

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DO GRAU DE RETRAÇÃO EM FERIDAS
CIRURGICAMENTE INDUZIDAS NA GENGIVA DE CÃES (CANIS
LUPUS FAMILIARIS) TRATADAS COM POMADA ORO BASE DE
ERVA-DEPASSARINHO (STRUTHANTHUS VULGARIS)**

ALLANA JESSIKA BELLO LINO

VILA VELHA -ES

FEVEREIRO/2015

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DO GRAU DE RETRAÇÃO EM FERIDAS
CIRURGICAMENTE INDUZIDAS NA GENGIVA DE CÃES (CANIS
LUPUS FAMILIARIS) TRATADAS COM POMADA ORO BASE DE
ERVA-DE-PASSARINHO (STRUTHANTHUS VULGARIS)**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

ALLANA JESSIKA BELLO LINO

VILA VELHA -ES

FEVEREIRO/2015

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	ERVA-DE-PASSARINHO (Struthanthussp).....	13
2.2	PROPRIEDADES DA ERVA-DE-PASSARINHO	15
2.3	ANATOMIA E HISTOLOGIA DA MUCOSA ORAL	16
2.4	GENGIVA.....	18
2.5	GENGIVITE	19
2.6	LESÃO.....	20
2.7	REPARO TECIDUAL.....	20
3	OBJETIVO.....	23
4	HIPÓTESE.....	24
5	MATERIAIS E MÉTODO.....	25
5.1	POMADA E PRODUÇÃO.....	25
5.2	ANIMAIS.....	26
5.3	GRUPO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	27
5.4	INDUÇÕES DAS LESÕES.....	29
5.5	SEGMENTOS CLÍNICOS EXPERIMENTAIS: CAPTURA DE IMAGENS.....	30
5.6	AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE CICATRIZAÇÃO DAS ÚLCERAS PELO PROGRAMA IMAGEJ®.....	31
6	ESTATÍSTICA E RESULTADOS.....	38
7	DISCUSSÃO.....	40
8	CONCLUSÃO.....	42
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
	ANEXOS	
	Documento Comitê de Ética	

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto à espécie humana. Ainda hoje plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL; PINTO; VEIGA Jr., 2001).

A utilização de plantas para fins medicinais, tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde. Ao longo do tempo têm sido registrados vários procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais, apesar da grande evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX (VEIGA Jr.; PINTO; MACIEL, 2005).

A Etnoveterinária é a ciência que envolve a opinião e os conhecimentos das práticas populares para uso em tratamento ou prevenções de enfermidades que acometem os animais e dentre ela esta a fitoterapia que é o tratamento a base de plantas (ALMEIDA; FREITAS; PEREIRA, 2006). O uso das ervas medicinais no tratamento de infecções é uma prática muito antiga e muitos produtos naturais são usados como fitoterápicos em tratamentos de diversas doenças (SALVADOR et al., 2003).

Com o advento da Etnoveterinária, tratamentos alternativos com fitoterápicos estão sendo cada vez mais utilizados e pesquisados para obtenção de novos fármacos. A Medicina Veterinária teve avanços significativos nos últimos anos, vendo áreas específicas se desenvolverem, entre elas a Odontologia Veterinária, diante disso, surgiu o interesse da união destas áreas no presente estudo.

Enfermidades orais têm sido relacionadas com afecções que envolvem debilitação geral do paciente, visto que a cavidade oral dá início ao processamento de qualquer alimento ingerido pelo organismo. Desta maneira a manutenção da higiene das estruturas orais, como dentes, periodonto e língua é essencial para a sanidade do organismo em geral (PACHALY ; GIOSO, 2001). Problemas de menor importância geram desconforto e dor, enquanto doenças orais severas levam à diminuição de

ingestão de água e alimento causando debilidade, alterações sistêmicas e até óbito do animal (VENTURINI et al., 2007).

Vários são os problemas que comprometem a saúde oral dos cães, sendo mais comum a doença periodontal (MITCHELL, 2004; GARCIA, et al., 2008; VENTURINI et al., 2007; MARCHESI et al., 2011 e LINO; ROSSI Jr.; RANGEL, 2014). Os microorganismos se alojam no sulco gengival onde o fluxo salivar, movimentação de língua e abrasão pelos alimentos não são capazes de realizar a limpeza natural. Caso a cavidade oral não seja higienizada diariamente pelo proprietário e anualmente por um profissional, as bactérias proliferam causando inicialmente gengivite, que evolui para destruição do periodonto (GIOSO, 2007).

A gengivite, por sua vez, é uma injúria inflamatória da gengiva (WIGGS; LOBPRISE, 1997), causada pelo constante contato com a placa bacteriana e seus materiais antigênicos, causadores de inflamação. Tal enfermidade não acomete o osso alveolar, cemento e ligamento periodontal o que a diferenciada doença periodontal (BELLOWS, 1999). A placa bacteriana capaz de causar inflamação necessita de 24 a 48 horas para se estabilizar, de forma que somente com uma semana de evolução é capaz de provocar gengivite (GIOSO, 2007).

Estudos mostram que 85% dos cães acima de três anos de idade possuem algum grau da doença periodontal, fazendo assim presente a gengivite (GIOSO, 2007, MARCHESI et al., 2011 e LINO; ROSSI Jr.; RANGEL, 2014) e a preocupação de buscar métodos alternativos para amenizar a gengivite por doença periodontal ou fármacos que auxiliem na cura de lesões em situações de presença constante de patógenos.

O conhecimento da fitoterapia tem contribuído para uma nova geração de terapia, que inclui fármacos derivados de plantas, própria planta ou de partes dela. A erva-de-passarinho (gênero *Struthanthus*) popularmente é indicada para tratamento de doenças das vias respiratórias, devido ao seu efeito anti-inflamatório (FREIRE et al., 2011 e VIEIRA, 2005). É uma planta hemiparasita da família das Loranthaceae, vive sobre os galhos e troncos das plantas hospedeiras, que podem ser pinheiros, árvores frutíferas, ornamentais e florestais (ROTTA et al., 2005).

Tendo em vista o crescimento da Odontologia Veterinária, da conscientização dos

proprietários sobre a necessidade de cuidados com a saúde oral dos animais de estimação e perspectiva de crescimento do mercado, inúmeras empresas desenvolveram produtos, como creme dental, escovas de dente especiais, rações que previnem formação de placa bacteriana e biscoitos que auxiliam o combate ao cálculo dentário(GIOSO, 2007).

Sabendo-se das propriedades terapêuticas da erva-de-passarinho, objetivou-se avaliar a eficácia do extrato etanólico na forma de pomada oro base na concentração de 5% em redução de lesão em mucosa oral de cães.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ERVA-DE-PASSARINHO (*Struthanthus sp*)

A família Loranthaceae é distribuída nas regiões subtropicais e tropicais em ambos os hemisférios (VENTURELLI, 1981), plantas do gênero *Struthanthus* são conhecidas como ervas-de-passarinho por parasitarem pomares no Brasil, principalmente de laranjeiras e goiabeiras (VIEIRA et al., 2005) (FIGURA 1).

A erva-de-passarinho recebe este nome devido ao fato de que muitas aves se alimentam de seus frutos e promoverem dispersão das suas sementes (ROTTA et al., 2005). Esta planta ainda pode ser conhecida como, enxerco-de-passarinho, esterco-de-jurema, passarinho, visga entre outras denominações (LORENZI, 2000 e CONCEIÇÃO et al., 2010).

A erva-de-passarinho é encontrada principalmente sobre monocotiledôneas, árvores frutíferas, ornamentais e florestais coníferas e folhosas. É uma planta hemiparasita da família das *Loranthaceae* que é constituída aproximadamente de 70 gêneros e 950 espécies, que vivem sobre os galhos e troncos de plantas hospedeiras. A infestação por esta planta afeta a arquitetura da árvore e interfere no seu vigor, retirando dela água e nutrientes (ROTTA et al., 2005).



Figura 1: *Struthanthus sp*

Fonte: Embrapa documento 112 - ISSN1679-2599 Dezembro, 2005.

O termo parasita é comumente e indevidamente aplicado a erva-de-passarinho, já que esta planta é hemiparasita, ou seja, não depende exclusivamente dos nutrientes de seus hospedeiros. Por ser uma planta parcialmente parasita, realiza, também, fotossíntese (por possuir folhas normais providas de estômatos e clorofila), metabolizando, assim, substâncias orgânicas para o seu desenvolvimento (além de absorver os elementos minerais retirados da planta hospedeira, por meio do seu sistema radicial transformado em órgão de aderência e absorção). Estas características certamente contribuem para a sua grande capacidade de proliferação e a torna muito resistente à erradicação (ROTTA et al., 2005).

2.2 PROPRIEDADES DA ERVA-DE-PASSARINHO

A planta é utilizada na fitoterapia para o tratamento de diversas enfermidades como afecções pulmonares, (asma, bronquite, pneumonia e tosse). As folhas e partes aéreas de espécies da família *Loranthaceae* são descritas como terapêuticas para o tratamento não convencional de algumas neoplasias e de processos inflamatórios (CÁRCERES, 1996 ; VIEIRA, 2005, ALVES et al., 2007).

De acordo com estudos de Conceição et al., (2010) em Caxias, Maranhão, diversas enfermidades são tratadas pelos populares locais com a planta (problemas uterinos, gastrite, úlceras, inflamação da garganta, problemas relacionados ao câncer e até tumores desconhecidos).

Estudos fitoquímicos parciais revelaram a presença de metabólitos secundários como, taninos condensados (proantocianidinas) e saponinas (SALATINO; KRAUS; SALATINO, 1993 e VIEIRA, et al., 2005). Entretanto, até o momento, apenas um dado de atividade biológica foi descrito na literatura e demonstra efeito antibacteriano de frações obtidas pela partição líquido-líquido do extrato hidroetanólico das folhas (VIEIRA et al., 2005).

As poucas citações da utilização das ervas-de-passarinhos devem-se às dificuldades dos autores, nas publicações de definirem com clareza o uso popular das plantas e

seu efeito terapêutico. Esses efeitos terapêuticos só poderiam ser confirmados por meio de ensaios biológicos dirigidos, que poderiam desmistificar a utilização popular e que, certamente, aumentariam o número de espécies indicadas no tratamento de processos inflamatórios (GUIMARÃES et al., 2006).

Entretanto já foi registrada a presença de substâncias isoladas de Loranthaceae com atividades antitumorais e anti-inflamatórias conhecidas ou que já foram isoladas em outras espécies e famílias de plantas (GUIMARÃES et al., 2006). Pode-se destacar norditerpneoslactonas em *L. globosus*, ácidos graxos de *Scurrulaartropurpurea*, triterpenos, lectina-ML1 em *Viscum album* e ácido oleanólico em *V. articulatum*, hirsutanona em *V. cruciatum*. Algumas substâncias já são conhecidas na literatura com atividades biológicas (GUIMARÃES, et al., 2006). Salatino et al. (1993) relataram presença de grande quantidade de substâncias fenólicas na erva-de-passarinho, cuja importância é agir como antioxidante celular.

2.3 ANATOMIA E HISTOLOGIA DA MUCOSA ORAL

A mucosa oral é revestida por uma membrana em duas camadas, sendo uma de tecido epitelial e outra, de conjuntivo, ambas bem adaptadas as suas funções de revestimento e proteção tendo características de se modificar para melhor movimentação dos músculos da cavidade oral (CATE, 2003).

Existem três tipos de mucosa conforme Cate (2003): a **mucosa mastigatória** que cobre gengiva e palato duro ligado à lâmina própria ao osso subjacente **amucosa de revestimento** possui epitélio queratinizado para suportar o atrito da mastigação sendo encontrada no palato mole, superfície ventral da língua e assoalho da boca, mucosa alveolar, lábios, mucosa jugal e labial e por fim a **mucosa especializada** que recobre a língua sendo a mesma da mastigatória, tendo como única diferença, a presença das papilas e corpúsculos gustativos.

A mucosa possui divisões de caráter mitótico nas camadas mais profundas promovendo assim descamação celular na superfície (FIGURA 2) formando população de células progenitoras e de maturação. O ciclo celular da fase de maturação, mitótica até a de esfoliação é de 41 a 57 dias para o tecido

da gengiva e 25 dias da bochecha, sendo que o epitélio oral não ceratinizado renova-se mais rápido do que o ceratinizado (CATE, 2003).

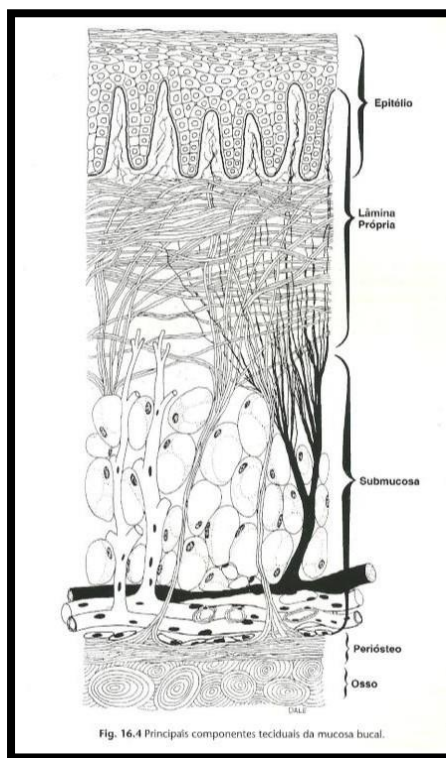


Figura 2 Mostrando os componentes teciduais da mucosa oral em camadas de osso até epitélio.
Fonte: (Cate, 2003, p. 327)

Pacientes que fazem uso de medicamentos quimioterápicos tem lesões na mucosa porque o fármaco age nas células mitóticas da maturação da mucosa oral, levando a úlceras e inflamações na boca. Outros fatores que alteram a atividade mitótica são hora do dia, estresse e inflamação, a ligeira presença de infiltrados inflamatórios no tecido subepitelial, que estimula a mitose, visto que uma acentuada inflamação e quantidades de infiltrados provoca uma acentuada redução na atividade mitótica (CATE, 2003).

O fluxo sanguíneo, quando comparando pele e gengiva, é maior na gengiva, em temperatura normal. A vascularização realizada por vênulas e pós-capilares, localizados abaixo do epitélio gengival e sulcular bucal, possui moléculas de adesão que facilitam o tráfego de leucócitos até mesmo na mucosa oral saudável (CATE, 2003).

2.4 GENGIVA

Gengiva é a mucosa que circunda o dente erupcionado e o osso alveolar possui cor rosa pálida ou pigmentada, sendo formada por epitélio juncional (GIOSO, 2007).

A gengiva tem a espessura de 250 micrometros de epitélio escamoso estratificado paraqueratinizado de superfície lisa. Esta estrutura sofre um processo denominado ceratinização ou cornificação, onde células queratinizadas firmemente arranjadas em camadas são sobrepostas para suportar o atrito dos alimentos na mastigação, diferenciando a gengiva da mucosa oral (WIGGS; LOBPRISE, 1997 e CATE, 2003).

A gengiva é vascularizada pela rede de vasos encontrados na lâmina própria, e sangramentos quando ocorrem é sinal de inflamação (WIGGS; LOBPRISE, 1997 e KATCHBURIAN; ARANA, 1999). A junção desta mucosa ao dente não é muito estreita, permitindo que antígenos passem livremente através dela, podendo iniciar a inflamação do tecido, conhecida por gengivite (CATE, 2003).

2.5 GENGIVITE

A gengivite é uma injúria inflamatória da gengiva, causada pelo constante contato com a placa bacteriana e seus materiais antigênicos, causadores de inflamação levando a edema e hiperemia. Este agente causal transforma a resposta inicialmente celular em uma resposta humoral, desencadeando liberação de enzimas líticas e prostaglandinas (WIGGS; LOBPRISE, 1997 e GIOSO, 2007). Tal enfermidade a principio não acomete osso alveolar, cemento e ligamento periodontal, o que a diferencia da doença periodontal (BELLOWS, 1999).

À medida que a placa bacteriana se acumula, torna-se propício o ambiente para as bactérias patogênicas aos tecidos periodontais. As bactérias liberam seus subprodutos, que provocam inflamação e ativação de mediadores inflamatórios, vaso dilatação, edema e liberação de enzimas destrutivas para células. A primeira fase da doença periodontal que é denominada gengivite, pode ser revertida, pois não causa destruição dos tecidos juncionais do periodonto, porém, quando a doença evolui para periodontite, as lesões são irreversíveis (LOBPRISE, 2007; GIOSO, 2007; GORREL, 2008 e HARVEY et al., 2008), sendo possível que os animais tenham periodontite

grave, localizada apenas em um único dente (HALE, 2003).

As reações de defesa do hospedeiro à presença de microorganismos e seus subprodutos na cavidade oral são prejudiciais por serem reações imunoinflamatórias, que podem alcançar os níveis mais profundos do tecido conjuntivo, indo além da base do sulco gengival (gengivite), comprometendo o osso alveolar nesse processo destrutivo (periodontite). Dessa forma, tais processos “defensivos” são responsáveis pela maior parte da lesão tecidual observada na gengivite e na periodontite (MADIANOS et al., 2005).

2.6 LESÃO

Existem três formas de cicatrização de ferida, que dependem da quantidade de tecido lesado e da presença ou não de infecção: primeira intenção, segunda intenção e terceira intenção (fechamento primário retardado) (TAZIMA; VICENTE; MORIYA, 2008).

- Primeira intenção: é o tipo de cicatrização que ocorre quando as bordas são apostas ou aproximadas, havendo perda mínima de tecido, ausência de infecção e mínimo edema. A formação de tecido de granulação não é visível. Exemplo: ferimento suturado cirurgicamente.
- Segunda intenção: neste tipo de cicatrização ocorre perda excessiva de tecido com a presença ou não de infecção. A aproximação primária das bordas não é possível. As feridas são deixadas abertas e se fecharão por meio de contração e epitelização.
- Terceira intenção: designa a aproximação das margens da ferida (pele e subcutâneo) após o tratamento aberto inicial. Isto ocorre principalmente quando há presença de infecção na ferida, que deve ser tratada primeiramente, para então ser suturada posteriormente.

2.7 REPARO TECIDUAL

Um dano ao tecido é suficiente para ocasionar uma resposta inflamatória, e o processo de cura é iniciado podendo ser resultado deste processo: regeneração completa do tecido ou restauração da continuidade do tecido por meio de cicatrizes e distorção da

arquitetura normal (reparo) (CATE, 2003 e TAZIMA; VICENTE; MORIYA, 2008).

Respostas do tecido conjuntivo a injúria, são divididos em fase hemostática, inflamatória, proliferação e síntese.

1) Hemostática: imediatamente após injúria ao tecido, onde ocorre hemorragia dentro da lesão, agregação plaquetária, depósito de fibrina para formação do coágulo que tem sua função de barreira hemostática e união das margens da ferida, fornecendo suporte de migração das células de reparo.

2) Inflamatória: os neutrófilos são as primeiras células a invadir a lesão poucas horas após a lesão atingindo seu máximo em 24 horas com vida curta no ferimento antes de começarem a se degenerar. Embora sua degeneração contribua com a destruição do tecido lesionado por liberação de enzimas, estas por sua vez ajudam a controlar a invasão de bactérias e conseqüentemente a infecção.

Após as 24h os macrófagos penetram no ferimento e se alojam por cerca de cinco dias, exercendo a função de remover materiais estranhos, liberando peptídeos biologicamente ativos, inclusive um mitógeno específico para fibroblastos.

Na ausência de macrófagos, poucos fibroblastos são estimulados durante a cura da ferida, provocando um reparo lento e diminuição do tecido reparador, fazendo assim o macrófago ser imprescindível no processo de tecido reparador.

3) Proliferação e síntese

Envolve o estágio de proliferação de fibroblastos e síntese de colágeno para formação do tecido cicatricial.

Existem duas fontes de fibroblastos uma é o fibroblasto marginal não lesionado da ferida outra é a diferenciação e proliferação das células perivasculares indiferenciadas que migram para a lesão e se diferenciam em colágeno do tecido cicatricial.

Estas três etapas mostram a cicatrização do tecido conjuntivo no geral, a diferença entre o tecido da pele e da mucosa é devido a quase não formação de tecido cicatricial na cavidade oral com tanta facilidade quanto da pele. Desta forma injúria na cavidade oral (exemplo: úlceras e lesões cirúrgicas). Embora o processo produza a

cicatriz no tecido da cavidade oral, este já se prepara e remodela-se para restaurar a arquitetura normal da estrutura lesada sem grandes cicatrizes (CATE, 2003).

3 CONCLUSÃO

Conclui-se com esse estudo que a pomada em oro base produzida com extrato etanólico de erva-de-passarinho a 5%, aplicada sobre lesão induzida cirurgicamente sobre a mucosa oral de cães, teve efeito significativo na redução de área de lesão.

Tais resultados apontam um futuro promissor em novas pesquisas com a planta, em outros tipos de feridas de animais, permitindo comprovar cientificamente aquilo que a cultura popular já dizia sobre seus efeitos terapêuticos.