MC. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. *Revista de Medicina da Universidade de São Paulo*. 2010; 89(3-4) [acesso em 1 mar 2020]. Disponível: <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v89i3/4p125-131>.
18. Kanzaki T, Morisaki N, Shiina R, Saito Y. Role of transforming growth factor- β pathway in the mechanism of wound healing by saponin from *Ginseng Radix rubra*. *British Journal of*

- Pharmacology. 1998; 125(5) [acesso em 1 mar 2020]. Disponível: doi: 10.1038/sj.bjp.0702052.
19. Cabral MS. Avaliação da Atividade Cicatrizante de Formulações Fitoterápicas a Base de Curatella Americana e Costus Spicatus In Vivo [Tese]. Macapá (AP): Universidade Federal do Amapá; 2015.
 20. Ackermann MR. Inflamação Crônica e Cicatrização de Feridas. In: Bases da patologia em veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2009.
 21. Loggia RD, Tubaro A, Sosa S, Becker H, Saar S, Issac O. The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of Calendula officinalis flowers. *Planta Medica*. 1994; 60(6) [acesso em 2 mar 2020]. Disponível: [https:// doi: 10.1055/s-2006-959562](https://doi.org/10.1055/s-2006-959562).
 22. Goel V, Chang C, Slama JV, Barton R, Bauer R, Gahler R, et al. Alkylamides of Echinacea purpurea stimulate alveolar macrophage function in normal rats. *Int. Immunopharmacol*. 2002; 2(2-3) [acesso em 2 mar 2020]. Disponível: [https:// 10.1016/s1567-5769\(01\)00163-1](https://doi.org/10.1016/s1567-5769(01)00163-1).
 23. Paula DAC. Estudo Metabolômico de Astedraceae por UPLC-UV-HRFTMS, avaliação do potencial anti-inflamatório in vitro e suas correlações através de métodos in silico [Tese]. Ribeirão Preto (SP): Universidade de São Paulo; 2013.
 24. Junqueira LC & Carneiro J. Histologia básica. In: texto/atlas. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
 25. Amadeu TP, Coulomb B, Desmouliere A, Costa AMA. Cutaneous wound healing: myofibroblastic differentiation and in vitro models. *Int J Low Extrem Wounds*. 2003; 2(2) [acesso em 3 mar 2020]. Disponível: [https:// doi: 10.1177/1534734603256155](https://doi.org/10.1177/1534734603256155).
 26. Hildebrand KA, Gallant-Behm CL, Kydd AS, Hart DA. The basics of soft tissue healing and general factors that influence such healing. *Sports Med Arthrosc*. 2005; 13(3) [acesso em 3 mar 2020]. Disponível: [https:// doi:10.1097/01.jsa.0000173230.61276.f4](https://doi.org/10.1097/01.jsa.0000173230.61276.f4).

27. Parente LML, Andrade MAM, Brito LAB, Moura VMBD, Miguel MP, Lino-Júnior RS, et al. Angiogenic activity of *Calendula officinalis* L. flowers in rats. *Acta Cir. Brasileira*. 2001; 26(1) [acesso em 3 mar 2020]. Disponível: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502011000100005>