

Avaliação do efeito cicatrizante do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* em ratos wistar (*Rattus norvegicus albinus*)

*Evaluation of the healing effect of essential oil of Melaleuca alternifolia
in wistar rats (Rattus norvegicus albinus)*



Raissa Botelho e Oliveira

Discente do curso de Medicina Veterinária (UNIPAM).
e-mail: raissaoliveira@yahoo.com.br

Lorrayne de Barros Bosquetti

Doutora em Ecologia Aplicada pela ESALQ-USP, com pós-doutoramento pela EMBRAPA-CPAO.
Professora do UNIPAM. e-mail: lorryneb@gmail.com

RESUMO: O processo de cicatrização de feridas envolve a conformação das células, os sinais químicos e as modificações com o objetivo de reestruturar o tecido lesionado. O óleo de *Melaleuca* é utilizado para o tratamento de diversas situações. O presente estudo teve como objetivo verificar a influência do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* na cicatrização de feridas cutâneas. O estudo foi realizado no biotério do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Foram utilizados oito ratos (*Rattus norvegicus*), da linhagem Wistar, subdivididos em dois subgrupos: quatro animais para avaliação da cicatrização em sete dias e quatro animais para avaliação em quatorze dias. Para o procedimento cirúrgico em cada animal foram excisados dois fragmentos cutâneos de 8mm em região dorsal, sendo uma ferida na região toracolombar cranial (controle) e outra ferida na região caudal à primeira ferida (tratada) até a exposição da fáscia muscular dorsal. As feridas foram observadas diariamente. Ao término do tratamento foi coletado um fragmento de cada lesão e encaminhado para o Laboratório de Histopatologia do Centro Clínico Veterinário do UNIPAM. Na análise macroscópica não houve diferença entre as médias das áreas das feridas tratadas com as feridas-controle em sete ($p=0,31$) e 14 dias ($p=0,52$) de tratamento. Na análise microscópica houve uma discreta diferença no processo de cicatrização entre as feridas cutâneas tratadas e as feridas-controles, uma vez que alguns achados histológicos retardam, e outros auxiliam no processo de cicatrização. Em relação à epitelização, epiderme e derme das feridas tratadas, observou-se que estavam normais no sétimo dia, com exceção do RATO-4, que estava ausente. Já os ratos das feridas-controle estavam normais apenas no RATO-1, e ausentes nos outros ratos. A fibrina nas feridas-controle foi mais evidente quando comparadas às feridas tratadas nos animais avaliados em sete dias. Aos 14 dias estava ausente em ambos os grupos. Houve uma maior neovascularização das feridas tratadas tanto de sete dias quanto de 14 dias. Os fibroblastos estavam presentes em mesma

proporção em todas as feridas avaliadas em 14 dias. A hemorragia foi mais intensa nas feridas-controle dos quatro ratos avaliados em sete dias. Dessa forma, outros testes devem ser feitos para avaliar o potencial ativo cicatrizante da substância em diferentes concentrações. Conclui-se então que o uso tópico do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* a 100% não demonstrou auxiliar no processo final de cicatrização cutânea de ratos da linhagem Wistar.

PALAVRAS-CHAVE: Cicatrização. Feridas. *Melaleuca*.

ABSTRACT: The wound healing process involves the conformation of the cells, the chemical signals and the modifications in order to restructure the injured tissue. *Melaleuca* oil is used to treat various conditions. The present study had as objective to verify the influence of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* in the healing of cutaneous wounds. The study was carried out at the University Center of Patos de Minas (UNIPAM). Eight rats (*Rattus norvegicus*) of the Wistar lineage were subdivided into two subgroups: four animals for evaluation of healing in seven days and four animals for evaluation fourteen days. For the surgical procedure in each animal two skin fragments of 8 mm were dorsal excised, one wound in the cranial thoraco-lumbar region (control) and another wound in the caudal region to the first wound (treated) until the exposure of the dorsal muscular fascia. The wounds were observed daily. At the end of the treatment, a fragment of each lesion was collected and sent to the Laboratory of Histopathology of the Clinical Veterinary Center of UNIPAM. In the macroscopic analysis there was no difference between the means of the wound areas treated with the control wounds in seven ($p = 0.31$) and 14 days ($p = 0.52$) of treatment. In the microscopic analysis there was a discrete difference in the healing process between the treated cutaneous wounds and the control wounds, since some histological findings delay, and others assist in the healing process. Regarding the epithelial, epidermis and dermis of the treated wounds, it was observed that they were normal on the seventh day except for the RAT-4 that was absent. Rats from control wounds were normal only in RAT-1 and absent in other rats. The fibrin in the control wounds was more evident when compared to the wounds treated in the animals evaluated in seven days. At 14 days he was absent in both groups. There was a greater neovascularization of wounds treated for both seven days and 14 days. Fibroblasts were present in the same proportion in all wounds evaluated at 14 days. Haemorrhage was more intense in the control wounds of the four rats evaluated in seven days. Therefore, other tests should be done to evaluate the healing potential of the substance in different concentrations. It was concluded that the topical use of 100% *Melaleuca alternifolia* essential oil did not prove to be an aid to the final cutaneous healing process of Wistar rats.

KEYWORDS: Healing. Wounds. *Melaleuca*.

1. INTRODUÇÃO

O processo de cicatrização de feridas envolve a conformação das células, sinais químicos e modificações com o objetivo de reestruturar o tecido lesionado. O tratamento de feridas tem por finalidade a reconstrução da lesão, em busca da integridade do tecido lesionado. Por isso, é fundamental entender

sobre o processo biológico da cicatrização de feridas e regeneração tecidual (MENDONÇA, 2009). A cicatrização compreende quatro fases: inflamação, desbridamento, reparo e maturação, podendo essas fases ocorrer simultaneamente e também serem influenciadas por fatores do hospedeiro, característica do ferimento e fatores externos (FOSSUM, 2014).

Relatos de civilizações antigas de mais de 4.000 anos descrevem que diversos povos já utilizavam plantas para combater várias doenças. A partir de então, elas vieram se tornando uma grande alternativa para tratamentos medicinais, em especial os óleos essenciais, provenientes de metabólitos secundários dessas plantas (CARSON; HAMMER; RILEY, 2006). Segundo Azevedo (2002), as tribos aborígenes da Oceania utilizavam o óleo extraído das folhas do *Tea tree* e misturavam com lama, resultando em uma pasta que era utilizada em cortes como cicatrizante e anti-inflamatório nas infecções cutâneas.

Os óleos essenciais são formados através de compostos químicos voláteis, e se apresentam mais viscosos e menos densos quando comparados à água em temperatura ambiente. Eles são retirados a partir de uma diversidade de plantas e, devido às suas peculiaridades essenciais como fragrância, atividades antimicrobianas e antioxidantes, são amplamente inseridos em alimentos como aditivos naturais, em indústrias de perfumes e também em indústrias farmacêuticas, pois são formados por compostos fenólicos que atuam contra microrganismos (NAVARRETE *et al.*, 2011).

O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* pertence à família Myrtaceae, e é conhecido como *Tea tree* (árvore-do-chá). É uma planta originária de uma região inabitada da Austrália que se desenvolve em áreas de pântano próximas a rios, e por lidar com condições adversas do clima, solo e ataques de microrganismos, principalmente fungos, ela desenvolveu diversas estratégias de defesa (LÁSZLÓ, 2007). O óleo de *Melaleuca* é utilizado para o tratamento de diversas situações indesejáveis na pele, incluindo a acne, tinha, picadas de insetos e queimaduras (HAMMER; CARSON; RILEY, 2004).

Segundo Simões *et al.* (2002), o óleo essencial da *Melaleuca alternifolia* possui ação antimicrobiana comprovada contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, fungos, alguns vírus, além de forte atividade repelente contra mosquitos, pulgas e piolhos. Um estudo feito por Hammer, Carson e Riley (2004) apontou que o óleo de *Tea tree* e seus constituintes expandiram a permeabilidade das células de levedura e a fluidez da membrana plasmática, e também impossibilitou a acidificação do meio extracelular. Os autores relatam ainda que os componentes desse óleo dispõem de múltiplas técnicas de ação antifúngica. Silva (2001) ressaltou também que o teor, a composição química e as atividades antimicrobianas do óleo de *Tea tree* que são cultivados no Brasil apresentam as mesmas características do óleo extraído de plantas cultivadas na Austrália.

Em virtude do exposto, a efetividade do óleo de *Melaleuca alternifolia* em relação à propagação bacteriana incluindo aquelas resistentes a antibióticos e também pela ação antifúngica, julgou-se oportuna a realização de um estudo experi-

mental com o objetivo de verificar a influência do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* na cicatrização de feridas cutâneas provocadas cirurgicamente em ratos Wistar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. LOCAL DO ESTUDO E ANIMAIS

O presente estudo foi realizado no biotério do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), no município de Patos de Minas, em Minas Gerais, Brasil. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética pelo uso de animais (CEUA), do Centro Universitário de Patos de Minas, sob número de protocolo 20/17.

Foram utilizados oito ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, machos, com peso médio de 250 a 300 g selecionados aleatoriamente do biotério do UNIPAM. Os animais foram subdivididos em dois subgrupos de quatro animais, de acordo com o período de avaliação, o qual foi estabelecido: Grupo 1: quatro animais receberam tratamento durante sete dias após a cirurgia; e Grupo 2: quatro animais receberam tratamento durante 14 dias de pós-operatório. Ambos os grupos iniciaram o tratamento 24 horas após realização de ferida cirúrgica. Durante a fase experimental, todos os animais receberam ração padronizada para roedores e água à vontade, foram mantidos em caixas individuais de polipropileno, autoclaváveis e em ambiente ventilado. O ciclo claro-escuro de 12 horas foi obedecido e a temperatura foi mantida em 21°.

2.2. INDUÇÃO ANESTÉSICA E PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Os animais foram imobilizados com a mão dominante, a cabeça foi apreendida entre o dedo indicador e o dedo do meio, o dedo anelar e polegar apreenderam o animal abaixo da região axilar do membro anterior esquerdo, a anestesia foi realizada utilizando associação de cloridrato de xilazina a 2% (10 mg/Kg), cloridrato de cetamina a 10% (70 mg/Kg) e Midazolam a 0,5% (2mg/Kg), ambos por via intraperitoneal (IP).

Para o procedimento cirúrgico, os ratos foram posicionados em decúbito ventral e foi realizada a tricotomia no dorso. Assepsia da região foi realizada com álcool 70% e iodo povidine. A excisão da pele e do tecido subcutâneo foi realizada com Punch metálico dermal circular (n° 8).

Em cada animal foram excisados dois fragmentos cutâneos de 8mm cada, sendo uma ferida na região toraco-lombar cranial (denominada controle) e outra ferida na região caudal à primeira ferida (denominada tratada) até a exposição da fáscia muscular dorsal, conforme demonstrado no diagrama 1 (na página seguinte). A hemostasia foi realizada por compressão digital utilizando gaze estéril. Ao término do procedimento, foram aplicados em cada animal 8mg/Kg de cloridrato de tramadol por via subcutânea (SC), e reaplicado a cada oito horas durante dois dias.

Após o término do procedimento cirúrgico, os animais foram alojados em caixas individuais, e a primeira administração tópica nas feridas teve início 24 horas após a realização do procedimento cirúrgico.

Nas feridas tratadas com *Melaleuca* (FM), foi aplicada uma gota do óleo essencial de *Melaleuca* 100%, utilizando-se uma seringa, e nas feridas-controle foi administrada uma gota de solução salina 0,9%. Esse procedimento foi feito durante 7 dias nos animais do Grupo 1 e durante 14 dias nos animais do Grupo 2.

DIAGRAMA 1. Diagrama indicando a região toraco-lombar onde foram feitos os fragmentos de pele e de tecido subcutâneo em ratos Wistar; feridas tratadas (FM) e feridas-controles (FC).



Fonte: adaptado de UEZ (2005)

2.3. TRATAMENTOS

Após o término do procedimento cirúrgico, os animais foram alojados em caixas individuais, e a primeira administração tópica nas feridas teve início 24 horas após a realização do procedimento cirúrgico.

Nas feridas tratadas com *Melaleuca* (FM), foi aplicada uma gota do óleo essencial de *Melaleuca* 100%, utilizando-se uma seringa, e nas feridas-controle foi administrada uma gota de solução salina 0,9%. Esse procedimento foi feito durante 7 dias nos animais do Grupo 1 e durante 14 dias nos animais do Grupo 2.

2.4. ANÁLISE MACROSCÓPICA

Para verificar a evolução do tratamento com *Melaleuca* comparado às feridas consideradas controle (tratadas com salina 0,9%), as feridas dos animais foram observadas e classificadas em ferida aberta (Fa), cicatriz avermelhada (Ca) e cicatriz rosada (Cr).

As áreas das feridas foram medidas utilizando-se um paquímetro. Nos animais do Grupo 1, as feridas foram mensuradas nos dias um, três, cinco e sete, já nos animais do Grupo 2, nos dias um, três, cinco, sete, nove, onze e treze. Os dados avaliados foram anotados em ficha específica e individual para cada animal.

Para a determinação das áreas das lesões, utilizou-se a equação matemática

tica: $A = (\pi \times R \times r)$, onde (π) equivale a 3,14, (A) representa a área, o (R) corresponde ao raio maior da ferida e (r) raio menor.

2.5. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Após o período de observação e coleta das medições das lesões nos grupos 1 e 2, os pacientes foram eutanasiados. Para a realização da eutanásia, os animais foram anestesiados com associação de cloridrato de cetamina a 10% (70 mg/Kg), cloridrato de xilazina a 2% (10 mg/Kg), e Midazolam a 0,5% (2mg/Kg), por via intraperitoneal (IP). Posteriormente, os animais foram colocados em câmara de dióxido de carbono (CO₂) durante dez minutos, o que os levou a uma parada cardiorrespiratória. Após serem retirados da câmara de CO₂, foram aferidos os batimentos cardíacos para a confirmação do óbito.

Após eutanásia, um fragmento de cada ferida foi obtido com margem de dois centímetros de tecido saudável circunscrito à lesão. Os fragmentos foram acondicionados separadamente em frascos contendo formaldeído a 10%, devidamente identificados e posteriormente encaminhados ao Laboratório de Histopatologia do Centro Clínico Veterinário do UNIPAM, onde foram confeccionadas as lâminas histológicas para serem analisadas.

Os achados histológicos foram distribuídos de acordo com a presença ou ausência de crosta, epiderme e derme, epitelização, fibrina, fibroblasto, fibroplasia, hemorragia, neovascularização, plasmócito e polimorfonucleares. Considerando (0) como ausente, (+) como discreta, (++) como moderado e (+++) como intenso.

2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística, utilizou-se o teste de Levene para averiguar a homogeneidade das variâncias, e a comparação de médias foi feita pelo Teste T de Student, para amostras independentes, considerando o nível de significância de 5%.

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1. ANÁLISE MACROSCÓPICA

A hipótese nula no teste T de amostras independentes é aceita, uma vez que o valor de p foi maior que 0,05 ($p=0,31$), concordando assim que não houve diferença significativa entre as médias das áreas das feridas tratadas com o as feridas-controle em sete e 14 dias de tratamento, como pode ser observado na Tabela 1 e no Gráfico 1 (na página seguinte).

A não significância dos dados obtidos com o estudo também pode estar ligada à concentração do óleo puro a 100% que foi utilizado no experimento, pois em trabalhos semelhantes utilizando o mesmo óleo, pesquisadores obtiveram resultados positivos, porém, utilizando metodologia de concentração e diluição diferente da presente pesquisa. Boles *et al* (2008) utilizaram em seu estudo hidrogel

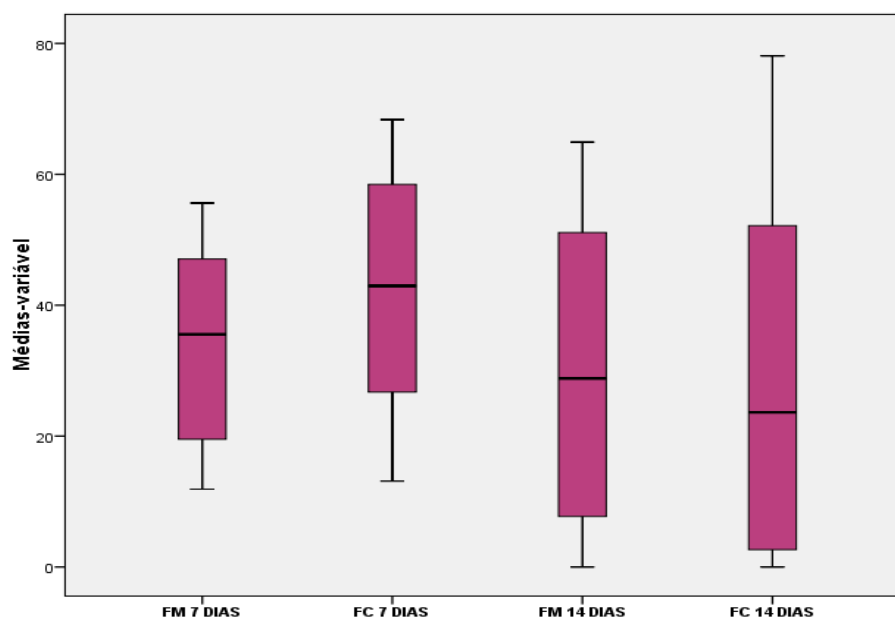
à base de água e óleo de *Melaleuca alternifolia* para o tratamento de queimaduras em ratos da linhagem Wistar, observando uma redução de nível de necrose e resfriamento da pele após o uso, demonstrando assim a eficácia do óleo na cicatrização de afecções cutâneas. Neste mesmo seguimento, Vencanto (2012) utilizou hidrogel contendo nanocápsula e nanoemulsão de *Melaleuca* na cicatrização de feridas cutâneas em ratos, obtendo um resultado significativo. Foi observado que, nos aspectos mais externos do processo de cicatrização, o óleo de *Melaleuca* induziu a eliminação mais rápida da crosta em relação ao grupo controle tratado somente com hidrogel e do grupo controle positivo tratado com hidrogel contendo alantoína. Além disso, observou-se que a epiderme estava mais desenvolvida no grupo de hidrogel contendo *Melaleuca*.

TABELA 1. Valores referentes às áreas das feridas tratadas com *Melaleuca* e ferida-controle com soro fisiológico em 7 dias de tratamento; e valores das áreas das feridas tratadas com *Melaleuca* e ferida-controle com soro fisiológico em 14 dias de tratamento.

FERIDAS		Valor P
7 DIAS (FC)	41,30± 18,35	0,31
7 DIAS (FM)	34,25± 14,88	
14 DIAS (FC)	23,43± 24,12	0,52
14 DIAS (FM)	25,47± 23,19	

Médias ± desvio padrão não diferem estatisticamente entre si pelo teste T ($p < 0,05$).

GRÁFICO 1. Médias equivalentes às feridas tratadas com óleo essencial de *Melaleuca* e feridas-controle avaliadas em 7 dias, e médias de feridas tratadas com óleo essencial de *Melaleuca* e feridas-controle avaliadas em 14 dias



FM- ratos tratados com óleo de melaleuca; FC- ratos tratados com soro fisiologico

O presente estudo utilizou concentração do óleo puro de *Melaleuca* a 100%, e os resultados macroscópicos não evidenciaram toxicidade. Em relação à toxicidade do óleo, em uma revisão literária feita por Hammer *et al.* (2006), foi possível observar que os autores destacam os efeitos relacionados com a irritação da pele após a exposição tópica a altas concentrações de *Tea tree* e com a alergia ao óleo ou a seus componentes e produtos de degradação oxidativa, somente em indivíduos predispostos. A toxicidade é uma resposta funcional à mistura de diferentes compostos químicos com diferentes características físicas, o que torna difícil definir a toxicidade do óleo. Entretanto, essas substâncias não se acumulam no organismo, pois são neutralizadas por ligação com o ácido glicorônico e eliminadas juntamente com a urina (SIENKIEWICZ *et al.*, 2011).

Para que seja preservada a segurança da utilização do óleo de *Melaleuca*, Ecycle (2013) recomenda seu uso externo local diluído em água; embora ainda não exista um estudo científico sobre a quantidade máxima recomendada, experiências feitas com a *Melaluca* consideram razoável a concentração de 5%, o que equivale a 100 gotas de óleo de *Melaluca* a cada 100 ml de água. Fletcher (2005) também cita que a literatura disponível sugere que o óleo de *Melaluca* pode ser usado topicamente na forma diluída pela maioria dos indivíduos, sem efeitos adversos.

Segundo Sienkiewicz *et al.* (2011), no organismo humano, os óleos essenciais são bem absorvidos pela mucosa nasal, gástrica, intestinal e pela pele. No entanto, em grandes concentrações, pode ter ação irritante. Entretanto, essas substâncias não se acumulam no organismo, pois são neutralizadas por ligação com o ácido glicorônico e eliminadas juntamente com a urina.

3.2. ANÁLISE MICROSCÓPICA

Os animais das feridas-controle apresentaram maior presença de crosta – RATO-1 e RATO-2 (intensa), RATO-4 (moderada), RATO-3 (discreta) – em relação às feridas tratadas que se apresentaram úmidas durante o tratamento e sem presença de crosta na análise no sétimo dia. As crostas das feridas-controle foram observadas a partir do segundo dia e mantiveram-se até o sétimo dia. Na observação microscópica dos animais submetidos ao tratamento até o 14º dia, a crosta já estava ausente em todas as feridas-controle e tratada, uma vez que as feridas já haviam cicatrizado. A retirada de fragmento de pele leva à formação de solução de continuidade que é preenchida por fibrina, coágulo e exsudado inflamatório, formando a crosta que recobre a ferida (MARTINS *et al.*, 2006). As crostas caracterizam-se como uma massa ressecada, formada através da combinação de queratina, soro, restos celulares e micro-organismos, e sua presença indica um processo exsudativo anterior a sua instauração (CONCEIÇÃO, 2010). Hedlund (2007) cita que a presença de crostas parece prolongar o processo de epiteliação, ao contrário de uma ferida úmida, que permite uma excelente cicatrização.

Em relação à epiteliação, à epiderme e à derme das feridas tratadas, estas estavam normais no sétimo dia, com exceção do RATO-4, que estava ausente; já os ratos das feridas-controle, a epiteliação, a epiderme e a derme estavam normais

apenas no RATO-1 e ausente nos outros ratos. Essa ausência da epitelização nas feridas-controle pode ser explicada pelas crostas presentes nessas feridas, pois segundo Porth (2010), como a migração de células epiteliais requer uma superfície úmida e vascularizada da ferida, quando ela é impedida por uma superfície seca ou necrótica, ocorre o retardamento da epitelização da mesma até que um leito de tecido de granulação se tenha formado. E quando há essa presença de crosta como foi observado, as células epiteliais migram entre as crostas e o tecido viável subjacente, e somente quando uma porção significativa da ferida é coberta com tecido epitelial é que a crosta se destaca.

No 14º dia apenas nos RATO-6 (FC) e RATO-7 (FT) a epitelização estava ausente. Nas primeiras 24 a 36 horas após a lesão, fatores de crescimento epidérmicos estimulam a proliferação de células do epitélio. A epitelização abrange uma sequência de alterações nos ceratinócitos da ferida: separação, migração, proliferação, diferenciação e estratificação. As células epiteliais migram através das bordas sobre a área da ferida cruenta e dos folículos pilosos próximos, induzindo a contração e a neopitelização da ferida, reduzindo assim a sua superfície. Os ceratinócitos sintetizam diversas citocinas na pele, estimulando a cicatrização das feridas cutâneas. Eles localizam-se na camada basal da epiderme residual ou na profundidade de apêndices dérmicos revestidos de epitélio, e migram para recobrir a ferida. As células epiteliais movem-se desordenadamente até as bordas aproximando-as, como ocorreu nos grupos tratados com uma maior intensidade e também no grupo controle (TAZIMA *et al.*, 2008).

A fibrina nas feridas-controle foi mais evidente quando comparada às feridas tratadas nos animais avaliados em sete dias. Nos animais de 14 dias, a fibrina estava ausente em ambos os grupos. As plaquetas são agregadas no meio da matriz de fibrina formando um coágulo, e o trombo impede o sangramento contínuo, levando à formação de uma barreira protetora e fornecendo um reservatório de substâncias liberadas pela desgranulação das plaquetas. A desgranulação envolve a liberação de diversas citocinas, fatores de crescimento e de proteínas da matriz armazenada dentro dos grânulos alfa das plaquetas. Estas substâncias promovem mecanismos celulares e extracelulares importantes para hemostasia, bem como para várias outras fases da cura das feridas, deposição de matriz, quimiotaxia, proliferação celular, angiogênese e remodelamento (EFRON, 2005; ROZMAN, 2007).

A importância da angiogênese está baseada no fato de que este processo é a chave numa série de eventos fisiológicos, como ovulação, formação de corpo lúteo e cura como artropatias crônicas, psoríase, retinopatia proliferativa e crescimento tumoral e disseminação metastática, o que faz de todos os mecanismos que participam da angiogênese alvos promissores da terapêutica neste grupo de doenças chamadas angiogênese dependentes. A neoformação vascular ou angiogênese serviria como fonte de nutrientes e oxigênio, além de meio de condução de células fibroblásticas, contribuindo sobremaneira para o processo cicatricial.

Houve uma maior neovascularização das feridas tratadas tanto de sete dias como de 14 dias. Os fibroblastos estavam presentes em mesma proporção em todas as feridas avaliadas em 14 dias. A neovascularização é um evento fundamental

para o processo de cicatrização, pois sem adequada circulação, os fibroblastos não ficam viáveis no ambiente da ferida, e se não houver fibroblastos, não haverá colágeno. A epitelização também é dependente de uma matriz extracelular vascularizada (PAVLETIC, 2010). A angiogênese é considerada um evento complexo, dependente da interação da matriz extracelular e das citocinas que estimulam a migração e multiplicação das células endoteliais. Ela é induzida pela ação do fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), através dos macrófagos, das células endoteliais e das células epiteliais ativadas (HOSGOOD, 2006; HEDLUND, 2007; HOSGOOD, 2007), somando-se à baixa tensão de oxigênio presente no centro da ferida (BALBINO *et al.*, 2005). O FGF está relacionado à angiogênese nos primeiros três dias após a lesão, enquanto que o VEGF é considerado crítico para a formação de tecido de granulação do quarto ao sétimo dia (HOSGOOD, 2007).

A presença de hemorragia foi mais intensa nas feridas-controle dos quatro ratos avaliados em sete dias. Existem alguns fatores que influenciam o processo de reparo tecidual de forma extrínseca (fatores ligados ao indivíduo acometido) e intrínseca (fatores ligados diretamente à ferida). Dentre os fatores intrínsecos incluem-se as hemorragias, que levam ao acúmulo de sangue na ferida, criando espaços mortos que interferem diretamente na cicatrização (SCHMITT, 2008). O acúmulo de sangue também propicia o surgimento de hematomas e isquemia, provocando dor e fazendo com que o processo de cicatrização fique mais lento.

A presença de poliformos nucleares foi moderada nos RATOS-1 e 3 (FM), discreta no RATO-1 (FC) e no RATO-4 (FM), e ausente no RATO-2 (FM) e no RATO-4 (FC), sendo estes avaliados em sete dias. No 14º dia de avaliação, os polimorfos estavam presentes apenas no RATO-7 (FM) intensamente, e ausente nos demais animais. A fase inflamatória da cicatrização caracteriza-se basicamente pela presença de células inflamatórias no tecido cicatricial (NETO, 2003). A inflamação está relacionada à fase anterior da cicatrização, além de depender de inúmeros mediadores químicos, das células inflamatórias, como leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos (MANDELBAUM *et al.*, 2003). O processo inflamatório é compreendido pela migração celular intensificada através das vênulas e do extravasamento de moléculas séricas, anticorpos, complemento e proteínas pelos capilares. Esses eventos são controlados pelo aumento do suprimento sanguíneo e da permeabilidade capilar além de vasodilatação (CARVALHO, 2002). Os componentes celulares mais importantes de uma ferida são os leucócitos polimorfonucleares (PMN) e os macrófagos derivados de monócitos, os quais aparecem proporcionalmente à sua quantidade presente na circulação. O principal tipo de célula predominante é o PMN, que apresenta vida curta e desempenha principalmente a função fagocitária (NETO, 2003). Ele surge durante a injúria tissular e permanece por período que varia de três a cinco dias, sendo responsável pela fagocitose de bactérias (MANDELBAUM *et al.*, 2003).

Enfim, a utilização do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos permanece ainda campo aberto a pesquisas, no entanto, outros testes devem ser realizados para avaliar a probabilidade do

potencial ativo cicatrizante da substância em diferentes concentrações, avaliando também um maior número de animais, com maior tempo de tratamento.

Quadro 1. Epiderme, derme, celularidade e neovascularização de feridas cutâneas de ratos Wistar, tratadas com soro fisiológico (FC) e com óleo essencial de *Melaleuca* (FM), no sétimo dia de tratamento das feridas

ANIMAIS 7 DIAS	RATO 1		RATO 2		RATO 3		RATO 4	
	FC	FM	FC	FM	FC	FM	FC	FM
Crosta	+++	0	+++	0	+	0	++	0
Epiderme e derme	normal	Normal	0	Normal	0	normal	0	0
Epitelização	normal	Normal	0	Normal	0	normal	0	0
Fibrina	+	0	++	0	0	0	+	+
Fibroblastos	++	+	++	++	+	++	+++	0
Fibroplasia	++	+	++	++	+	+	+++	0
Hemorragia	+	+	++	0	+	0	++	+
Neovascularização	++	+++	++	+++	++	++	+++	0
Plasmocitos	+	+	+	0	+	+	+	0
Polimorfonucleares	++	++	+	0	+	++	0	+

Nota: Normal, ausente = 0; discreto= +; moderado = ++; intenso = +++

Quadro 2. Epiderme, derme, celularidade e neovascularização de feridas cutâneas de ratos Wistar, tratado com soro fisiológico (FC) e com óleo essencial de *Melaleuca* (FM), no sétimo dia de tratamento das feridas

ANIMAIS 14 DIAS	RATO 5		RATO 6		RATO 7		RATO 8	
	FC	FM	FC	FM	FC	FM	FC	FM
Crosta	0	0	0	0	0	0	0	0
Epiderme e derme	normal	Normal	0	Normal	normal	0	normal	normal
Epitelização	normal	Normal	0	Normal	normal	0	normal	normal
Fibrina	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibroblastos	+	+	++	+	+	++	++	++
Fibroplasia	0	+	++	0	+	++	+	+
Hemorragia	0	0	0	0	0	+	0	0
Neovascularização	0	+	+	+	+	+	+	+
Plasmocitos	0	0	0	+	0	+	0	0
Polimorfonucleares	0	0	0	0	0	+++	0	0

Nota: Normal, ausente = 0; discreto= +; moderado = ++; intenso = +++.

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que o uso tópico do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* a 100% não demonstrou auxiliar no processo final da cicatrização cutânea em ratos da linhagem Wistar.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, Silberto. Óleo de Melaleuca ou *Tea Tree Oil* – um poderoso antisséptico, germicida e fungicida natural, 2002. Disponível em <http://www.lemnifarma.com.br/oleo-de-melaleuca-tea-tree-oil-um-poderoso-antisseptico-germicida-e-fungicida-natural/>
- BALBINO, C.; PEREIRA, L.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacológicas*, 41(1): 27-51, 2005.
- BOLES *et al.* Curativo imediato com hidrogel à base de água, óleo de melaleuca alternifolia e emulsificantes após queimaduras. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*, 23(4): 328-31, 2008.
- CARVALHO P.T.C. *Análise da cicatrização de lesões cutâneas através de espectrofotometria: estudo experimental em ratos diabéticos*. Dissertação de Mestrado. São Carlos: Universidade de São Paulo, 2002.
- CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical microbiology reviews*, 19(1): 50-62, 2006.
- CONCEIÇÃO, L. G.; SANTOS, R. L. “Sistema tegumentar”, in: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. *Patologia veterinária*. São Paulo: Roca, 2010, pp. 423-442.
- ECYCLE. Óleo essencial de melaleuca: poderoso antimicrobiano natural traz diversos benefícios à saúde. 2013. Disponível em: <https://www.ecycle.com.br/fale-conosco.html>
- EFRON, D. E. *et al.* “Wound healing”, in: BRUNICARDI, C.; ANDERSEN, D. K.; BILLIAR, T. R. (ed). *Schwartz’s principles of surgery*. 8 ed. New York: McGraw-Hill; 2005.
- FLETCHER JP, CASSELLA JP, HUGHES D, CASSELLA S. An evaluation of the mutagenic potential of commercially available tea tree oil in the United Kingdom. *Int J Aromather*, 15(2005): 81-6.
- FOSSUM, T. W. *Cirurgia de pequenos animais*. Trad. Ângela Manetti. 4 ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2014.
- GARROS, I. C. *et al.* Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 21 (Supl. 3), 2006.
- HAMMER K. A. *et al.* A review of the toxicity of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil.

Food and Chemical Toxicology. 44(2006): 616-25.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology*, 1(95): 853–860, 2003.

HEDLUND, C. S. “Cirurgia do sistema tegumentar”, n: FOSSUM, T. W. Cirurgia de pequenos animais. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, pp. 159-161.

HOSGOOD, G. Stages of wound healing and their clinical relevance. *Veterinary Clinics of Small Animal Practice*, 36(4): 667-685, 2006.

HOSGOOD, G. “Reparo de feridas e resposta tecidual específica à lesão”, in: SLATTER, D. Manual de cirurgia de pequenos animais. 3.ed. São Paulo: Manole, 2007, p. 66-86.

MANDELBAUM, S.H., DI SANTIS, E.P; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – parte 1. *An Bras de Dermatol*. 78(4):393-410, 2003.

MARTINS, N. L. P. *et al.* Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbigynya phalerata* (BABAÇU). Estudo controlado em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, vol. 21 (Suplemento 3), 2006.

MENDONÇA, R. J., COUTINHO-NETTO, J. Cellular aspects of wound healing. *Anais da Academia Brasileira de Dermatologia*, 84(3): 257-62, 2009.

NAVARRETE, A. *et al.* Improvement of Essential Oil Steam Distillation by Microwave Pretreatment. *I&EC Research*, 50(2011): 4667-4671.

NETO J.C.L. Considerações sobre a cicatrização e o tratamento de feridas cutâneas em equinos em 2003. online. Disponível na internet <http://br.merial.com/pdf/arquivo8.pdf>.

PAVLETIC, M. M. “Basic principles of wound healing”, in: *Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery*. 3ed. Ames: Wiley-Bleckwell, 2010, pp. 18-29.

PORTH, T. M. *Fisiopatologia*. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, pp. 224-225.

ROZMAN, Bolta Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft tissue injuries, *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat*, 16(4):156-165, 2007.

PISTORE, M.; BRUSTOLIN, M. *et al.* Avaliação do uso tópico do óleo essencial de 20

- Ruta graveolens L. (Arruda) na cicatrização de feridas em ratos. *Perspectiva, Erechim*, 38(141): 57-68, 2014.
- SCHMITT, F. Fatores que interferem na cicatrização. *Ostomy Wound Manage*, 43(1):56-66, 2008.
- SIENKIEWICZ, M. *et al.* Antibacterial and immunostimulatory effect of essential oils. *Int Rev Allergol Clin Immunol*, 17 (2011): 40-44.
- SILVA, S. R. S. *Composição química, avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial e deficiência hídrica de Melaleuca alternifolia Cheel crescida no Brasil.* 2001. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.
- SIMÕES M. J. *et al.* Aspectos ultra-estruturais do processo de reparação da pele de ratos albinos. *Rev Paul Med*, 6(1985): 103-123.
- SIMÕES, R. P. *et al.* Efeito do óleo de Melaleuca alternifolia sobre a infecção estafilocócica. *Revista Lecta. Bragança Paulista*, 2(20): 143-152, 2002.
- SIMÕES M. J. *et al.* Aspectos ultra-estruturais dos fibroblastos e dos macrófagos durante o processo de reparação da pele de ratos. *Rev Paul Med*. 5(1986): 104:132.
- TAZIMA, M.F.G.S, VICENTE, Y.A.M.V.A, MORIYA. T. Biologia da ferida e cicatrização. *Medicina*, 41(3): 259-64, 2008.
- VENCATO, M. S. Atividade da melaleuca em nanocápsula e nanoemulsão na recuperação de feridas cutâneas de ratos. *Salão de Iniciação Científica 24:1-5: Porto Alegre: UFRGS, out.2012*