

Avaliação do potencial cicatricial do gel de confrei (*Symphytum officinale L.*) associado à técnica do ultrassom terapêutico em ratos com feridas cutâneas

Helen Cássia Souza Oliveira

Farmacêutica e aluna do curso de Habilitação em Análises Clínicas pelo Centro Universitário de Patos de Minas. Bolsista de iniciação científica do VIII PIBIC. e-mail: helencassia1@yahoo.com.br

Débora Vieira

Professora de Fisiologia e Biofísica do Centro Universitário de Patos de Minas. Co-orientadora da pesquisa. e-mail: deboravieira_1@hotmail.com

Célio Marcos dos Reis Ferreira

Professor do curso de Fisioterapia do Centro Universitário de Patos de Minas. Orientador da pesquisa. e-mail: cmdosrf@gmail.com

Resumo:

O ultrassom é um recurso terapêutico que acelera o processo de cicatrização, sendo que as feridas superficiais também respondem favoravelmente à sua utilização, pois os seus mecanismos físicos alteram a permeabilidade dos tecidos, o que favorece a difusão de medicamentos nos tecidos subcutâneos. A fonoforese é uma variante do ultrassom terapêutico direto, no qual substâncias biologicamente ativas são combinadas ao material de transmissão do ultrassom, para serem forçadas através dos tecidos. É um método utilizado para aumentar a permeabilidade de fármacos aplicados topicamente, e que vem sendo amplamente usada na fisioterapia associada a agentes anti-inflamatórios, a fim de alcançar concentrações terapêuticas em locais selecionados ou abaixo da pele. O teste *post hoc* de Duncan mostrou uma diferença estatisticamente significativa pelo tratamento com confrei 10% associado com U.S., quando comparado com o grupo controle, permitindo uma melhora na resposta fisiológica necessária ao processo cicatricial.

Palavras-chave: Cicatrização. Confrei. *Symphytum officinale L.* Ultrassom. Fonoforese.

Abstract: The ultrasound is a therapeutical resource that speeds up the healing process, this way, superficial wounds also answer favorably to its use. Therefore, its physical mechanisms modify the tissue's permeability, which favors the diffusion of medicine in subcutaneous tissues. Phonophoresis is a variant of the direct therapeutical ultrasound, in which active biologic substances are combined to the transmission material of the ultrasound, so they can be forced through tissues. It is a method used to increase the permeability of drugs applied on the skin being widely used in physiotherapy associated with antiinflammatory agents, in order to reach therapeutical concentrations in selected places below the skin. The test *post hoc* of Duncan statistical showed to a significant difference for the treatment with confrei 10% associate with U.S when compared with the group it has controlled, allowing an improvement in the necessary physiological reply to the cicatricial process.

Keywords: Healing. Confrei. *Symphytum officinale L.* Ultrasound. Phonophoresis.

1. Introdução

Com os avanços modernos da terapêutica cicatricial, o ultrassom (U.S.) tem sido amplamente utilizado como transportador de fármacos aplicados topicamente, pois seus mecanismos físicos alteram a permeabilidade tissular, favorecendo ao processo difusional destes medicamentos para o subcutâneo (KITCHEN & PARTRIDGE, 1990; STARKEY, 2001).

O ultrassom foi originalmente produzido através de um cristal de quartzo vibrante quando submetido a uma corrente acústica de alta frequência (ARIZA & BERTOLINI, 2003). Sua primeira aplicação prática foi em 1917, com a criação de sonares para a detecção de submarinos, utilizando o método pulso-eco. Alguns anos mais tarde descobriram que o ultrassom produzia aumento da temperatura em tecidos biológicos e, entre 1930 e 1940, foi introduzido como um recurso terapêutico em práticas médicas (ARIZA & BERTOLINI, 2003; BASSOLI, 2001; FUIRINI & LONGO, 1996).

O ultrassom terapêutico é uma técnica frequentemente utilizada na fisioterapia para tratamento de lesões em tecidos moles, inflamações, distúrbios circulatórios e estimulação da reparação tecidual (BENSON & McELNAY, 1988). Suas ações biofísicas e fisiológicas vêm sendo alvo de investigações desde a introdução desse recurso há mais de 50 anos (ROEBROECK, DEKKER & OOSTENDORP 1998; PEREIRA *et al.*, 1998; DIONÍSIO & VOLPON, 1999; LOWE *et al.*, 2001; WARDEN & McMEEKEN, 2002; HARR, 1999).

A energia ultrassônica pertence ao espectro acústico, com uso para diagnóstico, reparo ou destruição tecidual, de acordo com a frequência utilizada (KOEKE, 2003).

Na terapia ultrassônica a frequência utilizada é de 0,7 a 3Mhz (FUIRINI & LONGO, 1996; MARKS, GHANAGARAJA e GHASSEMI, 2000; DEYENE & KIRSCH-VOLDER, 1995).

Dentro deste contexto terapêutico, podemos observar a abrangência das ondas ultrassônicas a uma variedade de condições, com alegações de resultados bem sucedidos.

Quando as ondas acústicas penetram no corpo, podem exercer um efeito sobre as células e tecidos mediante mecanismos físicos térmicos e atérmicos (YOUNG, 1999a).

As mudanças biológicas decorrentes dos efeitos atérmicos do ultrassom são o aumento da permeabilidade das membranas e difusão celular, aumento do transporte dos íons de cálcio através das membranas celulares, degranulação de mastócitos, e agentes quimiotáxicos, aumento da síntese de colágeno, aumento da elasticidade do colágeno, aumento da taxa de síntese de proteínas, diminuição da atividade elétrica dos tecidos, aumento da atividade enzimática das células, promoção da oscilação dos tecidos, do movimento dos fluídos e da circulação nos vasos sanguíneos expostos a ondas estáveis (FUIRINI & LONGO, 1996). Os efeitos atérmicos terapêuticamente estariam relacionados com a regeneração tissular e reparação dos tecidos moles, síntese de proteína, estimulação do calo ósseo, aumento da circulação tissular, diminuição de espasmos, normalização do tônus muscular, ativação do ciclo do cálcio, estimulação das fibras nervos aferentes (FUIRINI & LONGO, 1996).

Com relação aos efeitos térmicos, estes aumentam a taxa metabólica dos tecidos, promovem mudanças vasculares concomitantes, aumentam a extensibilidade do colágeno, aumentam as propriedades viscoelásticas dos tecidos conjuntivos, diminuem a sensibilidade dos elementos neurais, diminuem os espasmos musculares e aumentam a taxa de atividade enzimática (FURINI & LONGO, 1996). Biologicamente os efeitos térmicos favoreceriam o aumento da mobilidade da articulação, o aumento de circulação sanguínea, efeito sobre os nervos periféricos, aumento da extensibilidade em tecidos ricos em colágeno, redução de espasmos musculares, alívio da dor, resolução de processos inflamatórios crônicos (FURINI & LONGO, 1996).

Dentre as substâncias naturais mais amplamente utilizadas para cicatrização de feridas cutâneas, destaca-se o confrei (*Symphytum officinale L.*), que é uma planta nativa da Europa e da Ásia, embora, hoje, seja comum em todas as partes do mundo, inclusive no Brasil (CARRICONDE, 1997; BARROSO *et al.*, 2002; SÍRIO, 2005). Possuem em sua composição química os alcaloides pirrolizidínicos, além da alantoina, taninos e esteroides (BARROSO *et al.*, 2002; SÍRIO, 2005; SOUZA, 1991; ALONSO, 1998; ROBINS, 1995).

Décadas atrás, o confrei era utilizado na medicina popular para uso interno, pois que se acreditava que o seu extrato funcionalmente tinha diversas propriedades terapêuticas, mas com os relatos de intoxicação, o Ministério da Saúde proibiu em 1992 a sua utilização através do uso interno, permitindo somente a comercialização de formulações dermatológicas (BRASIL, 2003; EUROPEAN, 1999a).

As raízes e folhas do confrei supostamente apresentam ação cicatrizante, anti-inflamatória, antirreumática, antiulcerogênica, antisséptica, bactericida, fungicida, antipruriginosa e emoliente (CARRICONDE, 1997; TIAGO, 1995). Porém tem sido destacada sua ação no reparo tecidual pós-lesão, por meio do mecanismo farmacológico da alantoina em promover a proliferação e a regeneração tecidual (STICKEL & SEITZ, 2000). Dentre a composição química do confrei, foi observado que o ácido rosemarínico também se destaca pela sua atividade anti-hemorrágica, anti-inflamatória e analgésica (STICKEL & SEITZ, 2000).

O sumo das folhas é empregado em compressas e unguentos para cicatrização de feridas, tratamento de fraturas, entorses, contusões e hematomas (SIMÕES, 2004). A literatura tem demonstrado a ausência de reações adversas à sua aplicação tópica (SOUZA, 1991; YEONG, WAKEFIELD & FORD, 1993; COUET, CREWS & HANLEY, 1996; ALONSO, 1998; MATOS, 2000).

2. Metodologia

2.1. Protocolo experimental

Foram utilizados 24 ratos fêmeas da linhagem *Wistar* divididos em 6 grupos (n=4) de origem do biotério do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), tendo livre acesso a água e comida com 12 horas de ciclo claro escuro.

Tabela 1: Tratamentos a que os animais foram submetidos.

| GRUPO | TRATAMENTO |
|-----------|--|
| Grupo (1) | Gel de confrei a 20% |
| Grupo (2) | Ultrassom associado com o gel de confrei a 20% (técnica de fonoforese) |
| Grupo (3) | Gel de confrei a 10% |
| Grupo (4) | Controle (sem tratamento) |
| Grupo (5) | Ultrassom associado com o gel de confrei a 10% (técnica de fonoforese) |
| Grupo (6) | Ultrassom |

Os animais foram anestesiados com mistura de Ketamina (160mg/Kg) e Cloridrato de Xilazina (32mg/Kg), (20mg e 4mg, respectivamente; 0,15mL/100g peso corpóreo, i.p.) para a incisão cirúrgica. As feridas cutâneas foram realizadas no dorso do animal, e 24 horas depois, foram mensuradas com uma régua no sentido crânio-caudal e lateral. A partir do 3.º dia, tratamento com o U.S. (tempo de 6 minutos, frequência de 1MHz, modo pulsado 1/5 (20%), intensidade de 0,5w/cm²), através da técnica de fonoforese e a aplicação tópica do gel de confrei, diariamente por 15 dias. As lesões foram mensuradas diariamente e as medidas de suas áreas obtidas utilizando a fórmula:

$$(S= \pi . a.b)$$

Após o término do experimento (18.º dia), retalhos teciduais foram retirados da lesão para a preparação de cortes histológicos para análises morfológicas, utilizando-se a coloração de Tricrômico de Masson.

Os dados obtidos nas avaliações das lesões foram submetidos ao teste ANOVA (*One Way*). Em caso de ocorrência de diferença estatisticamente significativa do tratamento *versus* tempo, análises de variância de uma via, seguidas pelo teste de *post hoc* de Duncan, foram realizadas para cada dia estudado.

2.2. Formulação do gel

Para a formulação do gel, foi preparada a tintura das folhas do confrei através do Extrator de Soxhlet. A tintura obtida foi submetida aos testes físico-químicos de titulação potenciométrica para avaliação o teor de alantoína, além do teor de etanol por picnometria e pH pelo Phmêtro.

A tintura foi incorporada ao gel de Carpolol 940 nas concentrações de 10 e 20%. A viscosidade e pH do gel foi medida pelo Viscosímetro e Phmêtro respectivamente.

3. Resultados

Com o objetivo de se avaliar o efeito da técnica fonoforese utilizando o confrei a 10% e 20% associado com ultrassom no processo cicatricial no decorrer de dezoito dias de tratamento, a figura 1 ilustra o efeito dos dezoito dias de tratamento nas diferentes concentra-

ções do confrei. A análise de variância de uma via (*One Way* ANOVA) demonstrou haver efeito estatisticamente significativo do tratamento [fator tratamento: $F(5,18)=9,06$; $p<0,0001$], bem como efeito do tempo [fator tempo: $F(2,85)= 399,55$; $p< 0,0001$], e interação entre o tratamento e o tempo [fator interação: $F(2,17)= 6382,43$; $p< 0,0001$]. A ANOVA mostrou efeito estatisticamente significativo do tratamento farmacológico associado com U.S. do terceiro ao décimo oitavo dia de tratamento no período pós-lesão [$F(5,18)$ variando de 2,2667 a 10,3739; $p< 0,05$]. O teste *post hoc* de Duncan ($p\leq 0,05$) mostrou uma diferença estatisticamente significativa pelo tratamento com confrei 10% associado com U.S. registrada no intervalo entre o quarto e o décimo dia, décimo terceiro ao décimo oitavo dia após a lesão (Duncan; $p<0,05$), quando comparado com o grupo controle. Esses dados são corroborados pelos efeitos obtidos pelo tratamento de confrei a 10% e U.S., que induziu uma evolução no processo cicatricial proporcionando uma diferença estatisticamente significativa (Duncan; $p<0,05$ em todos os casos), enquanto que no grupo tratado com confrei a 20% houve diferenças estatísticas somente no terceiro, quarto e décimo primeiro dia, quando comparados com o grupo controle. O teste *post hoc* também mostrou a ocorrência de diferença estatística entre as duas concentrações de confrei, nos períodos de cinco ao décimo quinto dia de tratamento ($p<0,05$ em todos os casos).

A evidência do envolvimento do U.S. no processo cicatricial é sustentada pela administração do U.S. mais a base do gel como meio acoplador. O teste *post hoc* de Duncan ($p\leq 0,05$) mostrou que o grupo de animais tratados com U.S. mais a base apresentou uma aceleração no processo cicatricial, mostrando uma diferença estatisticamente significativa da média da área da lesão a partir do terceiro dia, estendendo-se até o décimo oitavo dia de tratamento após a lesão quando comparado com o grupo controle. A análise *post hoc* mostrou, ainda, a ocorrência de diferença estatisticamente significativa entre os efeitos da área da lesão do grupo tratado com US mais a base e os grupos tratados com confrei a 10% e 20% entre os dias nove, dez, quinze, dezessete e dezoito, e somente no sexto dia após a lesão respectivamente (Duncan; $p>0,05$ em todos os casos).

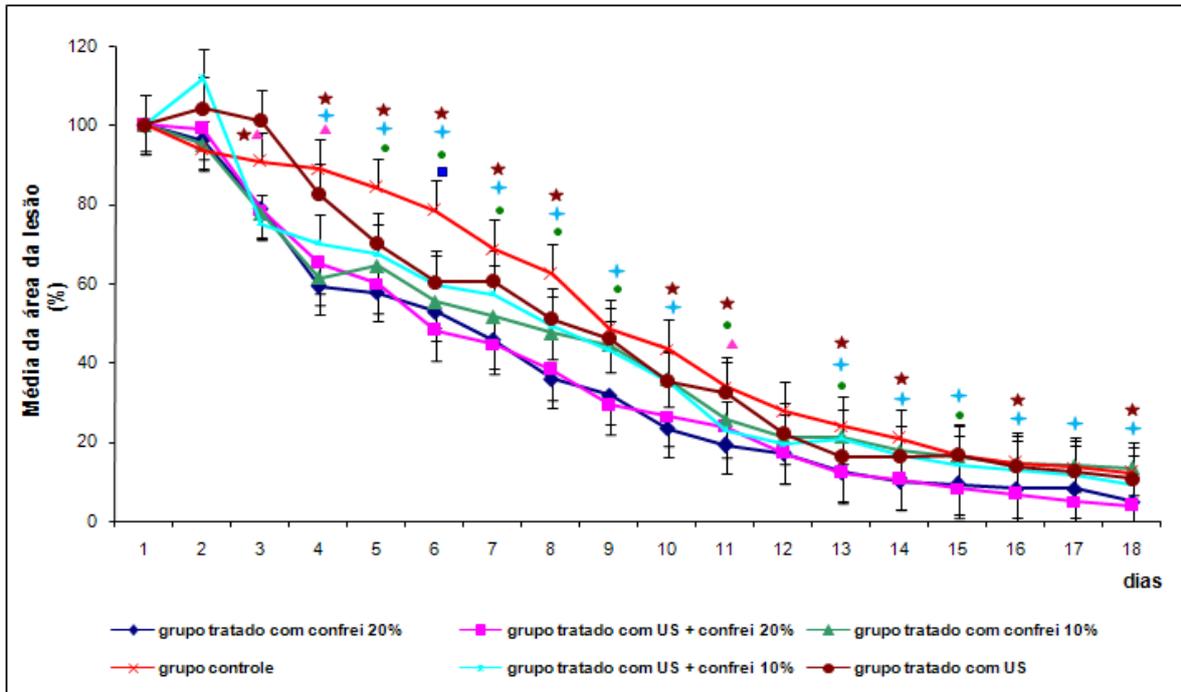


Figura 1 : Efeito do tratamento com U.S. associado com gel de confrei a 10% e 20%, com o gel de confrei a 10% e 20%, U.S. e do grupo controle, na regeneração da lesão cirúrgica no dorso de ratos *Wistar* no período de 18 dias. As curvas são apresentadas como média e as barras como EPM, N=4; (■) P<0,05 quando comparado com o grupo tratado com o gel de confrei a 20%; (▲) P<0,05 quando comparado com o grupo tratado com U.S. associado ao gel de confrei a 20%; (●) P<0,05 quando comparado com o grupo tratado com o gel de confrei a 10%; (✦) P<0,05 quando comparado com o grupo tratado com o U.S. associado ao gel de confrei a 10%; (★) P<0,05 quando comparado com o grupo tratado com o U.S. Diferenças estatísticas dos grupos tratados em relação ao grupo controle de acordo com resultado do teste de *post hoc* de Duncan.

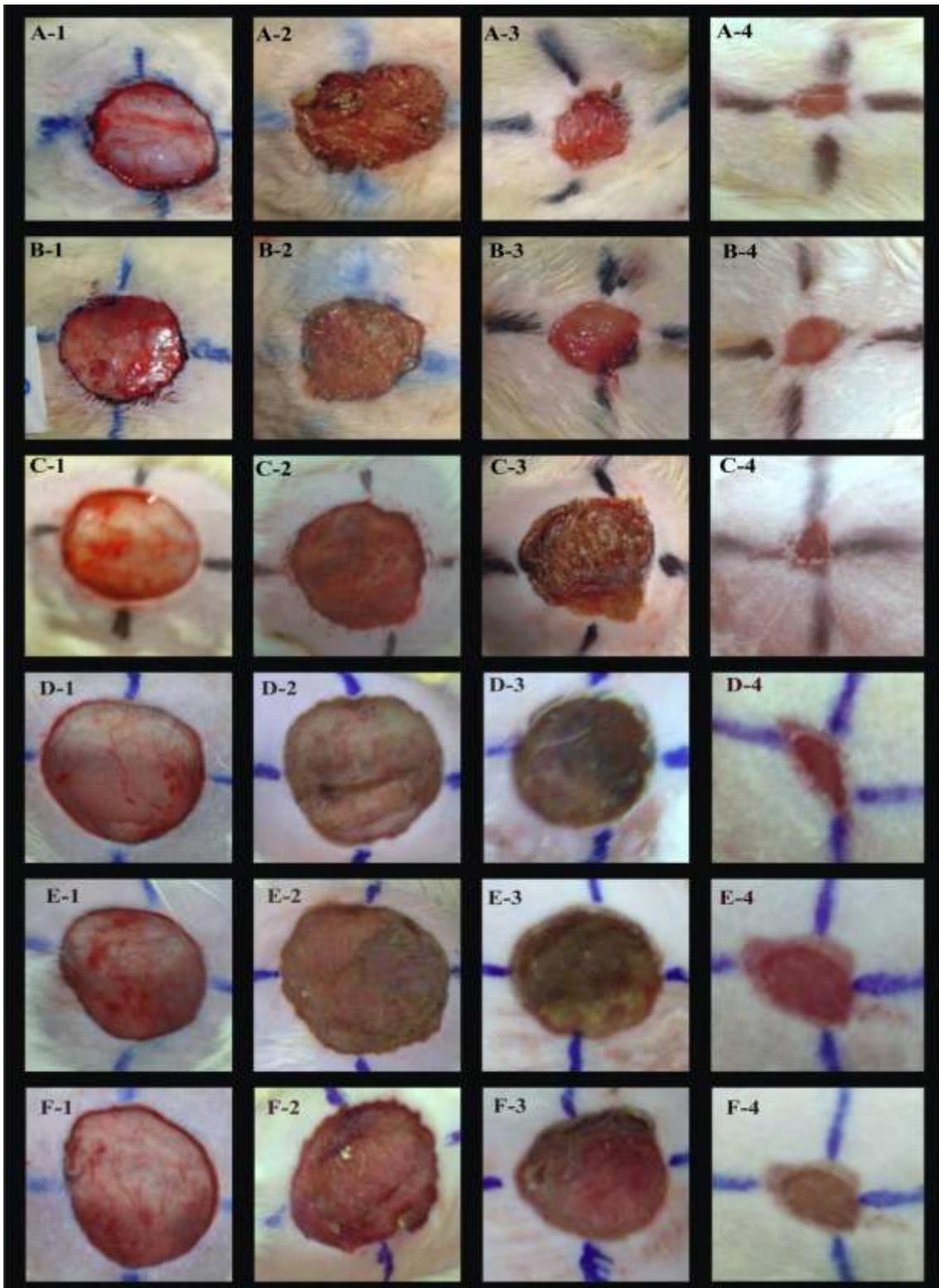


Figura 2: Fotografias da área da lesão. Animais tratados com o U.S. associado ao gel de confeiri a 20% (A-1, A-2, A-3, A-4); animais tratados com o gel confeiri a 20% (B-1, B-2, B-3, B-4); animais do grupo controle (C-1, C-2, C-3, C-4); animais tratados com o gel de confeiri a 10% (D-1, D-2, D-3, D-4); animais tratados com o U.S. associado ao gel de confeiri a 10% (E-1, E-2, E-3, E-4); animais tratados com o U.S. (F-1, F-2, F-3, F-4). Incisão cirúrgica para remoção do tecido epitelial - 1^a dia (A-1, B-1, C-1, D-1, E-1, F-1); início do tratamento com o U.S. e gel de confeiri - 3^o dia (A-2, B-2, C-2, D-2, E-2, F-2); área da lesão no 9^o dia de tratamento (A-3, B-3, C-3; D-3, E-3, F-3); lesão dos animais do grupo controle destacando-se ainda a presença de trombo fibrinoso (C-3); área da lesão no 18^o dia (A-4, B-4, C-4, D-4, E-4, F-4).

Sabendo-se que a viscosidade do gel de acoplamento interfere na quantidade de ondas acústicas que penetram no local de aplicação, e na condutibilidade dos princípios ativos incorporados ao gel, foram realizadas análises para avaliar parâmetros físico-químicos do gel e da tintura de confrei descritos na tabela 2 e figura 3.

Tabela 2: Análises físico-químicas da tintura e do gel de confrei.

| | pH | Concentração de Alantoína | Viscosidade |
|----------------|------|---------------------------|-------------|
| Tintura | 8,11 | 6,32mg/mL | - |
| Gel de Confrei | 5,59 | - | 8538,6 cP |

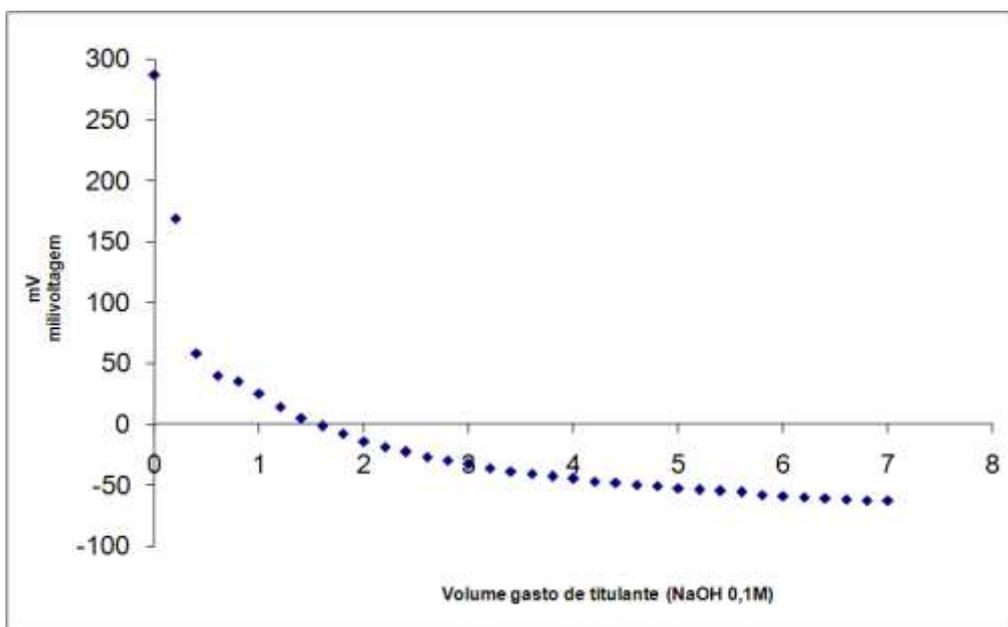


Figura 3: Determinação do teor de alantoína na tintura de confrei por titulação potenciométrica.

4. Discussões

A fitoterapia é uma fonte promissora de princípios farmacologicamente ativos para o tratamento de doenças (MANTLE, 2001). Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) estimam que aproximadamente 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam plantas medicinais para o atendimento primário a saúde, especialmente a medicina tradicional, da qual a maior parte envolve o uso de extratos vegetais ou seus princípios ativos (MARTINS *et al.*, 1994). No caso do *Symphytum officinale L.*, conhecido como confrei, este

possui como princípios ativos os taninos, com propriedades adstringentes. Os taninos são fenóis solúveis em água, que formam complexos com proteínas e polissacarídeos. Esses complexos formam camadas protetoras acima da pele ou mucosas danificadas, permitindo que abaixo ocorra o processo natural do reparo (HASLAM, 1996).

No presente trabalho foi observado que o confrei a 10% apresentou uma melhora no processo cicatricial, o que confirma a consideração de Oliveira (2001) que recomenda o uso tópico da planta como cicatrizante em feridas e processos ulcerativos.

Os nossos resultados corroboram com a literatura, mostrando que o tratamento crônico com o gel de confrei a 10% mostrou uma melhora no processo cicatricial, apresentando uma diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. É importante ressaltar que essa diferença perdurou do quinto ao décimo quinto dia de tratamento.

Outra técnica citada pela literatura para o tratamento de feridas agudas ou crônicas para aumentar o processo reparativo é a utilização do ultrassom de baixa intensidade (KITCHEN & PARTRIDGE, 1990). Byl *et al.* (1992) estudaram a aceleração do reparo tecidual em modelos animais com feridas cirúrgicas e foi demonstrado que o ultrassom de baixa intensidade promoveu o aumento da força tênsil, de depósito de colágeno, a redução do tamanho de ferida e a degranulação de mastócitos. Dyson e Luke (1986) consideram que a degranulação dos mastócitos pelo ultrassom induzem a inflamação, permitindo uma resposta fisiológica necessária para acelerar a cicatrização da ferida.

O ultrassom terapêutico, principalmente em frequência mais baixa (1MHz), é mais efetivo para induzir o efeito cavitacional, o qual aumenta a permeabilidade de drogas através do estrato dérmico, além de ter que controlar a intensidade, a frequência, o modo, assim como o aquecimento ultrassônico na pele, o qual é influenciado pelo movimento do transdutor, pelo local anatômico, pela quantidade e pelo veículo/meio de acoplamento (MEIDAN, WALMSLEY & IRWIN 1995; MITRAGOTRI, 2001). Portanto, neste trabalho usamos o ultrassom de baixa intensidade (1MHz, intensidade de 0,5 W/cm², pulsado, por 6 minutos, diariamente) e o seu efeito fonorético associado com o *Symphytum officinale L.*, na reparação tecidual em lesões induzidas cirurgicamente na região dorsal dos ratos. O gel de confrei foi utilizado como meio acoplador escolhido por permitir um melhor acoplamento da luva contendo água destilada e, conseqüentemente do transdutor, na pele do rato, e por apresentar também homogeneidade e viscosidade necessárias, facilitando a aplicação. De acordo com Mitragotri (2001), o U.S. (1MHz) aumenta o transporte transdermal de drogas através do efeito do coeficiente de difusão em até 15 vezes, assim como proteínas de alto peso molecular (JOSHI & JAIDEEP, 2000). Portanto a permeabilidade do tecido pelo ultrassom de baixa intensidade possibilitaria a penetração dos princípios ativos do *Symphytum officinale L.*, taninos de alto peso molecular, no tecido lesado e conseqüentemente o aumento do processo de reparação.

O presente estudo mostrou uma melhora tecidual significativa no processo cicatricial do grupo tratado com a técnica de fonoforese a 10% em relação ao grupo controle. Essa

diferença também foi observada entre os grupos tratados somente com o confrei a 10% e pelo U.S com o gel base.

Morfologicamente houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à contratatura da ferida, que está intimamente relacionada com a melhora na parte histológica, devido à influência das ondas acústicas do ultrassom terapêutico na produção de fibras colágenas, como já descrito na literatura.

As alterações histofisiológicas ocorridas na ferida se devem aos fatores ativos farmacologicamente presentes na formulação, principalmente pela alantoína extraída das folhas do confrei (CARRICONDE, 1997; TIAGO, 1995; STICKEL & SEITZ, 2000) e pelos fatores biofísicos, provenientes das alterações da permeabilidade das membranas celulares, aumentando a difusão celular e a síntese de colágeno pelos mecanismos físicos e químicos promovidos pelo U.S. (FUIRINI & LONGO, 1996), resultados estes que foram visualizados pelas análises histológicas dos cortes preparados do retalho tecidual retirados na área da lesão no 18.º dia. Microscopicamente foi evidenciado angiogênese e considerável número de células mononucleares supostamente da linhagem macrófítica e linfocítica. Os macrófagos são as principais células da fase inflamatória, fisiologicamente permanece na lesão do terceiro ao décimo dia secretando proteases, fatores de crescimento e substâncias vasoativas que atuam no processo de desbridamento celular e controlando as fases subsequentes do processo cicatricial (DIEGELMANN, COHEN & KAPLAN 1981; MANDELBAUM, SANTIS & MANDELBAUM, 2003) Os linfócitos aparecem uma semana após a lesão (MANDELBAUM, 2003). O mecanismo pelo qual atua na cicatrização é desconhecido, porém as suas linfocinas exercem influência sobre os macrófagos (MANDELBAUM, SANTIS & MANDELBAUM, 2003). Os macrófagos e os mediadores químicos estimulam a migração de fibroblastos e ativam também os fibroblastos iminentes presentes na lesão. Quando os fibroblastos estabelecem-se na área lesionada, sofrem o amadurecimento fenotípico, se transformados em miofibroblastos (BALBINO, 2005; GABBIANI, RAYAN & MAJNO, 1971). Estas células se tornam produtoras de colágeno que constitui a matriz extracelular, que é extremamente importante na formação do tecido de granulação (MANDELBAUM, SANTIS & MANDELBAUM, 2003). Os miofibroblastos encontram-se ao redor da nova matriz extracelular, fazendo uniões célula a célula e gerando força de tensão que auxiliam a contração da ferida (BALBINO, PEREIRA & CURI, 2005).

Supomos também que o retardo no processo cicatricial do grupo-controle, quando comparado aos grupos tratados com o confrei a 10% mais U.S. e com confrei a 10%, estaria relacionado à presença do trombo fibrinoso na ferida dos animais do grupo sem tratamento a partir do terceiro até o décimo dia, o que provavelmente pode ter interferido na formação do tecido de granulação e na reepitelização da lesão dos animais. Mas já no 11.º dia iniciou-se o desbridamento celular, provavelmente pela estimulação de macrófagos e produção de colágeno (fibroplasia), acelerando o processo de cicatrização na fase final diminuindo as diferenças estatísticas em relação à área da lesão (MANDELBAUM, SANTIS & MANDELBAUM,

2003; KNIGHTON, SILVER & HUNT, 1981; WAGNER *et al.*, 1996), porém não se sabe ao certo o que pode ter ocorrido para esta rápida reparação tecidual.

5. Conclusão

Conclui-se, com o presente trabalho, que os efeitos biofísicos do ultrassom terapêutico podem favorecer a permeabilidade de fármacos para estruturas teciduais profundas como já descrito na literatura, sendo bem visualizado, quando comparamos o grupo controle ao grupo tratado pela técnica de fonoforese, que permitiu uma melhora na resposta fisiológica necessária ao processo cicatricial, devido às ondas acústicas produzidas pelo ultrassom concomitantemente com aplicação tópica dos ativos farmacológicos presente no confrei. Ressalta-se que a maior concentração do confrei (20%) incorporada ao gel de acoplamento não propiciou uma resposta cicatricial como a que foi evidenciada com o gel de confrei na concentração de 10%, provavelmente pela interação farmacodinâmica dos transportadores celulares com as substâncias farmacológicas do confrei. Essa interação poderia ter provocado saturação dos transportadores das membranas celulares devido à maior concentração dos ativos no gel de confrei a 20%, diminuindo a difusão intracelular e consequentemente reduzindo a sua atividade farmacológica.

Referências

ALONSO, J. R. *Tratado de fitomedicina: bases clínicas e farmacológicas*. Buenos Aires: ISIS, 1998.

ARIZA, D.; BERTOLINI, G. R. F. *O uso do ultrassom terapêutico pulsado em placas epifisárias de coelhos*. 2003.
Disponível em: <<http://www.unioeste.br/projetos/elrf/monografias/2003/mono/21.pdf>>. Acesso em: 02 mar. 2007.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 1, jan./mar., 2005.

BARROSO, I. C. E. et al. O gênero *Cordia L.*: botânica, química e farmacologia. *Revista Lecta*, Bragança Paulista, v. 20, n. 1, p.15-34, 2002.

BASSOLI, D. A. *Avaliação dos efeitos do ultrassom pulsado de baixa intensidade na regeneração de músculos esqueléticos com vistas à aplicabilidade em clínica fisioterapêutica*. 2001. 93 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos /Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Paulo, 2001.

BENSON, H. A. E.; McELNAY, J. C. Transmissão de energia ultra-sônica através de produtos farmacêuticos tópicos. *Physiotherapy*, v. 74, n. 11, p.587:588, 1988.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública n.º 94, de 6.11.2003. *Diário Oficial da União*, 07.11.2003.
Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 13 abr. 2007.

- BYL, N. N. *et al.* Low-dose ultrasound effects on wound healing: A controlled study with Yucan pigs. *Arch Phys Med Rehabil*, v. 73, p.656-664, 1992.
- CARRICONDE, C. Confrei. *Symphytum officinale L. De volta às raízes*, v. 12, n. 63, p.1-3, 6-8, 1997.
- COUET, C. E.; CREWS, C.; HANLEY, A. B. Analysis, separation, and bioassay of Pyrrolizidine Alkaloids from Comfrey (*Symphytum officinale*). *Natural Toxins*. [SI], v. 4, p.163-167, 1996. Disponível em: <<http://www.rain-tree.com>>. Acesso em: 26 abr. 2007.
- DEYNE, P. G.; KIRSCH-VOLDER, M. In vitro effects therapeutic ultrasound on the nucleus of human fibroblasts. *Physical Therapy*, v. 75, n. 7, p. 629-634, jul. 1995.
- DIEGELMANN, R. F.; COHEN, I. K.; KAPLAN, A. M. The role of macrophages in wound repair: a review. *Plast Reconstr Surg*, v. 68, p. 107, 1981;
- DIONÍSIO, V. C.; VOLPON, J. B. Ação do ultrassom terapêutico sobre a vascularização pós-lesão muscular experimental em coelhos. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, v. 4, n.1, p. 19-25, 1999.
- DYSON, M.; LUKE, D. A. Induction of Mast Cell Degranulation in Skin by Ultrasound. *Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, IEEE Transactions on*, v. 33, p.194-201, mar. 1986.
- EUROPEAN, Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA). *Draft Points to Consider on the Evidence of Safety and Efficacy Required for Well established Herbal Medicinal Products in Bibliographic Applications*. London: EMA, 1999a. EMA/HMPWG/32/99draft. Disponível em: <<http://www.eudra.org>>. Acesso em: 16 mar. 2007.
- EUROPEAN, Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA). *Draft Comments on the Document Good Agricultural Practice from the European Herbs Growers and producers Association (Europam) of 5 August 1998*. London: EMA, 1999b. EMA/HMPWG/18/99draft. Disponível em: <<http://www.eudra.org>>. Acesso em: 16 mar. 2007
- FUIRINI, J. R. N.; LONGO, G.J. *Ultrassom*. Amparo: KLD – Biosistemas equipamentos eletrônicos Ltda, 1996.
- GABBIANI, G.; RAYAN, G. B.; MAJNO, G. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and possible role in wound contraction. *Experienta*. v. 27, n. 5, p.549-550, 1971).
- HARR, G.T. Therapeutic ultrasound. *European Journal of Ultrasound*, v. 9, p.3-9, 1999.
- HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. *J. Nat. Prod.* v. 59, p.205-215, 1996.
- JOSHI, A.; JAIDEEP, R. Sonicated transdermal drug transport. *Journal of Controlled Release*, v. 83, p.13-22, 2000.
- KNIGHTON, D. R.; SILVER, I.; HUNT, T. K. Regulation of wound-healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. *Surgery*, v. 90, p.262-270, 1981.
- KITCHEN, S. S.; PARTRIDGE, C. J. A review of therapeutic ultrasound: II. The efficacy of ultrasound. *Physiotherapy*, v. 76, p.595,1990.
- KOEKE, P. U. *Estudo comparativo da eficácia da fonoforese, do Ultrassom Terapêutico e da aplicação tópica de hidrocortisona no tratamento do tendão de rato em processo de*

reparo tecidual. 2003. 164 f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades Bioengenharia – Escola de Engenharia de São Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

LOWE, A. S. et al. Therapeutic ultrasound and wound closure: lack of healing effect on x-ray irradiated wounds in murine skin. *Arch. Phys. Med. Rehabil*, v. 82, p.1507-1511, nov. 2001.

MANDELBAUM, S. H.; SANTIS, E. P. D.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos e recursos auxiliares – Parte I*. *An. bras. Dermatol.* Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p.393-410. jul./ago. 2003. Disponível em: <<<http://www.scielo.br>>>. Acesso em: 08 set. 2007.

MANTLE, D.; GOK, M. A.; LENNARD, T. W. Adverse and beneficial effects of plant extracts on skin and skin disorders. *Rev. Adverse Drug React Toxicol*, v. 20, n. 2, p. 89-103, jun. 2001.

MARKS, R.; GHANAGARAJA, S.; GHASSEMI, M. Ultrasound for osteo-arthritis of the knee. *Physiotherapy*, v. 86, n. 9, p. 454-463, sept. 2000.

MARTINS, E. R. et al. *Plantas medicinais*. Viçosa: UFV, 1994.

MATOS, F. J. A. *Plantas Medicinais: guia para seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil*. 2. ed. Fortaleza: EUFC, 2000.

MEIDAN, V. M.; WALMSLEY, A.; IRWIN, W. J. Phonophoresis – is it a reality? *International Journal of Pharmaceutics*, v. 118, p.129-149, 1995.

MITRAGOTRI, S. Effect of therapeutic ultrasound on partition and diffusion coefficients in human stratum corneum. *Journal Controlled Release*, v. 71, p.23-29, 2001.

OLIVEIRA, S. T. et al. Formulações de confrei (*Symphytum officinale L.*) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. *Revista FZVA*, v. 7/8, n. 1, p.65-74, Uruguaiana, 2000/2001.

PEREIRA, L. S. M. et al. Os efeitos do ultrassom na hiperalgesia e no edema de ratos artríticos. *Revista de Fisioterapia da Universidade de São Paulo*, v. 5, n. 2, p. 83-96, jul./dez. 1998.

ROBINS, D. J. Pyrrolizidine alkaloids. *Nat. Prod. Rep.*, v. 11, p.413-418, 1995.

ROEBROECK, M. E.; DEKKER, J.; OOSTENDORP, R. A. B. The use of therapeutic ultrasound by physical therapists in Dutch primary health care. *Physical Therapy*, v. 78, n. 5, p. 470-478, may. 1998.

SIMÕES, C. M. O., et al, *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: UFSC, 2004.

SÍRIO, O. J. “Verificação da potencialização do efeito cicatrizante do muco de caracóis do gênero *Achatina* promovida por dieta à base de confrei”. 2002. 87f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

SOUZA, M. P., et al. *Constituintes Químicos Ativos de Plantas Medicinais Brasileiras*. Fortaleza: EUFC. Laboratório de Produtos Naturais, 1991.

STARKEY, C. *Recursos Terapêuticos em Fisioterapia*. 2. ed. São Paulo: Manole, 2001.

STICKEL, F.; SEITZ, H. K. The efficacy and safety of comfrey. *Public health nutrition*, v.13, n.4A. p. 501-508, 2000

TIAGO, F. *Feridas*. Etiologia e tratamento. 2. ed. Ribeirão Preto: FAEPA, 1995. 161p.

WAGNER, C. L. et al. Analysis of GP IIb/IIIa receptor number by quantification of 7E3 binding to human platelets. *Blood*, v. 88, p. 907-914, 1996.

WARDEN, S. J; McMEEKEN, J. M. Ultrasound usage and dosage in sports physiotherapy. *Ultrasound in Medicine & Biology*, v. 28, n. 8, p.1075-1080, 2002.

YEONG, M. L.; WAKEFIELD, S. J.; FORD, H. C. Hepatocyte membrane injury and blood formation following low dose comfrey toxicity in rats. *Ind. J. Exp. Pathol*, v. 74, p.211-217, 1993.

YOUNG, S.R.; DYSON, M. The Effect of Therapeutic Ultrasound on Angiogenesis. *Ultrasound in Med. & Biol*, v. 16, n. 3, p.261-269, 1999a.

_____. Macrophage Responsiveness to Therapeutic Ultrasound. *Ultrasound in Med. & Biol*, v. 16, n.8, p.809-816, 1999b.