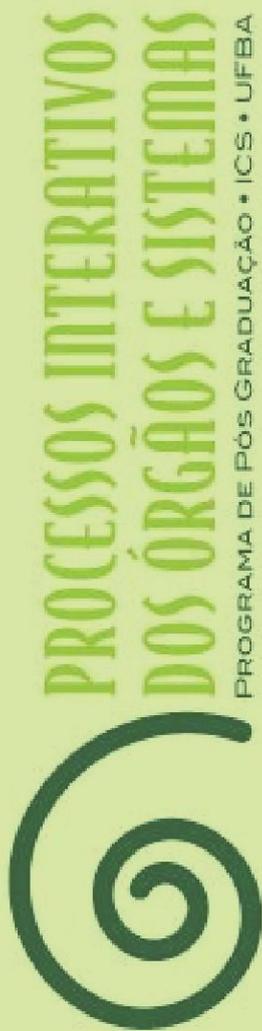


UFBA

Universidade Federal da Bahia
Instituto de Ciências da Saúde



JULIANA BORGES DE LIMA DANTAS

ANÁLISE CLÍNICA E HISTOLÓGICA DO USO DA
MATRICARIA RECUTITA E DA TERAPIA FOTODINÂMICA
NO REPARO TECIDUAL EM DORSO DE LÍNGUA DE RATOS

Salvador
2022



**PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO • ICS • UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS
INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**

JULIANA BORGES DE LIMA DANTAS

**ANÁLISE CLÍNICA E HISTOLÓGICA DO USO DA *MATRICARIA
RECUTITA* E DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO REPARO
TECIDUAL EM DORSO DE LÍNGUA DE RATOS**

Salvador
2022

JULIANA BORGES DE LIMA DANTAS

**ANÁLISE CLÍNICA E HISTOLÓGICA DO USO DA *MATRICARIA
RECUTITA* E DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO REPARO
TECIDUAL EM DORSO DE LÍNGUA DE RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Gabriela Botelho Martins

Salvador
2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

D192 Dantas, Juliana Borges de Lima

Análise clínica e histológica do uso da *Matricaria Recutita* e da terapia
fotodinâmica no reparo tecidual em dorso de língua de ratos/Juliana Borges
de Lima Dantas. – Salvador, 2022.

139 f.: il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Gabriela Botelho Martins.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de
Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos
dos Órgãos e Sistemas, 2022.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Instituto de Ciências da Saúde



PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS



TERMO DE APROVAÇÃO DA DEFESA PÚBLICA DE TESE

JULIANA BORGES DE LIMA DANTAS

**ANÁLISE CLÍNICA E HISTOLÓGICA DO USO DA MATRICARIA RECUTITA E DA
TERAPIA FOTODINÂMICA NO REPARO TECIDUAL EM DORSO DE LÍNGUA DE
RATOS**

Salvador, Bahia, 16 de dezembro de 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Desaigned by

Gabriela Botelho Martins Oliveira Souza

PROFA. DRA. GABRIELA BOTELHO MARTINS OLIVEIRA SOUZA (Examinadora Interna)

Desaigned by

Alena Ribeiro Alves Peixoto Medrado

PROFA. DRA. ALENA RIBEIRO ALVES PEIXOTO MEDRADO (Examinadora Interna)

Desaigned by

Silvia Regina de Almeida Reis

PROFA. DRA. SILVIA REGINA DE ALMEIDA REIS (Examinadora Interna)

Desaigned by

Fernanda Gonçalves Salum

PROFA. DRA. FERNANDA GONÇALVES SALUM (Examinadora Externa)

Desaigned by

Mfalção

PROFA. DRA. MICHELLE MIRANDA LOPES FALCÃO (Examinadora Externa)

A quem ressignificou minha vida: Alice.

AGRADECIMENTOS

Gratidão a DEUS e a todos os espíritos de luz que me acompanham. Minha jornada, sem fé e gratidão, seria completamente diferente.

Agradeço a família maravilhosa que me foi concedida: a meus pais, Azilneide e Abimael, pelos esforços despendidos na minha educação. Com eles aprendi que a educação é a base de tudo, é nosso bem mais valioso.

A meu irmão Felipe que, com sua discreta e notável presença, me transmite segurança e a certeza de que temos um ao outro.

A meu parceiro de vida, Diogo – aquele que sempre segura a minha mão e me motiva diariamente a ser um ser humano melhor. Obrigada pela paciência e compreensão.

Alice, minha pequena, você alegra meus dias e transforma meu cansaço em amor. Obrigada por me conceder a oportunidade de vivenciar o melhor e maior experimento de minha vida. Obrigada pela nossa linda família: eu, você, papai e Fredinho.

A meus familiares e familiares de Diogo, afilhadas e afilhado, obrigada pela convivência. Gratidão por ter a presença de pessoas tão importantes em minha vida como vocês.

Agradeço às amigas de longa jornada da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, do mestrado e da docência: cada uma me inspira de um jeito peculiar. Obrigada pelos momentos de aprendizado e conselhos. Obrigada por serem mulheres que inspiram.

A minha mãe científica, Prof.^a Alena Medrado, gratidão por plantar em mim a semente da docência e da pesquisa, além de ter colocado pessoas maravilhosas em meu caminho, inclusive minha atual orientadora, Prof.^a Gabriela Martins, que é minha inspiração da Estomatologia e da docência, aquela que sempre está disponível e com um sorriso estampado no rosto, e conseguiu que meu doutorado fosse mais leve. Minha eterna gratidão a vocês!

Já que inspiração também merece agradecimento, não posso deixar de mencionar pessoas que me inspiram no conhecimento e na docência: Prof.^a Manoela Carrera, Prof.^a Hayana Ramos, Prof.^a Sílvia Reis, Prof.^a Viviane Maia, Prof.^a Elisângela Campos, Prof. Roberto Paulo Correia de Araújo e Prof. Urbino Tunes. Em algum momento de minha vida, vocês me marcaram, obrigada.

Desejo agradecer, pela convivência e aprendizado, ao *Team Gabi*. Vocês também fizeram de minha jornada um período mais leve. Durante esses quatro anos, não posso deixar de destacar pessoas especiais que me ajudaram não só com experimentos, mas que considero verdadeiras amigas: Tila Fortuna, Ana Carla Barletta, Hortência Dela Cella, Bruna Neri e Juliana Azevedo.

Agradeço aos que me ajudaram, de alguma forma, a chegar ao resultado final deste trabalho: Prof.^a Rejane Santana (ICS), Rafaela Oliveira e Natália Odilon (LBO-ICS), Beatriz Frota (ICS), Fábio Menezes (FADBA), Erielma Lomba (FADBA) e Vockton Freire.

Ao Núcleo de Estudos em Oncologia (NEO), obrigada pela melhor experiência profissional e humana de minha vida.

Ao Laboratório de Bioquímica Oral do ICS da UFBA e ao Laboratório de Histologia e Embriologia da FADBA, além do Laboratório de Neurociências do ICS da UFBA, obrigada por terem permitido que o experimento ocorresse. Sem essas estruturas, este trabalho não teria sido realizado.

Agradeço meu ingresso no Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas do ICS da UFBA e sou grata aos funcionários que pertencem ao quadro do Programa, em especial, Carlos e Tarcísio, sempre dispostos e solícitos.

À Faculdade Adventista da Bahia, minha primeira casa, e à Escola Bahiana de Medicina, minha eterna casa, pelo acolhimento como docente.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro-científico.

A meus alunos, em especial meus orientandos, bem como aos pacientes. Vocês me ensinam diariamente a ser uma melhor profissional e um melhor ser humano.

Dantas JBL. Análise clínica e histológica do uso da *Matricaria recutita* e da terapia fotodinâmica no reparo tecidual em dorso de língua de ratos [tese]. Processos Interativos de Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia: Salvador; 2022. 139p.

RESUMO

Introdução: O processo de reparo tecidual é importante no restabelecimento da função de órgãos e sistemas. Por isso, é importante investigar alternativas que contribuam para a modulação positiva desse processo. Nesse contexto, a *Matricaria recutita* (camomila) apresenta indicação de uso no reparo tecidual devido a suas propriedades anti-inflamatórias. Por sua vez, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) apresenta resultados contraditórios nesse processo. Ainda não há relatos documentados sobre os efeitos potencializados ou não resultantes da associação entre essas duas terapias. **Objetivo:** Avaliar a ação da camomila tópica no manejo da mucosite oral (MO) em pacientes oncológicos e analisar sua ação no reparo de úlcera em dorso de língua de ratos, de forma isolada ou associada à TFDa. **Material e métodos:** Foi realizada uma revisão sistemática da literatura, com busca de publicações do tipo ensaios clínicos randomizados nas plataformas *PubMed*, *Cochrane Library* e *Bireme*, de acordo com os parâmetros PRISMA, sob registro na PROSPERO. Foi feito ainda um estudo experimental com 75 ratos machos *Wistar* submetidos à ferida cirúrgica padronizada de 5 mm de diâmetro em dorso lingual. Os animais foram alocados nos grupos: controle, extrato fluido camomila (Ad-muc®), camomila infusão, TFDa, TFDa + camomila infusão. A eutanásia ocorreu no 3º, 7º e 14º dia após o procedimento cirúrgico. Análises clínica, histomorfológica e histomorfométrica foram realizadas em secções coradas por hematoxilina e eosina e sírius vermelho. **Resultados:** Um total de seis estudos foram incluídos na revisão sistemática. Os resultados demonstraram que a camomila tópica foi eficaz na prevenção e (ou) no tratamento da MO em quatro estudos, com concentrações que variaram de 1% a 2,5% e aplicação entre uma a quatro vezes por dia. No que diz respeito ao trabalho experimental, foi observado que o grupo extrato fluido camomila (Ad-muc®) demonstrou resultados superiores clínica ($p < 0,0001$) e histologicamente, na análise descritiva e na inferencial ($p < 0,05$). Os grupos que utilizaram a camomila infusão não exibiram diferenças significativas em relação ao grupo de controle na maior parte dos parâmetros avaliados, enquanto os grupos submetidos à TFDa não modificaram o reparo tecidual. **Conclusão:** A aplicação da camomila tópica em diferentes formas de apresentação no manejo da MO quimioinduzida parece ser bem indicada. Adicionalmente, o extrato fluido de camomila (Ad-muc®) evidenciou superioridade no que tange ao reparo tecidual em úlceras em dorso de língua de ratos. Recomenda-se a realização de novos estudos do tipo ensaio clínico com o objetivo de obter resultados que reafirmem esses achados e favoreçam o estabelecimento de protocolos efetivos.

Palavras-chave: Camomila. *Matricaria*. Terapia fotodinâmica. Azul de metileno. Mucosa bucal.

Dantas JBL. *Análise clínica e histológica do uso da Matricaria recutita e da terapia fotodinâmica no reparo tecidual em dorso de língua de ratos* [tese]. Processos Interativos de Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia: Salvador; 2022. 139p.

ABSTRACT

Introduction: The tissue repair process is important in restoring the function of organs and systems, so it is important to investigate alternatives that contribute to the positive modulation of this process. In this context, *Matricaria recutita* (chamomile) is indicated for tissue repair, due to its anti-inflammatory properties. In turn, antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) presents contradictory results in tissue repair. There are no documented reports on the potentiated or non-potentiated effects resulting from the association between these two therapies. **Objective:** Evaluate the effect of topical chamomile in the management of oral mucositis (OM) in cancer patients and to evaluate this same agent in the repair of an experimental ulcer made in the dorsum of the tongue in rats alone or associated with aPDT. **Material and methods:** It was a systematic review, which sought articles of the randomized clinical trial in the databases PubMed, Cochrane Library, and Bireme according to the PRISMA parameters, registered in the PROSPERO. Furthermore, an experimental study was carried out with 75 male *Wistar* rats were submitted to a 5 mm diameter surgical wound made on the dorsum of the tongue. The animals were allocated in the experimental groups: control, chamomile extract fluid (Ad-muc®), chamomile infusion, aPDT, aPDT + chamomile infusion. Euthanasia was scheduled for the 3rd, 7th and 14th day after the surgical procedure. Clinical, histomorphological and histomorphometric analyzes were performed on sections stained with hematoxylin and eosin and red sirius. **Results:** A total of six articles were included in the systematic review. The results showed that the application of topical chamomile was effective in the prevention and (or) treatment of OM in four of the six studies, with a dose ranging from 1% to 2.5% and duration that ranged from single to four times/day. Regarding the experimental study, when comparing the therapies chosen for ulcers' repair on the dorsum of the tongue, it was noted that the chamomile extract fluid (Ad-muc®) group showed superior clinical ($p<0.0001$) and histological results, whether in descriptive or inferential analysis ($p<0.05$). The groups that used chamomile under infusion did not show significant differences in relation to the control group in most of the parameters evaluated, while the groups that underwent aPDT did not modify tissue repair. **Conclusion:** The application of topical chamomile in the different forms of presentation in the management of chemoinduced OM seems to be well indicated. Additionally, the fluid extract of chamomile (Ad-muc®) showed superiority in tissue repair in oral ulcers in rats. It is recommended that new clinical trials be carried out in order to obtain results that reaffirm these findings and that favor the establishment of effective protocols.

Keywords: Chamomile. *Matricaria*. Photochemotherapy. Methylene blue. Mouth mucosa.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1		Mecanismo de ação da TFDa no reparo tecidual proposto por Nesi-Reis et al. ³² (2017).	37
Figura 1	Artigo 1 –	Fluxograma de identificação dos artigos selecionados (LBO, UFBA, 2021).	56
Figura 2	Artigo 1 –	Resumo dos métodos de revisão: avaliação dos revisores e autores em cada aspecto metodológico (apresentação da qualidade de cada item nos estudos incluídos, com base no Instrumento de Colaboração da <i>Cochrane</i> ⁹³) (LBO, UFBA, 2021).	62
Figura 1	Artigo 2 –	Fluxograma representativo de todas as etapas do estudo (LBO, UFBA, 2022).	73
Figura 2	Artigo 2 –	Análise morfológica dos grupos experimentais. Fotomicrografias de secções histológicas (HE) obtidas na objetiva de 10x dos centros das úlceras, que demonstram os graus de reepitelização dos grupos com três, sete e 14 dias. Nota-se que as secções de todos os grupos manifestaram ausência de reepitelização no 3º dia. No 7º dia, apenas o G2 exibiu reepitelização completa de todas as secções. Os demais grupos exibiram formação inicial de epitélio em bordas da ferida, conforme demonstra a secção do G5 abaixo (ponta da seta). Aos 14 dias, apesar de a cobertura epitelial completa ter sido observada em todos os grupos, o G4 e o G5 apresentaram secções com ausência de reepitelização. G2, G4 e G5 exibiram também diferenciação das papilas linguais (seta). a: artefato de técnica. n: necrose (LBO, UFBA, 2022).	84
Figura 3	Artigo 2 –	Análise morfológica dos grupos experimentais. Fotomicrografias de secções histológicas (HE) obtidas na objetiva de 40x das regiões das úlceras, que ilustram as características histomorfológicas nos grupos com três, sete e 14 dias. Nota-se que, no 3º dia, todos os grupos exibiram edema (e) e infiltrado inflamatório (asterisco vermelho).	85

LISTA DE QUADRO

Quadro 1	Artigo 1 –	Estratégia de busca com descritores selecionados (LBO, UFBA, 2021).	52
-----------------	-------------------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1		Descrição da estratégia PICO ⁹⁰ (LBO, UFBA, 2021).	39
Tabela 2		Randomização dos animais nos grupos experimentais (LBO, UFBA, 2022).	42
Tabela 1	Artigo 1 –	Características gerais dos estudos incluídos (LBO, UFBA, 2021).	59
Tabela 1	Artigo 2 –	Número de animais com úlcera/número total de animais no grupo (%), em cada grupo, no decorrer do tempo (LBO, UFBA, 2022).	78
Tabela 2	Artigo 2 –	Média (desvio padrão), mediana (mínimo e máximo) da medida em milímetros, inicial e final da úlcera, em função do grupo (LBO, UFBA, 2022).	80
Tabela 3	Artigo 2 –	Distribuição de frequências dos resultados das análises morfológicas em função do grupo e do tempo de sacrifício (LBO, UFBA, 2022).	83
Tabela 4	Artigo 2 –	Média (desvio padrão), mediana (mínimo e máximo) das medidas morfométricas lineares em função do grupo e do tempo (LBO, UFBA, 2022).	89
Tabela 5	Artigo 2 –	Média (desvio padrão), mediana (mínimo e máximo) da porcentagem de área de colágeno em função do grupo e do tempo (LBO, UFBA, 2022).	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARRIVE	Do inglês <i>Animal research: reporting in vivo experiments</i> , traduzido como Pesquisa em animais: relatório de experimentos <i>in vivo</i>
BA	Bahia
cc	Centímetro cúbico
cm ²	Centímetro quadrado
CCI	Coefficiente de correlação intraclasse
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
cGy	Centigray
COVID-19	Do inglês <i>Coronavirus disease 2019</i> , traduzido como doença por coronavírus 2019
COX-2	Ciclooxigenase-2
DCBCSE	Distância da camada basal à camada da superfície epitelial
DeCS	Descritores em ciências da saúde
D0	Dia zero
ECC	Espessura da camada córnea
EMA	Do inglês <i>European Medicines Agency</i> , traduzido como Agência Europeia de Medicamentos
EROs	Espécies reativas de oxigênio
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> , que, traduzido, significa e colaboradores
FADBA	Faculdade Adventista da Bahia
FGF	Do inglês <i>Fibroblast growth factor</i> , traduzido como Fator de crescimento fibroblástico
g	Gramas
HE	Hematoxilina e eosina
ICS	Instituto de Ciências da Saúde
IL	Interleucina

ISOO	Do inglês <i>International Society of Oral Oncology</i> , traduzido como Sociedade Internacional de Oncologia Oral
J	Joule
J/cm ²	Joules por centímetro quadrado
KGF	Do inglês <i>Keratinocyte growth fator</i> , traduzido como Fator de crescimento de queratinócito
LASER	Acrônimo do inglês <i>light amplification by stimulated emission of radiation</i> , traduzido como amplificação da luz estimulada por emissão de radiação
LBO	Laboratório de Bioquímica Oral (ICS, UFBA)
LBP	Laser de baixa potência
LED	Do inglês <i>light-emitting diode</i> , traduzido como diodo emissor de luz
LHE	Laboratório de Histologia e Embriologia
MASCC	Do inglês <i>Multinational Association Supportive Care in Cancer</i> , traduzido como Associação Multinacional de Cuidados de Suporte em Câncer
MEC	Matriz extracelular
MeSH	Do inglês <i>Medical Subject Headings</i> , traduzido como Nomenclatura de Assuntos Médicos
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MMP	Metaloproteinase da matriz
MO	Mucosite oral
mg/kg	Miligrama por quilo
mg/mL	Miligrama por mililitro
mW	Miliwatt
nm	Nanômetro
PDGF	Do inglês <i>Platelet derived growth factor</i> , traduzido como Fator de crescimento derivado de plaquetas
pH	Potencial hidrogeniônico
Sars-CoV-2	Do inglês <i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i> ,

traduzido como Síndrome respiratória aguda grave do coronavírus
2

TCD8 +	Linfócito T citotóxico
TCTH	Transplante de célula tronco hematopoiética
TFD	Terapia fotodinâmica
TFDa	Terapia fotodinâmica antimicrobiana
TGF	Do inglês <i>Transforming growth factor</i> , traduzido como Fator de crescimento transformador
TNF- α	Do inglês <i>Tumor necrosis factor</i> , traduzido como Fator de necrose tumoral alfa
UFBA	Universidade Federal da Bahia
VEGF	Do inglês <i>Vascular endothelial growth factor</i> , traduzido como Fator de crescimento endotelial vascular
μm	Micrômetro
μm^2	Micrômetro quadrado
5-FU	5- Fluorouracil

LISTA DE SÍMBOLOS

>	Maior que
<	Menor que
=	Igual
p	Valor de p , que define como a probabilidade de se observar um valor da estatística de teste maior ou igual ao valor observado sob a hipótese nula
%	Percentual
α	Alpha
β	Beta
+	Mais
\pm	Mais ou menos
®	Marca registrada
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	20
1.1	JUSTIFICATIVA	22
1.2	OBJETIVOS	24
1.2.1	Objetivo geral	24
1.2.2	Objetivos específicos	24
1.2.2.1	<i>Revisão sistemática da literatura</i>	24
1.2.2.2	<i>Estudo experimental em modelo animal</i>	24
2	REVISÃO DA LITERATURA	25
2.1	REPARO TECIDUAL	25
2.2	<i>MATRICARIA RECUTITA (CAMOMILA)</i>	27
2.2.1	Características gerais da fitoterapia, plantas medicinais e camomila	27
2.2.2	Ação no reparo tecidual	30
2.2.3	Ação no reparo em lesões de mucosite oral	32
2.3	TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA	33
2.3.1	Terapia fotodinâmica	33
2.3.2	Terapia fotodinâmica antimicrobiana no reparo tecidual	36
3	MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1	REVISÃO SISTEMÁTICA	39
3.1.1	Critérios de inclusão e exclusão	40
3.1.2	Seleção de artigos, qualidade metodológica e risco de viés	40
3.1.3	Extração de dados	41
3.2	ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL	41
3.2.1	Amostra e grupos experimentais	42
3.2.2	Procedimento cirúrgico	44
3.2.3	Morte e descarte dos animais	45
3.2.4	Processamento histológico	45
3.2.5	Análises	45
3.2.5.1	<i>Análise clínica</i>	45

3.2.5.2	<i>Análise histomorfométrica</i>	46
3.2.5.3	<i>Análise de dados</i>	47
4	RESULTADOS	48
4.1	ARTIGO 1 – AÇÃO DA <i>MATRICARIA RECUTITA</i> (CAMOMILA) NO MANEJO DA MUCOSITE ORAL RADIOQUIMIOINDUZIDA: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA	48
4.1.1	Introdução	49
4.1.2	Material e métodos	51
4.1.2.1	<i>Critérios de elegibilidade, estratégias de busca e informações da pesquisa</i>	51
4.1.2.2	<i>Critérios de inclusão</i>	52
4.1.2.3	<i>Critérios de exclusão</i>	53
4.1.2.4	<i>Seleção de artigos</i>	53
4.1.2.5	<i>Qualidade metodológica e risco de viés</i>	54
4.1.2.6	<i>Extração e análise dos dados</i>	54
4.1.3	Resultados	54
4.1.4	Discussão	63
4.1.5	Conclusão	67
4.2	ARTIGO 2 - AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DA <i>MATRICARIA RECUTITA</i> ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO À TERAPIA FOTODINÂMICA NO REPARO TECIDUAL EM DORSO DE LÍNGUA DE RATOS	68
4.2.1	Introdução	70
4.2.2	Material e métodos	71
4.2.2.1	<i>Trabalho experimental em modelo animal</i>	71
4.2.2.2	<i>Procedimento cirúrgico</i>	72
4.2.2.3	<i>Grupos experimentais</i>	72
4.2.2.4	<i>Avaliação clínica</i>	74
4.2.2.5	<i>Morte dos animais</i>	75
4.2.2.6	<i>Processamento histológico</i>	75
4.2.2.7	<i>Avaliação morfológica e morfométrica</i>	76
4.2.2.8	<i>Análise estatística</i>	77

4.2.3	Resultados	77
4.2.3.1	<i>Análise clínica</i>	77
4.2.3.2	<i>Análise histomorfológica</i>	81
4.2.3.3	<i>Análise histomorfométrica</i>	87
4.2.4	Discussão	91
4.2.5	Conclusão	101
5	DISCUSSÃO GERAL	102
6	CONCLUSÃO GERAL	106
6.1	REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA	106
6.2	ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL	106
	REFERÊNCIAS	108
	APÊNDICES	120
	APÊNDICE A – Ficha da análise morfológica das secções em HE aplicada para coleta de dados do Artigo 2	121
	APÊNDICE B – Ficha da análise morfológica das secções coradas com sítius vermelho aplicada para coleta de dados do Artigo 2	122
	APÊNDICE C - Ficha da análise morfométrica das secções em HE aplicada para coleta de dados do Artigo 2	123
	APÊNDICE D - Ficha da análise morfométrica das secções coradas com sítius vermelho aplicada para coleta de dados do Artigo 2	124
	ANEXOS	125
	ANEXO A – Revisão sistemática da literatura (artigo publicado)	126
	ANEXO B – Carta de Anuência do Laboratório de Neurociências do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA)	137
	ANEXO C – Carta de Anuência do Laboratório de Bioquímica Oral do Instituto de Ciência da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA)	138
	ANEXO D – Parecer do CEUA do Instituto de Ciência da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA)	139

1 INTRODUÇÃO GERAL

A mucosa oral é uma estrutura de revestimento que constitui uma barreira física protetora contra reveses externos, devido à presença de um epitélio pavimentoso estratificado, queratinizado ou não, sustentado por um tecido conjuntivo subjacente, denominado de lâmina própria¹. A ruptura de continuidade dessa mucosa promove um dano anatômico e funcional denominado de úlcera². O reparo tecidual, por sua vez, compreende uma série de eventos moleculares e celulares com alta complexidade e dinamismo, em que o organismo busca a reconstrução tecidual com o objetivo de retorno à sua forma original^{2,3}.

Com a finalidade de promover o reparo de lesões de mucosa oral, diversas opções terapêuticas de uso tópico são citadas na literatura, o que inclui os anti-inflamatórios esteroidais⁴, os agentes naturais^{5,6} e as terapias baseadas no uso de fotobiomoduladores⁷. Apesar da grande variedade de opções, a busca por novas terapias de fácil acesso, custo baixo e que atuem na melhoria do reparo tecidual em cavidade oral ainda é alvo de muita investigação⁴⁻⁸.

Paralelamente a essa busca, a medicina natural tem alcançado papel de destaque na comunidade científica, pois propõe um amplo espectro de ações benéficas dos fitoterápicos nos eventos de reparo tecidual, o que inclui atividade analgésica, anti-inflamatória e antimicrobiana, e tem estimulado o aumento progressivo de seu consumo e sua indicação⁵. A camomila – pertencente à família *Asteraceae*, também conhecida como *Matricaria chamomilla* L., *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert, *Matricaria recutita* L. e *Matricaria suaveolens* L. – é uma planta medicinal milenar, amplamente utilizada no manejo de diversas enfermidades, devido às características terapêuticas provenientes dos compostos fenólicos pertencentes a esse agente natural, o que evidencia sua ação sedativa, antiespasmódica, antimicrobiana, moduladora da inflamação e cicatrizante^{9,10}.

Na odontologia, a camomila de uso tópico apresenta resultados promissores no manejo de alterações da cavidade oral de diversas naturezas, como úlceras aftosas recorrentes¹¹ e traumáticas^{4,12}, gengivite¹³ e infecções orais por *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*¹⁴, além de lesões de etiopatogenia mais complexas, com destaque para a mucosite oral (MO)^{15,16}.

A camomila pode se apresentar sob a forma de extrato fluido em solução hidroetanólica, vapor, cápsula ou comprimido com extrato seco, além de tinturas, infusão e óleo volátil^{17,18}. O extrato fluido de camomila, Ad-muc® (Biolab, São Paulo, Brasil), é facilmente encontrado nas farmácias brasileiras e apresenta custo relativamente acessível. De acordo com o fabricante, apresenta propriedades antissépticas e anti-inflamatórias, com indicação clínica que abrange desde o tratamento da gengiva até lesões na mucosa de revestimento¹⁹, o que pôde ser comprovado através de estudos experimentais em animais^{20,21}. Todavia, a comparação do uso do Ad-muc® com outras formas de apresentação da camomila não foi encontrada na literatura pesquisada, no que tange ao efeito terapêutico relacionado ao reparo tecidual em cavidade oral, à segurança de uso e à toxicidade.

A literatura busca, de forma incessante, por terapias que promovam a prevenção e (ou) o tratamento da mucosite, por se tratar de um efeito colateral proveniente da terapia antineoplásica capaz de contribuir para a morbimortalidade do paciente oncológico²². Associada a essa condição, o crescente aumento de estudos, na odontologia, que investigam os fitoterápicos e as plantas medicinais, sob uso tópico, em especial a camomila, estimulou a presente investigação sobre o tema através de uma revisão sistemática da literatura. Com o intuito de compreender o efeito da camomila sobre a MO na literatura atual, apresenta-se o primeiro artigo original desta tese, intitulado “Ação da *Matricaria recutita* (camomila) no manejo da mucosite oral radioquimioinduzida: revisão sistemática da literatura”, que já se encontra publicado e está disponível no ANEXO A do texto desta tese.

A fotobiomodulação laser, através da utilização do laser de baixa potência (LBP), alcançou ampla indicação na odontologia, devido à capacidade de modulação do reparo tecidual e do processo inflamatório, além da promoção de analgesia^{23,24}. Todavia, por não provocar aumento de temperatura no tecido-alvo, como ocorre com o laser de alta potência, não apresenta atividade antimicrobiana associada. Em contrapartida, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) é uma modalidade terapêutica que visa à redução e (ou) à morte microbiana através da união de três componentes essenciais: fonte de luz compatível – com destaque para a ação fotobiomoduladora do LBP –, corante fotossensibilizador e presença de oxigênio^{25,26}. Apesar de a capacidade de destruição de microrganismos da TFDa já se encontrar constatada na literatura²⁷, seu potencial

indireto de cicatrização de úlceras orais não foi completamente elucidado^{26,28}, o que se atribui à escassez de estudos sobre o tema.

Em uma tentativa de buscar alternativas que acelerem o processo de reparo tecidual, bem como de preencher a lacuna observada na literatura vigente acerca do uso da associação da camomila com a TFDa durante o reparo tecidual, não foram encontrados estudos sobre a combinação desses agentes. Assim, houve uma motivação para a realização do trabalho experimental aqui apresentado, intitulado “Avaliação da aplicação da *Matricaria recutita* isolada ou em associação à terapia fotodinâmica no reparo tecidual em dorso de língua de ratos”.

1.1 JUSTIFICATIVA

O uso de plantas medicinais objetiva contribuir para o tratamento e o controle de várias doenças, com possibilidade de utilização de forma concomitante com medicamentos alopáticos, desde que haja indicação²⁹. Nos dias atuais, os produtos naturais e seus derivados caracterizam mais de 50% de todas as drogas, com representatividade de 25% dos produtos naturais derivados de plantas^{5,30}. A camomila, em suas diferentes apresentações, age tanto na prevenção como no tratamento de diferentes afecções, a exemplo de desordens inflamatórias e no reparo tecidual em pele e na cavidade oral^{9,10}. Suas propriedades naturais e seus efeitos terapêuticos não invasivos tornaram essa planta bem tolerada pelo organismo, além do fácil acesso, da grande disponibilidade de matéria-prima e do baixo custo, o que tem proporcionado o aumento progressivo de seu consumo devido à excelente aceitação por parte da população⁵.

Na odontologia, o uso tópico da camomila demonstrou resultados satisfatórios em diferentes enfermidades, sob a forma de infusão ou extrato fluido¹²⁻¹⁶. No entanto, apesar da sua capacidade de favorecer a reepitelização de úlceras orais de natureza infecciosa e inflamatória¹¹⁻¹⁶, sua ação no reparo tecidual em mucosa não está completamente elucidada, assim como sua posologia adequada, para a determinação de um possível protocolo terapêutico⁵.

Além da camomila, na odontologia, a TFDa é uma terapia potencialmente promissora para a erradicação de microrganismos de natureza viral, fúngica e

bacteriana, o que contribui, de forma significativa, para o sucesso do processo de cicatrização, uma vez que muitas dessas feridas se encontram contaminadas por uma variedade de microrganismos. Ela se destaca por reduzir a resistência microbiana, o tempo de reparação e a frequência de surgimento de algumas lesões, além de ser uma técnica atraumática, com mínimos efeitos colaterais e custo relativamente acessível^{26,31-33}.

Até o presente momento, hipotetiza-se que o mecanismo de ação da TFDa, no processo de cicatrização tecidual, ocorra devido à reação de foto-oxidação a partir da formação de radicais livres³², o que pôde ser demonstrado em estudos prévios^{34,35}. Todavia, há a necessidade de mais estudos que abordem essa temática para melhor compreensão e possível determinação de uma ação efetiva nesse processo.

As úlceras, por definição, representam o rompimento do tecido epitelial, com exposição do tecido conjuntivo subjacente, e se caracterizam pela presença de dor e desconforto. Na cavidade oral, constituem uma condição extremamente comum, proveniente de fatores etiológicos com diferentes graus de complexidade, e que pode se manifestar devido à presença de um trauma local, ou até mesmo pela existência de um processo infeccioso, imunológico ou neoplásico, ou ainda em decorrência da radioquimioterapia. Podem ser categorizadas em agudas ou crônicas, lesões únicas ou múltiplas, de natureza primária ou recorrente^{36,37}. Por representarem as lesões mais comuns da cavidade oral e afetarem a qualidade de vida dos indivíduos acometidos, seu manejo rápido e adequado é mandatório. Todavia, apesar da busca incessante da comunidade científica por novas terapias que auxiliem no processo de reparo dessas lesões, há uma escassez de estudos que abordem a aplicação da TFDa em úlceras orais, bem como a ausência de trabalhos que associem a camomila tópica com a TFDa.

Uma vez que ambas as terapias são capazes de modular o reparo tecidual quando utilizadas de maneira isolada^{11-16,32}, pode-se inferir que tais agentes, em associação, poderiam potencializar o efeito cicatricial, tornando-se aliados e indicados em pacientes que apresentam dificuldade de cicatrização. Dessa maneira, o presente trabalho se justifica para que se estabeleça uma melhor compreensão acerca de tais agentes moduladores e se verifique se há real benefício em seu uso, de forma conjunta, no reparo tecidual.

Esse conhecimento poderá ser posteriormente aplicado na prática clínica, com a possibilidade de uso da camomila, associada ou não à terapia com laser proposta

(TFDa), em úlceras da cavidade oral, a exemplo daquelas causadas pela mucosite oral (MO), radio e (ou) quimioinduzida, além de poder ser indicada para o tratamento de úlceras causadas por outras condições sistêmicas, como *Diabetes mellitus*.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da camomila, associada ou não com a TFDa, na cicatrização de ferida cirúrgica em dorso de língua de ratos.

1.2.2 Objetivos específicos

1.2.2.1 Revisão sistemática da literatura

- Avaliar se a camomila de uso tópico é eficaz na prevenção e (ou) no tratamento da MO radio e (ou) quimioinduzida.

1.2.2.2 Estudo experimental em modelo animal

- Comparar clinicamente o tempo de reepitelização das feridas, entre os grupos experimentais.
- Avaliar, comparativamente e de forma semiquantitativa, os parâmetros histológicos do reparo tecidual – edema, celularidade tecidual, infiltrado inflamatório e reepitelização – com o uso das modalidades terapêuticas.
- Verificar o grau de reepitelização da ferida cirúrgica entre os grupos submetidos à aplicação tópica de diferentes formas de apresentação da camomila e dos grupos TFDa através de histomorfometria.
- Verificar se há diferença quantitativa e no padrão de organização de colágeno na ferida cirúrgica, entre os grupos submetidos à aplicação tópica de diferentes formas de apresentação da camomila e dos grupos TFDa.
- Determinar se há diferenças nos padrões clínicos, histológicos e histomorfométricos entre os grupos experimentais avaliados.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 REPARO TECIDUAL

A pele e a cavidade oral apresentam características que se assemelham. Do ponto de vista estrutural, a camada mais externa de ambas é composta por epitélio pavimentoso estratificado, um revestimento sofisticado que impede a entrada de patógenos do meio externo, além da presença de ceratina, uma proteína que confere maior proteção a essas duas estruturas. Subjacente ao epitélio, encontra-se a lâmina própria, um tecido conjuntivo vascularizado e com tipos celulares semelhantes para as duas regiões. Todavia, apesar das características comuns, a cavidade oral apresenta particularidades, como, por exemplo, a presença do fluido salivar e a ausência de anexos cutâneos^{1,38}.

Quando ocorre o rompimento da integridade da pele, mucosa ou membrana de tecidos e órgãos, essa lesão é denominada úlcera e pode ser desencadeada por lesão de qualquer natureza, como agente físico, químico ou biológico^{1,2,39}. Quando ocorre a interrupção da continuidade estrutural dessa barreira mecânica protetora, de forma imediata se inicia o processo de reparo, que envolve uma sequência coordenada e complexa de eventos celulares e bioquímicos, que objetivam a restauração macro e microestrutural do tecido, bem como seu possível retorno à funcionalidade original^{2,3}. Vale salientar que a regeneração, por definição, compreende a restituição estrutural e funcional indistinguível do tecido de origem. Já no reparo, ocorre a formação predominante de tecido fibrótico cicatricial, independentemente do local onde ocorre, com vistas ao retorno da integridade estrutural. No geral, em úlceras de pequena extensão e profundidade, há uma tendência à regeneração; já em feridas extensas e profundas, geralmente o reparo ocorre por cicatrização^{40,41}.

A sequência complexa estruturada que envolve o reparo tecidual foi inicialmente dividida de forma didática em cinco estágios: inflamação, proliferação celular, formação de tecido de granulação, contração e remodelação. Todavia, o processo de cicatrização pode ser descrito em três fases sequenciais: inflamatória, proliferativa e de remodelação^{3,42}.

A fase inflamatória ocorre logo após o rompimento da barreira de revestimento tecidual e permanece até o período de 24 a 72 horas. A lesão no tecido promove, de forma imediata, o extravasamento de substâncias do sangue, com destaque para as plaquetas e fibrinas, que atuam na liberação de substâncias sinalizadoras da inflamação e desencadeiam uma resposta inflamatória, com o objetivo primário de formar o coágulo sanguíneo³. Essa matriz provisória favorece a migração de células para o local da lesão, com a consequente ativação da cascata de coagulação e do sistema complemento, além da liberação de fatores de crescimento, que, através da produção de mediadores vasoativos e fatores quimiotáticos, auxiliam no recrutamento de células do sistema imunológico inato para o local da lesão⁴².

Clinicamente, a fase inflamatória se caracteriza pela presença dos cinco sinais cardinais: calor, rubor, dor, tumor e perda de função. Os neutrófilos são as células de defesa polimorfonucleares, que predominam no início da fase inflamatória. Além de fagocitarem restos necróticos e bactérias, produzem espécies reativas de oxigênio (EROs) que favorecem a destruição bacteriana, além de citocinas pró-inflamatórias, que estimulam a ativação e migração de queratinócitos. Cerca de 48 horas após o início da lesão, ocorre uma intensa transcitose de monócitos, que se diferenciam em macrófagos, uma vez que chegam ao tecido lesado, e compreendem as células de defesa monomorfonucleares. Além de apresentarem atividade fagocítica, são células apresentadoras de antígenos e produtoras de fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador (TGF), fibroblástico (FGF) e endotelial vascular (VEGF), que estimulam a formação do tecido de granulação^{3,42}.

A fase proliferativa se inicia em torno do quarto dia após a lesão e geralmente se estende até o 14º dia, a depender do tecido. Caracteriza-se por hemostasia, neoangiogênese, formação de tecido de granulação, reepitelização e início da fibroplasia, que compreende o aumento quantitativo de colágeno. Essas células são responsáveis pela deposição de colágeno, com nova formação de matriz extracelular (MEC), o que, posteriormente, acarretará a remodelação tecidual, terceira e última fase do reparo⁴. Além disso, os fibroblastos secretam o fator de crescimento de queratinócitos (KGF e o VEGF0, com consequente neoangiogênese e posterior reepitelização, quando a camada externa da ferida se restaura^{4,42}.

A última fase do reparo tecidual é a de remodelação, cujo início ocorre no período de duas a três semanas após a lesão inicial, com possibilidade de perdurar até um ano após. Caracteriza-se pela reorganização do tecido conjuntivo, remodelação do colágeno através da substituição do colágeno tipo III pelo colágeno tipo I e síntese de novas fibras colagênicas, que se tornam mais espessas e mais paralelas, o que acarreta maior resistência ao tecido neoformado, com a participação das metaloproteinases (MMP) -2, -3 e -14. Ocorre também a reorganização da MEC e a resolução do processo inflamatório, além da degradação de ácido hialurônico e fibronectina^{42,43}.

Em análise comparativa do reparo de tecidos orais e cutâneos, constata-se que, apesar de manifestarem características estruturais compatíveis, o processo de cicatrização da mucosa oral tem suas particularidades devido a seus aspectos únicos, o que a torna capaz de acelerar o reparo em comparação ao do tecido cutâneo. Dentre suas características especiais, destacam-se a presença do fluido salivar, o biofilme microbiano complexo, a alta capacidade mitótica e a resposta inflamatória menos exacerbada, devido ao recrutamento reduzido de células de defesa. Ademais, a presença de fatores de crescimento e diferenças funcionais nos fibroblastos orais parecem voabilizar o aumento na velocidade de cicatrização do tecido oral⁴⁴⁻⁴⁶.

Entretanto, a presença de um microambiente diferente, pode tornar desafiador o reparo na cavidade oral, devido à capacidade de espécies locais desenvolverem infecções. Uma vez que uma ferida se torne infectada, isso pode retardar o processo de cicatrização, o que torna pertinente a busca por estratégias terapêuticas que permitam o controle desses microrganismos, associadas à capacidade reparadora desses agentes⁴⁷.

2.2 *MATRICARIA RECUTITA* (CAMOMILA)

2.2.1 Características gerais da fitoterapia, plantas medicinais e camomila

Ao longo da história, a medicina baseada no uso de agentes naturais tem adquirido espaço para o tratamento de diversas enfermidades. O uso de plantas ou de parte delas com essa finalidade, atendendo-se a critérios específicos, denomina-se de fitoterapia. Portanto, a fitoterapia é a ciência que estuda a empregabilidade de plantas medicinais para o manejo de doenças que ocorrem na espécie humana²⁹. Os medicamentos fitoterápicos são preparações obtidas através do emprego exclusivo de matéria-prima

vegetal ativa, disponível sob a forma sólida ou líquida, que apresente documentação técnico-científica em publicações ou ensaios clínicos¹⁸. Ademais, eles devem possuir qualidade constante, possibilidade de reprodução, além da caracterização de riscos e de eficácia através de levantamentos etnofarmacológicos⁴⁸. Portanto, nem toda planta medicinal deve ser considerada um fitoterápico, uma vez que, para isso, precisa apresentar critérios de inclusão específicos e não somente ter efeito para uso médico ou terapêutico⁴⁹.

Considera-se como planta medicinal a espécie vegetal, na sua forma bruta, em que parte da planta é utilizada com a finalidade de curar ou aliviar enfermidades, como, por exemplo, através do uso de infusões. Essas plantas não foram submetidas ao controle rigoroso de qualidade, o que inclui testes clínicos. Entretanto, têm sido utilizadas tradicionalmente ao longo de séculos, de forma que beneficiam a humanidade⁵⁰. Nos tempos atuais, mais de 80% da população, nos países em desenvolvimento, dependem do uso de terapias à base de vegetais⁵¹.

No início do século XX, o uso de plantas medicinais foi subestimado por escassez de estudos relacionados. Na década de 70, a Organização Mundial da Saúde (OMS)⁵² passou a incentivar seu estudo científico, com vistas ao atendimento das demandas de atenção primária à saúde em países em desenvolvimento, o que gerou aumento do consumo de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil entre as décadas de 70 e 80²⁹. Posteriormente, em 1999, a própria OMS¹⁷ lançou o primeiro volume que apresenta uma lista de medicamentos fitoterápicos seguros e com ação comprovada, além de fornecer informações científicas sobre segurança, eficácia e controle de qualidade. Já em 2006, no Brasil, houve a implantação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde. Desde então, a Farmacopeia Brasileira tem se dedicado para consolidar essas políticas nos serviços de saúde¹⁸.

A abordagem terapêutica de pacientes através do uso de plantas medicinais e (ou) fitoterápicos objetiva prevenir, curar ou amenizar doenças de diversas naturezas. Seu uso apresenta vantagens, como fácil acesso, devido à grande disponibilidade, e custo baixo para a população e para os serviços públicos de saúde, além de demonstrarem inúmeras propriedades farmacológicas benéficas, como atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, ansiolítica, cicatrizante, antioxidante, dentre outras. Por essas razões, apresentam elevada aceitação popular. Todavia não se pode excluir a possibilidade de

causarem toxicidade, hipersensibilidade ou até mesmo reação alérgica, o que enfatiza a necessidade de uso consciente e de forma segura^{29,53}.

Camomila é o nome popular de uma planta que pertence à família *Asteraceae* e apresenta inúmeras propriedades medicinais. Apesar de apresentar várias denominações – como *Matricaria chamomilla* L., *Matricaria recutita* L., *Matricaria suaveolens* L. e *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert –, de acordo com as Regras Internacionais de Nomenclatura Botânica, *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert é o nome legítimo para essa espécie⁵⁴. Apresenta odor aromático agradável e sabor palatável, ligeiramente amargo. Apesar de ser nativa do norte da Europa, é cultivada em muitas outras regiões da Europa, no continente asiático, norte da África, Estados Unidos e Brasil. A flor de camomila contém um óleo essencial com cor azul intensa, em decorrência do seu teor de camazuleno, que representa cerca de 1 a 15% da sua composição. Apesar de apresentar mais de 120 constituintes em suas flores¹⁰, seus principais componentes são: α -bisabolol e sesquiterpenos relacionados, que compõem até 50% do óleo; apigenina e glicosídeos flavonoides, que constituem até 8% do peso seco dessa droga vegetal¹⁷.

Os sesquiterpenos, com destaque para o α -bisabolol, são responsáveis pela atividade antimicrobiana, antioxidante e inseticida. Os compostos flavonoides e o seu derivado apigenina promovem ação antiviral, antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante e de regulação hormonal. Ademais, outros constituintes, como as cumarinas e a matricina, se destacam por promover atividade anti-inflamatória, bem como as próprias cumarinas também exibem capacidade antifúngica e agem como vasodilatadoras coronárias⁵⁵.

A camomila pode ser utilizada sob diversas formas e com diferentes indicações, de acordo com sua forma de apresentação. Pode ser usada em preparações caseiras, como infusões, chás, tinturas e pós¹⁷. O pó seco da flor é recomendado e utilizado para diferentes problemas de saúde, que varia desde infecções e ferimentos nos tecidos até alterações gastrointestinais e insônia⁵⁵. As flores secas podem ser extraídas através do uso de solventes, como água, etanol ou metanol, formando-se, assim, os extratos aquosos, alcoólicos, etanólicos e metanólicos, respectivamente. O extrato aquoso sob a forma de infuso é a apresentação terapêutica mais comum da camomila e é usado como agente anti-inflamatório em região de mucosa oral e garganta através de lavagem ou gargarejo. Esses sachês, que contém o pó de flor de camomila puro ou misturado com outras ervas medicinais, são de fácil acesso no comércio. A tintura de camomila

consiste na mistura de uma parte de flor em quatro partes de água com 12% de álcool de cereais. Já os capítulos florais são a parte da camomila utilizada para produzir o medicamento de uso tópico, em que se pode obter o extrato fluido em solução hidroetanólica (1:1). Ademais, esse agente pode ser encontrado ainda sob as formas de vapor, cápsula ou comprimido, que contêm extrato seco e devem ser armazenadas em recipiente fechado, protegidas da luz^{17,18,55}.

2.2.2 Ação no reparo tecidual

As atividades funcionais da camomila se encontram em seus inúmeros constituintes, que desempenham, muitas vezes, múltiplas funções, através da capacidade de atuar em diferentes alvos farmacológicos. Com o intuito de sumarizar esses componentes ativos e suas funções, o presente grupo de pesquisa desenvolveu uma revisão narrativa da literatura acerca das propriedades gerais da camomila (*Matricaria recutita*) e seus principais constituintes bioativos⁵⁵.

Acredita-se que o processo de reparo tecidual estimulado pela camomila se deve às suas possíveis atividades imunomoduladoras, estrogênicas e antioxidantes⁵⁶, com consequente ação no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal/gonadal, que induz e potencializa a formação do trombo primário e, de forma sequencial, favorece a hemostasia e a cicatrização tecidual⁵⁷. Todavia também não se descarta a possibilidade de ocorrerem mecanismos desconhecidos que facilitem o processo de reparação⁵⁶.

Quando se trata da avaliação da camomila sobre o reparo tecidual cutâneo através de estudo experimental em animais, a literatura demonstra sucesso terapêutico com seu uso sob a forma sistêmica em ferida padronizada em região de dorso de ratos, quando comparados a animais do grupo de controle ($p < 0,002$). Nesse caso, seis animais do grupo experimental foram submetidos à ingestão diária de água associada com extrato aquoso de *Matricaria recutita* (120mg/kg) e comparados com os do grupo de controle, em que a mesma quantidade de ratos foi submetida à ingestão exclusiva de água⁵⁶. De forma similar, a camomila de uso tópico, em associação com azeite de oliva, também demonstrou sucesso terapêutico em incisão linear na região do dorso cutâneo de 15 ratos albinos, em relação ao grupo de animais ($n=15$) que não foi submetido a nenhum tratamento, por um período de 20 dias ($p < 0,05$)⁵⁸. Dessa forma, a camomila foi capaz de acelerar a cicatrização em ambos os experimentos^{56,58}.

Resultados benéficos também foram encontrados no processo cicatricial em cavidade oral com o uso da camomila tópica através de estudos experimentais em animais^{4,12,59}. Martins et al.⁴ (2009) avaliaram clínica e histologicamente, de forma comparativa, o extrato fluido de camomila (Ad-Muc®, Biolab, São Paulo, Brasil) com corticosteroides tópicos – triancinolona acetona (Omcilon A, Bristol Myers Squibb, São Paulo, Brasil), propionato de clobetasol creme 0,05% (Psorex® creme, Medley, Campinas, Brasil) e propionato de clobetasol pasta 0,05% (Psorex® creme, Medley, Campinas, Brasil) – para o tratamento de úlceras produzidas em língua de ratos com uso de um bisturi circular de 3 mm. Os resultados demonstraram que todos os animais do grupo camomila apresentaram cicatrização completa da ferida no 5º dia do experimento, clínica e histologicamente ($p < 0,05$), enquanto os demais grupos exibiram cicatrização completa no 14º dia de pós-operatório. Os autores concluíram que os animais tratados com extrato fluido de camomila apresentaram cicatrização mais rápida em comparação aos tratados com corticosteroides.

Oliveira et al.¹², em 2016, avaliaram os aspectos micro e macroscópicos do efeito do extrato fluido de camomila 10% (Ad-Muc®, Biolab, São Paulo, Brasil) e da triancinolona acetona 1 mg/g (Omcilon-A, Orabase®, B-MS, São Paulo, Brasil) em úlcera padronizada com bisturi nº 15, em mucosa jugal esquerda de ratos diabéticos. Os resultados clínicos demonstraram que, no 10º dia de experimento, o grupo submetido à aplicação do corticosteroide apresentou maior tamanho de úlcera, em comparação ao grupo camomila. Histologicamente, o grupo camomila promoveu maior redução da apoptose e da expressão do fator de necrose tumoral α (TNF- α) nas células epiteliais. Dessa maneira, pode-se concluir que o extrato de camomila foi capaz de otimizar a cicatrização através da redução da fase inflamatória de úlceras orais traumáticas em ratos diabéticos.

Outro estudo experimental objetivou também avaliar o efeito do extrato fluido de camomila (Ad-muc®, Biolab, São Paulo, Brasil), aplicado de 12 em 12 horas em úlcera em dorso de língua de ratos feita com bisturi circular tipo *punch* de 5 mm, em comparação com grupo de controle negativo. Após análise clínica e histomorfológica, o efeito mais significativo observado foi a disposição dos fibroblastos no tecido de reparo no 10º dia de experimento. Eles estavam dispostos de forma mais desorganizada no grupo de controle em comparação ao observado no grupo camomila, em que as fibras colágenas estavam paralelas à superfície⁵⁹.

2.2.3 Ação no reparo em lesões de mucosite oral (MO)

A mucosite constitui uma reação inflamatória adversa resultante da terapia antineoplásica, que pode acometer todo o sistema digestório. Na cavidade oral, sua manifestação se encontra presente, principalmente em pacientes irradiados em região de cabeça e pescoço e naqueles submetidos ao regime de condicionamento para transplante de células tronco hematopoiéticas. A MO constitui um processo contínuo que, nos estágios iniciais, se manifesta como áreas de eritema. Todavia essas lesões podem evoluir para úlceras difusas dolorosas, que servem como porta de entrada para microrganismos que podem, de forma rápida, se disseminar para a corrente sanguínea, com possibilidade de sepse^{60,61}.

Em revisão sistemática recente, foi avaliado o efeito da camomila tópica no manejo da MO através de parâmetros clínicos e (ou) histológicos em modelo animal. Os resultados foram expostos em dois artigos, nos quais foram avaliados os efeitos do extrato fluido de camomila (Ad-Muc®) na MO quimioinduzida em com *hamsters* fêmeas, com mesma metodologia para indução da lesão. Quanto ao desfecho, observou-se que a camomila, sob duas aplicações diárias, foi eficaz na cicatrização dessas lesões de mucosite induzidas por 5-fluorouracil (5-FU), do ponto de vista clínico e histológico ($p < 0,0001$), bem como na redução significativa de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β e TNF- α), através de análise imunistoquímica ($p < 0,05$). Ressalta-se que os dois estudos pertenciam ao mesmo grupo de pesquisa e, por isso, exibiram metodologias semelhantes e com poucas limitações, o que os torna reproduzíveis e com objetivos bem estabelecidos. De acordo com a aplicação da estratégia ARRIVE (*Animal Research: Reporting in Vivo Experiments*), como limitações dos estudos, destacaram-se a ausência de informação referente à justificativa de uso da espécie animal, de acordo com objetivos propostos, e informações sobre o monitoramento pós-anestésico, horário de eutanásia e características mais aprofundadas sobre o alojamento dos animais. Ademais, foi sugerido que estudos do tipo ensaio clínico precisam ser realizados com o objetivo de comprovar a real eficácia desse agente na mucosite⁶².

Quando se trata de estudos em seres humanos, a literatura tem demonstrado o efeito benéfico da camomila de uso tópico no reparo de lesões de MO, além de seu uso não ter causado intolerância e toxicidade aos pacientes^{15,16}.

No estudo de dos Reis et al.¹⁵ (2016), um total de 38 pacientes com câncer gástrico ou colorretal, submetidos ao regime de quimioterapia com 5-FU e leucoverin, foram alocados em dois grupos: crioterapia exclusiva e infusão de camomila associada com crioterapia, com o objetivo de avaliar comparativamente essas duas terapias na prevenção e redução da intensidade da MO. Os resultados demonstraram que as lesões tiveram menor ocorrência no grupo camomila (50%) em relação ao grupo crioterapia (30%), com significância estatística no 8º dia de análise ($p < 0,005$). Além disso, a dor foi maior nos pacientes submetidos à crioterapia exclusiva ($p < 0,005$), em todos os períodos de avaliação.

Braga et al. em 2015¹⁶, por sua vez, objetivaram identificar a dosagem do extrato líquido de camomila necessária para reduzir a incidência e a intensidade da MO em 40 pacientes adultos submetidos ao transplante alogênico de células-tronco. Para isso, a amostra foi alocada em quatro diferentes grupos: controle e três experimentais com uso de diferentes concentrações de camomila sob a forma de enxaguatório bucal (0,5%, 1% e 2%). A camomila na concentração de 1% demonstrou melhores resultados com relação à redução na incidência, intensidade e duração da MO. Adicionalmente, independentemente do grupo camomila no qual o paciente se encontrava inserido, 84% dos pacientes classificaram o enxaguante bucal com sabor muito agradável ou agradável.

2.3 TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA

2.3.1 Terapia fotodinâmica

A terapia fotodinâmica (TFD) foi descoberta pelo farmacologista alemão Herman Von Tappeiner, em 1904, através da inativação de protozoários sob a presença de luz e do corante acridina. Em 1910, a ação fotodinâmica foi utilizada para o tratamento de neoplasias cutâneas e combate a agentes infecciosos através da tríade: corante fotossensibilizador, oxigênio e fonte de luz⁶³. Apesar de não ser considerada uma modalidade terapêutica atual, o desenvolvimento de novas pesquisas sobre a TFD teve aumento gradativo somente nas últimas décadas, em especial pela crescente resistência microbiana aos antibióticos existentes^{31,64,65}.

A ação fotodinâmica pode ser classificada em antineoplásica e antimicrobiana (TFDa). A primeira objetiva tratar neoplasias malignas através do uso de uma fonte luminosa associada a um corante fotossensibilizador apropriado, com destaque para as hematoporfirinas. Já a TFDa, também conhecida como "inativação fotodinâmica", "efeito fotodinâmico", "desinfecção fotoativada", "fotossensibilização letal" ou "quimioterapia antimicrobiana fotodinâmica", consiste na erradicação de microrganismos através da interação de um agente fotossensibilizador associado a uma fonte de luz apropriada sobre um tecido oxigenado, com consequente foto-oxidação de vírus, bactérias, parasitas e fungos^{31,66,67}.

O princípio básico dessa técnica envolve a entrega de luz visível no comprimento de onda adequado, para que ocorra o efeito desejado. Dessa maneira, a fonte luminosa deve apresentar capacidade fotobiomoduladora, como os LASERs (acrônimo de amplificação da luz por emissão estimulada de radiação) e os LEDs (diodo de emissão de luz)^{31,67,68}. Apesar de esses dispositivos apresentarem efeitos benéficos, por não provocarem aumento de temperatura no tecido-alvo, não possuem ação antimicrobiana associada, com necessidade de associações que permitam tal mecanismo^{31,69}.

A presença de uma fonte de luz específica, em conjunto com um agente corante fotossensibilizador extrínseco, em contato com o oxigênio do ambiente, terá como produto final a produção de EROs, a exemplo do oxigênio singlete. Essas espécies reativas promovem dano em compostos celulares microbianos, com destaque para a membrana, mitocôndrias, ácidos nucleicos, proteínas e lipídios, com consequente morte microbiana. Esse processo fotoquímico envolve a excitação de moléculas do corante fotossensibilizador através da absorção máxima de um fóton de luz visível e comprimento de onda compatível com a faixa de absorção do corante, transformando-o em energia útil. Como resultado, ocorrerá a liberação de oxigênio singlete de meia-vida curta^{31,70}. Ou seja, após a absorção do fóton de luz visível, o corante fotossensibilizador sai do seu estado fundamental e se torna excitado, com mudança para o estado singlete. Já no estado singlete, pode ser convertido, através de uma transição eletrônica denominada de cruzamento intersistema, para uma energia ligeiramente inferior, denominada de estado tripleto excitado de longa duração, que pode reagir através da via fotoquímica tipo I, em que ocorre transferência de elétrons, e (ou) tipo II, onde há transferência de energia, com o objetivo de produzir radicais hidroxila, superóxido e

oxigênio singlete. Esses radicais, por sua vez, causam citotoxicidade e destruição microbiana através de apoptose, autofagia ou necrose^{31,71,72}.

A determinação de estratégias que maximizem os resultados das reações de foto-oxidação é o ponto-chave para o sucesso da TFDa. Apesar de ser de extrema importância a presença da tríade oxigênio, luz e corante para a formação de substratos biológicos, não se deve ignorar que as células são heterogêneas e que, para a formação de radicais livres, o corante e as biomoléculas celulares devem apresentar afinidade entre si⁷³. Para que isso ocorra, existem grupos diferentes de fotossensibilizadores que podem ser empregados de acordo com sua estrutura e origem, com destaque para os corantes sintéticos, naturais e estruturas de tetrapirrol^{33,64}.

O azul de metileno e o azul de toluidina pertencem ao subgrupo das fenotiazinas e são amplamente utilizados na TFDa^{26,74-76}. Foram os primeiros corantes sintéticos testados com essa finalidade, e, por apresentarem carga catiônica intrínseca, promovem aumento da fotoativação e da produção de oxigênio singlete, com elevada eficácia contra inúmeros microrganismos⁶⁴. Com relação aos corantes de origem natural, se destacam a hipericina, popularmente conhecida como erva de São João, que pertence à espécie *Hypericum perforatum*, e a curcumina, que é um agente natural extraído das raízes da planta *Curcuma longa*^{64,77-79}. A hipericina demonstrou efeito antimicrobiano e cicatricial em lesões por queimaduras e úlceras em pele. Sua aplicação como corante na TFDa foi capaz de inativar *Streptococcus mutants* e *Propionibacterium acnes*^{64,77}. A curcumina, por sua vez, exerce ação anti-inflamatória, antimicrobiana e cicatrizante. Apesar da escassez de estudos *in vivo* com sua aplicação sob a forma de TFDa, sua capacidade antibacteriana e antifúngica foi observada através de estudos *in vitro*^{78,79}. As porfirinas foram as estruturas de tetrapirróis pioneiras na TFD antineoplásica. São facilmente obtidas, pois provêm da hemoglobina ou da clorofila⁶⁴. Tem sido observado um aumento exponencial de estudos em animais, que abordam as porfirinas aplicadas na TFDa^{69,80}, bem como estudos em humanos⁸¹.

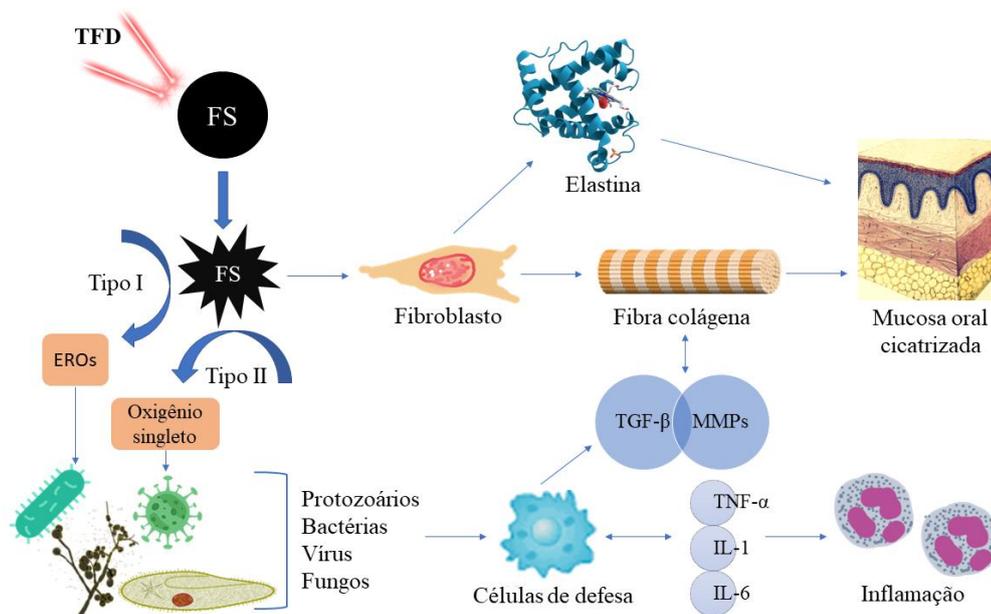
A TFDa apresenta diversas vantagens, como a capacidade de não prejudicar os tecidos adjacentes, ser uma técnica atérmica, segura, atraumática e minimamente invasiva, com custo relativamente acessível^{64,71}. Vale ressaltar que a TFDa pode ser usada de forma conjugada com outras modalidades terapêuticas, com mínima possibilidade de resistência microbiana^{31,33,64,73}.

2.3.2 Terapia fotodinâmica antimicrobiana no reparo tecidual

De acordo com a literatura, a capacidade antimicrobiana da TFD já se encontra bem consolidada²⁷. Por outro lado, devido à escassez de estudos, a teoria acerca de seu potencial cicatricial não se encontra completamente elucidada. A Figura 1 ilustra o possível mecanismo de ação da TFDa proposto por Nesi-Reis et al.³² (2017). Na atualidade, o efeito benéfico da TFDa no reparo tecidual cutâneo tem sido descrito, como no caso da psoríase⁸², acne vulgar⁸³, leishmaniose cutânea⁸⁴, úlcera diabética⁸⁵ e queratose actínica não hipertrófica³². Todavia, quando se trata do reparo de lesões em cavidade oral, os estudos se restringem à aplicação em úlceras de origem traumática^{26,28} e aquelas provenientes da terapia antineoplásica, como é o caso da MO⁷⁵.

As úlceras rompem a barreira protetora da pele ou da mucosa oral, o que facilita a penetração, colonização e proliferação de microrganismos patogênicos heterogêneos, com prejuízo no processo cicatricial⁸⁶. Hipotetiza-se que, além da capacidade antimicrobiana, a TFD seja capaz de estimular células do sistema imune e mediadores inflamatórios, como a interleucina (IL)-1 β e IL-2, o TNF- α , além da MMP-1 e MMP-3, através da estimulação fibroblástica^{71,87}. Uma vez que a ferida se torna infectada, a fotobiomodulação laser, por si só, parece não ser capaz de acelerar o reparo tecidual. Todavia, quando associada a um corante fotossensibilizador, torna-se efetiva nessas circunstâncias, devido à capacidade antimicrobiana associada com o estímulo imunomodulador sobre o tecido-alvo³¹.

Figura 1 – Mecanismo de ação da TFDa no reparo tecidual proposto por Nesi-Reis et al.³² (2017).



Abreviações – TFD: terapia fotodinâmica; FS: fotossensibilizador no estado fundamental; EROs: espécies reativas de oxigênio; TNF- α : fator de necrose tumoral α ; IL-1: interleucina 1; IL-6: interleucina 6; TGF- β : fator de crescimento fibroblástico β ; MMPs: metaloproteinases de matriz.

Fonte: traduzido e modificado de Nesi-Reis et al.³² (2017).

Em revisão sistemática da literatura com o objetivo de avaliar a cicatrização de lesões cutâneas em seres humanos submetidos à TFDa, artigos foram coletados entre o período de julho de 2005 a março de 2017. Do total de 17 estudos incluídos, dez apresentavam descrição de infecção secundária associada. Dentre os tipos de feridas cutâneas tratadas com a TFDa, foram incluídas as úlceras crônicas de origem venosa, arterial, mista ou diabéticas, leishmaniose cutânea, ferimentos excisionais e queratose actínica não hipertrófica. O número de sessões variou de uma a 12, com intervalo de aplicação que oscilou de dois a 30 dias. Os resultados demonstraram que a TFDa foi capaz de atuar nas diferentes fases da cicatrização, pois se constatou a indução de uma resposta inflamatória aguda localizada através da produção de TNF- α , com a consequente ativação do sistema imunológico. Também se pôde verificar que monócitos, macrófagos e mastócitos se acumularam no tecido-alvo, com ativação subsequente de linfócitos TCD8 +, que contribuem para a eliminação de células e tecidos danificados e aceleram o processo de reparo tecidual³².

Ainda na mesma revisão sistemática, três estudos realizaram avaliação histológica das feridas tratadas com TFDa. Um deles demonstrou aumento na deposição

de elastina e de colágeno tipos I e III, após nove meses em que ocorreu a ferida excisional. O segundo estudo constatou a presença de macrófagos na derme de paciente com leishmaniose cutânea após a TFDa e, na reavaliação de três meses, verificou-se a regressão total da lesão, constatada também pela ausência do protozoário. O último desses trabalhos relatou a presença de fibrose subepidérmica, com separação da epiderme das camadas de tecido actínico, sob a ação da TFDa na queilite actínica³².

Em mucosa oral, pode-se deduzir que o efeito antimicrobiano da TFD é capaz de acelerar o reparo tecidual de feridas infectadas por patógenos orais, como o *Porphyromonas gingivalis*, o *Streptococcus sanguis* e o *Streptococcus mutans*⁸⁸. Deyhimi et al.²⁶ (2016) realizaram estudo pioneiro através da avaliação clínica e histológica da TFDa associada com o azul de metileno no processo de reparo cicatricial de úlcera padronizada em mucosa jugal esquerda de ratos *Wistar*, através da utilização de um *punch* circular com 2 mm de diâmetro. A aplicação da TFDa ocorreu logo após a realização da ferida, do 1º ao 4º dia, e do 6º ao 9º dia, totalizando oito aplicações. Os resultados demonstraram que a TFDa promoveu ação inibitória em fases tardias do processo de cicatrização. Todavia, até o 7º dia de experimento, que representa a fase inicial, pôde-se observar, histologicamente, ação estimulatória no processo de cicatrização. De acordo com os autores, uma possível causa para o efeito inibitório tardio foi a baixa densidade de energia aplicada, já que não existe um protocolo-padrão para sua aplicação.

Em relato de caso publicado recentemente, cinco sessões de TFDa, com intervalo de 48 horas entre as aplicações, foram realizadas em úlceras traumáticas no palato devido ao uso do expansor palatino, um dispositivo ortodôntico que visa a corrigir a mordida cruzada posterior. Vinte dias após o início do tratamento, não havia sinal clínico dessas lesões em palato²⁸.

Simões et al.⁷⁵ (2017), através de relato de dois casos de MO radioinduzida, associada com infecção secundária, também demonstraram resultados satisfatórios do uso da TFDa após tentativas anteriores de reparo através da fotobiomodulação laser. A cicatrização das lesões ocorreu 14 e 29 dias após a TFDa, respectivamente, sem necessidade de interrupção da radioterapia, com melhora na qualidade de vida do paciente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 REVISÃO SISTEMÁTICA

Foi realizada uma revisão sistemática da literatura entre novembro de 2020 e fevereiro de 2021, que consistiu na busca de artigos do tipo ensaio clínico randomizado com base nos parâmetros PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis*)⁸⁹ e registrados no banco de dados PROSPERO (CRD42020210862). As bases eletrônicas de dados adotadas foram *PubMed*, *Cochrane Library* e *Bireme*.

Após a aplicação dos componentes da estratégia PICO⁹⁰, apresentada na Tabela 1, a questão de pesquisa formulada foi: “A camomila tópica é capaz de prevenir e (ou) tratar a MO em pacientes oncológicos sob quimioterapia ou radioterapia em região de cabeça e pescoço?” Para isso, foi realizado o cruzamento dos descritores DeCS/MeSH e termos livres através dos operadores booleanos AND e OR.

Conforme foi citado anteriormente, o presente estudo deu origem ao artigo de revisão sistemática da literatura, que já se encontra publicado e será apresentado como Artigo 1, intitulado “Ação da *Matricaria recutita* (camomila) no manejo da mucosite oral radioquimioinduzida: revisão sistemática da literatura”.

Tabela 1 – Descrição da estratégia PICO⁹⁰ (LBO, UFBA, 2021).

Acrônimo	Definição	Descrição
P	População	Pacientes oncológicos sob quimioterapia ou radioterapia em região de cabeça e pescoço
I	Intervenção	Camomila tópica na prevenção e (ou) tratamento da MO
C	Comparação	Grupo placebo; grupo de controle, em que não houve intervenção ou comparação com outros agentes de uso tópico
O	Desfecho (<i>outcomes</i>)	Grau de MO Dor associada à MO Tempo de estabelecimento da MO

Fonte: autoria própria.

3.1.1 Critérios de inclusão e exclusão

Estudos do tipo ensaio clínico randomizado foram incluídos, nos quais a MO foi induzida pelo tratamento oncológico. A abordagem terapêutica para a mucosite foi o uso exclusivo da camomila tópica. Quanto ao idioma, apenas estudos na língua inglesa foram selecionados, embora não houvesse restrição quanto ao período de publicação, sexo e idade dos pacientes, estadiamento e tipo de câncer, assim como gravidade e graduação da MO.

Foram excluídos estudos cuja abordagem terapêutica compreendeu uso de outros agentes associados à camomila, camomila sob uso sistêmico ou em situações clínicas diferentes da MO, além de estudos experimentais em animais e ainda os que, de alguma forma, não disponibilizassem o protocolo de uso desse agente natural. Também não foram incluídos estudos com ausência de resumos nas bases de dados, teses, dissertações, editoriais, cartas ao editor e relatos de caso clínico.

3.1.2 Seleção de artigos, qualidade metodológica e risco de viés

Todos os artigos selecionados foram tabulados no programa *Microsoft Word*, Microsoft 365® (versão 2018). A seleção ocorreu com base na análise de título, resumo e texto completo do artigo. Dois examinadores realizaram a seleção de forma independente. Artigos duplicados foram considerados apenas uma vez. O teste *kappa* foi utilizado para avaliar a concordância dos estudos incluídos entre os revisores e o resultado obtido foi de 0,76, o que significa concordância substancial⁹¹.

Com o objetivo de maximizar a avaliação, foi utilizada a diretriz CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*), a qual se baseia na orientação de 37 informações necessárias que devem ser incluídas em ensaios clínicos randomizados⁹². Também foi utilizado o instrumento de colaboração da *Cochrane*, com o objetivo de verificar os potenciais riscos de viés em ensaios clínicos randomizados⁹³.

3.1.3 Extração de dados

A extração dos dados foi realizada de forma individual por dois examinadores, através da busca das seguintes variáveis para cada estudo: autores, ano e país de publicação; objetivo do estudo, amostra total (n) e descrição da amostra; metodologia empregada; características dos grupos comparativos ou de controle; parâmetros clínicos avaliados; principais resultados, desfecho e diretriz CONSORT. A análise descritiva dos estudos foi realizada e apresentada em tabela específica.

3.2 ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL

Este estudo pode ser categorizado como experimental laboratorial, com uso de animais, conduzido no Biotério do Laboratório de Neurociências do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) (ANEXO B) e no Laboratório de Bioquímica Oral (LBO) do ICS da UFBA (ANEXO C), Salvador, Bahia, Brasil. A metodologia definida e nele empregada recebeu aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do ICS da UFBA, de acordo com o parecer número 3562050618, em 29/09/2018 (ANEXO D), como parte de um projeto maior intitulado "Avaliação do efeito da camomila na cicatrização da mucosa oral de ratos". A metodologia experimental seguiu os princípios éticos para o uso de animais, elaborados pela Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, afiliado ao Conselho Internacional de Ciência de Animal de Laboratório, que estabelece as normas e condutas que devem ser utilizadas em experimento com uso de animais, baseadas nos princípios de sensibilidade, bom senso e boa ciência. Além disso, está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

O presente trabalho gerou um artigo original, que será apresentado como Artigo 2, intitulado "Avaliação da aplicação da *Matricaria recutita* isolada ou em associação à terapia fotodinâmica no reparo tecidual em dorso de língua de ratos".

3.2.1 Amostra e grupos experimentais

Um total de 75 ratos machos da linhagem *Wistar*, *Rattus norvegicus albinus*, com peso entre 200 e 230g, entre a 2ª e a 3ª semana de vida, foram alojados em gaiolas plásticas específicas, em grupos de cinco animais, com boas condições de iluminação (ciclo claro e escuro de 12 em 12 horas) e temperatura de $\pm 24-26^{\circ}\text{C}$, submetidos a uma dieta comercial com ração (Nuvlab, Quimtia, Colombo, Paraná, Brasil) e água *ad libitum* durante todo o experimento. Os animais permaneceram em adaptação no biotério por uma semana. A espécie *Wistar* foi escolhida pois é de fácil manipulação e por apresentar breves ciclos reprodutivos. Além disso, esses animais possuem traços comportamentais e estágios de maturação dos sistemas fisiológicos semelhantes aos dos seres humanos^{94,95}.

Com o objetivo de determinar o quantitativo de animais, foi realizada a consulta ao artigo de Martins et al.⁴ (2009), que realizou estudo semelhante em relação ao uso da camomila no reparo tecidual, bem como o trabalho de Pavesi et al.²⁰ (2011) Ambos os estudos auxiliaram na verificação de um *n* amostral. Todavia o cálculo amostral foi realizado através do parâmetro das diferenças entre o número de células inflamatórias que devem ser observadas entre os grupos, o que determinou um total de 15 animais por grupo.

Os animais foram alocados randomicamente em cinco grupos, conforme é exposto a seguir e na Tabela 2.

Tabela 2 – Randomização dos animais nos grupos experimentais (LBO da UFBA, 2022).

Grupos experimentais	Períodos de eutanásia		
	D3 (n)	D7 (n)	D14 (n)
G1 – Controle (n=15)	5	5	5
G2 – Camomila extrato fluido (n=15)	5	5	5
G3 – Camomila infusão (n=15)	5	5	5
G4 - TFDa (n=15)	5	5	5
G5 – Camomila infusão + TFDa (n=15)	5	5	5

¹D3: 3 dias após procedimento cirúrgico; D7: 7 dias após procedimento cirúrgico; D14: 14 dias após procedimento cirúrgico.

Fonte: própria do autor.

Grupo 1 (G1), controle – Os animais foram submetidos à aplicação diária de soro fisiológico a 0,9% com uso de haste flexível plástica com algodões nas extremidades (Cotonetes, Johnson & Johnson, São Paulo, Brasil), sobre a ferida cirúrgica padronizada em dorso de língua, de 12 em 12 horas.

Grupo 2 (G2), camomila extrato fluido – Os animais receberam tratamento com extrato fluido de camomila a 10% (Ad-Muc®, Biolab, São Paulo, Brasil), através de aplicação tópica diária na ferida cirúrgica padronizada, com uso de haste flexível plástica com algodões nas extremidades (Cotonetes, Johnson & Johnson, São Paulo, Brasil), em dorso de língua de ratos, com intervalos de aplicação de 12 em 12 horas, conforme orientação do fabricante.

Grupo 3 (G3), camomila infusão – Os animais foram submetidos à aplicação tópica diária de infusão de camomila (Chás Real®, Almirante Tamandaré, Paraná, Brasil), sob preparo conforme orientações do fabricante, utilizando-se 250 ml de água filtrada fervida para cada sachê, com a utilização de chaleira elétrica (Electrolux, Curitiba, Brasil). Após alcançar a temperatura de ebulição (100 °C), a água, ainda com temperatura superior a 90 °C⁹⁶, foi despejada em uma caneca, e o sachê de camomila foi colocado em infusão com a caneca tampada, durante 3 minutos. De forma sequencial, o chá de camomila foi resfriado a uma temperatura entre 20 e 22°C para utilização por período máximo de 24 horas. Essa sequência foi repetida diariamente durante todo o período do experimento. A aplicação ocorreu em intervalo de 8 em 8 horas, ou seja, três vezes ao dia, na ferida cirúrgica localizada em dorso de língua de ratos, com o auxílio de um conta gotas.

Grupo 5 (G4), TFDa – Os animais foram submetidos ao uso tópico da TFD na ferida cirúrgica em dias alternados. Inicialmente, realizou-se a aplicação do azul de metileno a 0,01% (Chimiolux; Hydro-Farma, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), durante três minutos, com haste flexível flexível plástica com algodões nas extremidades (Cotonetes, Johnson & Johnson, São Paulo, Brasil), seguida pela irradiação em ponto único no centro da úlcera com o LBP (Laser DMC® Therapy EC, São Carlos, São Paulo, Brasil), em modo contínuo, com potência de 100 mW, comprimento de onda de 660 nm, área de saída de 0,028 cm², densidade de energia de 117,85 J/cm², 3,3 J de energia por ponto e 33 segundos de aplicação, de acordo com o protocolo estabelecido por Sperandio et al.⁹⁷ (2010).

Grupo 6 (G5), infusão camomila + TFDa – Os animais foram submetidos à aplicação tópica diária de infusão de camomila de 8 em 8 horas, associada à realização

da TFDa em dias alternados, conforme foi descrito acima para os grupos isolados. A infusão de camomila foi aplicada após a realização da TFDa.

A aplicação das respectivas modalidades terapêuticas teve início no dia zero do experimento (D0), imediatamente após a confecção da ferida cirúrgica padronizada em dorso de língua de ratos, e seguiu até o dia de eutanásia. Os medicamentos, com indicação de uso de 12 em 12 horas, foram aplicados de manhã e à noite, diariamente. Os grupos que envolveram a aplicação de 8 em 8 horas, seguiram o protocolo de uso nos turnos da manhã, tarde e noite, diariamente.

3.2.2 Procedimento cirúrgico

Antes do início do procedimento cirúrgico, os animais foram pesados em balança (Mettler-Toledo, Barueri, São Paulo, Brasil). Somente então, uma única ferida cirúrgica circular foi realizada no centro do dorso da língua de cada rato no D0 do experimento, no turno da manhã, com o auxílio de um *punch* circular de 5 mm de diâmetro e 1 mm de profundidade (Biopsy Punch, Stiefel, Alemanha), com o intuito de obter uma ferida padronizada e uniforme, com o envolvimento de tecido epitelial e lâmina própria. Os animais foram submetidos a esse procedimento sob o efeito de anestesia profunda, induzida pela administração da mistura de cloridrato de cetamina 10% (Ketamina®, Farex do Brasil Ltda., Porto Alegre, Brasil) e cloridrato de xilazina 2% (Xilazin®, Syntec, São Paulo, Brasil) na proporção de 90mg/kg e 5mg/kg, respectivamente, por via intraperitoneal. Optou-se por utilizar esses anestésicos, pois estudos têm demonstrado a eficácia da combinação entre esses dois fármacos em promover uma anestesia profunda, relaxamento muscular e a analgesia necessária para a realização do procedimento cirúrgico^{98,99}. A via intraperitoneal foi escolhida em virtude da segurança e do conforto dessa via de administração, tanto para os animais quanto para o pesquisador¹⁰⁰. Vale ressaltar que, após o procedimento, houve monitoramento dos animais até o término do efeito anestésico.

3.2.3 Morte e descarte dos animais

Os animais foram eutanasiados, também no turno da manhã, mediante sorteio para cada grupo e por aprofundamento anestésico através do uso dos medicamentos e da técnica acima citados. Os períodos de morte estabelecidos foram três, sete e 14 dias após a cirurgia em mucosa de dorso lingual (Tabela 2). Um total de cinco animais de cada grupo foram mortos em cada um dos dias preestabelecidos. Após a morte dos animais, as carcaças foram acondicionadas, em sacos de PVC, em *freezer* a -20° para posterior incineração após coleta pela empresa responsável pelo serviço no Laboratório de Neurociências do ICS da UFBA, que o faz de forma sistemática.

3.2.4 Processamento histológico

Os espécimes obtidos por autópsia foram fixados em formalina tamponada a 4%, com pH 7,4, e foram enviados para o processamento histológico de rotina no Laboratório de Histologia e Embriologia (LHE) da Faculdade Adventista da Bahia (FADBA), em Cachoeira (BA), onde se seguiu o processamento histológico, até inclusão em blocos de parafina. As peças seguiram para obtenção de cortes histológicos de 5 μ m de espessura e posteriormente coradas com hematoxilina e eosina (HE) e sÍrius vermelho (colágeno total).

3.2.5 Análises

3.2.5.1 Análise clínica

A análise das características macroscópicas no processo de reparo das úlceras em dorso lingual foi realizada diariamente, no turno matutino, com o auxílio de luz ambiente, espátulas de madeira e elásticos para auxílio na abertura de boca dos animais, que foram contidos por um dispositivo plástico atraumático, conforme modelo adotado por Martins¹⁰¹ (2004) e Pelisser, Vier-Pelisser, Fontanella, Figueiredo¹⁰² (2007), com redução do estresse dos animais. Tal avaliação obteve a classificação "presente",

quando ainda eram observados sinais clínicos da ferida, e "ausente", quando o processo de reparo da úlcera havia sido visivelmente completado.

A mensuração das feridas em milímetros foi realizada com o auxílio de um paquímetro universal analógico (Starret, Athol, Massachusetts, Estados Unidos), no dia da cirurgia (D0) e nos dias da eutanásia. A análise clínica da ferida foi realizada por um único operador previamente calibrado, e os registros foram anotados em ficha.

3.2.5.2 Análise histomorfométrica

Os examinadores foram calibrados para uso dos programas e equipamentos no LBO do ICS, UFBA. Todas as análises foram realizadas às cegas, em triplicata, para evitar viés de tendenciosidade, através do uso de máscaras nas lâminas. Utilizou-se o *Software Motic Images Plus 2.0* (Motic Asia, Hong Kong, China), *Software ImageJ* (*National Institutes of Health*, Bethesda, Md, EUA) e microscópio de luz Quimis BA410 (Quimis, São Paulo, Brasil) acoplado à câmera Moticam 5.0.

Com as secções histológicas coradas em HE, foi realizada uma análise morfológica no microscópio de luz, considerando o epitélio e os aspectos do tecido conjuntivo de cada corte histológico, utilizando-se a objetiva de 10x (APÊNDICE A). A caracterização ocorreu de forma semiquantitativa de acordo com as seguintes categorias: intensa (+++), moderada (++) , discreta (+) e ausente (0), conforme é descrito por Medrado et al.¹⁰³ (2008). O tecido conjuntivo foi submetido ao processo de coloração histoquímica com o sítius vermelho, a fim de se quantificar e qualificar as fibras colágenas¹⁰⁴. A partir dessas secções, foi realizada a análise morfológica das fibras colágenas e do padrão de expressão colagênico tecidual (APÊNDICE B).

Para a avaliação morfométrica do tecido epitelial em secções coradas em HE, utilizou-se o *Software Motic Images Plus 2.0* (Motic Asia, Hong Kong, China). Essa análise foi realizada a partir da captura de imagens de três áreas distintas de cada uma das secções teciduais, em objetiva de 10x, através do microscópio acoplado à câmera. As mensurações lineares realizadas incluíram a distância da camada basal à camada da superfície epitelial (DCBCSE) e a espessura da camada córnea (ECC), através da utilização de escala em micrômetros (μm) (APÊNDICE C).

A análise morfométrica quantitativa do percentual de colágeno total em relação à área total do tecido foi realizada pelo *Software ImageJ* (*National Institutes of Health*, Bethesda, Md, EUA), com a padronização da área de 720.000 μm^2 da imagem (800 μm x 900 μm) por dois examinadores cegos, previamente calibrados, realizada também a partir das capturas de fotomicrografias de três áreas distintas das secções teciduais coradas em sÍrius vermelho na objetiva de 10x (APÊNDICE D).

As análises ocorreram com intervalos de uma semana entre elas.

3.2.5.3 *Análise de dados*

Foi criado um banco de dados no *Microsoft Excel* 2016 (versão 2016), para análise descritiva, com a finalidade de identificar as características gerais e específicas da amostra estudada, incluindo-se uma análise quantitativa do percentual de colágeno. Os dados das variáveis morfológicas foram apresentados com frequências absolutas e relativas, também com moda, valores mínimo e máximo.

Para as variáveis morfométricas e porcentagem de área de colágeno em relação à área total do tecido, os dados foram expressos em média, desvio padrão e mediana (mínimo e máximo). Todas as análises foram realizadas no programa R (*Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria), com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 ARTIGO 1

AÇÃO DA *MATRICARIA RECUTITA* (CAMOMILA) NO MANEJO DA MUCOSITE ORAL RADIOQUIMIOINDUZIDA: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

Juliana Borges de Lima Dantas¹, Tila Fortuna², Ana Carla Barletta Sanches¹, Erielma Lomba Dias Julião³, Alena Ribeiro Alves Peixoto Medrado⁴, Gabriela Botelho Martins⁵

¹ Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA).

² Doutora do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA).

³ Graduada em Odontologia pela Faculdade Adventista da Bahia (FADBA).

⁴ Doutora em Patologia Humana pela Fundação Oswaldo Cruz (UFBA). Professora Associada do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA).

⁵ Doutora em Estomatologia Clínica pela PUCRS. Professora Associada do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA).

Endereço de correspondência:

Juliana Borges de Lima Dantas

Endereço: Av. Reitor Miguel Calmon s/n, Vale do Canela, 4º andar (sala 413). Laboratório de Bioquímica Oral do Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. CEP 40.110-100. Salvador, Bahia, Brasil.

Tel.: (+55) (71) 3283-8891

E-mail: judyborges@gmail.com

Resumo

Introdução: A mucosite oral (MO) constitui uma condição inflamatória aguda frequente em pacientes oncológicos. Até o momento, não existe terapia considerada padrão-ouro para seu manejo. A camomila é uma das plantas medicinais mais utilizadas mundialmente, pois possui inúmeras características benéficas. **Objetivo:** Avaliar a ação da camomila tópica na prevenção e (ou) tratamento da MO em pacientes oncológicos. **Material e métodos:** O estudo consistiu numa revisão de literatura sistemática, que buscou artigos do tipo ensaio clínico randomizado de acordo com os parâmetros PRISMA, sob registro na PROSPERO. As bases de dados utilizadas foram *PubMed*,

Cochrane Library e *Bireme*. Descritores foram selecionados a partir do DeCS/MeSH, e a estratégia PICO foi aplicada. **Resultados:** A busca resultou em 148 textos. Após todas as etapas de refinamento, um total de seis artigos foram selecionados. A amostra total contemplou 492 pacientes e todos os trabalhos utilizaram a mesma escala de aferição da MO. Os resultados demonstraram que a camomila tópica foi eficaz na prevenção e (ou) tratamento da MO em quatro dos seis estudos, com variação de concentração entre 1% a 2,5% e com aplicação entre uma a quatro vezes por dia. Algumas limitações foram observadas: não foi informada a idade mínima dos pacientes e não houve especificação dos sítios tumorais e quimioterápicos utilizados. **Conclusão:** A aplicação da camomila tópica no manejo preventivo e terapêutico da MO quimioinduzida parece ser bem indicada. Ademais, a produção científica sobre essa temática deve ser incentivada, pois propicia a determinação de protocolos úteis desse recurso natural para a população oncológica.

Palavras-chave: Mucosite oral. Matricaria. Camomila. Radioterapia. Quimioterapia.

Abstract

Introduction: Oral mucositis comprises an acute inflammatory condition frequent in cancer patients. To date, there is no therapy considered gold standard for its management. Chamomile is one of the most used medicinal plants worldwide, as it has several beneficial characteristics. **Objective:** Evaluate the effect of topical chamomile in the prevention and (or) treatment of oral mucositis (OM) in cancer patients. **Material and methods:** It were a systematic review, which sought articles of the randomized clinical trial according to the PRISMA parameters, registered in the PROSPERO. The databases used were PubMed, Cochrane Library, and Bireme. Descriptors were selected from DeCS/MeSH and the PICO strategy was applied. **Results:** The search found 148 manuscripts. After all the steps, six articles were selected. The total sample included 492 patients and all studies used the same OM measurement scale. The results showed that the application of topical chamomile was effective in the prevention and (or) treatment of OM in four of the six studies, with a dose ranging from 1% to 2.5% and duration that ranged from single to four times a day. Some limitations were observed: the minimum age of the patients was not informed, and there was no specification of the sites involved or the chemotherapies used. **Conclusion:** The application of topical chamomile in the preventive/therapeutic of chemo-induced OM seems to be recommended. In addition, scientific production should be encouraged, as it aims to determine useful protocols for this phytotherapy for the oncology population.

Keywords: Oral mucositis. Matricaria. Chamomile. Radiotherapy. Chemotherapy.

4.1.1 Introdução

O termo mucosite oral (MO) surgiu em 1980 para descrever lesões ulcerativas inflamatórias na mucosa bucal de pacientes submetidos à quimioterapia e (ou)

radioterapia em região de cabeça e pescoço¹⁰⁵. Embora o desenvolvimento da MO seja um processo dinâmico, em 2004, Sonis¹⁰⁶ (2004) descreveu o seu complexo ciclo biológico em cinco fases: iniciação, geração de sinais mensageiros, sinalização e amplificação, ulceração e cicatrização. A MO, em média, surge de sete a dez dias após a quimioterapia e a partir da segunda semana do início do tratamento radioterápico. O surgimento das lesões e sua evolução dependem de inúmeros fatores. Podem estar relacionados à toxicidade oral proveniente da quimioterapia, à associação ou não da radioterapia com a quimioterapia, à dose de radiação acumulada e do agente quimioterápico, assim como à resposta individual do paciente ao protocolo utilizado^{106, 107}.

Estudos demonstram que 20% a 35% dos pacientes submetidos à quimioterapia para tratamento de tumores sólidos desenvolvem lesões de MO, enquanto aqueles expostos à radiação ionizante em região de cabeça e pescoço, ou submetidos ao condicionamento quimioterápico para o transplante de células-tronco podem chegar a taxas de ocorrência próximas de 100%¹⁰⁸⁻¹¹¹.

Clinicamente, a MO se caracteriza pela presença de áreas eritematosas, que podem progredir para úlceras dolorosas, com predisposição ao desenvolvimento de infecções oportunistas e disfagia, o que leva à modificação na dieta alimentar, ou até mesmo, em casos mais severos, à necessidade de nutrição parenteral ou enteral, o que pode tornar necessária a alteração ou a interrupção do tratamento oncológico, com sérias consequências na resposta ao tratamento e prognóstico do paciente^{22,106,112}.

Até o presente momento, não existe uma terapia isolada capaz de prevenir ou tratar completamente a MO, devido à sua alta complexidade biológica. Algumas modalidades terapêuticas, a exemplo de analgésicos, anti-inflamatórios e fotobiomodulação laser, promovem a melhora do quadro clínico inflamatório e álgico que se estabelece em decorrência dessa condição. Nesse sentido, a busca por novos tratamentos que atuem de forma eficaz no manejo da MO tornou-se alvo primordial da comunidade científica, com consequente aumento de estudos com esse foco^{111,113,114}.

Paralelamente a essa busca, a medicina baseada no uso de agentes naturais tem adquirido papel de destaque devido aos possíveis efeitos terapêuticos dos agentes fitoterápicos, além de serem de fácil acesso e baixo custo, o que tem promovido o aumento progressivo de seu consumo e indicação³⁰. A camomila, pertencente à família *Asteraceae*, constitui uma das plantas milenares medicinais mais utilizadas em todo o

mundo em decorrência de suas propriedades terapêuticas benéficas e da presença dos compostos fenólicos, principalmente flavonoides, apigenina, quercetina, patuletina, luteolina e glicosídeos, que são os responsáveis pela atividade sedativa, anti-inflamatória, antiespasmódica, antimicrobiana e reparadora desse agente natural^{9,10}. Os capítulos florais são a parte da camomila utilizada para produzir o medicamento de uso tópico. Além dessa forma de apresentação, pode-se obter também o extrato fluido (1:1) em solução hidroetanólica, vapor, cápsula ou comprimido contendo extrato seco, tinturas, infusão e óleo volátil^{17,18}. Resultados promissores com o uso tópico da camomila foram obtidos no manejo de alterações complexas em cavidade oral, o que inclui a MO quimioinduzida^{15,16} e radioinduzida¹¹⁵.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão sistemática da literatura sobre a ação da camomila tópica na prevenção e (ou) tratamento da MO em pacientes oncológicos submetidos à terapia antineoplásica.

4.1.2 Material e métodos

4.1.2.1 Critérios de elegibilidade, estratégias de busca e informações da pesquisa

O estudo consistiu numa revisão sistemática da literatura, executada de novembro de 2020 a fevereiro de 2021, que buscou artigos do tipo ensaio clínico randomizado com base nos parâmetros PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis*), que auxilia na construção de revisões sistemáticas e meta-análises⁸⁹, e foi registrada no banco de dados PROSPERO (CRD42020210862). As bases de dados eletrônicas utilizadas para a pesquisa foram *PubMed*, *Cochrane Library* e *Bireme*.

Após a aplicação dos componentes da estratégia PICO⁹⁰ (P – população: pacientes oncológicos submetidos à terapia antineoplásica; I – intervenção: camomila tópica na prevenção e (ou) tratamento da MO; C – comparação: grupo placebo, grupo de controle, em que não houve intervenção ou comparação com outros agentes de uso tópico; O – desfecho: a camomila tópica promove a prevenção e (ou) diminuição da severidade da MO?), a formulação da questão relevante e específica do presente estudo foi: “A

camomila tópica é capaz de prevenir e (ou) tratar a MO em pacientes oncológicos sob quimioterapia ou radioterapia em região de cabeça e pescoço?” Para isso, foi realizado o cruzamento dos descritores DeCS/MeSH e termos livres através dos operadores booleanos AND e OR. A estratégia de pesquisa incluiu apenas termos relacionados à camomila e mucosite, conforme se apresenta no Quadro 1.

Quadro 1 – Estratégia de busca com descritores selecionados (LBO, UFBA, 2021).

Mucosite	<p>"Mucositis" OR Mucositides OR "Stomatitis" OR Stomatitides OR "Oral Mucositis" OR "Oral Mucositides" OR "Oromucositis" OR "Oromucositides".</p> <p>"mucosa inflammation" OR "mucosa irritation" OR "mucositis" OR "Mucositides" OR "Oromucositis" OR "Oromucositides" OR "cancrum oris" OR "denture stomatitis" OR "mouth epithelium inflammation" OR "mouth inflammation, ulcerative" OR "mouth inflammation, ulcerous" OR "mouth mucosa inflammation" OR "oral inflammation, ulcerative" OR "stomatitis ulcerativa" OR "stomatitis ulcerosa" OR "stomatitis", OR "stomatitis, ulcerative" OR "stomatitis, ulcerous" OR "ulcerative mouth inflammation" OR "ulcerative oral inflammation".</p>
Camomila	<p>"Chamomile" OR "Chamomiles" OR "Chamomilla recutita" OR "Matricaria" OR "Matricaria chamomilla" OR "Matricaria recutita" OR "Matricarias" OR "Chamomillas" OR "Matricaria recutitas".</p> <p>"Chamomille tea" OR "Chamomille infusion" OR "Chamomiles tea" OR "Wild chamomille".</p>

Fonte: autoria própria.

4.1.2.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos estudos do tipo ensaio clínico randomizado, em que a MO foi induzida por quimioterapia para tratamento de tumores sólidos ou para mieloablação em regimes de condicionamento para o transplante de células-tronco hematopoiéticas, radioterapia ou radioquimioterapia para tumores sólidos em região de cabeça e pescoço. A abordagem terapêutica para essa condição foi o uso exclusivo da camomila tópica em diferentes concentrações, sem associação com outros agentes terapêuticos. Quanto ao

idioma, apenas estudos na língua inglesa foram selecionados. Todavia não houve restrição quanto a período de publicação, sexo e idade dos pacientes, estadiamento do câncer, assim como gravidade e graduação da MO, já que existe uma escassez de estudos com essa temática.

4.1.2.3 Critérios de exclusão

Em contrapartida, foram excluídos estudos cuja abordagem terapêutica abrangeu outros agentes associados ou não à camomila, indicação da camomila de forma sistêmica ou em situações clínicas diferentes da MO, além de estudos experimentais em animais e ainda os que, de alguma forma, não disponibilizaram o protocolo de uso da camomila. Também não foram incluídos estudos sem resumos nas bases de dados, além de teses, dissertações, editoriais, cartas ao editor e relatos de caso clínico, pois, de acordo com a escala de evidência científica do Manual *Cochrane* para Revisões Sistemáticas de Intervenções, essas modalidades apresentam baixo nível de evidência¹¹⁶.

4.1.2.4 Seleção de artigos

Todos os artigos selecionados foram tabulados no programa *Microsoft Word*, (Microsoft 365®, versão 2018). Os artigos foram escolhidos de acordo com a análise de título, resumo e texto completo do periódico, com base nos critérios previamente estabelecidos. Dois examinadores (JBLD e GBM) realizaram a seleção de forma independente, nos bancos de dados previamente selecionados. Em caso de não concordância entre ambos, um terceiro autor seria convocado (TFCF), o que não foi necessário. A extração dos dados, através dos critérios de inclusão e exclusão, foi realizada de acordo com aspectos éticos, metodologia clara e presença de resultados. Artigos duplicados foram considerados apenas uma vez. Foi realizada uma busca ativa secundária, e novos artigos foram incluídos com o objetivo de complementar a fundamentação teórica. O teste *kappa* foi utilizado para avaliar a concordância dos estudos incluídos entre os revisores. O resultado obtido foi de 0,76, o que significa concordância substancial entre os revisores.

4.1.2.5 *Qualidade metodológica e risco de viés*

Com o objetivo de maximizar a avaliação, a diretriz CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*) foi utilizada, a qual se baseia na orientação de 37 informações necessárias que devem ser incluídas em ensaios clínicos randomizados, para torná-los reprodutíveis, ordenados, transparentes e precisos⁹². Também foi utilizado o Instrumento de Colaboração da *Cochrane*, com o objetivo de verificar os potenciais riscos de viés em ensaios clínicos randomizados, com a aplicação de sete domínios, a saber: viés de seleção, viés de *performance*, viés de detecção, viés de atrito, viés de relato e outros vieses⁹³.

4.1.2.6 *Extração e análise dos dados*

A extração dos dados foi realizada de forma individual por dois examinadores (JBLD e GBM) através da busca das seguintes variáveis para cada estudo: autor principal e colaboradores, ano e país de publicação do artigo; objetivo do estudo, amostra total (n) e descrição da amostra, metodologia empregada – tratamento oncológico, características da camomila (concentração, posologia, frequência de aplicação), características do (s) grupo (s) comparativo (s) (concentração, posologia, frequência de aplicação) ou controle –, parâmetros clínicos avaliados, principais resultados, desfecho e diretriz CONSORT. A análise descritiva dos estudos foi realizada.

4.1.3 Resultados

Através da busca inicial nas bases de dados, foram encontrados 72 estudos na plataforma *Cochrane*, 27 na *Bireme* e 49 no *PubMed*, totalizando 148 artigos. Após a primeira análise, foram removidos os textos duplicados e o número de artigos foi reduzido para 62. Após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, 55 artigos foram excluídos. Sete artigos foram lidos na íntegra e, desses, seis contemplaram os critérios de inclusão após todas as etapas de seleção e refinamento de busca, conforme fluxograma baseado no modelo PRISMA (Figura 1)⁸⁹. Na última etapa, o estudo de Kato et al.¹¹⁷ (2017) foi excluído, pois abordou o manejo da estomatite mediado por

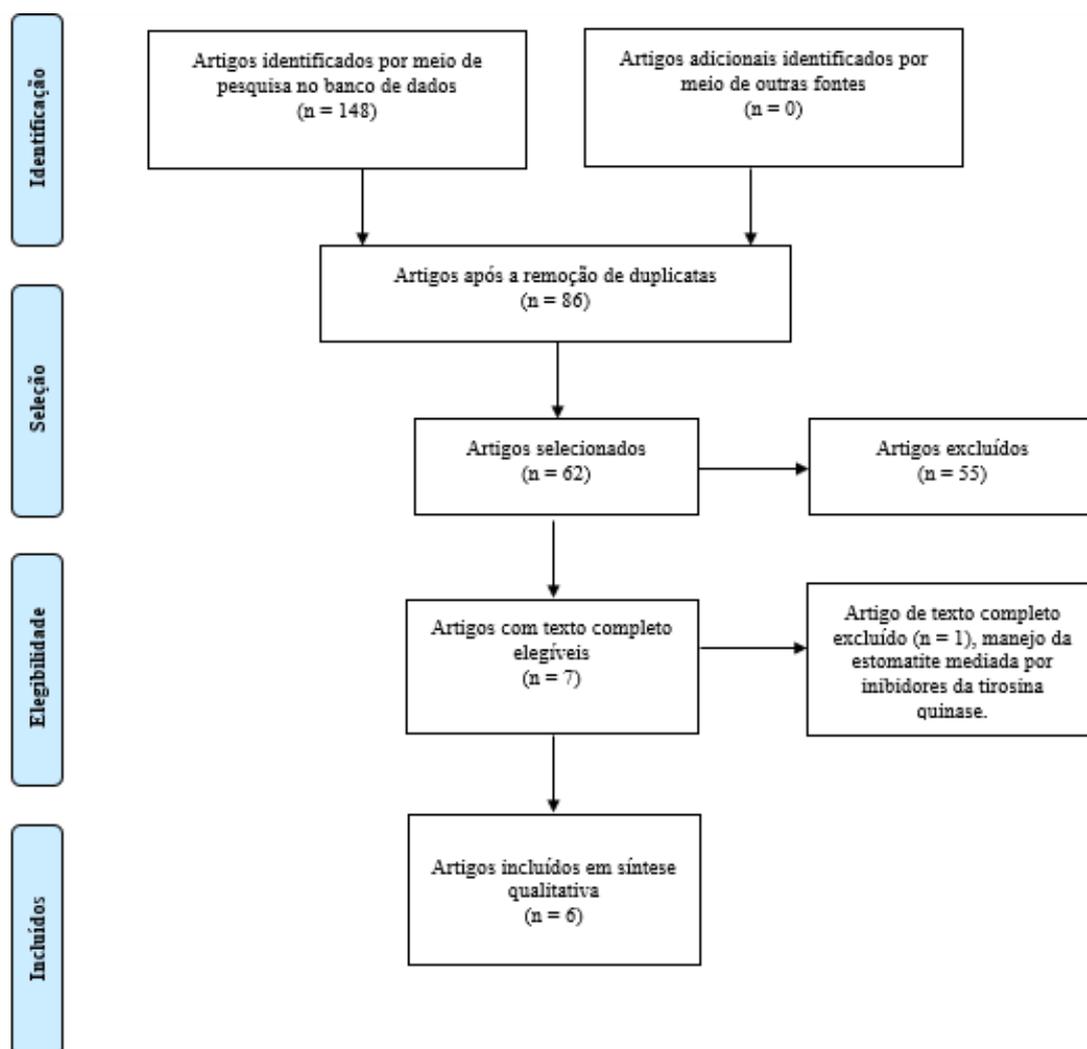
inibidores da tirosina quinase. Adicionalmente, a busca ativa secundária resultou na inclusão de 24 estudos que complementaram a fundamentação teórica.

Após a análise dos dados, pôde ser observado que os estudos clínicos incluídos no presente trabalho foram publicados em uma janela temporal de 21 anos, entre o período de 1996 a 2017, sendo que os anos de 2015 a 2017 se destacaram, pois apresentaram quatro das seis publicações totais incluídas no presente estudo. Para elaboração da presente revisão, foram incluídos cinco ensaios clínicos que compararam os efeitos da camomila tópica na MO quimioinduzida^{15,16,118-120} e um estudo na MO proveniente da radioterapia em região de cabeça e pescoço¹¹⁵, totalizando 492 pacientes oncológicos distribuídos entre eles. A média das amostras de todos os ensaios clínicos foi de 82 pacientes (DP: 43.50).

Com relação aos dados sociodemográficos, obteve-se uma média de idade de 41,36 anos (DP: 17.53) dos indivíduos, com variação entre seis e 64 anos de idade. O estudo de Shabanloei et al.¹¹⁹ (2009) não informou a idade mínima dos pacientes incluídos. A maior parte da população estudada foi do sexo masculino (n=293), com representatividade de 59,5% da amostra total, enquanto o sexo feminino foi representado por 40,4% dos pacientes (n=199).

Dos cinco estudos que envolveram o uso de agentes quimioterápicos, três englobaram pacientes com tumores sólidos^{15,118,119}, e dois utilizaram altas doses desse agente para o tratamento de neoplasias malignas hematológicas^{16,120}. Dentre os tumores sólidos tratados através da quimioterapia, Shabanloei et al.¹¹⁹ (2009) não especificaram os sítios envolvidos, bem como os agentes quimioterápicos utilizados. Dos Reis et al.¹⁵ (2016) tiveram como foco a abordagem do câncer gástrico ou colorretal, através do uso do 5-fluorouracil (5-FU) e leucovorin. E Fidler et al.¹¹⁸ (1996) informaram somente o uso do 5-FU como agente antineoplásico, sem citar os tumores envolvidos no tratamento. Com relação aos estudos que adotaram a quimioterapia em neoplasias malignas hematológicas, Braga et al.¹⁶ (2015) avaliaram pacientes submetidos a ciclos de bussulfano e ciclofosfamida, fludarabina e melfalano, ou fludarabina e bussulfano, com enfoque para o condicionamento de transplante de células-tronco hematopoiéticas, enquanto Pourdeghatkar et al.¹²⁰ (2017) avaliaram crianças com leucemia linfoblástica aguda submetidas à quimioterapia exclusiva com citarabina e metotrexato. A consolidação dos resultados foi desenvolvida pelos autores, conforme mostra a Tabela 1.

Figura 1 – Fluxograma de identificação dos artigos selecionados (LBO, UFBA, 2021).



Fonte: autoria própria.

Com relação à metodologia adotada, dois trabalhos compararam o efeito tópico da camomila com placebo^{16,118}; um estudo empregou a crioterapia com cubos de gelo¹⁵; dois ensaios clínicos do Irã adotaram como controle positivo o aloupurinol, um inibidor seletivo do ácido úrico^{119,120}; e o estudo de Bahramnezhad et al.¹¹⁵ (2015) teve como objetivo principal avaliar comparativamente os efeitos do enxaguante com mel natural puro em relação à camomila. Quanto à forma de uso da camomila, todos os estudos padronizaram o uso tópico com enxaguante bucal. Todavia, dos Reis et al.¹⁵ (2016), Braga et al.¹⁶ (2015) e Shabanloei et al.¹¹⁹ (2009) produziram o enxaguante a partir de flores da planta. De acordo com Shabanloei et al.¹¹⁹ (2009), depois da moagem e pesagem, as flores foram inseridas em recipientes fechados e água destilada fervente foi adicionada em duas etapas, com o objetivo de se obter o volume de 8g em 50cc. Logo

em seguida, a solução foi filtrada, engarrafada e selada para uso. Dos Reis et al.¹⁵ (2016) produziram *chips* de gelo com infusão de camomila a 2,5% e Braga et al.¹⁶ (2015) realizaram uma formulação mais complexa, que consistiu na elaboração do enxaguante no laboratório farmacotécnico de uma universidade pública. As flores foram desidratadas e rigorosamente controladas até a obtenção do produto final, e as características físico-químicas e microbiológicas das espécies vegetais foram avaliadas de acordo com os métodos descritos em USP30-NF2527 e pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Os níveis do marcador de apigenina-7-glicosídeo na formulação final foram de 0,054, 0,108 e 0,216 mg/ml para as dosagens de 0,5%, 1% e 2%, respectivamente. Dois estudos adotaram o uso de enxaguante à base de camomila comercialmente disponível no Irã, sendo que Pourdeghatkar et al.¹²⁰ (2017) utilizaram a diluição de 30 gotas de 30 ml da solução de camomila (Matrika barijessans, kashan, Irã) em 20cc de água durante um minuto, enquanto Bahramnezhad et al.¹¹⁵ (2015) adotaram a mistura de 3 ml de Matricaria (Barij Pharmaceutical Company, Irã) com meio copo de água. Por fim, Fiddler et al.¹¹⁸ (1996), utilizaram, em seu experimento, um antisséptico proveniente da mistura de 100 ml de água com 30 gotas de camomila concentrada (ASTA Medica, Incorporated, Hackensack, NJ).

Com relação à administração da camomila, um estudo orientou a aplicação duas vezes ao dia¹⁶, e dois experimentos indicaram o uso tópico três vezes ao dia^{118, 120}. Um único trabalho teve como orientação a aplicação tópica diária de quatro vezes¹¹⁹, e o estudo de dos Reis et al.¹⁵ (2016) adotou o uso da crioterapia com camomila em momento único, que se iniciou na pré-quimioterapia e permaneceu durante a infusão do agente químico, conforme a descrição da Tabela 1. Vale ressaltar que um único ensaio clínico não deixou clara a quantidade de administração diária da camomila tópica, pois somente disponibilizou a informação de que o enxágue ocorreu por 60 segundos, durante três semanas¹¹⁵.

Todos os estudos^{15,16,115,118-120} avaliaram os parâmetros clínicos da MO através do sistema de graduação proposto pela OMS em 1979¹²¹. Além da avaliação da MO, o estudo de Shabanloei et al.¹¹⁹ (2009) avaliou a dor associada à mucosite quimioinduzida; dos Reis et al.¹⁵ (2016) analisaram a dor, o grau de desconforto e percepção do paladar associado com uso tópico desse agente; Braga et al.¹⁶ (2015) avaliaram as propriedades organolépticas do enxaguante de camomila, bem como os efeitos adversos manifestados pelo uso tópico, através de entrevista com a adoção dos termos "nunca" até "muito frequente"; e Fidler et al.¹¹⁸ (1996) aplicaram questionário referente à toxicidade desse

agente natural. Todos esses dados, bem como os períodos de análise encontram-se também compilados na Tabela 1.

No que diz respeito aos períodos de avaliação dos parâmetros clínicos, Shabanloei et al.¹¹⁹ (2009) avaliaram as variáveis MO e dor em quatro fases distintas, que compreendeu m período total de 16 dias de uso da camomila, com início no primeiro dia de quimioterapia. Todavia não informou com exatidão o dia de início e o de término de cada fase. As avaliações do estudo de Pourdeghatkar et al.¹²⁰ (2017) ocorreram um dia antes de se iniciar a quimioterapia, no 7º e 14º dia após a infusão. No ensaio clínico de dos Reis et al.¹⁵ (2016), a avaliação da MO e da dor ocorreram nos dias oito, 15 e 22 após a primeira infusão do quimioterápico; e, de forma semelhante, Bahramnezhad et al.¹¹⁵ (2015) aferiram a graduação da mucosite em três momentos distintos: 1º, 7º e 14º dia após o início da radioterapia locorregional. Por fim, Fiddler et al.¹¹⁸ (1996) acompanharam o desenvolvimento da MO no primeiro dia de infusão do 5-FU até o 14º dia e aplicaram o questionário para avaliação de toxicidade no 1º dia de quimioterapia e três semanas depois.

Quanto ao desfecho, pôde-se observar que a aplicação da camomila tópica em MO foi eficaz na maioria dos estudos, do ponto de vista clínico^{15,16,119,120}. Todavia dois estudos não demonstraram superioridade da camomila em relação ao mel¹¹⁵ e ao placebo¹¹⁸. Ademais, a camomila tópica não demonstrou causar toxicidade^{15,118} ou intolerância¹⁶.

De acordo com a estratégia CONSORT, no estudo de dos Reis et al.¹⁵ (2016), foram implementadas 31 recomendações dos 37 critérios previamente estabelecidos (83,78%), e, no estudo de Braga et al.¹⁶ (2015) e no de Bahramnezhad et al.¹¹⁵ (2015), foram inseridas 25 recomendações (67,5%). Os demais estudos obtiveram índices semelhantes, com alguma limitação na metodologia, mas que não interfere em sua reprodução, o que torna os artigos transparentes, ordenados de forma lógica, bem conduzidos e com objetivos precisos (Tabela 1).

Tabela 1 – Características gerais dos estudos incluídos (LBO, UFBA, 2021).

AUTOR, ANO, PAÍS DO ESTUDO	OBJETIVO	AMOSTRA (n) E DESCRIÇÃO DA AMOSTRA	TERAPIA ONCOLÓGICA	GRUPO INTERVENÇÃO (CAMOMILA) E PROTOCOLO TERAPÊUTICO	GRUPO CONTROLE OU GRUPO COMPARAÇÃO	PARÂMETROS AVALIADOS	RESULTADOS	DESFECHO	DIRETRIZ CONSORT
dos Reis et al. ¹⁵ 2016 Brasil Estudo piloto randomizado cego	Comparar a crioterapia com água e a crioterapia com infusão de camomila na prevenção e redução da intensidade da MO induzida por 5-FU.	Total de 38 pacientes acima de 18 anos, com câncer gástrico ou colorretal, que foram alocados em dois grupos: grupo controle (GC: crioterapia com água, n=18); grupo experimental (GE: crioterapia com camomila, n=20).	QT com 5-FU e Leucovorin (4 a 6 ciclos), durante 5 dias consecutivos de infusão e descanso de 21 dias.	Chips de gelo feito com infusão de camomila a 2,5%. Pacientes instruídos a esfregar o gelo em sua cavidade oral por pelo menos 30 minutos durante a QT, com início 5 minutos antes da infusão.	Os pacientes receberam uma xícara com chips de gelo feito com água pura e foram instruídos a utilizar de forma semelhante ao grupo camomila.	Durante o uso dos <i>chips</i> , houve o preenchimento de ficha referente ao gosto do gelo (bom, ruim ou indiferente), dor e desconforto (escala com 10 pontos).	Com relação à dor, o GC teve maior pontuação em todos períodos avaliados ($p=0,02$, $p=0,09$ e $p=0,14$, respectivamente). A presença de úlcera foi significativa apenas no dia 8 ($p=0,10$). Na MO, houve ocorrência em 50% no GC e 30% no GE, sem manifestação de grau 2 ou mais.	A ocorrência de MO e dor foi menor nos pacientes que fizeram uso da camomila em relação ao GC. Nenhuma toxicidade em relação à camomila foi observada.	Valor absoluto: 31 83,78% atenderam aos critérios
Braga et al. ¹⁶ 2015 Brasil Ensaio clínico randomizado Fase II	Identificar a dosagem do extrato líquido de <i>C. recutita</i> , necessária para reduzir a incidência e intensidade da MO em pacientes adultos submetidos ao TCTH	Total de 40 pacientes (acima de 18 anos), divididos em 4 grupos: controle e três experimentais: enxaguatório bucal contendo concentrações de <i>C. recutita</i> .	Regime de condicionamento para o TCTH.	Enxaguante bucal de camomila nas concentrações de 0,5%, 1% e 2%. Os pacientes foram instruídos a enxaguar a boca com 10 mL da solução 2 vezes ao dia, 1 hora antes das 3 principais refeições, por 1 minuto e não engolir. O uso se iniciou no 1º dia de condicionamento e terminou quando a mucosa voltou ao normal ou a contagem de	Sem intervenção.	Avaliação da MO com a escala da OMS. A percepção sobre as características organolépticas (sabor, cheiro e cor) e a presença de náuseas, vômito e queimação na boca foram aferidos pela escala de	A incidência de MO foi menor no grupo camomila 1% (30%), em comparação com o grupo controle (90%) ($p=0,01$). Quatro pacientes (40%) com dosagem de 2% não desenvolveram MO. Nos grupos 0,5% e 2%, 60% da amostra manifestou ulceração em cavidade oral.	A camomila na concentração de 1% demonstrou redução na incidência, intensidade e duração da MO em pacientes adultos submetidos ao TCTH	Valor absoluto: 25 67,5% atenderam aos critérios

	alogênico.			granulócitos foi excedida 500 mm ³ por 3 dias consecutivos em pacientes que não desenvolveram MO.		avaliação de Likert.	Independentemente do grupo, 84% dos pacientes classificaram o enxaguante como “muito agradável” ou “agradável”. Apenas 4 pacientes relataram náuseas e 1 relatou sensação de queimação.	alogênico.	
Bahramnez had et al. ¹¹⁵ 2015	Avaliar, de forma comparativa, os efeitos do enxaguante com mel natural puro e da camomila na prevenção da MO por radiação em pacientes com CCP.	Um total de 105 pacientes com idade superior a 8 anos e com CCP foram alocados em 3 grupos: grupo mel, grupo camomila e grupo controle.	Radioterapia em região de cabeça e pescoço-200 cGY/dia.	Enxaguante bucal com camomila durante 60 segundos, por 3 semanas.	Grupo mel: colutório com 20 ml ou 5 colheres de mel misturado em um copo de água e dividido em 2 partes iguais (30 segundos de uso de cada parte). Grupo controle: colutório com 20 ml de água após cada refeição. Uso: 3 semanas.	Avaliação da MO de acordo com a escala de da OMS.	Houve diferença estatisticamente significativa entre os 3 grupos em relação à severidade da MO no 14º dia ($p=0,028$ e $p=0,00$).	A aplicação de mel natural foi eficaz no controle e na prevenção da MO radioinduzida em pacientes com CCP.	Valor absoluto: 25 67,5% atenderam aos critérios
Fiddler et al. ¹¹⁸ 1996	Avaliar se o antisséptico com camomila ameniza a MO em pacientes submetidos à QT com 5-FU.	Total de 164 pacientes foram alocados em dois grupos: placebo (n=82) e camomila (n=82).	QT com 5-FU no 1º ciclo, com 5 dias seguidos de QT.	Antisséptico bucal de camomila foi administrado 3 a 5 vezes ao dia por 1 minuto (até finalizar 100 mL), durante 14 dias, a partir do 1º dia de QT.	Antisséptico bucal de aparência idêntica com a camomila (100 ml de água com 30 gotas de placebo concentrado), 3 a 5 vezes ao dia, por 1 minuto, durante 14 dias, a partir do 1º dia de QT.	Avaliação da MO com escala da OMS, do 1º ao 14º dia.	Não houve diferença estatística na MO entre os 2 grupos, com relação à severidade e duração ($p=0,32$ e $p=0,85$, respectivamente).	Os resultados clínicos não apoiam a hipótese de que a camomila pode diminuir a MO induzida por 5-FU.	Valor absoluto: 21 56,75% atenderam aos critérios

Shabanloei et al. ¹¹⁹ 2009	Determinar e comparar a eficácia de aloupurinol, camomila e solução salina na prevenção da MO induzida por QT.	Total de 83 pacientes com tumores sólidos foram alocados em 3 grupos: grupo I aloupurinol; grupo II: camomila; grupo III: solução salina.	QT exclusiva.	Grupo II: o preparo do enxaguante bucal de camomila ocorreu através do uso de flores da planta diluídas em água destilada. Uso ocorreu 4 vezes ao dia durante 16 dias consecutivos, sendo o 1º dia de uso no dia em que se iniciou a QT.	Grupo I: o pó do aloupurinol foi adicionado à solução de hidroxila propil metil celulose (5mg/mL). Grupo III: enxaguante bucal de solução salina. Uso idêntico ao grupo camomila.	Avaliação da MO com a escala da OMS. Dor, através de escala numérica de 0 a 10.	Os grupos I e II mostraram resultados semelhantes nas variáveis dor ($p=0,071$) e MO ($p=0,059$). Todavia em relação ao grupo III, ambos demonstraram melhores resultados em ambas variáveis com $p=0,027$ e $p=0,017$.	Os resultados indicaram eficácia semelhante do aloupurinol e camomila na prevenção da mucosite induzida por QT.	Valor absoluto: 16 43,2% atenderam aos critérios.
Pourdeghat kar et al. ¹²⁰ 2017	Comparar os efeitos do enxaguante à base de aloupurinol e camomila na prevenção da MO induzida por QT em crianças com câncer.	Total de 62 crianças (6 a 15 anos) com LLA foram divididas em 2 grupos: grupo de controle (camomila) e grupo teste.	QT com citarabina e metotrexato.	O grupo de controle utilizou enxaguante bucal com camomila, 3 vezes ao dia, com início 1 dia antes da QT e que se estendeu por 28 dias consecutivos.	O uso do enxaguante (sucralfato, aloupurinol, bicarbonato 7,5% em soro fisiológico) se iniciou 1 dia antes da QT e continuou por 14 dias consecutivos. Após a escovação, os pacientes realizaram bochecho 3 vezes ao dia.	Avaliação da MO de acordo com a escala da OMS.	A frequência e a severidade da MO no 7º dia pós-QT não foram significativas ($p=0,46$) nos 2 grupos. No 14º dia pós-QT, o grupo camomila demonstrou melhores índices no controle da MO ($p=0,001$).	O enxaguante bucal com camomila foi eficaz na prevenção da MO em crianças oncológicas.	Valor absoluto: 20. 54,05% atenderam aos critérios.

Legenda: CCP: câncer de cabeça e pescoço; MO: mucosite oral; QT: quimioterapia; OMS: Organização Mundial da Saúde; LLA: leucemia linfoblástica aguda; 5-FU: 5-fluorouracil; cGY: centigray; TCTH: transplante de células-tronco hematopoiéticas.

Fonte: autoria própria.

O risco de viés foi considerado baixo para os estudos incluídos. Houve uma diminuição mínima na qualidade metodológica, pois, em alguns estudos, informações sobre o cegamento de avaliadores de desfecho não estavam presentes^{15, 115, 118-120} (Figura 2).

Figura 2 – Resumo dos métodos de revisão: avaliação dos revisores e autores em cada aspecto metodológico (apresentação da qualidade de cada item nos estudos incluídos, com base no Instrumento de Colaboração da *Cochrane*⁹³) (LBO, UFBA, 2021).

	Geração de sequência aleatória (viés de seleção)	Ocultação de alocação (viés de seleção)	Cegamento participantes e profissionais (viés de performance)	Cegamento de avaliadores de desfecho (viés de detecção)	Desfechos incompletos (viés de atrito)	Relato de desfecho seletivo (viés de relato)	Outras fontes de vieses
Bahramnezhad et al., 2015	+	+	+	?	+	+	+
Braga et al., 2015	+	+	+	+	+	+	+
Dos Reis et al., 2016	+	+	+	?	+	?	+
Fiddler et al., 1996	?	+	+	?	+	+	+
Pourdeghatkar et al., 2017	?	?	+	?	+	?	+
Shabanloei et al., 2009	+	-	?	?	+	?	?

Fonte: autoria própria.

4.1.4 Discussão

O presente estudo objetivou realizar uma revisão sistemática da literatura sobre a ação da camomila tópica no manejo da MO radioquimioinduzida por meio de ensaios clínicos. Com o objetivo de maximizar a avaliação e a utilização das informações apresentadas pelos estudos, foi utilizada a estratégia PICO (paciente, intervenção, comparação e desfecho)⁹⁰. Quatro dos seis ensaios incluídos na presente revisão sugerem que a aplicação da camomila apresenta capacidade de prevenir ou tratar lesões de MO em pacientes oncológicos submetidos a regimes de condicionamento mieloablativos para o transplante de células-tronco hematopoiéticas^{16,120}, bem como em pacientes com neoplasias malignas sólidas, sob tratamento quimioterápico^{15,119}.

Com relação à população estudada, apesar de haver uma ampla variação entre as idades dos pacientes oncológicos incluídos, dos seis aos 64 anos, observou-se que, além dos resultados positivos referentes à camomila no manejo da MO^{15,16,119,120}, ela foi bem aceita e tolerada pela maioria dos pacientes de todas as faixas etárias, que, mesmo sob a presença de efeitos comuns da terapia oncológica, como náuseas, enjoos e vômitos, não manifestaram queixas severas sobre esse agente natural^{15,16}.

De acordo com a metodologia empregada para avaliação da MO, todos os estudos adotaram a mesma escala de graduação¹²¹, o que favorece a padronização da análise clínica dos resultados de forma mais fidedigna, uma vez que os mesmos critérios foram adotados para avaliação do processo de reparo tecidual. Ademais, embora existam vários sistemas de aferição da MO, a classificação proposta pela OMS combina diferentes aspectos objetivos e subjetivos da mucosite, pois analisa, de forma ampla e prática, os sinais, sintomas e distúrbios funcionais dos pacientes oncológicos, o que torna sua aplicação simples e rápida, além de determinar uma pontuação global eficaz¹²².

Todos os estudos adotaram o uso da camomila tópica no manejo da MO, conforme critério de inclusão estabelecido. Todavia uma diferença que pôde ser observada entre os trabalhos está no padrão de forma de uso e apresentação. Nos estudos de dos Reis et al.¹⁵ (2016), Braga et al.¹⁶ (2015) e Shabanloei et al.¹¹⁹ (2009), houve a produção do enxaguante a partir de flores da planta, enquanto Bahramnezhad et al.¹¹⁵ (2015) e Pourdeghatkar et al.¹²⁰ (2017) utilizaram diferentes tipos de enxaguante de camomila comercialmente disponíveis no Irã e, de forma semelhante, Fidler et al.¹¹⁸

(1996) adotaram o uso da mistura de camomila concentrada (ASTA Medica, Incorporated, Hackensack, NJ) diluída em água, o que originou um antisséptico bucal. De forma diferente, dos Reis *et al.*¹⁵ produziram *chips* de gelo de camomila, o que possivelmente configura uma ação conjugada dos efeitos benéficos desse agente natural com a crioterapia, através da promoção de vasoconstricção local. De acordo com a OMS, em 1999¹⁷, as formas de apresentação da camomila também incluem flores secas, extrato líquido (1:1 em 45% de álcool), tinturas e outros galênicos. Além disso, ela também pode ser encontrada sob a forma de vapor, cápsula ou comprimido cum extrato seco, tinturas, infusão e óleo volátil¹⁸. Com relação à administração tópica da camomila, o uso variou de duas¹⁶ até quatro vezes ao dia¹¹⁹. Dois estudos ficaram no meio termo e realizaram aplicação tópica diária de três vezes^{118,120}. Apesar de haver diferença entre as formas de produção, posologias e uso da camomila, a maioria dos estudos demonstraram efeitos satisfatórios da camomila tópica, no que diz respeito à menor ocorrência ou diminuição da gravidade das lesões de MO^{15,16,119,120}, bem como na sintomatologia dolorosa associada a essas lesões^{16,119}.

O efeito favorável da camomila tópica, de acordo com os estudos incluídos, se deve a suas propriedades medicinais já previamente estabelecidas, que inclui a ação anti-inflamatória e analgésica, devido à presença do camazuleno, alfa bisabolol, óxidos de bisabolol, espirômetros e compostos flavonoides^{9,10,123}. De acordo com dois dos seis estudos incluídos na presente revisão^{15,16}, a camomila foi eficaz no manejo da mucosite quimioinduzida devido à inibição da produção da ciclooxigenase-2 (COX-2), enzima pertencente à cascata da inflamação. Além disso, Braga *et al.*¹⁶ (2015) afirmaram que a quantidade de apigenina-7-glicosídeo, que representa um composto flavonoide, determina a atividade anti-inflamatória desse agente natural. Todavia, no estudo realizado por Fidler *et al.*¹¹⁸ (1996), os resultados obtidos não constataram que a camomila foi superior ao grupo placebo, no que diz respeito à diminuição da severidade das lesões de MO induzida por 5-FU. Um possível fator para esse resultado se deve ao fato de que os pacientes de ambos os grupos foram submetidos à crioterapia antes de cada dose de quimioterapia. Esse mecanismo, por si só, já confere a prevenção da mucosite induzida por quimioterápicos com meia vida curta, como é o caso do 5-FU, de acordo com o guia proposto pela Associação Multinacional de Cuidados de Suporte em Câncer, Sociedade Internacional de Oncologia Oral (MASCC/ISSO)¹¹¹. Dessa maneira, esse resultado deve ser avaliado com cautela, uma vez que a união de duas modalidades

terapêuticas consideradas preventivas no manejo da mucosite pode configurar um viés, quando comparada com estudos que utilizaram a camomila tópica de forma exclusiva.

Por esse motivo, o estudo de dos Reis et al.¹⁵ (2016) avaliou não somente a capacidade reparadora como também o potencial de analgesia desse agente natural, através da aplicação de escala visual analógica. De acordo com os resultados obtidos, a percepção de dor no grupo de controle foi maior em relação ao grupo camomila em todos os períodos de avaliação, que ocorreram no 8º, 15º e 22º dia pós-quimioterapia, o que confirma o potencial analgésico da camomila, o qual, de acordo com Braga *et al.*¹⁶, se deve à capacidade de inibição da COX-2.

Um único estudo avaliou o efeito da camomila tópica na prevenção da MO em pacientes submetidos à radioterapia em região de cabeça e pescoço¹¹⁵. Os resultados não revelaram superioridade desse agente natural em relação ao colutório com mel natural. Uma das possíveis causas se deve ao fato de que a cascata biológica de indução da mucosite radioinduzida é diferente em relação à mucosite relacionada com agentes quimioterápicos¹²², pois a radioterapia compreende a utilização de radiação ionizante diretamente no alvo, com efeito locorregional, enquanto a quimioterapia envolve a aplicação sistêmica de agentes químicos, com capacidade de agir nas células do organismo humano com altas taxas de replicação, o que inclui a cavidade oral^{106,107}. Diante desse contexto, de acordo com a MASCC, ISSO¹¹¹, existem terapias que são recomendadas de forma exclusiva para o manejo da MO quimioinduzida, como é o caso da crioterapia. A benzidamina, um anti-inflamatório não esteroide de uso tópico, é recomendada para a prevenção dessas lesões em pacientes sob radioterapia que recebem dose de irradiação moderada (< 50 Gy)¹¹³. De forma complementar, a literatura sugere o uso de outras terapias direcionadas para a mucosite proveniente de todas as terapias oncológicas, como é o caso de protocolos adequados de higiene oral, o que inclui a escovação associada com orientação de higiene oral e cuidados profissionais¹²⁴.

Dentre os possíveis motivos para os achados de dois estudos serem contraditórios, estão as diferenças metodológicas, o que inclui a forma de apresentação da camomila e a aplicação em diferentes grupos oncológicos^{115,118}. Todavia, ao se considerar que esses pacientes fazem uso de uma gama de medicamentos devido à sua condição sistêmica associada ao aumento dos gastos gerados pela terapia antineoplásica, a busca por alternativas terapêuticas de fácil acesso e baixo custo se torna necessária, o que favorece a realização de estudos que utilizem agentes naturais, dentre eles, a camomila. Além

desse fato, a camomila é bem tolerada pelo organismo, conforme foi demonstrado no estudo de Braga et al.¹⁶, em que 84% dos pacientes atribuíram à camomila um sabor muito agradável ou agradável, e no estudo de dos Reis et al.¹⁵, em que nenhuma toxicidade em relação à camomila foi observada. Dessa maneira, o aumento progressivo de seu consumo torna-se viável, conforme foi demonstrado na presente revisão, em que quatro dos seis estudos foram realizados entre os anos de 2015 e 2017. Ressalta-se que, por falta de regulamentação rigorosa, a necessidade de o fabricante nutracêutico comprovar eficácia, segurança e qualidade de um produto comercializado é menos reforçada em relação ao setor farmacêutico. Portanto, muitos produtos disponíveis podem ser ineficazes devido a uma menor fiscalização.

Com relação ao período final de avaliação da MO, houve uma variação entre o 14º dia após o início da terapia oncológica até o 22º dia. Todavia essa diferença entre os estudos não configura viés metodológico, uma vez que todos abrangem o período em que se espera desenvolver lesões de MO pós-infusão quimioterápica ou pós-radioterapia em cabeça e pescoço.

Vale ressaltar que revisões sistemáticas e metanálises estão no topo da hierarquia da evidência científica, de modo que a prática baseada nesses tipos de estudos pode ser realizada, desde que possua comprovação constatada^{125,126}.

No geral, a maioria dos estudos demonstrou adequada ocultação de alocação e cegamento de avaliadores e desfecho. Dos seis estudos analisados, quatro apresentaram, de forma clara, a ocultação de alocação^{15,16,115,118}, e, em um estudo¹²⁰, essa avaliação não foi possível. Ressalta-se o potencial viés relacionado ao número limitado de artigos disponíveis nas bases de dados, o que levou à procura por artigos com grau de evidência reduzido.

Algumas limitações foram observadas durante a elaboração da presente revisão sistemática. No estudo de Shabanloei et al.¹¹⁹ (2009), não foi informada a idade mínima dos pacientes incluídos e não houve especificação dos sítios envolvidos, bem como dos agentes quimioterápicos utilizados. De forma semelhante, Fidler et al.¹¹⁸ (1996) não informaram os tumores sólidos envolvidos no tratamento oncológico. Por fim, Bahramnezhad et al.¹¹⁵ (2015) não esclareceram a quantidade de administração diária da camomila tópica, pois somente disponibilizaram a informação que o enxágue ocorreu por 60 segundos, durante três semanas. Devido a essas limitações, recomenda-se fortemente a realização de novos ensaios clínicos controlados, que visem ao uso da

camomila tópica no manejo da MO, uma vez que não existe terapia isolada considerada padrão-ouro para a prevenção e (ou) tratamento dessa condição debilitante dos pacientes oncológicos, o que, muitas vezes, requer a interrupção da terapia antineoplásica, com diminuição da qualidade de vida ou até mesmo risco de óbito do paciente^{22,106,111,112}.

4.1.5 Conclusão

Com base no que foi apresentado, pode-se considerar que a terapia tópica com camomila, no manejo preventivo e terapêutico da MO quimioinduzida em pacientes oncológicos com faixa etária ampla, parece ser bem indicada. Ademais, por ser um agente natural de fácil acesso e baixo custo, mais estudos de alta qualidade são necessários para melhor estabelecer dosagem, concentração, intervalo de aplicação e duração do tratamento. A eficácia clínica da planta determinará protocolos úteis para seu emprego, além de melhorar a qualidade de vida dos pacientes oncológicos. Vale ressaltar que o estadiamento e o tipo de câncer, bem como os agentes quimioterápicos e o número de ciclos utilizados, são fatores que interferem no manejo da mucosite e devem ser considerados.

4.2 ARTIGO 2

AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DA *MATRICARIA RECUTITA* ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO À TERAPIA FOTODINÂMICA NO REPARO TECIDUAL EM DORSO DE LÍNGUA DE RATOS

Juliana Borges de Lima Dantas¹, Tila Fortuna², Hortência Resende Della Cella³, Fábio Luís Meneses de Sousa da Silva⁴, Rejane Conceição Santana⁵, Gabriela Botelho Martins⁶

¹ Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA).

² Doutora do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA).

³ Graduada de Odontologia. Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (FOUFBA).

⁴ Responsável pelo Laboratório de Histologia e Embriologia (LHE) da Faculdade Adventista da Bahia (FADBA).

⁵ Doutora em Patologia Humana pela UFBA. Professora Associado do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA).

⁶ Doutora em Estomatologia Clínica pela PUCRS. Professora Associado do Instituto Multidisciplinar de Reabilitação e Saúde da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Endereço de correspondência:

Juliana Borges de Lima Dantas

Endereço: Av. Reitor Miguel Calmon s/n, Vale do Canela, 4º andar (sala 413). Laboratório de Bioquímica Oral do Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. CEP 40.110-100. Salvador, Bahia, Brasil.

Tel.: (+55) (71) 3283-8891

E-mail: judyborges@gmail.com

Resumo

Introdução: As úlceras são lesões comuns em mucosa oral. A busca por tratamentos que acelerem a cicatrização dessas lesões constitui interesse constante. A *Matricaria recutita* é uma planta com propriedade antimicrobiana, anti-inflamatória e cicatricial, enquanto a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) erradica microrganismos, favorecendo o reparo tecidual. **Objetivo:** Avaliar o efeito da camomila associada ou não com a TFDa no reparo tecidual em dorso de língua de ratos. **Material e métodos:** Setenta e cinco ratos *Wistar* machos, foram submetidos à realização de uma úlcera padronizada em dorso lingual com *punch* de 5 mm de diâmetro e alocados randomicamente nos grupos: controle (G1), extrato fluido camomila (G2), infusão camomila (G3), TFDa (G4), infusão camomila + TFDa (G5). No 3º, no 7º e no 14º dia ocorreu a eutanásia e a medição das úlceras com paquímetro. Avaliações de edema, infiltrado inflamatório, celularidade, reepitelização e caracterização do colágeno foram realizadas em secções coradas com hematoxilina e eosina e sírius vermelho. Análises histomorfométricas do percentual de colágeno, da distância da camada basal à superfície epitelial e da espessura da camada córnea foram realizadas. **Resultados:** O G2 modulou positivamente as fases iniciais do reparo, tanto clínica ($p < 0,0001$) como histologicamente, tanto na análise descritiva como na inferencial ($p < 0,05$). O G3 mostrou diferença significativa em relação ao G1 no parâmetro clínico ($p < 0,0001$). O G4 e o G5 não modificaram o reparo tecidual. **Conclusão:** O extrato fluido de camomila exerceu melhores efeitos no reparo tecidual nas línguas dos ratos. Houve diferença nos parâmetros clínicos, histológicos e histomorfométricos entre os grupos experimentais da presente investigação.

Palavras-chave: Camomila. Matricaria. Terapia fotodinâmica. Azul de metileno. Cicatrização.

Abstract

Introduction: Ulcers are common oral cavity lesions. The search for treatments that accelerate the healing of these lesions is of constant interest. *Matricaria recutita* is a plant with antimicrobial, anti-inflammatory, and healing properties, and antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) eradicates microorganisms, which favors tissue repair. **Objective:** To evaluate the effect of the topical use of chamomile with or without aPDT on tissue repair in the dorsum of the tongue of rats. **Material and methods:** Seventy-five male *Wistar* rats underwent standardized ulceration on the dorsum of the tongue using a punch of 5 mm diameter and were randomly allocated into the following groups: control (G1), Chamomile Fluid Extract (G2), Chamomile Infusion (G3), aPDT (G4), and Chamomile Infusion + aPDT (G5). On the 3rd, 7th, and 14th days postoperatively, euthanasia was performed, and the ulcers were measured using calipers. The presence of edema, inflammatory infiltrate, cellularity, re-epithelialization, and characterization of total collagen were evaluated using sections stained with Hematoxylin and Eosin and Red Sirius. Histomorphometric analyses of the percentage of total collagen, the distance from the basal layer to the epithelial surface, and the thickness of the stratum corneum were performed. **Results:** G2 positively modulated

the exudative and proliferative phases of repair, both clinically ($p < 0.0001$) and histologically, whether in descriptive or inferential analyses ($p < 0.05$). G3 showed a significant difference in clinical parameters compared with G1 ($p < 0.0001$). G4 and G5 did not positively modulate tissue repair. **Conclusion:** The chamomile fluid extract showed better outcomes for tissue repair in the rat tongue. There were differences in the clinical, histological, and histomorphometric patterns among this study's experimental groups.

Keywords: Chamomile. Matricaria. Photochemotherapy. Methylene blue. Wound healing.

4.2.1 Introdução

As úlceras constituem as lesões mais frequentes da cavidade oral. Caracterizam-se por dor e desconforto, em virtude da perda de epitélio e exposição das terminações nervosas do tecido conjuntivo subjacente, o que afeta a qualidade de vida dos indivíduos^{59,127}. Por apresentarem etiopatogenia variada, o que inclui trauma, processos infecciosos, inflamatórios e doenças imunologicamente mediadas, seu tratamento, muitas vezes, torna-se complexo, principalmente em circunstâncias em que essas lesões se tornam infectadas^{86,128}.

Existem diversas opções terapêuticas capazes de promover a cicatrização dessas úlceras, com modificações das fases do processo de reparo, as quais podem ser usadas de forma isolada ou em combinação⁴⁻⁹. Dentre os principais recursos utilizados para acelerar o reparo tecidual, destacam-se os agentes sintéticos, que incluem os antimicrobianos e imunomoduladores¹²⁹, além da fotobiomodulação laser⁷, que se caracteriza por ser um dispositivo com emissão estimulada de radiação não ionizante^{4,7}. Além desses recursos, nas últimas décadas, o uso crescente de ervas medicinais tornou-se frequente em virtude de fácil acesso, baixo custo e mínimos efeitos adversos descritos. O potencial terapêutico desses agentes naturais tem estimulado seu uso para o tratamento de diversas enfermidades, inclusive as úlceras em cavidade oral^{5,6,8,9}.

A camomila, também conhecida como *Matricaria recutita*, é uma das infusões mais utilizadas em todo o mundo. É uma planta medicinal natural, pertencente à família *Asteraceae*, amplamente conhecida e de alta disponibilidade ao público, cujos capítulos florais apresentam propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antiespasmódicas, antioxidantes, sedativas e cicatriciais^{5,9}. Apresenta cerca de 120 componentes bioativos, em que se destacam os compostos fenólicos, responsáveis pela ação antioxidante⁵⁵,

flavonoides e seus derivados (apigenina, luteolina, patulenina e quercetina), α -bisabolol e sesquiterpenos relacionados, além dos camazulenos¹⁰. Já sua atividade anti-inflamatória e antimicrobiana é atribuída aos compostos flavonoides, camazulenos e sesquiterpenos. De forma adicional, os flavonoides inibem a liberação de histamina, e o α -bisabolol promove a formação de tecido de granulação na cicatrização de feridas^{29,55,59,130}.

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa), por sua vez, é uma modalidade terapêutica utilizada com a finalidade de reduzir e (ou) eliminar microrganismos através do princípio de interação entre um corante fotossensibilizador, uma fonte de luz com comprimento de onda apropriado sob um tecido oxigenado, com conseqüente formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e foto-oxidação de vírus, bactérias, parasitas e fungos^{31,34,66,67,131}. Na odontologia, a TFDa se mostrou eficaz no tratamento de lesões de herpes labial recorrente⁷⁴, na doença periodontal¹³² e na descontaminação de implantes dentários¹³³. Apesar de ser uma terapia potente na erradicação de microrganismos, o que contribui de forma indireta para o processo de reparo tecidual, uma vez que muitas dessas feridas se encontram contaminadas, os benefícios da TFDa, como agente modulador da cicatrização, não se encontram bem elucidados na literatura, e os poucos estudos sobre essa abordagem apresentam resultados contraditórios^{26,28,75,97,134}.

Apesar dos resultados promissores da camomila e da TFDa no reparo, na literatura vigente não foram encontrados estudos que abordassem a associação desses agentes, e se, em conjunto, possuem sua ação potencializada ou modificada. Dessa maneira, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da camomila (*Matricaria recutita*) associada ou não com a TFDa no reparo tecidual em ferida cirúrgica em dorso de língua de ratos.

4.2.2 Material e métodos

4.2.2.1 Trabalho experimental em modelo animal

O presente estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do ICS da UFBA, sob número de protocolo 3562050618. Trata-se de um estudo experimental laboratorial, com uso de modelo animal, cuja amostra contemplou 75 ratos machos *Wistar*, *Rattus norvegicus albinus*, com peso entre 200 e

230 g e com duas a três semanas de vida. Os animais foram alojados em gaiolas plásticas específicas, em grupos de cinco, com boas condições de iluminação (ciclo claro e escuro de 12 em 12 horas) e temperatura de ± 24 a 26°C , submetidos a uma dieta comercial (Ração Nuvilab, Quimtia, Colombo-PR, Brasil) e água *ad libitum* durante todo o experimento. Todos os animais passaram por um período de adaptação de sete dias no ambiente do biotério.

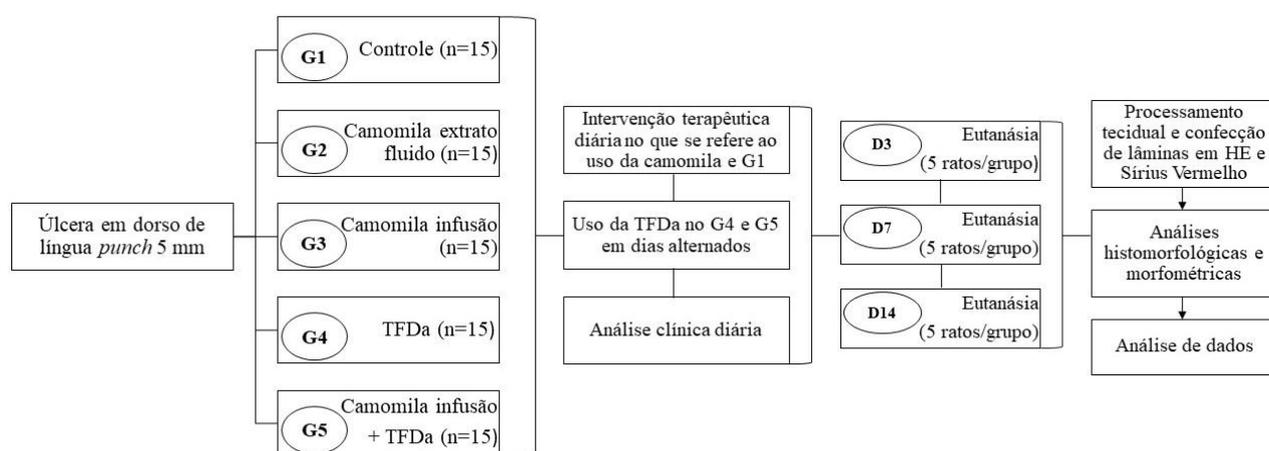
4.2.2.2 Procedimento cirúrgico

Houve pesagem inicial de todos os animais com balança-padrão (Toledo, São Bernardo do Campo, SP, Brasil), os quais, sequencialmente, foram anestesiados com uma mistura cloridrato de cetamina 10% (Ketamina®, Farex do Brasil Ltda., Porto Alegre, Brasil) e cloridrato de xilazina 2% (Xilazin®, Syntec, São Paulo, Brasil) na proporção de 90mg/kg e 5mg/kg, respectivamente, por via intraperitoneal. O procedimento cirúrgico compreendeu o dia zero (D0) do experimento, em que foi confeccionada uma úlcera padronizada no centro do dorso da língua dos ratos, utilizando-se bisturi circular tipo *punch* de 5 mm de diâmetro (Biopsy Punch, Stiefel, Alemanha) e aproximadamente 1 mm de profundidade, limitada à mucosa, sem comprometimento muscular. A úlcera foi medida com o uso de paquímetro analógico de 150 mm (Zaas, Florianópolis, Brasil), por um único avaliador, previamente calibrado.

4.2.2.3 Grupos experimentais

Após a realização do procedimento cirúrgico (D0), os animais foram alocados randomicamente em cinco grupos experimentais, conforme é descrito a seguir. A Figura 1 representa um fluxograma de todas as etapas do estudo.

Figura 1 – Fluxograma representativo de todas as etapas do estudo (LBO, UFBA, 2022).



Fonte: autoria própria.

Grupo de controle (G1) – Quinze animais foram submetidos à aplicação de soro fisiológico (0,9%), com uso de haste flexível plástica com algodões nas extremidades (Cotonetes, Johnson & Johnson, São Paulo, Brasil), sob uso diário, de 12 em 12 horas, que se iniciou no D0, logo após a cirurgia.

Grupo extrato fluido (G2) – Quinze animais foram submetidos à aplicação tópica de extrato fluido de camomila 10% (Ad-Muc[®], Biolab, São Paulo, Brasil)*, com auxílio de haste flexível plástica com algodões nas extremidades, sob uso diário, de 12 em 12 horas, conforme é preconizado pelo fabricante do medicamento, sendo a primeira dose realizada no D0, imediatamente após a cirurgia.

*Composição do Ad-Muc[®]: 100 mg de extrato fluido de *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert para cada grama de pomada. Demais ingredientes: glicerol, álcoois de lanolina, cetostearil álcool, petrolato de sódio macio branco, goma xantana, metilparabeno, essência de hortelã-pimenta, tintura de mirra, óleo mineral, sacarina sódica e água purificada¹⁹.

Grupo camomila infusão (G3) – Quinze animais foram submetidos à aplicação tópica diária de infusão de camomila (*Chás Real*®, Paraná, Brasil) de 8 em 8 horas, através da simulação de um bochecho, sob auxílio de um conta gotas, em que uma média de cinco gotas, contemplando um total de 0,25 ml de infuso foi despejado no dorso lingual. O conteúdo foi obtido através da infusão de 01 sachê submerso em 250 ml de água fervente por 3 minutos, conforme orientação do fabricante. Sequencialmente, foi resfriado à temperatura de 20 a 22°C, e armazenado por um período de até 24 horas. A primeira dose foi realizada no D0, imediatamente após a cirurgia.

Grupo TFDa (G4) – Quinze animais foram submetidos à aplicação do corante azul de metileno a 0,01% (Chimiolux; Hydro-Farma, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) durante 3 minutos, com haste flexível, seguida pela irradiação com o laser de baixa potência (LBP) (Laser DMC® Therapy EC, São Carlos, São Paulo, Brasil), em modo contínuo, potência de 100 mW, comprimento de onda de 660 nm, área de saída de 0,028 cm², densidade de energia de 117,85 J/cm², 3,3 J de energia no centro da úlcera e 33 segundos de aplicação, de acordo com o protocolo proposto por Sperandio et al.⁹⁷ (2010), aplicado em dias alternados, com início no D0, imediatamente após a cirurgia.

Grupo camomila infusão + TFDa (G5) – Quinze animais foram submetidos à aplicação tópica diária de infusão de camomila de 8 em 8 horas, associada à TFDa, em dias alternados, no turno matutino, conforme é descrito acima para os grupos isolados. A infusão de camomila foi aplicada após a realização da TFDa. A primeira aplicação ocorreu imediatamente após a cirurgia, no D0 do experimento.

Para a realização dos procedimentos de aplicação dos agentes moduladores, os animais foram contidos por um dispositivo plástico atraumático, conforme modelo utilizado por Pelisser, Vier-Pelisser, Fontanella, Figueiredo¹⁰² (2007), com redução do estresse dos animais. Ainda nos grupos em que foi utilizada a camomila, os animais foram mantidos sem água e alimento por um período de 30 minutos.

4.2.2.4 Avaliação clínica

Características macroscópicas do processo de reparo das úlceras em dorso de língua foram analisadas diariamente, no turno matutino, com auxílio de luz ambiente, espátulas de madeira e elásticos para auxílio na abertura de boca dos animais. Tal

avaliação obteve a classificação "presente", quando eram observados sinais clínicos da presença da ferida, e "ausente", quando a úlcera se encontrava ausente e o processo de reparo havia sido completado macroscopicamente.

Nos dias da eutanásia, a inspeção visual foi mais precisa e, com o auxílio do mesmo paquímetro analógico utilizado no D0, o diâmetro da ferida foi registrado em milímetros após a eutanásia, quando ainda presente, e a mensuração correspondia ao longo eixo da língua dos animais. A aferição foi realizada por um único avaliador, previamente calibrado.

4.2.2.5 Morte dos animais

Os animais foram eutanasiados também no turno da manhã, mediante randomização e por administração de anestésico injetável de cloridrato de cetamina 10%, associado ao cloridrato de xilazina 2%, na mesma seringa, através da técnica de aprofundamento anestésico, com administração por via intraperitoneal com 90:10mg/kg. Os períodos de morte estabelecidos foram três, sete e 14 dias após a cirurgia em mucosa de dorso lingual.

4.2.2.6 Processamento histológico

Após constatação do óbito, os espécimes de língua dos animais foram obtidos por autópsia com auxílio de uma lâmina de bisturi nº 15 (Descarpack, Santa Catarina, Brasil) e uma tesoura *goldman fox* (Golgran, São Paulo, Brasil), cujo fragmento foi fixado em formalina tamponada a 4%, com pH 7,4 e posteriormente enviado para o processamento histológico de rotina no Laboratório de Histologia e Embriologia (LHE) da Faculdade Adventista da Bahia (FADBA), em Cachoeira (BA), para obtenção de lâminas coradas por hematoxilina e eosina (HE) e sírius vermelho.

4.2.2.7 Avaliação morfológica e morfométrica

Análise histológica das secções coradas por HE foram feitas às cegas e em triplicata, com intervalo mínimo de uma semana entre elas, por um examinador previamente calibrado, em que a presença de edema, infiltrado inflamatório e celularidade fibroblástica foi avaliada de forma semiquantitativa e codificada com os escores que variaram de intensa (+++), moderada (++) , discreta (+) e ausente (0), conforme é descrito por Medrado et al.¹⁰³ (2008).

Nas mesmas secções, foi avaliada, também em triplicata, a predominância característica do tipo de infiltrado inflamatório, categorizado como polimorfonuclear ou monomorfonuclear, além do grau de reepitelização, nesse caso classificada como ausente, parcial, completa desorganizada ou completa organizada. Nesse último caso, considerou-se a presença de epitélio com todas as suas camadas e a observação da diferenciação das papilas linguais.

Na análise morfológica das secções coradas com sítius vermelho, avaliou-se o padrão de deposição e espessura das fibras colágenas (se espessas ou delicadas), o padrão de alongamento (se organizado ou desorganizado) e a profundidade de deposição no local da ferida (normal ou aumentada).

Para a análise morfométrica, utilizou-se o *Software Motic Images Plus 2.0* (Motic, Barcelona, Espanha). Essa avaliação foi realizada a partir da captura de imagens de três áreas distintas de cada uma das bordas (bordas direita e esquerda) e do centro da ferida contida nas secções teciduais coradas em HE, em objetiva de 10x, através da câmera acoplada ao microscópio. Nos casos em que não havia úlcera presente, o número 0 (zero) foi atribuído como medida. As mensurações lineares, realizadas em μm , incluíram a distância da camada basal à camada da superfície epitelial (DCBCSE) e a espessura da camada córnea (ECC).

A análise quantitativa do percentual de colágeno total em relação à área total do tecido foi realizada pelo *Software ImageJ* (*National Institutes of Health*, Bethesda, Md, EUA), com a padronização da área de $720.000 \mu\text{m}^2$ da imagem, em que se considerou a altura de $800 \mu\text{m}$ e o comprimento de $900 \mu\text{m}$, por dois examinadores cegos, previamente calibrados, realizada também a partir das capturas de três áreas distintas das secções teciduais das duas bordas e do centro da úlcera, coradas em sítius vermelho, na objetiva de 10x.

4.2.2.8 Análise estatística

Foi criado um banco de dados no *Microsoft Excel* 2016 (versão 2016), para análise descritiva, com a finalidade de identificar as características gerais e específicas da amostra estudada, incluindo-se a análise quantitativa do percentual de colágeno.

Os dados das variáveis morfológicas foram apresentados com frequências absolutas e relativas e moda.

Foram realizadas análises de reprodutibilidade interavaliador para as variáveis porcentagem de área de colágeno e medida morfométrica linear. Para isso, foram utilizados o teste *t* pareado e a análise de correlação intraclass. A interpretação do coeficiente de correlação intraclass (CCI) foi feita de acordo com Fleiss, Levin, Paik¹³⁵ (2013), que consideram coeficientes abaixo de 0,40 como pobres, de 0,40 até abaixo de 0,75 como satisfatórios e igual ou acima de 0,75 como excelentes. A seguir, foi realizada a média dos dois avaliadores para essas variáveis.

Foram, então, realizadas análises descritivas e exploratórias dos dados. Modelos lineares foram utilizados, considerando-se os efeitos de grupo e tempo, bem como a interação entre eles, para analisar a porcentagem de área de colágeno. Para medidas morfométricas, foram considerados, no modelo, os efeitos de grupo, tempo e ECC, bem como as interações duplas e triplas entre eles. Para a avaliação clínica da úlcera, foi utilizado um modelo linear generalizado misto para medidas repetidas no tempo. As associações entre o grupo e a presença de úlcera foram analisadas pelo teste exato de Fisher. Todas as análises foram realizadas no programa R (*Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Áustria), com nível de significância de 5%.

4.2.3 Resultados

4.2.3.1 Análise clínica

Na Tabela 1, encontram-se os dados clínicos relacionados ao número de animais com presença de úlcera e suas respectivas porcentagens em cada grupo experimental, ao longo do tempo. Pôde-se observar que, do 8º ao 12º dia, houve diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$) quanto à porcentagem de animais com úlcera. No 8º dia, todos

os animais do G1, G4 e G5 apresentavam úlcera. A cicatrização foi mais acelerada para as duas formulações da camomila, ou seja, nos grupos G2 e G3, com regressão completa das úlceras no 9º dia de experimento, seguidos pelo G5, com cicatrização total no 11º dia. O G4 obteve o mesmo índice no 12º dia, e, por fim, o G1 demonstrou cicatrização das úlceras de todos os animais no 14º dia.

Tabela 1 – Número de animais com úlcera/número total de animais no grupo (%), em cada grupo, no decorrer do tempo (LBO, UFBA, 2022).

Dia	G1	G2	G3	G4	G5	<i>p</i> -valor
D0	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	-
D1	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	-
D2	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	-
D3	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	15/15 (100,0%)	-
D4	10/10 (100,0%)	10/10 (100,0%)	8/10 (80,0%)	10/10 (100,0%)	10/10 (100,0%)	0,1412
D5	10/10 (100,0%)	10/10 (100,0%)	8/10 (80,0%)	10/10 (100,0%)	10/10 (100,0%)	0,1412
D6	10/10 (100,0%)	10/10 (100,0%)	7/10 (70,0%)	10/10 (100,0%)	10/10 (100,0%)	0,0230
D7	10/10 (100,0%)	9/10 (90,0%)	7/10 (70,0%)	9/10 (90,0%)	10/10 (100,0%)	0,2011
D8	5/5 (100,0%)	3/5 (60,0%)	1/5 (20,0%)	5/5 (100,0%)	5/5 (100,0%)	0,0048
D9	5/5 (100,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	4/5 (80,0%)	5/5 (100,0%)	<0,0001
D10	5/5 (100,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	2/5 (40,0%)	1/5 (20,0%)	0,0011
D11	4/5 (80,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	1/5 (20,0%)	0/5 (0,0%)	0,0146
D12	3/5 (60,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	0,0154
D13	2/5 (40,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	0,1231
D14	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	0/5 (0,0%)	-

Teste Exato de Fisher.

Fonte: autoria própria.

Com relação ao tamanho da ferida cirúrgica, na Tabela 2, observa-se que, no tempo inicial (D0), não havia diferença significativa entre os grupos quanto à medida da úlcera ($p > 0,05$), o que confere a padronização esperada nesse período. Nota-se que, na mensuração realizada nos animais eutanasiados aos três dias, o tamanho da úlcera exibiu maior redução no grupo G4 (TFDa) em relação aos demais grupos ($p < 0,05$). Com exceção do G4, os grupos exibiram medidas equiparadas no 3º dia, incluindo o grupo de controle. Aos sete dias, todos os grupos apresentaram redução significativa da úlcera em relação ao 3º dia do experimento. Além disso, nesse mesmo período, a

medida da úlcera foi significativamente maior no G1 do que no G4 ($p < 0,05$). Entretanto, o G4 não diferiu estatisticamente dos grupos que utilizaram outras terapias. No dia 14, conforme esperado – devido ao processo cicatricial fisiológico que ocorre na mucosa oral –, todos os grupos exibiram ausência de úlcera ($p > 0,05$).

Tabela 2 – Média (desvio padrão), mediana (mínimo e máximo) da medida em milímetros, inicial e final, da úlcera, em função do grupo (LBO, UFBA, 2022).

Medição	Grupo	Tempo (dias)					
		3 dias		7 dias		14 dias	
		Média (desvio padrão)	Mediana (mínimo e máximo)	Média (desvio padrão)	Mediana (mínimo e máximo)	Média (desvio padrão)	Mediana (mínimo e máximo)
Inicial	G1	9,60 (0,89) Ab	9,00 (9,00; 11,00)	9,20 (0,84) Aa	9,00 (8,00; 10,00)	9,40 (1,14) Aa	9,00 (8,00; 11,00)
	G2	10,40 (0,55) Aa	10,00 (10,00; 11,00)	9,60 (0,89) Ba	9,00 (9,00; 11,00)	9,17 (0,41) Ba	9,00 (9,00; 10,00)
	G3	9,20 (0,45) Ab	9,00 (9,00; 10,00)	8,90 (0,55) Aa	9,00 (8,00; 9,50)	9,10 (0,22) Aa	9,00 (9,00; 9,50)
	G4	9,20 (0,45) Ab	9,00 (9,00; 10,00)	9,20 (1,10) Aa	9,00 (8,00; 11,00)	9,20 (0,84) Aa	9,00 (8,00; 10,00)
	G5	9,60 (0,55) Ab	10,00 (9,00; 10,00)	8,80 (0,84) Aa	9,00 (8,00; 10,00)	9,60 (0,89) Aa	9,00 (9,00; 11,00)
Final	G1	*7,10 (0,89) Aa	7,00 (6,00; 8,00)	*5,60 (0,55) Ba	6,00 (5,00; 6,00)	*0,00 (0,00) Ca	0,00 (0,00; 0,00)
	G2	*6,80 (0,45) Aa	7,00 (6,00; 7,00)	*4,20 (2,49) Bab	5,00 (0,00; 6,00)	*0,00 (0,00) Ca	0,00 (0,00; 0,00)
	G3	*8,00 (1,58) Aa	8,00 (6,00; 10,00)	*4,10 (2,46) Bab	4,50 (0,00; 6,00)	*0,00 (0,00) Ca	0,00 (0,00; 0,00)
	G4	*5,60 (0,22) Ab	5,50 (5,50; 6,00)	*3,60 (2,10) Bb	4,00 (0,00; 5,50)	*0,00 (0,00) Ca	0,00 (0,00; 0,00)
	G5	*7,80 (0,45) Aa	8,00 (7,00; 8,00)	*4,50 (1,12) Bab	4,50 (3,00; 6,00)	*0,00 (0,00) Ca	0,00 (0,00; 0,00)

*Difere significativamente do tempo inicial ($p \leq 0,05$). Letras distintas (maiúsculas comparando os tempos na horizontal, e minúsculas comparando os grupos na vertical dentro de cada mediação) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$). $p(\text{tempo}) < 0,0001$; $p(\text{grupo}) = 0,1531$; $p(\text{medição}) < 0,0001$; $p(\text{tempo} \times \text{grupo}) = 0,0757$; $p(\text{medição} \times \text{grupo}) = 0,0417$; $p(\text{tempo} \times \text{medição}) < 0,0001$; $p(\text{tempo} \times \text{grupo} \times \text{medição}) = 0,0061$. Análise realizada com modelo linear misto.

Fonte: autoria própria.

4.2.3.2 Análise histomorfológica

Embora tenha sido feita a análise de todas as secções histológicas obtidas, nos resultados apresentados, optou-se por remover uma secção histológica corada em HE do grupo G3, referente ao 3º dia de sacrifício, e uma secção do grupo G2, no 7º dia, devido à ausência de material biológico em boas condições para avaliação.

A Tabela 3 demonstra a frequência dos resultados da avaliação morfológica dos grupos de acordo com os períodos de análise. No que se refere ao parâmetro edema, na fase inicial do reparo tecidual, observou-se que todos os grupos exibiram índice elevado dessa característica no 3º dia após a realização da úlcera padronizada. No 7º dia de experimento, o G2 se destacou por apresentar todas as secções (100%) com ausência de edema, enquanto o G3 e o G4 apresentaram somente 20% dos ratos com edema ausente. Ao final do experimento, conforme esperado, esse parâmetro não foi observado nos grupos G1, G2 e G3. Entretanto, os grupos submetidos à TFDa (G4 e G5) apresentaram 20% de sua amostra com edema intenso no dia 14.

Com relação à intensidade de células inflamatórias, no 3º dia, apesar de todos os grupos terem exibido infiltrado inflamatório com padrão de moderado a intenso, o único grupo que apresentou parte das secções (20%) com ausência do infiltrado foi o G4. Após sete dias, o G2 foi o único grupo que manifestou redução expressiva desse parâmetro, com ausência total (100%) de células em todas as amostras. O G5 exibiu um padrão intermediário, em que houve domínio de infiltrado discreto nesse mesmo período (60%). Os demais grupos demonstraram um padrão persistente, com predominância de infiltrado moderado a intenso. Ao final do experimento, somente o G4 e o G5 manifestaram infiltrado intenso (40%). Com relação ao tipo celular predominante, no 3º dia, todos os grupos exibiram a predominância de células polimorfonucleares, conforme esperado. No 7º dia, o G1 e o G3 exibiram um padrão celular heterogêneo, e o G2 já demonstrou ausência de células inflamatórias. Entretanto, nos grupos submetidos à TFDa (G4 e G5), observou-se o domínio de células monomorfonucleares, que também predominaram no dia 14 em todos os grupos.

No que diz respeito à celularidade fibroblástica, notou-se que, no 3º dia, as secções analisadas de todos os grupos não manifestaram celularidade e (ou) apresentaram discreto contingente de células povoando o microambiente tecidual. No 7º

dia, entretanto, notou-se que o G3, o G4 e o G5 exibiram 20% das secções com população fibroblástica intensa. O G2, nesse mesmo período, revelou 100% das secções com celularidade moderada, enquanto o G1 demonstrou esse mesmo padrão em 40% de sua amostra. No 14º dia, todos os grupos manifestaram um padrão de celularidade que oscilou entre moderado e intenso. Todavia, o G4 foi o único grupo que exibiu um maior contingente de secções (60%) com ausência de população fibroblástica.

Sobre o parâmetro reepitelização, apenas os grupos G3 e G4 apresentaram esse processo, iniciado no período de três dias, em que 50% e 40% das secções, respectivamente, obtiveram um padrão de reepitelização parcial. O padrão completo organizado foi observado nos grupos experimentais a partir do 7º dia, com destaque para os que foram submetidos ao uso tópico da camomila: o G2 demonstrou 100% das secções re-epitelizadas, seguido pelo G3 (40%). O G4 apresentou, nesse mesmo período, 20% da amostra re-epitelizada e organizada. Ao final do experimento, somente o G2 apresentou 100% das secções com a reepitelização completa e organizada, com a presença de papilas linguais, o que equivaliu a 80% das secções do grupo G5. Somente os grupos submetidos à TFDa (G4 e G5) não apresentaram toda a sua amostra re-epitelizada ao final do experimento. A Tabela 3 exemplifica os resultados da análise morfológica das secções coradas em HE. As características histológicas observadas nos grupos avaliados encontram-se ilustradas nas Figuras 2 e 3.

De acordo com a análise morfológica do padrão de deposição do colágeno total realizada através de secções histológicas coradas em sírius vermelho, notou-se, no 3º dia, que os grupos se aproximaram do padrão de colágeno desorganizado, com espessura delicada e profundidade de deposição aumentada, com exceção do grupo submetido à aplicação do extrato fluido (G2), que exibiu um padrão de deposição desorganizado, porém com fibras espessas. Com o decorrer do experimento, todos os grupos apresentaram um padrão similar no 7º dia, em que se observou um padrão de fibras espessas e desorganizadas. Contudo, no que tange à profundidade da camada basal epitelial ao tecido muscular, ela se apresentou aumentada no G1, G3 e G4, no 7º dia de tratamento, e permaneceu com esse padrão no 14º dia somente no G3. No dia 14, as fibras exibiram um aspecto espesso homogêneo e com feixes ainda desorganizados em todos os grupos, com exceção do G2, que exibiu um padrão espesso homogêneo, com feixes organizados e profundidade da camada basal ao tecido muscular de espessura normal. A Figura 4 ilustra as principais características morfológicas do padrão de colágeno dos grupos experimentais.

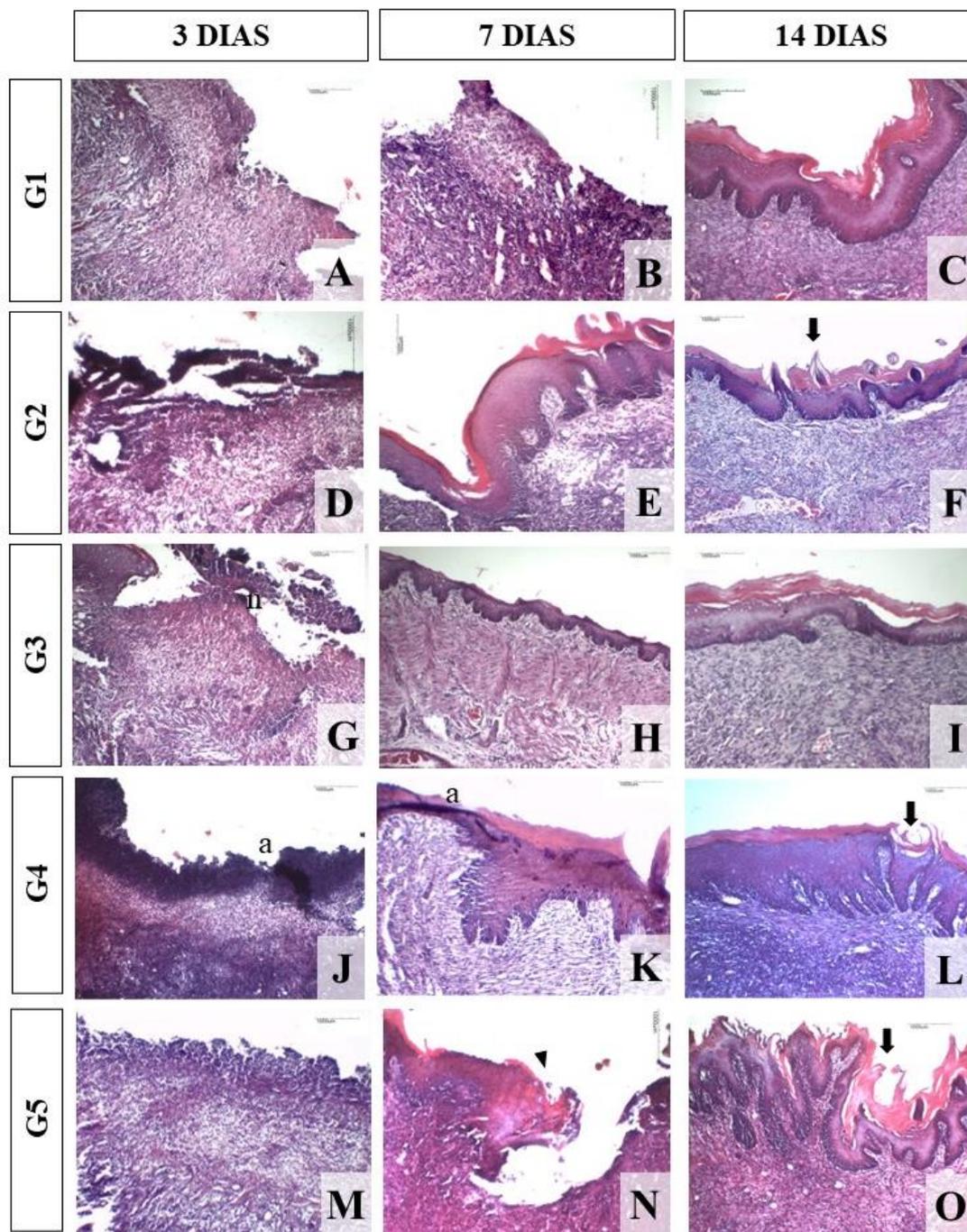
Tabela 3 – Distribuição de frequências dos resultados das análises morfológicas em função do grupo e do tempo de sacrifício (LBO,UFBA, 2022).

Variável	Resultado	G1			G2			G3			G4			G5		
		3 dias	7 dias	14 dias	3 dias	7 dias	14 dias	3 dias	7 dias	14 dias	3 dias	7 dias	14 dias	3 dias	7 dias	14 dias
		n=5	n=5	n=5	n=5	n=4	n=5	n=4	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5
Edema	Ausente	0(0,0%)	3(60,0%)	5(100%)	0(0,0%)	4(100%)	5(100%)	0(0,0%)	1(20,0%)	5(100%)	1(20,0%)	1(20,0%)	4(80,0%)	0(0,0%)	3(60,0%)	4(80,0%)
	Discreto	0(0,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	3(60,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	0(0,0%)
	Moderado	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	3(60,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	1(25,0%)	1(20,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)
	Intenso	5(100%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	3(75,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	4(80,0%)	2(40,0%)	1(20,0%)	5(100%)	1(20,0%)	1(20,0%)
Infiltrado inflamatório	Ausente	0(0,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	0(0,0%)	4(100%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	1(20,0%)	1(20,0%)	1(20,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	3(60,0%)
	Discreto	0(0,0%)	0(0,0%)	4(80,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	3(60,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	1(20,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	3(60,0%)	0(0,0%)
	Moderado	3(60,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(50,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)
	Intenso	2(40,0%)	3(60,0%)	0(0,0%)	5(100%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(50,0%)	4(80,0%)	0(0,0%)	4(80,0%)	4(80,0%)	2(40,0%)	5(100%)	2(40,0%)	1(40,0%)
Característica do infiltrado	Ausente	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	4(100%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	1(20,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	3(60,0%)
	PMN	5(100%)	3(60,0%)	0(0,0%)	5(100%)	0(0,0%)	0(0,0%)	5(100%)	4(80,0%)	1(20,0%)	5(100%)	0(0,0%)	0(0,0%)	5(100%)	1(20,0%)	0(0,0%)
	MMN	0(0,0%)	2(40,0%)	5(100%)	0(0,0%)	0(0,0%)	5(100%)	0(0,0%)	1(20,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	4(80,0%)	4(80,0%)	0(0,0%)	4(80,0%)	2(40,0%)
Celularidade (fibroblastos)	Ausente	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	5(100%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	4(80,0%)	4(80,0%)	3(60,0%)	5(100%)	2(40,0%)	1(20,0%)
	Discreta	5(100%)	3(60,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	4(100%)	3(60,0%)	1(20,0%)	1(20,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)
	Moderada	0(0,0%)	2(40,0%)	3(60,0%)	0(0,0%)	4(100%)	3(60,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	1(20,0%)
	Intensa	0(0,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	2(40,0%)
Re-epitelização	Ausente	5(100%)	3(60,0%)	0(0,0%)	5(100%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(50,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	3(60,0%)	2(40,0%)	2(40,0%)	5(100%)	1(20,0%)	1(20,0%)
	Parcial	0(0,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	2(50,0%)	2(20,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	0(0,0%)
	CDes	0(0,0%)	0(0,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	3(60,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)
	COrg	0(0,0%)	0(0,0%)	3(60,0%)	0(0,0%)	4(100%)	5(100%)	0(0,0%)	2(40,0%)	2(40,0%)	0(0,0%)	1(20,0%)	3(60,0%)	0(0,0%)	3(60,0%)	4(80,0%)

CDes: completa desorganizada; COrg: completa organizada; PMN: polimorfonuclear; MNN: monomorfonuclear.

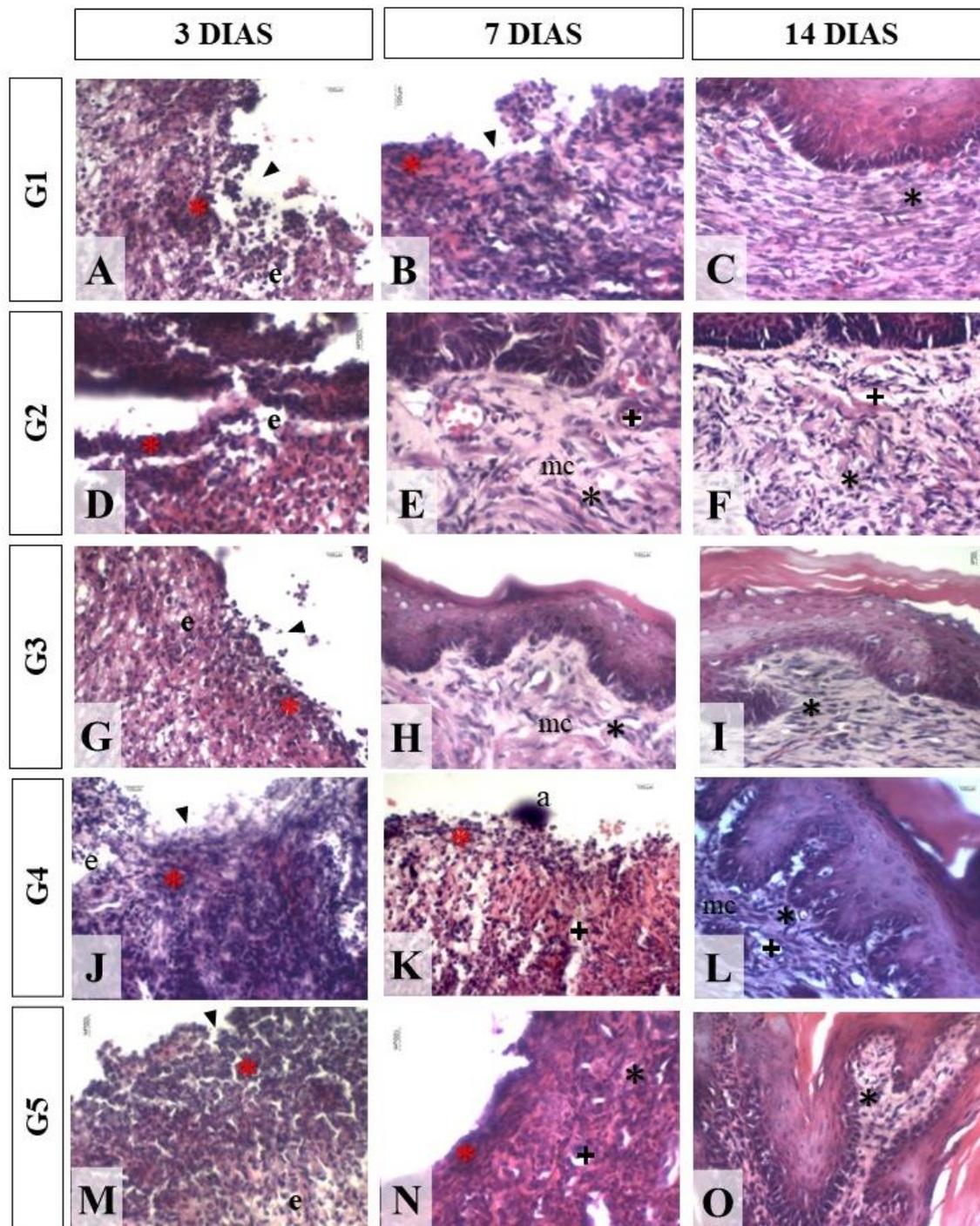
Fonte: autoria própria.

Figura 2 – Análise morfológica dos grupos experimentais. Fotomicrografias de secções histológicas (HE) obtidas na objetiva de 10x dos centros das úlceras, que demonstram os graus de reepitelização dos grupos com três, sete e 14 dias. Nota-se que as secções de todos os grupos manifestaram ausência de reepitelização no 3º dia. No 7º dia, apenas o G2 exibiu reepitelização completa de todas as secções. Os demais grupos exibiram formação inicial de epitélio em bordas da ferida, conforme demonstra a secção do G5 (ponta da seta). Aos 14 dias, apesar de a cobertura epitelial completa ter sido observada em todos os grupos, o G4 e o G5 apresentaram secções com ausência de reepitelização. O G2, G4 e G5 exibiram também diferenciação das papilas linguais (seta). a: artefato de técnica. n: necrose.



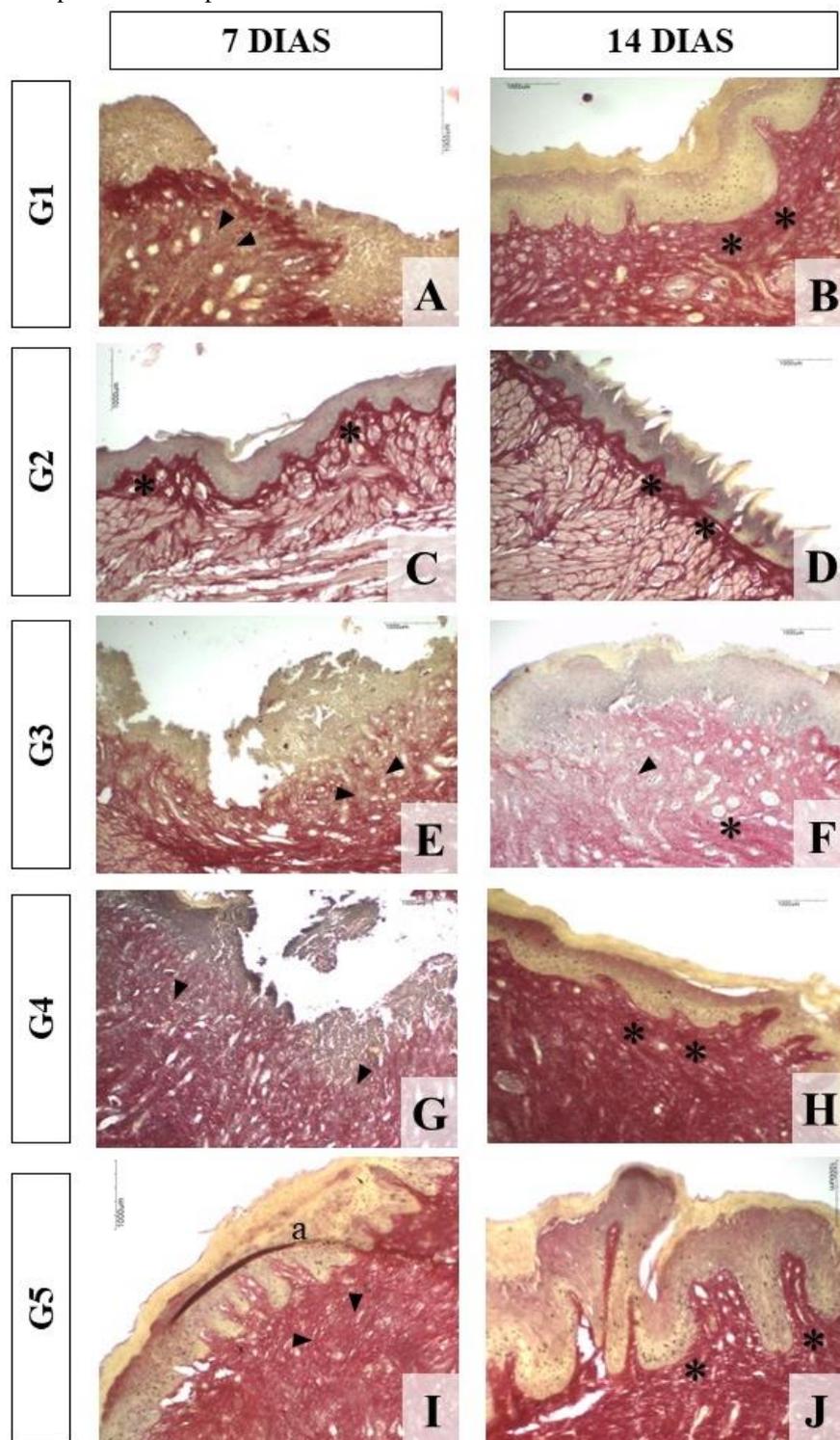
Fonte: LBO, UFBA, 2022.

Figura 3 – Análise morfológica dos grupos experimentais. Fotomicrografias de secções histológicas (HE) obtidas na objetiva de 40x das regiões das úlceras, que ilustram as características histomorfológicas nos grupos com três, sete e 14 dias. Nota-se que, no 3º dia, todos os grupos exibiram edema (e) e infiltrado inflamatório (asterisco vermelho). Área de úlcera (ponta da seta) pode ser observada nesse período. Aos sete dias, o G2 e G3 apresentam celularidade tecidual - fibroblastos (asterisco preto) e matriz colagênica (mc). Aos 14 dias, a maior parte dos grupos exibiu ausência de úlcera em todas as secções (G1, G2 e G3), com reepitelização completa. a: artefato de técnica; cruz preta: luz de vaso sanguíneo.



Fonte: LBO, UFBA, 2022.

Figura 4 – Análise morfológica dos grupos experimentais. Fotomicrografias representativas de secções histológicas (sírius vermelho) para ilustrar a expressão do colágeno no 7º dia e 14º dia, obtidas na objetiva de 10x. Observa-se que os grupos exibiram um padrão similar entre o 7º e o 14º dia, em que fibras apresentaram aspecto de normalidade e padrão mais delicado (ponta de seta), com exceção do G2, que exibiu fibras colagênicas mais espessas (asterisco), porém desorganizadas. No 14º dia, as fibras colagênicas são mais espessas e organizadas nos grupos. O G2 manifesta um padrão próximo do aspecto de normalidade. a: artefato de técnica.



Fonte: LBO, UFBA, 2022.

4.2.3.3 Análise histomorfométrica

Inicialmente, foi realizada a análise de reprodutibilidade interavaliador para a medida morfométrica linear através do coeficiente de correlação intraclasse, e a reprodutibilidade foi considerada excelente ($CCI \geq 0,75$).

Quanto às medidas morfométricas das secções em HE, observou-se um aumento significativo na medida da espessura da camada córnea (ECC) após sete dias, em relação ao 3º dia ($p < 0,05$) em todos os grupos que utilizaram algum tipo de tratamento, com exceção do grupo de controle (G1). Após 14 dias de tratamento, houve aumento significativo na ECC em relação ao 3º dia ($p < 0,05$), em todos os grupos. Ao avaliar os grupos de forma comparativa, após três dias de tratamento, a ECC foi significativamente maior no grupo submetido à TFDa (G4), em relação a G1, G3 e G5 ($p < 0,05$). Aos sete dias, todos os grupos submetidos a algum tipo de tratamento exibiram aumento significativo dessa camada, em comparação ao G1. Ao final do experimento, essa medida foi significativamente menor no G5 do que nos demais grupos ($p < 0,05$) (Tabela 4).

Com relação à mensuração da distância da camada basal à camada da superfície epitelial (DCBCSE), variável que se refere à camada epitelial neoformada, notou-se o aumento dessa medida no G5 no 7º dia de tratamento, em relação ao 3º dia ($p < 0,05$). No 14º dia de tratamento, não houve diferença significativa dessa variável nos grupos, em comparação com o 3º dia ($p > 0,05$), ou seja, todos os grupos apresentaram similaridade na espessura de camada epitelial neoformada. No que diz respeito à avaliação da DCBCSE, no período de três dias não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$). Passados os sete dias de tratamento, os grupos submetidos à infusão de camomila (G3 e G5) apresentaram medidas significativamente maiores em relação ao grupo de controle (G1) ($p < 0,05$). Após 14 dias, o G1 e o G3 apresentaram medidas significativamente maiores que o G2 ($p < 0,05$). A Tabela 4 apresenta as medidas da ECC e DCBCSE.

Também foi realizada a análise de reprodutibilidade interavaliador, para a análise do percentual da área do colágeno em secções coradas em sírius vermelho. O resultado dessa avaliação quantitativa através da correlação intraclasse foi considerado satisfatório ($CCI = 0,47$). Ao se avaliar a área de colágeno no decorrer do experimento, observou-se que apenas no grupo submetido à TFDa exclusiva (G4) houve aumento

significativo dessa porcentagem no 7º dia de tratamento em relação ao 3º dia ($p < 0,05$). Contudo, ao se comparar a área de colágeno ao final do experimento, ou seja, no 14º dia em relação ao 3º dia, constatou-se aumento significativo dessa variável nos grupos G1, G2 e G4 ($p < 0,05$). Na análise comparativa entre os grupos, com sete dias de tratamento, o G2 demonstrou menor porcentagem de área de colágeno que o G1 e o G5 ($p < 0,05$). Todavia, ao final do experimento, no 14º dia, não houve diferença significativa na área de colágeno entre os grupos ($p > 0,05$). A Tabela 5 e a Figura 5 explicitam esses dados obtidos através da análise quantitativa da área de colágeno.

Tabela 4 – Média (desvio padrão), mediana (mínimo e máximo) das medidas morfométricas lineares em função do grupo e do tempo (LBO, UFBA, 2022).

Variável	Grupo	Tempo (dias)					
		3		7		14	
		Média (desvio padrão)	Mediana (mínimo e máximo)	Média (desvio padrão)	Mediana (mínimo e máximo)	Média (desvio padrão)	Mediana (mínimo e máximo)
ECC	G1	21,42 (10,64) Bb	19,83 (8,89; 39,97)	29,30 (10,70) Bb	29,49 (15,43; 46,76)	65,24 (15,79) Aa	70,36 (47,62; 85,44)
	G2	25,38 (4,91) Bab	24,11 (21,48; 31,81)	73,02 (17,27) Aa	63,32 (62,79; 92,96)	55,09 (27,19) Aa	47,66 (30,52; 103,16)
	G3	21,00 (8,13) Bb	18,91 (13,53; 33,63)	48,99 (17,70) Aa	41,34 (37,91; 75,37)	54,45 (19,61) Aa	48,53 (36,12; 85,40)
	G4	34,85 (12,36) Ba	33,00 (22,61; 54,66)	50,78 (20,18) Aa	51,42 (22,67; 74,38)	57,87 (23,61) Aa	63,34 (31,14; 91,43)
	G5	17,71 (3,81) Cb	17,99 (11,47; 21,56)	56,65 (48,39) Aa	35,05 (17,37; 136,74)	36,00 (14,39) Bb	36,02 (22,35; 56,99)
DCBCSE	G1	*106,54 (28,78) Aa	107,32 (67,74; 147,21)	*98,96 (17,21) Ab	99,27 (76,05; 119,54)	*140,69 (44,60) Aa	131,58 (94,03; 193,74)
	G2	*93,72 (7,57) Aa	94,63 (83,67; 101,95)	113,68 (37,89) Aab	92,16 (91,47; 157,43)	*84,90 (26,76) Ab	73,48 (59,28; 130,87)
	G3	*97,62 (12,26) Aa	98,10 (79,71; 110,43)	*146,67 (83,58) Aa	107,58 (99,79; 271,73)	*126,81 (31,63) Aa	130,19 (91,00; 168,81)
	G4	*104,18 (20,39) Aa	98,92 (84,64; 131,59)	*121,15 (21,13) Aab	112,69 (96,66; 150,61)	*114,15 (20,87) Aab	105,75 (96,74; 144,86)
	G5	*86,03 (9,07) Ba	89,52 (75,84; 94,69)	*133,08 (58,01) Aa	121,14 (76,25; 209,56)	*95,19 (15,28) Bab	102,61 (71,15; 109,21)

DCBCSE: Distância da camada basal à camada da superfície epitelial; ECC: espessura da camada córnea. *Difere da espessura de ceratina nas mesmas condições de grupo e tempo ($p \leq 0,05$). Letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$). $p(\text{grupo})=0,0003$; $p(\text{ceratina})<0,0001$; $p(\text{tempo})<0,0001$; $p(\text{grupo} \times \text{ceratina})<0,0001$; $p(\text{grupo} \times \text{tempo})<0,0001$; $p(\text{ceratina} \times \text{tempo})<0,000$; $p(\text{grupo} \times \text{ceratina} \times \text{tempo})=0,0053$. Análise realizada com modelos lineares.

Fonte: autoria própria.

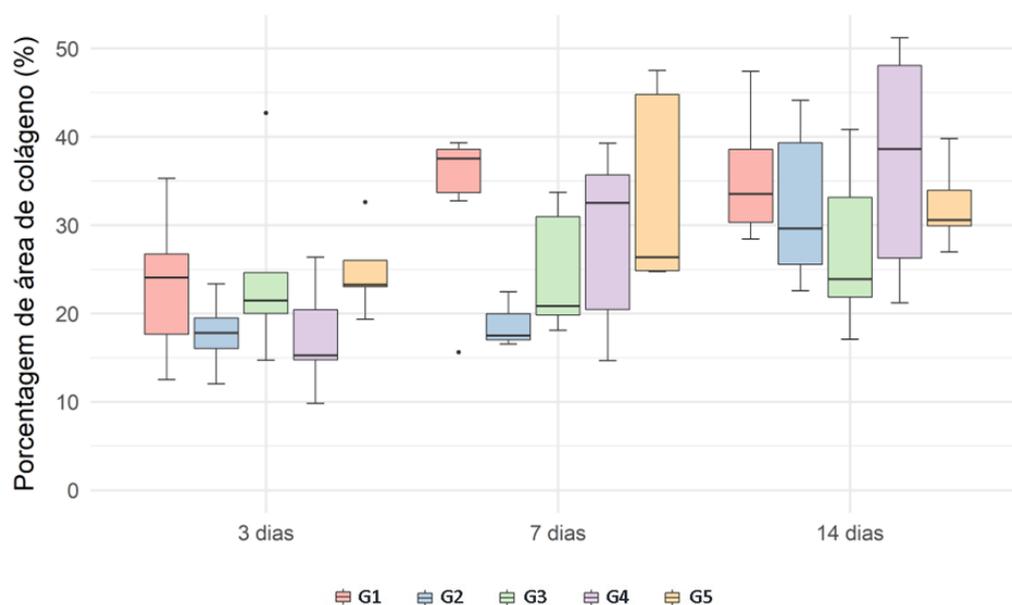
Tabela 5 – Média (desvio padrão), mediana (mínimo e máximo) da porcentagem de área de colágeno em função do grupo e do tempo (LBO, UFBA, 2022).

Grupo	Tempo (dias)					
	3		7		14	
	Média (desvio padrão)	Mediana (mínimo e máximo)	Média (desvio padrão)	Mediana (mínimo e máximo)	Média (desvio padrão)	Mediana (mínimo e máximo)
G1	23,17 (8,17) Ba	24,06 (12,51; 35,29)	33,56 (9,11) ABa	37,54 (15,62; 39,33)	35,39 (7,18) Aa	33,53 (28,41; 47,40)
G2	17,74 (4,63) Ba	17,79 (12,03; 23,35)	18,83 (3,18) Bb	17,50 (16,53; 22,45)	32,12 (8,98) Aa	29,62 (22,58; 44,14)
G3	24,70 (10,68) Aa	21,46 (14,71; 42,69)	24,68 (7,12) Aab	20,82 (18,09; 33,70)	27,36 (9,53) Aa	23,89 (17,07; 40,83)
G4	17,33 (6,29) Ba	15,26 (9,83; 26,38)	28,51 (10,48) Aab	32,51 (14,66; 39,25)	37,07 (13,15) Aa	38,60 (21,18; 51,21)
G5	24,85 (4,94) Aa	23,26 (19,35; 32,61)	33,65 (11,46) Aa	26,37 (24,76; 47,50)	32,24 (4,90) Aa	30,56 (26,97; 39,79)

Letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$). $p(\text{grupo})=0,0444$; $p(\text{tempo}) < 0,0001$; $p(\text{interação})=0,0906$. Análise realizada com modelos lineares.

Fonte: autoria própria.

Figura 5 – Box plot da porcentagem de área de colágeno em função do grupo e do tempo (LBO, UFBA, 2022).



Fonte: autoria própria.

4.2.4 Discussão

Algumas lesões ulceradas em mucosa oral promovem dor e desconforto, o que acarreta dificuldades de alimentação, fala e deglutição^{36,37}. Além disso, em algumas situações, há demora no processo de cicatrização decorrente da própria natureza da condição ou do meio ambiente bucal, rico em microrganismos que podem contribuir para a contaminação da ferida^{12,106,107,136}, o que justifica a busca por modalidades de tratamento que acelerem e aprimorem esse processo. Com o intuito de facilitar a modulação do reparo tecidual com terapias que não apresentem contraindicação de uso, em associação com outros agentes terapêuticos, além de manifestarem mínimos efeitos indesejados, por serem bem toleradas pelo organismo, o presente estudo objetivou avaliar o efeito da *Matricaria recutita* sobre o tempo de cicatrização em úlceras induzidas mecanicamente em dorso de língua de ratos em diferentes formas de apresentação, bem como a TFDa, isolada ou associada. A justificativa se encontra na premissa de que, apesar de a camomila apresentar comprovada eficácia no reparo tecidual em cavidade oral^{4,12,15,16,18,20,21}, trata-se de uma alternativa utilizada de forma empírica e que precisa ser testada clinicamente em suas variadas formas.

Por sua vez, apesar de se inferir que a TFDa favoreça a cicatrização de feridas, uma vez que promove a redução e (ou) eliminação de microrganismos locais, na literatura, os resultados são contraditórios^{26,32,97,137}. No presente estudo, a associação dessas duas terapias não foi capaz de acelerar o reparo tecidual em língua de ratos, tanto do ponto de vista clínico, quanto do ponto de vista histológico. Todavia, quando analisadas de forma isolada, a TFDa exibiu maior redução da lesão na fase inicial do reparo, do ponto de vista clínico. O extrato fluido de camomila, por sua vez, modulou positivamente todas as fases da cicatrização, clínica e histologicamente, sendo o agente utilizado que exibiu resultados mais lineares e satisfatórios.

A partir da análise da medida clínica da úlcera, foi possível verificar que o grupo submetido à TFDa de forma isolada (G4), no 3º dia do experimento, apresentou uma redução clínica, com significância estatística em relação aos demais grupos. A partir desse período, os grupos se equivalem nesse aspecto, com exceção do G1. Dessa maneira, inicialmente, a TFDa parecia ser capaz de promover um reparo cicatricial mais acelerado; todavia, com o decorrer do experimento, os demais grupos conseguiram atingir o mesmo objetivo. Tais resultados foram semelhantes aos observados nos estudos de Sperandio et al.⁹⁷ (2010) e Zuhayri et al.¹³⁷ (2022).

Sperandio et al.⁹⁷ (2010), ao avaliarem o efeito da TFDa com azul de metileno na mesma concentração de 0,01% aqui utilizada e com os parâmetros de dosimetria do aparelho de LBP idênticos ao do presente estudo, na cicatrização de feridas cutâneas de ratos *Wistar*, durante 14 dias, verificaram que, no 3º dia, os grupos tratados com TFDa e com LBP obtiveram maior diminuição na área da ferida em relação aos dois grupos de controle ($p=0,025$), e se mantiveram no mesmo padrão no 5º dia do estudo. Zuhayri et al.¹³⁷ (2022) realizaram um estudo experimental com 15 camundongos machos, em que duas feridas circulares com 5 mm de diâmetro foram criadas, uma em cada pata traseira do animal. Os animais foram alocados em cinco grupos: controle, TFDa com azul de metileno 0,01% e LBP com 1 J/cm², TFDa com azul de metileno 0,01% e LBP com 4 J/cm², TFDa com ácido 5-aminolevulínico 20% e LBP com 1 J/cm² e TFDa com ácido 5-aminolevulínico 20% e LBP com 4 J/cm². O grupo em que foi aplicado o azul de metileno associado a uma maior energia, 4 J/cm², obteve maior redução clínica da úlcera, em relação aos demais grupos. Apesar das diferenças metodológicas, ao final do estudo, que compreendeu o dia 14, todos os grupos apresentaram clinicamente as feridas cutâneas cicatrizadas, assim como no presente trabalho.

Deyhimi et al.²⁶ (2016), por sua vez, também através de estudo experimental em animais, realizaram uma úlcera induzida com *punch* de 2 mm de diâmetro em mucosa jugal de 48 ratos machos *Wistar*, os quais foram alocados em três grupos: controle, LBP e TFDa. O grupo TFDa teve como protocolo o uso prévio do corante fotossensibilizador azul de metileno a 2% por cinco minutos, seguido da aplicação do LBP (Azor Ltd.; Laser Medical Equipment Moscow, Rússia) no comprimento de onda de 660 nm e potência de 25 mW. A irradiação foi realizada em contato com a ferida por dez segundos em único ponto, com uma densidade de energia de 1 J/cm², entre os dias um e quatro do estudo, além dos dias seis ao nove, o que totalizou oito aplicações. Os autores observaram que houve um atraso no reparo cicatricial das úlceras no grupo TFDa, clinicamente, sugestivo de possível efeito inibitório dessa terapia, uma vez que demonstrou resultados inferiores em relação ao grupo que não utilizou nenhuma modalidade de tratamento.

Ao avaliar a frequência total de animais com úlcera em cada grupo no decorrer do experimento, no 8º dia, somente os animais dos grupos submetidos à aplicação das duas diferentes formulações de camomila (G2 e G3) exibiram redução clínica das úlceras mais acelerada, com regressão completa em todos os animais no 9º dia de experimento. Esse achado reitera o que a literatura afirma acerca da capacidade de a camomila acelerar a cicatrização na cavidade oral, em comparação com o grupo que não foi submetido a terapia alguma⁵⁹ ou, até mesmo, aqueles submetidos ao uso de corticosteroides tópicos^{4,12}. No estudo de Martins et al.⁴ (2009), ratos *Wistar* foram submetidos à realização de úlcera traumática em língua com *punch* de 3 mm de diâmetro. Os animais receberam duas aplicações diárias do extrato fluido de camomila Ad-muc®, em intervalo de 12 horas, durante todo o experimento, até o 14º dia. Todos os animais submetidos à aplicação tópica do extrato fluido de camomila apresentaram cicatrização completa da ferida no 5º dia de experimento, nove dias antes dos demais grupos avaliados. Um possível fator que pode estar associado com o reparo clínico dessas úlceras de forma mais acelerada em relação ao presente estudo se deve ao fato de que a lesão induzida foi feita com um bisturi *punch* de menor diâmetro. Independentemente dessa diferença metodológica, a camomila foi capaz de acelerar a cicatrização de úlceras em cavidade oral em ambos os experimentos.

De acordo com Duarte, Quirino, Patrocínio, Anbinder⁵⁹ (2011), ao se avaliarem secções teciduais durante o reparo tecidual em mucosa oral em modelo animal, o tempo é uma variável de extrema importância, relacionada com as características do que se espera encontrar nas três fases inflamatórias. No início da lesão e até o 3º dia, espera-se encontrar, na

lâmina própria, inflamação aguda associada com elevado número de infiltrado polimorfonuclear, em meio a áreas de edema, poucos fibroblastos e vasos sanguíneos neoformados. O centro da ferida permanece sem epitélio; todavia uma proliferação tecidual se inicia a partir da borda da ferida, com formação de fino revestimento epitelial estratificado pavimentoso ortoqueratinizado. Com sete dias, espera-se encontrar o centro da úlcera coberta por delgada camada de epitélio. O infiltrado inflamatório apresenta um padrão monomorfonuclear, com número moderado de células. No 10º dia, células inflamatórias, por vezes, podem ser observadas, e o contingente de fibroblastos deve estar mais abundante, permeado por fibras de colágeno delicadas⁵⁹. Esse padrão foi verificado no grupo de controle (G1) e no grupo submetido à aplicação tópica de camomila sob a forma de infusão (G3), na análise morfológica de secções histológicas coradas em HE. Assim, foi observado o curso natural do processo de reparo tecidual através da presença das características apresentadas, de acordo com os períodos propostos.

Ainda sobre a análise morfológica em função dos grupos e períodos de eutanásia, notou-se que todas as terapêuticas se comportaram de forma previsível no início do experimento (3º dia), com baixa celularidade e ausência de reepitelização completa, além de manifestar elevada intensidade de edema e de infiltrado inflamatório agudo, com predominância do contingente polimorfonuclear. Esse achado é compatível com estudos prévios que avaliaram a ação da camomila sobre o reparo tecidual^{4,12,59}. Martins et al.⁴ (2009) observaram que tanto o grupo submetido à aplicação do extrato fluido de camomila Ad-muc® como o grupo de controle manifestaram ausência de reepitelização em todas as amostras, bem como o tecido conjuntivo exibiu moderada a intensa quantidade de células inflamatórias no 3º dia de experimento. Duarte, Quirino, Patrocínio, Anbinder⁵⁹ (2011), através de ferida padronizada semelhante à realizada no presente experimento – onde, na sequência, se realizou a aplicação do extrato fluido de camomila Ad-muc®, definido como grupo experimental, enquanto que, no grupo de controle, houve a simulação de aplicação –, realizaram também análise morfológica das lesões. Aos três dias, observou-se área ampla ulcerada e, na lâmina própria, notou-se inflamação aguda intensa com predomínio de células polimorfonucleares em ambos os grupos. O presente estudo também verificou inflamação aguda intensa com contingente predominante de células polimorfonucleares nessa fase do experimento.

Quando se trata da análise das mesmas variáveis morfológicas na fase inicial do reparo, em estudos que envolveram o uso da TFDa em cavidade oral²⁶ e em ferida cutânea⁹⁷ de animais, os resultados são compatíveis com uma modulação positiva da fase inflamatória

desse processo. Deyhimi et al.²⁶ (2016) verificaram que, aos dois dias de experimento, 50% das secções do grupo TFDa manifestaram moderada quantidade de colágeno, início da formação de tecido de granulação e de reepitelização, compatível com cicatrização moderada. Aos quatro dias, houve equiparação entre os grupos, com discreta superioridade do grupo TFDa. De forma semelhante, Sperandio et al.⁹⁷ (2010) observaram que, aos três dias de estudo, a reepitelização em tecido cutâneo ocorreu de forma mais avançada nos grupos submetidos à LBP e TFDa ($p=0,025$), bem como o infiltrado inflamatório foi significativamente menor para esses dois grupos experimentais ($p=0,025$). Esses achados se contrapõem aos resultados aqui obtidos, em que a ação fotodinâmica no G4 e G5 não foi capaz de reduzir o edema, e a modulação positiva do reparo foi sutil. Nesses grupos, pode-se considerar que a bioestimulação tecidual, no sentido de acelerar a reepitelização, foi discreta no 3º dia de experimento.

No que diz respeito ao período intermediário do estudo (7º dia), o extrato fluido de camomila se destacou nas análises das variáveis morfológicas, com resultados superiores em relação aos demais grupos, que apesar de terem obtido índices que oscilaram, mantiveram um padrão de semelhança entre si. Esse achado foi compatível com estudos anteriores que adotaram o uso do mesmo extrato fluido de camomila de 12 em 12 horas^{4,59}, de acordo com a orientação do fabricante¹⁹. Martins et al.⁴ (2009) verificaram, desde o 5º dia de experimento, o reparo tecidual completo do epitélio e do tecido conjuntivo subjacente, com ausência ou mínima presença de células inflamatórias. Duarte, Quirino, Patrocínio, Anbinder⁵⁹ (2011) observaram, aos sete dias, que, apesar de os animais dos grupos de controle e extrato fluido de camomila terem apresentado formação de um novo epitélio escamoso estratificado ortoceratinizado delgado, ausência de edema e moderado contingente de células mononucleares, os fibroblastos estavam dispostos de forma menos organizada nas amostras do grupo de controle. Os resultados desses estudos, bem como os obtidos pelo presente trabalho, fortalecem a teoria de que a fitoterapia valida o efeito farmacológico de plantas que passaram por uma inspeção criteriosa de constituintes e estudos controlados^{18, 29}, o que as torna indicadas para o tratamento de diversas enfermidades, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)¹⁸. Ressalta-se que o grupo que utilizou camomila sob a forma de infusão não exibiu os mesmos resultados obtidos para o grupo extrato fluido.

Ao final do experimento, o grupo submetido ao uso do extrato fluido Ad-muc® (G2) se comportou de forma semelhante ao dia sete, com resultados superiores no que diz respeito a todas as variáveis histomorfológicas. Esse grupo foi o único que apresentou 100% das secções

com reepitelização completa e organizada, associada com formação de novas papilas linguais, o que denota um grau de diferenciação avançado em relação aos demais grupos. Resultados semelhantes puderam ser observados em estudos prévios^{4,12,59}, com destaque para o experimento de Duarte, Quirino, Patrocínio, Anbinder^{59 (2011)}, que notaram a diferenciação das papilas linguais de forma mais pronunciada nas amostras dos animais tratados com esse fitoterápico a partir do 10º dia.

Destaca-se também que, nesse mesmo período, o grupo de controle exibiu comportamento compatível com o processo natural de reparo tecidual, conforme é descrito na literatura^{3,4,42}, assim como o grupo submetido ao uso tópico da infusão de camomila (G3), que manifestou um padrão histológico mais próximo ao do grupo de controle (G1), do que em relação ao grupo de extrato fluido (G2). Esse resultado possivelmente se deve à concentração final de camomila aplicada na infusão. Apesar de sua forma de preparo ter seguido os padrões propostos pelo último formulário de fitoterapia publicado pela ANVISA¹³⁸, em 2021, e pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA), em 2015¹³⁹, a concentração da camomila na infusão pronta não pôde ser obtida, por ser considerada uma planta medicinal. Ou seja, apesar de ser indicada para a cura ou alívio de enfermidades, através da utilização da espécie vegetal em sua forma bruta, essas plantas não são submetidas ao controle de qualidade através de testes clínicos⁵⁰. Dessa maneira, o fitoterápico se destaca em relação à planta medicinal, por apresentar rigoroso controle em sua formulação. Entretanto, urge salientar que as agências reguladoras não contraindicam o uso de plantas medicinais em sua forma bruta ou comercial, uma vez que apresentam um uso tradicional ao longo de séculos, de forma que beneficiam a humanidade^{138, 139}. Além disso, no Brasil, que possui uma flora rica e diversa, há alta disponibilidade da matéria-prima, o que reduz o custo e facilita o acesso da população²⁹. Ademais, novos estudos que abordem o uso da camomila sob a forma de infuso em diferentes concentrações se tornam essenciais para a validação da terapia baseada no uso desse agente natural.

Outro fator importante, que deve ser ressaltado, é que a camomila, como infuso, apresenta uma forma líquida, enquanto o extrato fluido se aproxima da formulação mucoadesiva, que fornece maior aderência aos tecidos e, portanto, permanece por mais tempo no local, o que, por consequência, aumenta a absorção e o efeito do agente terapêutico¹⁴⁰. A aplicação tópica de camomila, por sua vez, através de uma forma de bochecho, apresenta situação contraditória na literatura¹⁴¹. Possíveis razões que exemplificam os achados aqui obtidos e influenciam na ação terapêutica da camomila envolvem a forma como a planta foi

manipulada ou processada, a forma e a frequência de aplicação, a concentração do agente e o veículo utilizado^{20,21,59,141}. Por essas razões, recomenda-se, mais uma vez, a realização de mais estudos em que se utilize a infusão de camomila, principalmente no que se refere ao uso em úlceras extensas e múltiplas, por ser de fácil aplicação.

Ainda sobre o final do experimento (14º dia), os grupos submetidos à TFDa (G4 e G5) obtiveram resultados desfavoráveis, pois foram os únicos grupos que não apresentaram todas as secções reepitelizadas, além de terem apresentado infiltrado e edema intenso em parte das secções nesse mesmo período. No que se refere à população fibroblástica, o G4 foi o único grupo que exibiu um maior contingente de secções com ausência de celularidade compatível com a formação de uma nova matriz colagênica. Esses achados podem estar relacionados com o mecanismo de ação da TFDa, cujo princípio primordial é a erradicação de vírus, bactérias, fungos e protozoários^{31,66,67}, e não apresenta ação confirmada no reparo tecidual. Essa ação se baseia na premissa de que o mecanismo de destruição do microrganismo depende do tipo de célula tratada, da concentração do fotossensibilizador utilizado e da dose de energia luminosa fornecida; altas dosagens tendem a promover a morte celular por necrose, enquanto protocolos com doses de energia menores causam a morte via apoptose^{31,72}. Dessa forma, presume-se que o presente experimento adotou um protocolo em que a dosimetria em si não parece ter sido elevada, uma vez que o estudo prévio de Sperandio et al.⁹⁷ (2010) utilizou esse mesmo parâmetro e obteve sucesso terapêutico. Todavia, ao se comparar a frequência de aplicação da TFDa entre os dois experimentos, observa-se que o estudo pioneiro de Sperandio et al.⁹⁷ (2010) realizou uma única aplicação da TFDa, enquanto o presente trabalho usou o recurso em dias alternados, totalizando oito sessões, o que parece não ter promovido a aceleração do processo de reparo. O estudo de Deyhimi et al.²⁶ (2016) também realizou oito sessões de TFDa durante o período de 14 dias, e, apesar de o protocolo instituído ter sido diferente do adotado no presente estudo no que diz respeito a dosimetria, tempo pré-irradiação e intervalo de aplicação, os resultados foram semelhantes, e o processo de reparo tecidual não foi acelerado. Os autores²⁶ recomendam o uso dessa modalidade terapêutica nos primeiros estágios do reparo de feridas, com o intuito de promover o efeito antimicrobiano inicial, o que evita a perpetuação da oxirredução, e, por conseguinte, não atrasa a cicatrização tecidual.

De forma adicional, além da realização de uma única sessão de TFDa com a mesma dosimetria no início do experimento, os autores deste estudo sugerem a realização subsequente de sessões de fotobiomodulação laser através do uso do LBP em dias alternados, com dosimetria capaz de acelerar a cicatrização, o que já se encontra bem fundamentado na

literatura¹⁴². Em lesões de caráter infeccioso, como é o caso de lesões herpéticas^{70,74,81} e aquelas provenientes da síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2 (Sars-CoV-2)^{143, 144}, ou até mesmo em úlceras de origem inflamatória, em decorrência de terapia antineoplásica, mas que facilmente se tornam infectadas, como é o caso da mucosite⁷⁵, a associação da TFDa com a fotobiomodulação laser já é uma realidade, com um aumento crescente de estudos com essa abordagem^{70,74,75,81,143,144}. Todavia vale a pena ressaltar que, no presente estudo, as úlceras não foram contaminadas de forma intencional, ou seja, essas lesões foram expostas à flora microbiana local característica da cavidade oral e, dessa maneira, o potencial antimicrobiano em si relacionado à TFDa não foi analisado.

Outro ponto de destaque para o sucesso fotodinâmico se deve à interação adequada entre a fonte de luz e o fotossensibilizador. Quanto à fonte luminosa, deve-se levar em consideração o tipo de luz utilizada e os parâmetros, o que inclui potência, fluência, dose por ponto, dose total e tempo de aplicação. O LBP, no comprimento de onda vermelho, tem se destacado em pesquisas^{74,76,81,145}, pois a maioria das substâncias corantes são ativadas sob a influência desse comprimento de onda, que varia de 630 a 700nm^{25,32}, o que promove não só o efeito antimicrobiano, mas também favorece o reparo tecidual³². Esses achados reiteram que os parâmetros relacionados à dosimetria do aparelho bem como ao corante fotossensibilizador aqui adotados estão adequados para a obtenção de resultados favoráveis.

Com relação ao tempo de pré-irradiação – que compreende o período de contato entre o corante e o tecido-alvo, com o intuito de sensibilizar o agente etiológico –, apesar de estudos prévios terem aplicado o azul de metileno durante cinco minutos^{26,97}, este experimento optou por reduzir o tempo de aplicação para três minutos, uma vez que a literatura sugere que o tempo de contato entre o agente fotossensibilizador e o tecido-alvo pode variar de três a cinco minutos^{74,75,145}. Ademais, a escolha do período reduzido de tempo se deveu também ao fato de que a manipulação dos animais por tempo prolongado poderia lhes causar estresse e até morte, independentemente do uso de contenção atraumática e causadora de mínimo estresse. Dessa maneira, ratifica-se que a provável causa da pouca ação da TFDa no processo de cicatrização, neste estudo, se deve ao fato de a frequência de aplicação ocorrer em dias alternados e não na fase inicial do reparo tecidual.

Optou-se por realizar também a análise linear morfométrica ECC e DCBCSE, que, quando avaliados de forma conjunta com os dados morfológicos, podem reiterar os achados do tecido epitelial, em que o espessamento do estrato córneo ocorre em resposta a um possível estresse, com maior produção de ceratina¹⁴⁶. Sob essa ótica, os grupos que apresentaram

valores numéricos mais elevados demonstraram maior amadurecimento da reepitelização, o que confere uma modulação positiva no reparo. Ao se avaliar o ECC de forma isolada, notou-se o espessamento do estrato córneo em todos os grupos com o decorrer do experimento. Após três dias, esse parâmetro foi mais elevado no G4, o que também pôde ser notado através da análise clínica. Ao final do estudo, o G5 exibiu os menores valores, nesse caso confirmados através de dados morfológicos. A DCBCSE apresentou similaridade em todos os grupos ao final do experimento. No 7º dia, os grupos submetidos à infusão de camomila (G3 e G5) apresentaram um padrão de espessamento significativo em relação ao grupo de controle, o que sugere um possível amadurecimento precoce desses grupos nesse período. Pelo fato de esses parâmetros não terem sido expressivos ao final do experimento em nenhum grupo, há evidência de que nenhuma terapia demonstrou resposta exacerbada ao trauma local.

No que concerne à análise morfológica do padrão de deposição do colágeno total através de secções histológicas coradas em sírius vermelho, do início ao fim do experimento, os grupos, de maneira geral, exibiram um padrão regular compatível ao curso natural do processo de reparo tecidual^{3, 42}, em que foi observado, na fase inflamatória, a deposição de colágeno de forma desorganizada, com espessura delicada e profundidade aumentada. De forma gradual, na fase proliferativa, notou-se o espessamento dessas fibras, que permaneceram desorganizadas até o fim do experimento. Todavia o grupo submetido à aplicação do extrato fluido de camomila (G2) exibiu um padrão diferenciado de fibras colagênicas, pois, desde o 3º dia, já se observava uma deposição desorganizada, porém com fibras espessas, e, no 14º dia, além de exibirem um padrão de espessura homogênea do colágeno nas secções, também já se caracterizava de forma organizada e com padrão próximo à normalidade.

De forma semelhante, no estudo de Duarte, Quirino, Patrocínio, Anbinder⁵⁹ (2011), na análise histomorfológica, observou-se a disposição dos fibroblastos de forma organizada e as fibras colágenas paralelas à superfície no tecido de reparo em ratos tratados com o extrato fluido de camomila, desde o 7º dia até o 14º dia de experimento. Oliveira *et al.*¹², através de secções coradas em sírius vermelho, notaram que, desde o 5º dia de experimento, o grupo de ratos diabéticos submetidos ao uso diário, de 12 em 12 horas do extrato fluido de camomila apresentou maior deposição de colágeno em relação ao grupo de controle positivo, que era composto por animais normoglicêmicos. Ao 10º dia, os ratos diabéticos pertencentes ao grupo camomila demonstraram maior deposição de fibras colágenas, ao serem comparados com os do grupo triancinolona acetona (Omcilon-A, orabase®, 1 mg/g, B-MS, São Paulo, Brasil),

que compreende um anti-inflamatório esteroideal tópico amplamente utilizado para o tratamento de úlceras orais. Por sua vez, Martins et al.⁴ (2009) avaliaram comparativamente a presença ou a ausência de fibrose em secções coradas em HE de ratos submetidos à aplicação do extrato fluido de camomila e de diferentes tipos de corticosteroides, o que incluiu a triancinolona acetona e o propionato de clobetasol, sob a forma de pasta e creme. Foi verificado que, desde o 5º dia de experimento, a lâmina própria do grupo camomila exibiu um padrão de fibrose com mínima quantidade de células inflamatórias, revelando que esse fitoterápico foi capaz de modular positivamente o reparo em tecido conjuntivo.

Com relação à análise histomorfométrica da porcentagem das áreas de colágeno no decorrer do experimento, observou-se que o grupo submetido à TFDa exclusiva (G4) obteve aumento significativo dessa variável no 7º e no 14º dia de tratamento em relação ao 3º dia ($p < 0,05$). Esses achados sugerem a possibilidade bioestimuladora da TFDa no tecido conjuntivo subjacente, onde houve aumento da área de colágeno em decorrência do aumento da atividade fibroblástica, o que favorece a modulação do reparo nesse tecido. Achado semelhante foi encontrado no estudo de Zuhayri et al.¹³⁷ (2002), em que, através de análise *in vivo* de camundongos submetidos à TFDa com azul de metileno 0,01%, associado com o LBP sob irradiação de 4 J/cm² em úlceras cutâneas, foi observada maior deposição de fibras colágenas do tipo I e fibras elásticas, em relação aos demais grupos, dos sete aos 14 dias de experimento. Em contrapartida, Deyhimi et al.²⁶ (2016) não obtiveram resultados compatíveis através da análise semi-quantitativa da deposição de colágeno, em relação aos achados dos resultados de Zuhayri et al.¹³⁷ (2022) e do presente experimento. Nesse último caso, a TFDa, de início, pareceu modular de forma satisfatória o reparo nesse tecido, pois foi o único grupo que exibiu abundante conteúdo de fibras colagênicas. Entretanto, com o decorrer do experimento, o grupo de controle alcançou resultados superiores em relação à TFDa, já que, no 7º dia, 100% das secções desse grupo já apresentavam abundante conteúdo de colágeno, em comparação a 50% das amostras do grupo TFDa. Os autores do presente estudo sugerem a realização de trabalhos com maior período de análise, para permitir a avaliação da etapa de remodelação do reparo tecidual e, dessa maneira, analisar de forma mais fidedigna o padrão de deposição e organização dessas fibras colagênicas.

Com o objetivo de maximizar e consolidar os resultados encontrados, orienta-se a realização de estudos em seres humanos do tipo ensaio clínico randomizado, além do uso de outros protocolos da TFDa e outras formulações de camomila em modelos animais. Também se recomendam análises adicionais das amostras teciduais, através da imunistoquímica,

microscopia de fluorescência e eletrônica de transmissão, que constituem métodos descritos na literatura com vistas ao reparo tecidual^{103,137,147}. Todavia vale ressaltar que as análises aqui realizadas permitiram iniciar a investigação acerca dessas modalidades de tratamento propostas.

4.2.5 Conclusão

Do ponto de vista clínico, todos os grupos avaliados exibiram cicatrização da ferida produzida em dorso de língua de ratos. A camomila, em diferentes formulações, demonstrou modular positivamente os padrões do reparo tecidual clinicamente, e o extrato fluido de camomila, por sua vez, exibiu melhores padrões histológicos de reparo tecidual, quando comparado aos dos demais grupos, tanto relacionados à organização e ao quantitativo de deposição de colágeno tecidual, quanto aos parâmetros morfológicos e morfométricos relacionados ao tecido epitelial. A TFDa, por sua vez, não acelerou o reparo tecidual histologicamente em dorso de língua de ratos. Ademais, notou-se diferença nos parâmetros dos padrões clínicos, histológicos e histomorfométricos entre os grupos experimentais da presente investigação.

5 DISCUSSÃO GERAL

Nos últimos anos, há um crescente interesse pela medicina baseada no uso de agentes naturais para a cicatrização de feridas, e, nesse contexto, se destaca o uso de fitoterápicos e plantas medicinais^{4-7,11,12,148,149}. Muitos desses agentes têm demonstrado efeito positivo em um ou mais estágios do processo de reparo tecidual, o que contribui para uma cicatrização eficaz^{4,7,12,20,21,148}. A camomila (*Matricaria recutita*), por sua vez, apresenta, na literatura, uma fundamentação científica que a torna amplamente indicada para o tratamento de lesões ulceradas de etiopatogenias diferentes, como é o caso das afecções orais provenientes de traumas locais^{4,12}, de origem imunológica¹⁵⁰, infecciosa^{14,143,144} ou ainda em decorrência da terapia antineoplásica^{15,16,20,21}. Essa capacidade cicatricial da camomila pôde ser verificada nos dois estudos aqui apresentados. O primeiro demonstrou efeito benéfico da *Matricaria* sob a forma de uso tópico, como enxaguante bucal produzido a partir de flores da planta, ou através da diluição de camomila comercial em água, aplicada de uma a quatro vezes ao dia e em diferentes concentrações, no manejo da MO quimioinduzida em pacientes oncológicos. No segundo trabalho apresentado, que compreendeu no estudo experimental em modelo animal, o extrato fluido de camomila (Ad-muc®) demonstrou superioridade em relação à camomila sob a forma de infusão, no reparo tecidual em lesão traumática induzida em língua de ratos, bem como em relação aos outros recursos avaliados.

No que concerne ao efeito da modulação da inflamação, ambos os trabalhos aqui expostos reiteraram a capacidade de redução do processo inflamatório com o uso da camomila. A mucosite consiste no desenvolvimento de lesões de origem inflamatória em decorrência da quimio ou radioterapia^{106,107}, e a *Matricaria*, por sua vez, foi capaz de prevenir, reduzir e tratar esse efeito colateral agudo em pacientes oncológicos. Além disso, no estudo experimental, também foi observada a capacidade anti-inflamatória desse agente natural através da análise de secções histológicas, pois, na fase proliferativa do reparo, houve uma diminuição importante do infiltrado inflamatório nos ratos submetidos à aplicação tópica do extrato fluido Ad-muc®. Estudos anteriores, encontrados na literatura existente, já demonstraram a capacidade anti-inflamatória da camomila através de estudos experimentais em animais^{4, 12, 20, 21}, bem como em estudos em seres humanos^{11,15,16}.

Apesar de essas características positivas terem sido comprovadas no manejo da MO, através de estudos experimentais em animais^{20,21} e em ensaios clínicos em humanos^{15,16}, além da revisão sistemática aqui apresentada, não se pode ignorar a alta complexidade que envolve

a fisiopatologia da mucosite, o que destaca, nos dias atuais, a ausência de um protocolo que seja considerado padrão-ouro para o manejo dessa condição¹¹¹. Associado a esse fato, de acordo com a MASCC/ISSO¹¹¹, e devido à insuficiência de dados científicos que corroborem o uso da camomila na prevenção e (ou) tratamento da MO, ainda não existe recomendação oficial quanto ao uso desse agente no manejo dessa condição. Dessa maneira, orienta-se a realização de mais estudos com esse enfoque, na tentativa de se obterem dados robustos acerca da eficácia da camomila no manejo da MO.

A camomila pode se apresentar sob a forma de infuso, cápsula, comprimido, extrato fluido, solução hidroetanólica, tinturas e outros galênicos^{17,18}. Em ambos os estudos aqui apresentados, esse agente natural foi utilizado sob a forma de infusão e (ou) de extrato fluido ou líquido. Por definição, a infusão compreende na preparação de água potável fervente sobre o agente vegetal, e, na sequência, deve-se abafar o recipiente por um período de tempo determinado. O chá medicinal, em contrapartida, pode ser obtido através da infusão, decocção ou maceração da droga vegetal em água pelo consumidor. A decocção consiste na ebulição de partes rígidas da droga vegetal em água potável por tempo determinado, enquanto a maceração é um método indicado para substâncias que se degradam com o aquecimento. Sua preparação compreende o contato da droga vegetal com água potável, em temperatura ambiente e por tempo determinado¹³⁸. Portanto, pode-se inferir que, no presente estudo, o chá de camomila foi obtido através do infuso de seus capítulos florais, responsáveis pela atividade cicatricial e anti-inflamatória tópica desse agente^{17,18}, o que torna ambas as terminologias sinônimas para expressar o uso desse agente com finalidade medicinal tópica.

Optou-se pela utilização da infusão de camomila sob a forma de sachê comercialmente disponível no presente estudo experimental, devido ao baixo custo e fácil acesso, o que facilita e favorece sua aplicação clínica. Em contrapartida, o infuso de camomila é caracterizado como planta medicinal, o que sugere que, apesar de manifestar efeito terapêutico, não foi submetido ao controle rigoroso de qualidade, como ocorre com os fitoterápicos^{48,49}. Dessa maneira, o extrato fluido de camomila Ad-muc®, por ser um fitoterápico, apresenta preparação controlada com o emprego exclusivo de matéria-prima vegetal ativa¹⁸, além de possuir qualidade constante⁴⁸, o que confere uma vantagem em relação ao uso do infuso e pode justificar seu efeito superior no presente estudo. Ademais, outro possível fator que potencializou o efeito desse agente se deve ao fato de que o extrato fluido compreende a preparação com consistência líquida, em que uma parte do extrato, corresponde a uma parte, em massa, da droga vegetal seca utilizada em sua preparação¹⁵¹.

Com base na premissa que o Ad-muc® é um extrato fluido, por possuir a goma xantana em sua composição¹⁹, ele possui maior bioadesividade nas superfícies mucosas¹⁴⁰ e permanecerá por um período de tempo maior no local, o que aumenta a absorção da medicação empregada, em relação ao infuso.

Vale ressaltar que o teste para obtenção da concentração do infuso de camomila não foi realizado. Todavia seu peso bruto de 10 g, de acordo com a informação do fabricante, encontra-se dentro da recomendação atual da ANVISA, em 2021¹³⁸, e da EMA, em 2015¹³⁹. Essas agências orientam que a infusão deve ser preparada com inflorescências secas e rasuradas com peso entre 1g a 10 g, sob a quantidade de 100 ml de água, sendo que, para lesões orais, preconiza-se o uso de 1g a 5 g. Dessa maneira, o presente experimento encontra-se em consonância com a recomendação de agências reguladoras nacional e internacional.

A TFDa tem como objetivo a inativação e (ou) a morte microbiana através de reações de fotoativação sob a presença da tríade: corante fotossensibilizador, fonte de luz com dosimetria apropriada e oxigênio³¹. Na literatura, sua ação antimicrobiana está bem consolidada^{31,33,70,74,81}, embora sua capacidade de promover o reparo tecidual ainda não se encontre bem elucidada, o que requer a realização de estudos com esse enfoque. Por essa razão, o presente estudo objetivou a utilização dessa terapia com vistas a se obter o reparo em lesões induzidas por trauma em dorso de língua de ratos. Apesar de os resultados apresentados terem demonstrado que a TFDa não foi capaz de acelerar a cicatrização das lesões nesses animais, não se elimina a possibilidade cicatricial desse dispositivo, uma vez que, por não existir um protocolo padronizado com essa finalidade, há dificuldade na escolha de parâmetros ideais e diferentes dosimetrias podem ser testadas, o que favorece a obtenção de resultados contraditórios, especialmente em casos em que uma energia elevada sobre o tecido-alvo pode ser capaz de promover efeito inibitório, ao invés de favorecer a cicatrização¹⁵².

O efeito de não aceleração da cicatrização apresentado pela TFDa pôde ser observado neste experimento, pois, na fase proliferativa do processo de reparo, a TFDa demonstrou cicatrização tardia, com parte das secções não reepitelizadas. Todavia, na fase inflamatória desse processo, o grupo submetido à TFDa obteve resultados positivos, tanto do ponto de vista clínico, quanto histológico, o que condiz parcialmente com a hipótese proposta por Karrer et al.⁸⁷ (2004), que consiste na premissa de que essa terapia é capaz de estimular células do sistema imune e de mediadores inflamatórios. Todavia, a dosimetria adotada não pareceu ser capaz de induzir a estimulação fibroblástica.

A adoção dos parâmetros para a TFDa, no presente trabalho, se baseou na tentativa de se estabelecer uma proposta terapêutica que apresentasse viabilidade clínica, de forma que protocolos de fotobiomodulação laser fossem o ponto de partida para a determinação da frequência de aplicação^{8,24}, uma vez que esse dispositivo promove o reparo através da biomodulação tecidual¹¹¹. Além disso, o estudo de Sperandio et al.^{97 (2010)} norteou a escolha da dosimetria da TFDa, uma vez que se tratou de estudo experimental em animais que objetivou avaliar o efeito dessa terapia sobre o reparo tecidual em região de dorso de ratos e obteve sucesso clínico e histológico.

Ademais, o presente trabalho teve como tema central verificar se a união de duas terapias que se encontram em evidência na literatura atual^{26,28,29,55,75} seria capaz de favorecer o reparo tecidual ou até mesmo potencializá-lo, uma vez que ambas têm como princípio a ação antimicrobiana e reparadora^{29,59,74,130,132,133}. Apesar de os resultados não terem demonstrado efeito positivo da camomila associada com a TFDa na cicatrização das feridas no modelo aqui utilizado, recomenda-se a realização de novos estudos com esse enfoque, uma vez que este experimento foi pioneiro e, portanto, mudanças metodológicas podem viabilizar e favorecer os próximos resultados.

Dentre as limitações encontradas no presente estudo, destaca-se a ausência de recursos para a realização de análises adicionais, a exemplo da biologia molecular, bem como a dificuldade de obter parcerias para essa realização, uma vez que o período vigente da pesquisa compreendeu a pandemia de COVID-19 (Doença por Coronavírus 2019). A análise com biomarcadores específicos para citocinas e fatores de crescimento inflamatórios traria dados relevantes e ampliaria o conhecimento. Contudo, não foi possível realizar tais avaliações. De modo adicional, também não foi possível realizar testes específicos para se obter a concentração exata da camomila e seus constituintes bioativos nos sachês. Em suma, destaca-se que a presente linha de pesquisa promoverá a execução de novos experimentos, na tentativa de preencher lacunas de conhecimento ainda existentes.

6 CONCLUSÃO GERAL

- O uso tópico da *Matricaria recutita*, de maneira isolada, no reparo tecidual foi capaz de modular positivamente suas etapas, quando comparado a seu uso associado com a TFDa.

6.1 REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

- A aplicação tópica da *Matricaria recutita* sob diferentes formulações e concentrações foi capaz de prevenir e tratar a MO quimioinduzida em pacientes oncológicos.

6.2 ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL

Com a metodologia utilizada, concluiu-se que:

- A análise clínica revelou que todos os grupos apresentaram redução da ferida oral ao final do experimento, com superioridade nos animais submetidos ao uso da camomila sob a forma de infuso e de extrato fluido.
- Ao avaliar os parâmetros histológicos do reparo tecidual, o extrato fluido de camomila contribuiu de maneira mais efetiva para a resolução da fase exsudativa da inflamação e o estímulo da fase proliferativa.
- A reepitelização das feridas avaliadas pela histomorfometria evidenciou diferenças ao longo do tempo para todos os grupos, embora, no 14º dia, somente o G5 exibiu redução da camada córnea, o que configura menor resposta ao trauma nesse grupo.
- Com relação à organização e ao quantitativo de deposição de colágeno tecidual, observou-se que, passados 14 dias, todos os grupos apresentaram resultados semelhantes. Entretanto, na análise morfológica, notou-se que o grupo extrato fluido de camomila apresentou fibras colagênicas mais espessas e mais organizadas, o que sugere atribuição de maior qualidade ao tecido em neoformação.

- Houve diferença nos parâmetros dos padrões clínicos, histológicos e histomorfométricos entre os grupos experimentais da presente investigação.

REFERÊNCIAS

1. Qin R, Steel A, Fazel N. Oral mucosa biology and salivary biomarkers. *Clin Dermatol*. 2017; 35(5):477-83. doi: 10.1016/j.clindermatol.2017.06.005
2. Chhabra S, Chhabra N, Kaur A, Gupta N. Wound healing concepts in clinical practice of OMFS. *J Maxillofac Oral Surg*. 2017;16(4):403-23. doi: 10.1007/s12663-016-0880-z
3. Mendonça RJ. Aspectos celulares da cicatrização. *An Bras Dermatol*. 2009;84(3):257-62.
4. Martins MD, Marques MM, Bussadori SK, Martins MAT, Pavesi VCS, Mesquita-Ferrari RA, et al. Comparative Analysis between *chamomilla recutita* and corticosteroids on wound healing. An *in vitro* and *in vivo* study. *Phytother Res*. 2009;23(2):274-8. doi: 10.1002/ptr.2612
5. Miraj S, Alesaeid S. A systematic review study of therapeutic effects of *Matricaria recutita* chamomile (chamomile). *Eletronic Physician*. 2016;8(9):3024-31. doi: 10.19082/3024
6. Akhavan-karbassi MH, Mohammad FY, Hakimeh A, Maryam J, SadrAbad. Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial of Propolis for Oral Mucositis in Patients Receiving Chemotherapy for Head and Neck Cancer. *Asian Pac J Cancer Prevent*. 2016;17(7):3611-4.
7. Dantas JBL, Martins GB, Lima HR, Carrera M, Reis SRA, Medrado ARAP. Evaluation of preventive laser photobiomodulation in patients with head and neck cancer undergoing radiochemotherapy. *Spec Care Dent*. 2020;40(4):1-10.
8. Grégio AMT, Lima AAS, Ribas MO, Barbosa APM, Pereira ACP, Koike F, et al. Efeito da propolis mellifera sobre o processo de reparo de lesões ulceradas na mucosa bucal de ratos. *Est Biol*. 2005;27(58):43-7. doi: 10.7213/reb.v27i58.21912
9. O'Hara M, Kiefer D, Farrell K, Kemper K. A review of 12 commonly used medicinal herbs. *Arch Fam Med*. 1998;7:523-36.
10. McKay DL, Blumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother Res*. 2006;20(7):519-30. doi: 10.1002/ptr.1900
11. Seyyedi SA, Sanatkhani M, Pakfetrat A, Olyae P. The therapeutic effects of chamomilla tincture mouthwash on oral aphthae: A Randomized Clinical Trial. *J Clin Exp Dent*. 2014; 6(5):e535-8. doi:10.4317/jced.51472
12. Oliveira BV, Silva PGB, Nojosa JS, Brizeno LAC, Ferreira JM, Sousa FB, et al. TNF-alpha expression, evaluation of collagen, and TUNEL of *Matricaria recutita* L. extract and triamcinolone on oral ulcer in diabetic rats. *J Appl Oral Sci*. 2016; 24(3):278-90.
13. Goes P, Dutra CS, Lisboa MRP, Gondim DV, Leitão R, Brito GAC, et al. Clinical efficacy of a 1% *Matricaria chamomile* L. mouthwash and 0.12% chlorhexidine for gingivitis control in patients undergoing orthodontic treatment with fixed appliances. *J Oral Sci*. 2016;58(4):569-74. doi: 10.2334/josnurd.16-0280

14. Rahman H, Chandra A. Microbiologic evaluation of matricaria and chlorhexidine against *E. faecalis* and *C. albicans*. *Indian J Dent*. 2015;6(2):60-4. doi: 10.4103/0975-962X.155876
15. os Reis PED, Ciol MA, Melo NS, Figueiredo PTS, Leite AF, Manzi NM. Chamomile infusion cryotherapy to prevent oral mucositis induced by chemotherapy: a pilot study. *Support Care Cancer*. 2016;24:4393-8.
16. Braga FTMM, Santos ACF, Bueno PCP, Silveira RCCP, Santos CB, Bastos JK, et al. Use of chamomilla recutita in the prevention and treatment of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a randomized, controlled, phase ii clinical trial. *Cancer Nurs*. 2015;1-8.
17. World Health Organization - WHO monographs on selected medicinal plants. Geneva: World Health Organization; 1999. Vol. 1. P.86-94.
18. Ministério da Saúde(BR). ANVISA. Memento fitoterápico. Farmacopeia Brasileira. Brasília; 2016. P. 63-4.
19. Ad-Muc [Internet]. São Paulo: Biolab Farmacêutica Ltda [citado 2022 mar 01]. Disponível em: <https://consultaremedios.com.br/ad-muc/bula>.
20. Curra M, Martins MAT, Lauxen IS, Pellicoli AAA, Sant'ana Filho M, Pavesi PVS, et al. Effect of topical chamomile on immunohistochemical levels of IL-1b and TNF-a in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013;71:293-9.
21. Pavesi VCS, Lopez TCC, Martins MAT, Santan'a Filho M, Bussadori SK, Fernandes KPS, et al. Healing action of topical chamomile on 5-fluorouracil induced oral mucositis in hamster. *Support Care Cancer*. 2011;19(5):639-46. doi: 10.1007/s00520-010-0875-0
22. Raber-Durlacher JE, Elad S, Barash A. Oral Mucositis. *Oral Oncol*. 2010; 46:452-6.
23. Loreti EH, Pascoal VLW, Nogueira BV, Silva IV, Pedrosa DF. Use of Laser Therapy in the Healing Process: A Literature Review. *Photomed Laser Surg*. 2015;33(2):104-16.
24. Zadic Y, Arany PR, Fregnani ER, Bossi P, Antunes HS, Bensadoun RJ, et al. Systematic review of photobiomodulation for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines. *Support Care Cancer*. 2019;27(10):3969-83. doi: 10.1007/s00520-019-04890-2.
25. Prażmo EJ, Kwaśny M, Łapiński M, Mielczarek A. Photodynamic Therapy As a Promising Method Used in the Treatment of Oral Diseases. *Adv Clin Exp Med*. 2016;25(4):799-807.
26. Deyhimi P, Khademi H, Birang R, Akhoondzadeh M. Histological Evaluation of Wound Healing Process after Photodynamic Therapy of Rat Oral Mucosal Ulcer. *J Dent Shiraz Univ Med Sci*. 2016;17(1):43-8.
27. Hamblin MR, Abrahamse H. Can light-based approaches overcome antimicrobial resistance? *Drug Dev Res*. 2019;80(1):48-67. doi: 10.1002/ddr.21453

28. Maya R, Ladeira LLC, Maya JEP, Gonçalves LM, Bussadori SK, Paschoal MAB. The combination of antimicrobial photodynamic therapy and photobiomodulation therapy for the treatment of palatal ulcers: a case report. *J Lasers Med Sci*. 2020;11(2):228-33. doi: 10.34172/jlms.2020.38
29. De Melo Aleluia, Procópio VC, Oliveira MTG, Furtado PGS, Giovaninni JFG, de Mendonça SMS. Fitoterápicos na odontologia. *Rev Odontol Univ Cid São Paulo*. 2015;27(2):126-34.
30. Miraj S, Azizi N, Kiani S. A review of chemical components and pharmacological effects of melissa officinalis L. *Der Pharmacia Lettre*. 2016;8(6):229-37.
31. Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Curr Opin Microbiol*. 2016;33:67-73.
32. Nesi-Reis V, Lera-Nonose DSSL, Oyama J, Silva-Lalucci MPP, Demarchi IG, Aristides SMA, et al. Contribution of photodynamic therapy in wound healing: a systematic review. *Photodiag Photodin Ther*. 201;21:294-305. doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.12.015
33. Liu Y, Qin R, Zaat SAJ, Breukink E, Heger M. Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections. *Clin Trans Res*. 2015;1(3):140-67.
34. Moura JPG, Brandão LB, Barcessat ARP. Estudo da terapia fotodinâmica no reparo de lesões teciduais: estudo de casos clínicos. *Estac Cient UNIFAP*. 2018;8(1):103-10.
35. Mesquita KSF, Queiroz AM, Nelson-Filho P, Borsato MC. Terapia fotodinâmica: tratamento promissor na Odontologia? *Rev Fac Odontolo Lins/ Unimep*. 2013;23(2):45-52.
36. Stoopler ET, Sollecito TP. Oral mucosal diseases: evaluation and management. *Med Clin*. 2014;98(6):1323-52. doi: 10.1016/j.mcna.2014.08.006
37. Fitzpatrick SG, Cohen DM, Clark AN. Ulcerated lesions of the oral mucosa: clinical and histologic review. *Head Neck Pathol*. 2019;13(1):91-102.
38. Wang S-S, Tang Y-L, Pang X, Zheng M, Tang Y-J, Liang X-H. The maintenance of an oral epithelial barrier. *Life Sci*. 2019;227:129-36.
39. Robson MC, Steed DL, Franz MG. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg*. 2001;38:72-140.
40. Uzêda-E-Silva VD, Rodriguez TT, Rocha IA, Xavier FC, Dos Santos JN, Cury PR, et al. Laser phototherapy improves early stage of cutaneous wound healing of rats under hyperlipidic diet. *Lasers Med Sci*. 2016;31(7):1363-70. doi: 10.1007/s10103-016-1985-9
41. Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD. Chapter 1 wound healing. In: Shetty V, Bertolami CN, editors. *Peterson's principles of oral and maxillofacial surgery*. 2nd ed. Hamilton: BC Decker; 2004.

42. Baron JM, Glatz M, Proksch E. Optimal Support of Wound Healing: New Insights. *Dermatol.* 2020; 1-8.
43. Gonzalez AC, Costa TF, Andrade ZA, Medrado ARAP. Cicatrização cutânea - uma revisão da literatura. *An Bras Dermatol.* 2016;91(5):614-20. doi: 10.1590/abd1806-4841.20164741
44. Nikoloudaki G, Creber K, Hamilton DW. Wound healing and fibrosis: a contrasting role for periostin in skin and the oral mucosa. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2020;318(6):C1065-77. doi:10.1152/ajpcell.00035.2020
45. Häkkinen L, Uitto VJ, Larjava H. Cell biology of gingival wound healing. *Periodontol.* 2000; 24:127-52. doi:10.1034/j.1600-0757.2000.024001127.x
46. Khan I, Arany P. Biophysical approaches for oral wound healing: emphasis on photobiomodulation. *Adv Wound Care.* 2015;4(12):724-37. doi: 10.1089/wound.2014.0623
47. Gomez A, Nelson KE. The oral microbiome of children: development, disease, and implications beyond oral health. *Microb Ecol.* 2017;73(2):492-503. doi: 10.1007/s00248-016-0854-1
48. Nicoletti MA, Oliveira-Júnior MA, Bertasso CC, Caporossi PY, Tavares APL. Principais interações no uso de medicamentos fitoterápicos. *Infarma.* 2007;19:32-50.
49. The International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. Guidelines on the conservation of medicinal plants. Switzerland: IUNC; 1993.
50. Ferreira VF, Pinto AC. A Fitoterapia no mundo atual. *Quim Nova.* 2010;33(9):1829.
51. World Health Organization. Regulatory situation of herbal medicine. A world wide review. Geneva; 1998.
52. World Health Organization. Traditional medicine: definitions. 2008.
53. Pinheiro MLP, Andrade ED. Fitoterápicos como alternativa ao uso de medicamentos convencionais. *Rev ABO.* 2008;16(2):107-10.
54. Rauschert S. Nomenklatorische probleme in der gattung *matricaria* L. *Folia Geobot Phytotaxonomica.* 1990;9:249-60.
55. Fortuna T, Dantas JBL, de Araújo RPC, Campos EJ, Martins GB. The role of *Matricaria recutita* in health and dental practice: a narrative literature review. *Rev Bras Plantas Med.* 2022;24:12-21.
56. Nayak BS, Raju SS, Rao AV. Wound healing activity of *Matricaria recutita* L. extract. *J Wound Care.* 2007;16:298-302.
57. Hsiao G, Shen MY, Fang CL, Chou DS, Lin CH, Chen TF, et al. Morphinepotentiated platelet aggregation in in vitro and platelet plug formation in in vivo experiments. *J Biomed Sci.* 2003;10(3):292-301.

58. Jarrahi M, Vafaei AA, Taherian AA, Miladi H, Rashidi Pour A. Evaluation of topical *Matricaria chamomilla* extract activity on linear incisional wound healing in albino rats. *Nat Prod Res*. 2010; 24(8):697-702. doi:10.1080/14786410701654875
59. Duarte CM, Quirino MR, Patrocínio MC, Anbinder AL. Effects of *Chamomilla recutita* (L.) on oral wound healing in rats. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(6):716-21.
60. Scully C, Epstein J, Sonis ST. Oral mucositis: a challenging complication of radiotherapy, chemotherapy, and radiochemotherapy. Part 2: diagnosis and management of mucositis. *Head Neck*. 2004;26:77-84.
61. Sonis ST, Elting LS, Keefe D, Peterson DE, Schubert M, Hauer-Jensen M, et al. Perspectives on cancer therapy-Induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. *Cancer Supp*. 2004;100(9):1995-2025.
62. Dantas JBL, Freire TFC, Sanchea ACB, de Araújo RPC, Martins GB. Action of *Matricaria recutita* in the management in the oral mucositis in animal model: systematic literature review. *IJAERS*. 2021;8(2):133-42.
63. Taub AF. Photodynamic therapy in dermatology: history and horizons. *J Drugs Dermatol*. 2004;3(Suppl 1):S8-25.
64. Ghorbani J, Rahban D, Aghamiri S, A Teymouri A, Bahador A. Photosensitizers in antibacterial photodynamic therapy: an overview. *Laser Ther*. 2018;27(4):293-302.
65. Lobanovska M, Pilla G. Penicillin's discovery and antibiotic resistance: lessons for the future? *Yale J Biol Me*. 2017;90(1):135-45.
66. Sobotta L, Skupin-Mrugalska P, Mielcarek J, Goslinski T, Balzarini J. Photosensitizers mediated photodynamic inactivation against virus particles. *Mini Rev Med Chem*. 2015; 15(6):503-21.
67. Hamblin MR. Potentiation of antimicrobial photodynamic inactivation by inorganic salts. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2017;15(11):1059-69. doi: 10.1080/14787210.2017.1397512
68. Karu TI. Cellular and molecular mechanisms of photobiomodulation (Low-Power Laser Therapy). *IEEE J Sel Top Quantum Eletron*. 2014;20(2):143-8.
69. Jayasree RS, Gupta AK, Rathinam K, Mohanan PV, Mohanty M. The Influence of Photodynamic Therapy on the Wound Healing Process in Rats. *J Biomater Appl*. 2001;5:176-86.
70. Monjo AL, Pringle ES, Thornbury M, Duguay BA, Monro SMA, Hetu M, et al. Photodynamic inactivation of herpes simplex viruses. *Viruse*. 2018;10(532). doi: 10.3390/v10100532.
71. Kim M, Jung HY, Park HJ. Topical PDT in the treatment of benign skin diseases: principles and new applications. *Int J Mol Sci*. 2015;16(10):23259-78. doi: 10.3390/ijms161023259

72. Mroz P, Hamblin MR. The immunosuppressive side of PDT, *Photochem. Photobiol Sci.* 2011;10:751-8.
73. Bacellar IOL, Tsubone TM, Pavani C, Baptista MS. Photodynamic efficiency: from molecular photochemistry to cell death. *Int J Mo Sci.* 2015;16(9):20523-59. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms160920523>
74. Ramalho KM, Rocha RG, Correa-Aranha AC, Cunha SR, Simões A, Campos L, et al. Treatment of herpes simplex labialis in macule and vesicle phases with photodynamic therapy. Report of two cases. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2015;12(2):321-3.
75. Simões A, Benites BM, Benassi C, Schoreter G, de Castro JR, Campos L. Antimicrobial photodynamic therapy on treatment of infected radiation-induced oral mucositis: report of two cases. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017;20:18-20.. doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.08.007
76. Jiang C, Yang W, Wang C, Qin W, Ming J, Zhang M, et al. Methylene blue-mediated photodynamic therapy induces macrophage apoptosis via ros and reduces bone resorption in periodontitis. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;1529520. doi.org/10.1155/2019/1529520
77. Kubin A, Wierrani F, Burner U, Alth G, Grunberger W. Hypericin- the facts about a controversial agent. *Curr Pharm Des.* 2005;11(2):233-53.
78. Sakima VT, Barbugli PA, Cerri PS, Chorilli M, Carmello JC, Pavarina AC, et al. Antimicrobial photodynamic therapy mediated by curcumin-loaded polymeric nanoparticles in a murine model of oral candidiasis. *Molefw.* 2018;23(8). doi:10.3390/molecules23082075
79. Najafi S, Khayamzadeh M, Paknejad M, Poursepanj G, Fard MJK, Bahador A. An In vitro comparison of antimicrobial effects of curcumin-based photodynamic therapy and chlorhexidine, on *aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J Lasers Med Sci.* 2016;7(1):21.
80. Sahu K, Sharma M, Gupta PK. Modulation of inflammatory response of wounds by antimicrobial photodynamic therapy. *Laser Ther.* 2015;24(3):201-8. doi: 10.5978/islsm.15-OR-13
81. Osiecka BJ, Nockowski P, Kwiatkowski S, Szepietowski JC. Photodynamic therapy with red light and 5-aminolaevulinic acid for herpes simplex recurrence: preliminary results. *Acta Derm Venereol.* 2017;97(10):1239-40. doi: 10.2340/00015555-2744
82. Jin Y, Zhang X, Zhang B, Kang H, Du L, Li M. Nanostructures of an amphiphilic zinc phthalocyanine polymer conjugate for photodynamic therapy of psoriasis. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 2015;128:405-9.
83. Ma Y, Liu Y, Wang Q, Ren J, Xiang L. Prospective study of topical 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy for the treatment of severe adolescent acne in Chinese patients. *J Dermatol.* 2015;42(5):504-7. doi: 10.1111/1346-8138.12836
84. Montoya A, Daza A, Muñoz D, Ríos K, Taylor V, Cedeño D. Development of a novel formulation with hypericin to treat cutaneous leishmaniasis based on photodynamic therapy in *in vitro* and *in vivo* studies. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(9):5804-13. doi: 10.1128/AAC.00545-15

85. Martinelli N, Curci V, Quarantiello A, Saldamacchia G. The benefits of antimicrobial photodynamic therapy with RLP068 in the management of diabetic foot ulcers. *Drugs Context*. 2019;8212610. doi.org/10.7573/dic.212610.
86. Caffarel-Salvador E, Kearney MC, Mairs R, Gallo L, Stewart SA, Brady AJ, et al. Methylene blue-loaded dissolving microneedles: potential use in photodynamic antimicrobial chemotherapy of infected wounds. *Pharmaceutics* 2015;7:397-412.
87. Karrer S, Bosserhoff AK, Weiderer P, Landthaler M, Szeimies RM. Keratinocyte-derived cytokines after photodynamic therapy and their paracrine induction of matrix metalloproteinases in fibroblasts. *Br J Dermatol*. 2004;151:776-83.
88. Carrera ET, Dias HB, Corbi SCT, Marcantonio RAC, Bernardi ACA, Bagnato VS, et al. The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review. *Laser Phys*. 2016;26(12). doi:10.1088/1054-660X/26/12/123001
89. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Plos Med*. 2009;6(7):e1000097.
90. Santos CMC, Pimenta CAM, Nobre MRC. A estratégia PICO para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. *Rev Latino-am Enfermagem*. 2007;15(3):1-4. doi: <https://doi.org/10.1590/S0104-11692007000300023>
91. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33:159-74.
92. Schulz KF, Altman DG, Moher D. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *BMJ*. 2010;340:c332.
93. Higgins JPT, Altman DG, SJ, editors. Chapter 8: assessing risk of bias in included studies. *Cochrane Handb Syst Rev Interv* Version 510. doi: <https://doi.org/10.1001/jama.2013.109501>
94. Garbin NLC, Faleiros RR, Lago LA. Enriquecimento ambiental em roedores utilizados para a experimentação animal: revisão da literatura. *Rev Acad Ciênc Agrar Ambient*. 2012; 10(2):153-61.
95. Bento-Santos A, Santos JA, Silva AI, Novaes LCMG, Ferraz-Pereira KN, Souza SL, et al. Critérios para escolha da amostra em experimentos com ratos wistar. *RESBCAL*. 2012;1 (1):121-9.
96. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária [Internet]. Portaria nº 519, de 26 de junho de 1998 [citado 2022 jan 26]. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1/1998/prt0519_26_06_199.
97. Sperandio FF, Simões A, Aranha ACC, Corrêa L, de Sousa SCOM. Photodynamic therapy mediated by methylene blue dye in wound healing. *Photomed Laser Surg*. 2010;28(5):581-7.

98. Sumitra M, Manikandan P, Rao KVK, Nayeem M, Manohar BM, Puvanakrishnan R. Cardiorespiratory effects of diazepam-ketamine, xylazine-ketamine and thiopentone anesthesia in male wistar rats-A comparative analysis. *Life Sci.* 2004;75(15):1887-96.
99. Rodrigues SF, Oliveira MA, Martins JO, Sannomiya P, Cássia TR, Nigro D, et al. Differential effects of chloral hydrate- and ketamine/xylazine-induced anesthesia by the s.c. route. *Life Sci.* 2006;79(17):1630-7.
100. Sartori AS, Mello JRB. Anestesia em animais de laboratório: revisão bibliográfica. *Rev Vet Foco.* 2018;15(2):19-28.
101. Martins GB. Efeito do laser não-ablativo no reparo de úlceras produzidas em língua de ratos submetidos à radioterapia na região de cabeça [tese]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2004.
102. Pelisser A, Vier-Pelisser FV, Fontanella VRC, Figueiredo MAZ. Análise microscópica do efeito da radioterapia fracionada por cobalto-60 em mandíbula de rato. *Radiol Bras.* 2007;40(2):113-8.
103. Medrado AP, Soares AP, Santos ET, Reis SRA, Andrade ZA. Influence of laser photobiomodulation upon connective tissue remodeling during wound healing. *J Photochem Photobiol B.* 2008;92(3):144-52. doi:10.1016/j.jphotobiol.2008.0
104. Sweat F, Puchtler H, Rosenthal SI. Sirius red F3BA as a stain for connective tissue. *Arch Pathol.* 1964; 78:69-72.
105. Peterson DE. Research advances in oral mucositis. *Curr Opin Oncol.* 1999;11:261-6.
106. Sonis ST. Pathobiology of mucositis. *Semin Oncol Nurs.* 2004;20:11-5.
107. Sonis ST. Pathobiology of oral mucositis: novel insights and opportunities. *J Support Oncol.* 2007;9(5):3-11.
108. Silverman S Jr. Diagnosis and management of oral mucositis. *J Support Oncol.* 2007;5(Suppl 1):13-21.
109. Bellm LA, Epstein JB, Rose-Ped A, Martin P, Fuchs HJ. Patient reports of complications of bone marrow transplantation. *Support Care Cancer.* 2000;8:33-9.
110. Barasch A, Peterson DE. Risk factors for ulcerative oral mucositis in cancer patients: unanswered questions. *Oral Oncol.* 2003;39(2):91-100.
111. Lalla RV, Bowen J, Barasch A, Elting L, Epstein J, Keefe DM. MASCC/ISOO Clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. *Cancer.* 2014;120:1453-561.
112. Saunders DP, Epstein JB, Elad S, Allemanno J, Bossi P, Van de Wetering MD, et al. Systematic review of antimicrobials, mucosal coating agents, anesthetics, and analgesics for the management of oral mucositis in cancer patients. *Support Care Cancer.* 2013;21:3191-207.

113. Ariyawardana A, Cheng KKF, Kandwal A, Tilly V, Al-Azri AR, Galiti D, et al. Systematic review of anti-inflammatory agents for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines. *Support Care Cancer*. 2019;27(10):3985-95. doi: <https://doi.org/10.1007/s00520-019-04888-w>
114. Yarom N, Hovan A, Bossi P, Ariyawardana A, Jensen SB, Gobbo M, et al. Systematic review of natural and miscellaneous agents, for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines — part 2: honey, herbal compounds, saliva stimulants, probiotics, and miscellaneous agents. *Support Care Cancer*. 2020;28(5):2457-72. doi: <https://doi.org/10.1007/s00520-019-05256-4>
115. Bahramnezhad F, Nayeri ND, Bassampour SS, Khajeh M, Asgari P. Honey and Radiation-Induced Stomatitis in Patients With Head and Neck Cancer. *Iran Red Crescent Med J*. 2015; 17(10):e19256.
116. Higgins JPT, Green S. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions version 5.1.0*. [internet]. [citado 2020 Aug 10]. Disponível em: <http://www.cochrane-handbook.org/>.
117. Kato S, Saito A, Matsuda N, Suzuki H, Ujiie M, Sato S, et al. Management of afatinib-induced stomatitis. *Mol Clin Oncol*. 2017;6:603-5.
118. Fidler P, Loprinzi CL, O'Fallon JR, Leitch JM, Lee JK, Hayes DL, et al. Prospective evaluation of a chamomile mouthwash for prevention of 5-fu-induced oral mucositis. *Cancer*. 1996;77:522-5.
119. Shabanloei R, Ahmadi F, Vaez J, Ansarin K, Hajizadeh E, Javadzadeh Y. Alloporinol, chamomile and normal saline mouthwashes for the prevention of chemotherapy-induced stomatitis. *J Clinic Diag Res*. 2009;3:1537-42.
120. Pourdeghatkar F, Motaghi M, Darbandi B, Baghersalimi A. Comparative effect os chamomile mouthwash and topical mouth rinse in prevention of chemotherapy-induced oral mucositis in Iranian pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Iranian J Blood Cancer*. 2017;9(3):84-88.
121. World Health Organization. *Handbook for reporting results of cancer treatment*. Geneva: World Health Organization; 1979. P.15-22.
122. Sonis ST, Elting LS, Keefe D, Peterson DE, Schubert M, Hauer-Jensen M, et al. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. *Cancer*. 2004;100(9 Suppl):1995-2025.
123. Presibella MM, Villas-Boas LB, Belletti KMS, Santos CAM, Weffort-Santos AM. Comparison of chemical constituents of chamomilla recutita (L.) Rauschert essential oil and its anti-chemotactic activity. *Braz Arch Biol Technol*. 2006;49(5):717-24.
124. Hong CHL, Gueiros LA, Fulton JS, Cheng KKF, Kandwal A, Galiti D, et al. Systematic review of basic oral care for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines. *Support Care Cancer*. 2019. doi: <https://doi.org/10.1007/s00520-019-04848-4>

125. Izzo AA, Hoon-Kim S, Radhakrishnan R, Williamson EM. A critical approach to evaluating clinical efficacy, adverse events and drug interactions of herbal remedies. *Phytother Res.* 2016;30(5):691-700. doi: 10.1002/ptr.5591
126. Williamson EM, Liu X, Izzo AA. Trends in use, pharmacology and clinical applications of emerging herbal nutraceuticals. *Br J Pharmacol.* 2020;77(6):1227-40.
127. Scully C, Felix DH. Oral medicine-update for the dental practitioner. Aphthous and other common ulcers. *Braz Dent J.* 2005;199(5):259-64.
128. Lehman JS, Rogers RS. Acute oral ulcers. *Clin Dermatol.* 2016;34(4):470-4.
129. Petkovic M, Mouritzen MV, Mojsoska B, Jenssen H. Immunomodulatory properties of host defense peptides in skin wound healing. *Biomol.* 2021;11(7):952. doi: 10.3390/biom11070952
130. Albuquerque ACL, Pereira MSV, Pereira JV, Costa MRM, Pereira LF, Higino JS. Efeito antimicrobiano do extrato da *Matricaria recutita* Linn. (camomila) sobre microrganismos do biofilme dental. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr.* 2010;10(3):451-5.
131. Brown S. Clinical antimicrobial photodynamic therapy: phase II studies in chronic wounds. *J Natl Compr Canc Netw.* 2012;10(Suppl 2):S80-3.
132. Silva LAB, Novaes AB, de Oliveira RR, Nelson-Filho P, Santamaria M, Silva RAB. Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of teeth with apical periodontitis: a histopathological evaluation. *J Endod.* 2012;38(3):360-6.
133. Marotti J, Tortamano P, Cai S, Ribeiro MS, Franco JEM, Campos TT. Decontamination of dental implant surfaces by means of photodynamic therapy. *Lasers Med Sci.* 2013;28:303-9.
134. Jefferis AF, Chevretton EB, Berenbaum MC. Muscle damage and recovery in the rabbit tongue following photodynamic therapy with haematoporphyrin derivative. *Acta Otolaryngol.* 1991;111:153-60.
135. Fleiss JL, Levin B, Paik MC. Statistical methods for rates and proportions. John Wiley & sons, 2013. 800p.
136. Ferreira RC. Diabetic foot. Part 1: ulcers and infections. *Rev Bras Ortop.* 2020;55(4):389-96. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0039-3402462>
137. Zuhayri H, Nikolaev VV, Knyazkova AI, Lepekhina TB, Krivova NA, Tuchin, VV. In Vivo quantification of the effectiveness of topical low-dose photodynamic therapy in wound healing using two-photon microscopy. *Pharmaceutics.* 2022;14:287. doi: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020287>
138. Ministério da Saúde (BR). ANVISA. Memento Fitoterápico. Farmacopeia Brasileira. 2 ed. Brasília; 2021. P.8.

139. European Medicines Agency, EMA. European Union herbal monograph on *Matricaria recutita* L., flos. London: Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC); 2015. [citado 2022 Oct 22]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_Herbal_monograph/2016/04/WC500204299.pdf.
140. Botelho EW, Alves FMC, Urban VM. Avaliação da bioadesividade e das características reológicas de mucoadesivos fitoterápicos de *Matricaria Chamomilla* L. Arch Health Invest. 2019;7. doi: <http://dx.doi.org/10.21270/archi.v7i0.3826>
141. Salehi B, Lopez-Jornet P, Pons-Fuster López E, Calina D, Sharifi-Rad M, Ramírez-Alarcón K, et al. Plant-derived bioactives in oral mucosal lesions: a key emphasis to curcumin, lycopene, chamomile, aloe vera, green tea and coffee properties. Biomolecules. 2019;9(3):106. doi: 10.3390/biom9030106.
142. Suter VGA, Sjölund S, Bornstein MM. Effect of laser on pain relief and wound healing of recurrent aphthous stomatitis: a systematic review. Lasers Med Sci. 2017;32(4):953-63. doi:10.1007/s10103-017-2184-z
143. Pacheco JA, Molena KF, Martins CROG, Corona SAM, Borsatto MC. Photobiomodulation (PBMT) and antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in oral manifestations of patients infected by Sars-CoV-2: Systematic review and meta-analysis. Bull Natl Res Cent. 2022; 46:140. doi: <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00830-z>
144. Sachet P, Rocha BA, Lima FS, Pedrosa MS, Guollo A, de Melo Filho MR, et al. Management of orofacial lesions with antimicrobial photodynamic therapy and photobiomodulation protocols in patients with COVID-19: A multicenter case series. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2022;3 8:102743. doi: 10.1016/j.pdpdt.2022.102743
145. Lago ADN, Furtado GS, Ferreira OC, Diniz RS, Gonçalves LM. Resolution of herpes simplex in the nose wing region using photodynamic therapy and photobiomodulation. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2018;23:237-9.
146. Barbosa FS. Modelo de impedância de ordem fracional para a resposta inflamatória cutânea [dissertação]. Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE/ Programa de Engenharia Biomédica; 2011. P. 89-99.
147. Reis SRA, Medrado AP, Marchionni AMT, Figueira C, Fracassi LD, Knop LAH. Effect of 670-nm laser therapy and dexamethasone on tissue repair: a histological and ultrastructural study. Photomed Laser Surg. 2008;26(4):307-13. doi:10.1089/pho2007.2151
148. Suguna L, Chandrakasan G, Joseph KT. Influence of honey on biochemical and biophysical parameters of wounds in rats. J Clin Biochem Nutr. 1993;14:91-9.
149. Houghton PJ, Hylands PJ, Mensah AY, Hensel A, Deters AM. In vitro tests and ethnopharmacological investigations: wound healing as an example. J Ethnopharmacol. 2005; 100:100-7.
150. Mansourian A, Momen-Heravi F, Saheb-Jamee M, Esfehiani M, Khalilzadeh O, Momen-Beitollahi J. Comparison of aloe vera mouthwash with triamcinolone acetonide 0.1%

on oral lichen planus: a randomized doubleblinded clinical trial. *Am J Med Sci*. 2011; 342(6):447-51.

151. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária [Internet]. Portaria nº 26, de 13 de maio de 2014 [citado 2022 set 27]. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br
152. Piva JAAC, Abreu EMC, Silva VS, Nicolau RA. Ação da terapia com laser de baixa potência nas fases iniciais do reparo tecidual: princípios básicos. *An Bras Dermatol*. 2011;86(5):947-54.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Ficha da análise morfológica das secções em HE aplicada para coleta de dados do Artigo 2.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - ICS
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA ORAL - LBO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS - PPgPIOS

Avaliação morfológica – língua de ratos

Trabalho: AVALIAÇÃO DA TERAPIA DA APLICAÇÃO DA *MATRICARIA RECUTITA* (CAMOMILA) ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO À TERAPIA FOTODINÂMICA NO REPARO TECIDUAL EM DORSO DE LINGUA DE RATOS

Orientadora: Gabriela Botelho Martins
Doutoranda: Juliana Borges de Lima Dantas

PARÂMETRO	LÂMINA:			
	AUSENTE	DISCRETO	MODERADO	SEVERO
Celularidade (fibroblastos)				
Deposição de colágeno				
Edema				
Infiltrado inflamatório				
Predominância inf. Inflam.	Polimorfo ()		Monomorfo ()	
Re-epitelização	Completa		Parcial	Ausente
	Organizada	Desorganizada		
Fotografar () Estrutura:	OBS:			

APÊNDICE B - Ficha da análise morfológica das secções coradas com Sírius Vermelho aplicada para coleta de dados do Artigo 2.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - ICS
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA ORAL - LBO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS - PPgPIOS

Avaliação morfológica do colágeno – língua de ratos

Trabalho: AVALIAÇÃO DA TERAPIA DA APLICAÇÃO DA *MATRICARIA RECUTITA* (CAMOMILA) ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO À TERAPIA FOTODINÂMICA NO REPARO TECIDUAL EM DORSO DE LÍNGUA DE RATOS

Orientadora: Gabriela Botelho Martins

Doutoranda: Juliana Borges de Lima Dantas

LÂMINA:		
ORGANIZAÇÃO TECIDUAL - SEGUE PADRÃO DE NORMALIDADE?	SIM	NÃO
ESPESSURA DA FIBRA	DELICADAS (MAIS ROSADA)	ESPESSA (MAIS AVERMELHADA)
PADRÃO DE ALONGAMENTO DAS FIBRAS	FRAGMENTADA	NÃO FRAGMENTADA
PROFUNDIDADE (DA CAMADA BASAL AO TECIDO MUSCULAR)	AUMENTADA	NORMAL

APÊNDICE C – Ficha da análise morfométrica das secções em HE aplicada para coleta de dados do Artigo 2.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
 INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - ICS
 LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA ORAL - LBO
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS - PPgPIOS

Avaliação morfométrica – língua de ratos

Trabalho: AVALIAÇÃO DA TERAPIA DA APLICAÇÃO DA *MATRICARIA RECUTITA* (CAMOMILA) ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO À TERAPIA FOTODINÂMICA NO REPARO TECIDUAL EM DORSO DE LINGUA DE RATOS

Orientadora: Gabriela Botelho Martins
 Doutoranda: Juliana Borges de Lima Dantas

Lâmina:	Borda 1	Borda 2	Centro
DCBSE (TOTAL)			
1º Ponto			
2º ponto			
3º Ponto			
Média			
EC (CERATINA)			
1º Ponto			
2º ponto			
3º Ponto			
Média			
DCBCE (SEM CERATINA)			
1º Ponto			
2º ponto			
3º Ponto			
Média			

APÊNDICE D – Ficha da análise morfométrica das secções coradas com Sírius Vermelho aplicada para coleta de dados do Artigo 2.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
 INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - ICS
 LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA ORAL - LBO
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS - PPgPIOS

Avaliação morfométrica do colágeno – língua de ratos

Trabalho: AVALIAÇÃO DA TERAPIA DA APLICAÇÃO DA *MATRICARIA RECUTITA* (CAMOMILA) ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO À TERAPIA FOTODINÂMICA NO REPARO TECIDUAL EM DORSO DE LÍNGUA DE RATOS

Orientadora: Gabriela Botelho Martins

Doutoranda: Juliana Borges de Lima Dantas

Lâmina:	ALTURA	COMPRIMENTO	ÁREA LÂMINA	TOTAL TECIDUAL	APENAS COLÁGENO
BORDA 1					
BORDA 2					
CENTRO					

ANEXOS

ANEXO A – Revisão sistemática da literatura.

Received: 22 March 2021 | Revised: 15 December 2021 | Accepted: 22 December 2021
 DOI: 10.1002/ptr.7378

REVIEW

WILEY

Action of *Matricaria recutita* (chamomile) in the management of radiochemotherapy oral mucositis: A systematic review

Juliana Borges de Lima Dantas^{1,2} | Tila Fortuna Costa Freire³ |
 Ana Carla Barletta Sanchez³ | Erielma Lomba Dias Julia² |
 Alena Ribeiro Alves Peixoto Medrado³ | Gabriela Botelho Martins³

¹Graduate Program in Interactive Processes of Organs and Systems, Health Sciences Institute, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

²Adventist College of Bahia, Department of Dentistry, Cachoeira, Brazil

³Health Sciences Institute, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

Correspondence

Juliana Borges de Lima Dantas, Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Canela, sala 413 (Laboratório de Bioquímica Oral), Salvador, Bahia, Brazil.
 E-mail: judyborges@gnail.com

Funding information
 Bahia Research Foundation

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of topical chamomile in the prevention and/or treatment of oral mucositis (OM) in cancer patients. It was a systematic review, which sought articles of the randomized clinical trial according to the PRISMA parameters, registered in the PROSPERO. The databases used were PubMed, Cochrane Library, and Bireme. Descriptors were selected from DeCs/MeSH and the PICO strategy was applied. The search found 148 publications. After all the steps, six articles were selected. The total sample included 492 patients and all studies used the same OM measurement scale. The results showed that the application of topical chamomile was effective in the prevention and/or treatment of OM in four of the six studies, with a dose ranging from 1% to 2.5% and duration that ranged from single to 4 times a day. Some limitations were observed: the minimum age of the patients was not informed, and there was no specification of the sites involved or the chemotherapies used. The application of topical chamomile in the preventive/therapeutic of chemo-induced OM seems to be recommended. In addition, scientific production should be encouraged, as it aims to determine useful protocols for this phytotherapy for the oncology population.

KEYWORDS

chamomile, chemotherapy, *Matricaria*, oral mucositis, radiotherapy

1 | INTRODUCTION

The term "oral mucositis" (OM) appeared in 1980 to describe inflammatory ulcerative lesions in the oral mucosa of patients undergoing chemotherapy and/or radiotherapy in the head and neck region (Peterson, 1999). Although the development of OM is a dynamic process, in 2004, Sonis described its complex biological cycle in five phases: initiation, generation of messenger signals, signaling and amplification, ulceration, and healing. OM, on average, appears from 7 to 10 days after chemotherapy and from the second week of the initiation of radiotherapy treatment. The appearance of lesions, as well as their progression, depends on numerous factors. This may be

related to oral toxicity caused by chemotherapy, the possible association of radiotherapy with chemotherapy, the accumulated radiation dose and chemotherapeutic agent, or the individual responses of the patient to the regimen used (Sonis et al., 2004; Sonis et al., 2007).

Studies have shown that approximately 20%–35% of patients undergoing chemotherapy for the treatment of solid tumors develop OM lesions, while those exposed to ionizing radiation in the head and neck area or submitted to chemotherapy conditioning for hematopoietic stem cell transplantation can reach an occurrence rate close to 100% (Barasch & Peterson, 2003; Bellm, Epstein, Rose-Ped, Martin, & Fuchs, 2000; Lalla et al., 2014; Silverman Jr, 2007).

Clinically, OM is characterized by the presence of erythematous areas that can progress to painful ulcers and predispose to the development of opportunistic infections and dysphagia, which leads to changes in the diet or, in more severe cases, in the need for parenteral or enteral nutrition, making it necessary to alter or interrupt cancer treatment, with serious consequences on tumor response and patient survival (Raber-Durlacher, Elad, & Barash, 2010; Saunders et al., 2013; Sonis, 2004).

To date, there is no isolated therapy that is capable of completely preventing or treating OM due to its high biological complexity. Some therapeutic modalities, such as analgesics, anti-inflammatories, and laser photobiomodulation promote the improvement of inflammatory and painful clinical conditions that are established as a result of OM. In this sense, the search for new therapeutic modalities that act effectively in the management of OM has become a primary target of the scientific community, with a consequent increase in studies focusing on this subject (Ariyawardana et al., 2019; Lalla et al., 2014; Yarom et al., 2020).

Parallel to this search, medicine based on the use of natural agents has been gaining prominence because of the possible therapeutic effects of herbal agents, in addition to being easily accessible and financially feasible, which has promoted the progressive increase in its consumption and indication (Miraj, Azizi, & Kiani, 2016). Chamomile, belonging to the Asteraceae family, is one of the most globally used ancient medicinal plants due to its beneficial therapeutic properties, such as the presence of phenolic compounds, mainly flavonoids, aspergenin, quercetin, patauletin, luteolin, and glycosides, which are responsible for the sedative, anti-inflammatory, antispasmodic, antimicrobial, and restorative activities of this natural agent (McKay & Blumberg, 2006; O'Hara, Kiefer, Farrell, & Kemper, 1998). The floral chapters are the part of the chamomile used to produce the topical medicine and there are several forms of presentation, which includes the topical use, fluid extract (1:1): in hydroethanolic solution, vapour, capsule or tablet containing dry extract, tinctures, infusion and volatile oil (Ministério da Saúde, 2016; WHO monography, 1999). Promising results with the topical use of chamomile have been obtained in the management of complex changes in the oral cavity, including chemically induced (Braga et al., 2015; dos Reis et al., 2016) and radio-induced OM (Bahramnezhad, Nayeri, Bassampour, Khajeh, & Asgari, 2015).

Therefore, the objective of the present study was to conduct a systematic review of the action of topical chamomile in the prevention and/or treatment of OM in cancer patients undergoing antineoplastic therapy.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Eligibility criteria, search strategies and search information

This was a systematic review of the literature carried out from November 2020 to February 2021, which sought articles types of randomized clinical trial based on the *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis* (PRISMA) parameters, which assists in the construction of systematic reviews and meta-analyses (Moher,

Liberati, Tetzlaff, & Altman, 2009), and registered in the PROSPERO database (CRD42020210862). Electronic databases such as PubMed, Cochrane Library, and Bireme were used for this research.

After the application of the components of the PICO strategy, wherein P, population: cancer patients; I, intervention: topical chamomile in the prevention and/or treatment of OM; C, comparison: placebo group; control group in which there was no intervention or comparison with other topical agents; O, outcome: whether topical chamomile promotes the prevention and/or treatment of OM. The most relevant and specific question of the present study was whether topical chamomile is capable of preventing and/or treating OM in randomized controlled trials. For this, the DeCs/MeSH descriptors and free terms were cross-referenced using AND and OR Boolean operators. The research strategy only included terms related to chamomile and oral mucositis, as described in Table 1.

2.2 | Inclusion criteria

Studies that were randomized clinical trials were included, in which OM was induced by chemotherapy for the treatment of solid tumors or for myeloablation in conditioning regimens for hematopoietic stem cell transplantation, chemoradiotherapy, or radiotherapy for solid tumors in the head and neck region. The therapeutic approach for this condition was the exclusive use of topical chamomile at different concentrations, without association with other therapeutic agents. As for language, only studies present in English were selected; however, there was no restriction on the period of publication, sex and age of patients, severity and stage of cancer, as well as the severity and stage of OM, given that there is already a scarcity of studies.

TABLE 1 The search strategy with selected descriptors

Mucositis	('Mucositis' OR 'mucositides' OR 'stomatitis' OR 'Stomatitides' OR 'Oral mucositis' OR 'Oral mucositides' OR 'Oromucositis' OR 'Oromucositides'). ('mucosa inflam m ation' OR 'mucosa irritation' OR 'mucositis' OR 'mucositides' OR 'Oromucositis' OR 'Oromucositides' OR 'canonum oris' OR 'denture stomatitis' OR 'mouth epithelium inflam m ation' OR 'mouth inflam m ation, ulcerative' OR 'mouth inflam m ation, ulcerous' OR 'mouth mucosa inflam m ation' OR 'oral inflam m ation, ulcerative' OR 'stomatitis ulcerative' OR 'stomatitis ulcerosa' OR 'stomatitis', OR 'stomatitis, ulcerative' OR 'stomatitis, ulcerous' OR 'ulcerative mouth inflam m ation' OR 'ulcerative oral inflam m ation').
Chamomile	('chamomile' OR 'chamomiles' OR 'Chamomilla recutita' OR 'Matricaria' OR 'Matricaria chamomilla' OR 'Matricaria recutita' OR 'Matricarias' OR 'Chamomillas' OR 'Matricaria recutitas'). ('Chamomille tea' OR 'Chamomille infusion' OR 'chamomille tea' OR 'wild osmonille').

Source: own authorship.

2.3 | Exclusion criteria

On the other hand, we excluded studies whose therapeutic approach covered other agents, regardless of their association with chamomile, whose indication of chamomile systemically or in clinical situations different from OM, those with experimental studies conducted on animals, and those that did not meet the inclusion criteria. We also excluded studies without an abstract in the databases, thesis, dissertations, editorials, and letters to the editor because according to the scale of scientific evidence in the Cochrane Manual for Systematic Reviews of Interventions, these modalities provide a low level of scientific evidence (Higgins & Green, 2011).

2.4 | Article selection

All selected articles were tabulated using Microsoft Word (version 2018). The articles were selected based on the analysis of the title, abstract, and full text of the article based on previously established criteria. Two examiners (JBLD and GBM) independently performed the selection in the previously selected databases. In case of discrepancy between the two, a third author (TFCF) would have been called, which was not necessary. Data extraction using the inclusion and exclusion criteria was carried out according to the ethical aspects, clear methodology, and presence of results. Duplicate articles were considered only once. A secondary active search was performed and articles were included to complement the theoretical foundation. The kappa test was used to assess the agreement of included studies among reviewers. The result obtained was 0.76, which means an almost substantial agreement between the reviewers.

2.5 | Methodological quality and risk of bias

To maximize the evaluation, the CONSORT guideline (*Consolidated Standards of Reporting Trials*) was used, which is based on guiding 37 information that is necessary in randomized clinical trials in order to make the study reproducible, orderly, transparent, and accurate (Schulz, Altman, & Moher, 2010). We also used the Cochrane Collaboration instrument to assess the potential risks of bias in randomized clinical trials, with the application of seven domains. This implement systematizes the domains for validation: selection bias, performance bias, detection bias, attrition bias, and reporting bias (Higgins & Altman, 2011).

2.6 | Data extraction

Data extraction was performed individually by two examiners (JBLD and GBM) by searching for the following variables for each study: main author of the article and collaborators, year and country of publication of the article; the objective of the study, total sample (n) and description of the sample, the methodology employed, cancer

treatment, characteristics of chamomile (concentration, dosage, frequency of administration), characteristics of the comparative group(s) (concentration, dosage, frequency of administration) or control, evaluated clinical parameters, main results, outcomes, and CONSORT guideline. We conducted a descriptive analysis of the studies.

3 | RESULTS

Through the initial search of the databases, 72 studies were found on the Cochrane platform, 27 on Bireme, and 49 on PubMed, making it a total of 148 articles. After the first analysis, duplicate texts were removed and the number of articles was reduced to 62. After applying the inclusion and exclusion criteria, another 55 articles were excluded. A total of 7 articles were read in full, and of these, 6 met the inclusion criteria after all stages of search selection and refinement, according to a flowchart based on the PRISMA model (Figure 1) (Moher et al., 2009). In the last refinement step, the study of Kato et al. (2017) was excluded, because of the management of stomatitis mediated by tyrosine kinase inhibitors. A secondary active search was performed and 24 studies were included to complement the theoretical foundation.

After analyzing the data, it was observed that the clinical studies included were published in a 21-year time frame, between 1996 and 2017, with the years 2015 to 2017 standing out as they presented 4 of the 6 total publications included in the present study. For the preparation of this review, 5 clinical trials were included that compared the effects of topical chamomile on chemo-induced OM (Fiddler et al., 1996; Shabanloei et al., 2009; Braga et al., 2015; dos Reis et al., 2016; Pourdeghatkar et al., 2017) and 1 study on OM induced by radiotherapy in the head and neck region (Bahramnezhad et al., 2015), with a total of 492 cancer patients distributed among them. The average sample for all clinical trials was 82 patients (standard deviation [SD]: 43.50).

In regard to sociodemographic data, an average age of 41.36 years (SD: 17.53) was observed, ranging between 6 and 64 years of age. Shabanloei et al. (2009) did not report the minimum age of the included patients. Most of the studied population was male (n = 293, 59.5%), while females accounted for 40.4% of the total patients (n = 199).

Of the 5 studies that involved the use of chemotherapeutic agents, 3 included patients with solid tumors (Fiddler et al., 1996; Shabanloei et al., 2009; dos Reis et al., 2016), and 2 used high doses of this agent for the treatment of hematological malignancies (Braga et al., 2015; Pourdeghatkar et al., 2017). Among solid tumors treated using chemotherapy, Shabanloei et al. (2009) did not specify the sites involved or the chemotherapeutic agents used, dos Reis et al. (2016) focused on the management of gastric or colorectal cancer, through the use of 5-fluorouracil and leucovorin, and Fiddler et al. (1996) reported the use of 5-fluorouracil alone as an antineoplastic agent without mentioning the tumors involved in the treatment. Regarding studies that adopted chemotherapy for hematological malignancies, Braga et al. (2015) evaluated patients administered cycles of busulfan

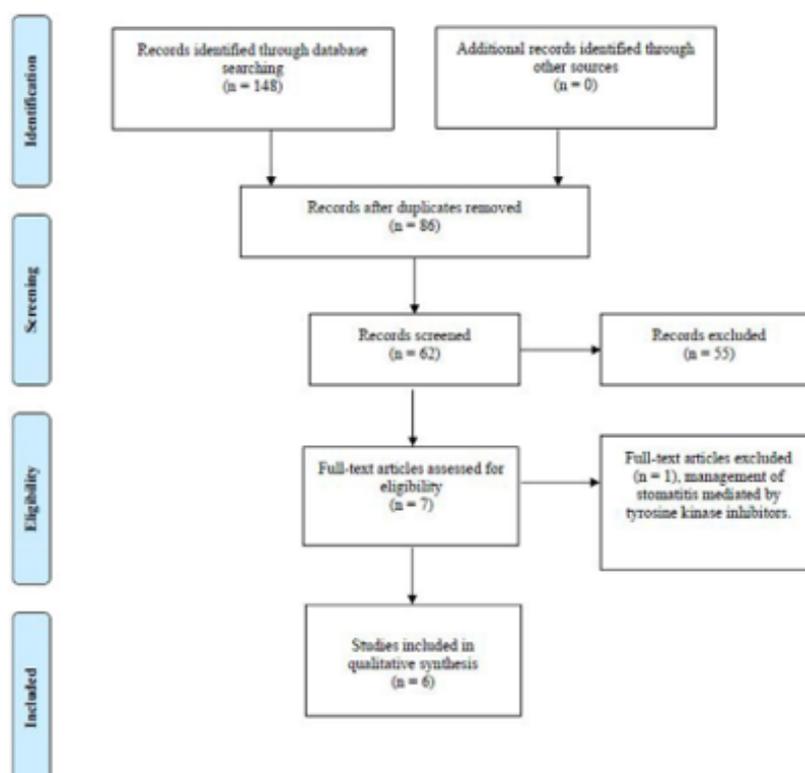


FIGURE 1 Flowchart of identification to selection of articles

and cyclophosphamide, fludarabine and melphalan, or fludarabine and busulfan, with a focus on conditioning hematopoietic stem cell transplantation, while Pourdeghatkar et al. (2017) evaluated children with acute lymphoblastic leukemia who underwent exclusive chemotherapy with cytarabine and methotrexate. The consolidation of the results was developed by the authors, as shown in Table 2.

Regarding the methodology adopted, 2 studies compared the topical effect of chamomile with a placebo group (Fiddler et al., 1996; Braga et al., 2015), 1 study employed cryotherapy with ice cubes (dos Reis et al., 2016), 2 clinical trials in Iran were adopted as positive control allopurinol, a selective uric acid inhibitor (Shabanloei et al., 2009; Pourdeghatkar et al., 2017), and the study of Bahramnezhad et al. (2015) as the main objective to comparatively evaluate the effects of rinsing with pure natural honey in relation to chamomile. Regarding the form of presentation and use of chamomile, all studies have standardized its topical use with mouthwash. However, Shabanloei et al. (2009), Braga et al. (2015) and dos Reis et al. (2016), produced a rinse from the flowers of plants. According to Shabanloei et al. (2009), after grinding and weighing, the flowers were placed in

closed containers and boiling distilled water was added in two stages, with the objective of obtaining a volume of 8 g in 50 cc. Subsequently, the solution was filtered, bottled, and sealed for further use. Dos Reis et al. (2016) produced ice chips with 2.5% chamomile infusion, and Braga et al. (2015) carried out a more complex formulation, which consisted of the elaboration of the rinse aid in the pharmacotechnical laboratory of a public university. The flowers were dehydrated and strictly controlled until the final product was obtained, and the physicochemical and microbiological characteristics of the plant species were evaluated according to the methods described in USP30-NF2527 and by WHO. The levels of the apigenin-7-glycoside marker in the final formulation were 0.054, 0.108, and 0.216 mg/mL for dosages of 0.5%, 1%, and 2%, respectively. Two studies adopted the use of a commercially available chamomile-based rinse in Iran, Pourdeghatkar et al. (2017) used a dilution of 30 drops of 30 mL of the chamomile solution (Matrika barjessans/kashan, Iran) in 20 cc of water for 1 min, while Bahramnezhad et al. (2015) adopted a mixture of 3 mL of Matricaria (Barji Pharmaceutical Company, Iran) with half a glass of water. Finally,

TABLE 2 General characteristics of the included studies (ICS, UFBA, 2021)

Author/year/ country of study	Purpose	Sample (n) and sample description	Oncology therapy	Intervention group (chamomile) and therapeutic protocol	Control group or comparison group	Evaluated Parameters	Results	Outcomes	Consort guideline
Fiddler et al. (1996), United States, Double-blind phase II clinical trial	To evaluate whether the antiseptic with chamomile has the capacity to relieve OM in patients undergoing CT with 5-FU.	164 patients were allocated in two groups: Placebo (n = 82) and chamomile (n = 82).	CT with 5-FU in the first cycle, with 5 consecutive days of CT.	Chamomile mouthwash was administered 3 times a day for 14 days, from the first day of CT. Chamomile was administered 3 to 5 times a day (until all 100 mL was used), for 14 days, from the first day of CT. This solution was used topically for approximately 1 min.	Mouthwash of identical appearance with chamomile (100 mL of water with 30 drops of concentrated placebo), 3 to 5 times a day (for 1 min and for 14 days, from the first day of CT.	Evaluation of OM with WHO scale, from the first to the 14th day.	There was no statistical difference in OM between the two groups, regarding severity and duration ($p = 0.32$ and $p = .85$, respectively).	The results of this clinical study do not support the hypothesis that chamomile can decrease OM-induced 5-FU.	Absolute value: 21 56.75% meeting the criteria
Shabanloei et al. (2009), Iran, Double-blind clinical trial	Determine and compare the efficacy of allopurinol, chamomile and saline solution in preventing CT- induced OM.	83 patients with solid tumors were allocated to 3 groups: Group I: Allopurinol; Group II: Chamomile; Group III: Saline solution.	Exclusive CT.	Group II: The preparation of the chamomile mouthwash occurred with the use of flowers from the plant diluted in distilled water. Use 4 times a day for 16 consecutive days. The first day of use on the day the CT started.	Group I: Allopurinol powder was added to the hydroxyl propyl methyl cellulose solution (5 mg/ mL). Group III: Mouthwash saline solution. Identical use to the chamomile group.	Evaluation of OM with WHO scale. Pain, with numerical scale from 0 to 10.	Groups I and II showed similar results in the variables pain ($p = .071$) and OM ($p = .059$). However, in relation to Group III, both showed better results in these two variables with $p = 0.027$ and $p = 0.017$, respectively.	The results indicated similar efficacy of Allopurinol and chamomile in the prevention of CT-induced mucositis.	Absolute value: 16 43.2% meeting the criteria
Braga et al. (2015), Brazil, Double-blind phase II clinical trial	Identify the dosage of rinse Liquid extract of <i>C. recutita</i> , necessary to reduce the incidence and intensity of OM in adult patients undergoing allogeneic HSCT.	40 patients (over 18 years old), divided into 4 groups: Control and experimental: Mouthwash containing different concentrations of <i>C. recutita</i> .	TCTH conditioning regime.	Chamomile mouthwash in concentrations of 0.5%, 1% and 2%. Patients were instructed to rinse their mouth with 10 mL of the solution twice a day, 1 hr before the 3 main meals, for 1 min and not to swallow. The use started on the first day of conditioning and ended when the mucosa returned to normal or the granulocyte count was exceeded 500 mm ³ for 3 consecutive days in patients who did not develop OM.	No intervention.	Evaluation of OM with WHO scale. The perception of organoleptic characteristics (taste, smell and color) and the presence of nausea, vomiting and burning in the mouth were measured by the Likert rating scale.	The incidence of OM was lower in the chamomile group 1% (30%), compared to the control group (90%) ($p = .01$). Four patients (40%) with a 2% dosage showed no signs or symptoms of OM. In the 0.5% and 2% groups, 60% of the patients had ulcerations in the oral cavity. The incidence of OM was lower in the Chamomile group 1% (30%), compared to the Control group (90%) (p $= .01$). Four patients (40%) with a 2%	Chamomile 1% demonstrated a reduction in incidence, intensity and duration of OM in adult patients undergoing allogeneic HSCT.	Absolute value: 25 67.5% meeting the criteria

(Continues)

TABLE 2 (Continued)

Author/year/ country of study	Purpose	Sample (n) and sam ple description	Oncology therapy	Intervention group (chamomile) and therapeutic protocol	Control group or comparison group	Evaluated Parameters	Results	Outcomes	Consort guideline
							dosage showed no signs or symptoms of OM. In the 0.5% and 2% groups, 60% of the patients had ulcerations in the oral cavity. Regardless of the group, the majority of patients (84%) classified the mouthwash as "very nice" or "nice". Only 4 patients reported nausea and 1 reported a burning sensation.		
Bahram nezhad et al. (2015), Iran, Blind randomized controlled trial	To comparatively study the effects of the rinse with pure natural honey and chamomile in the prevention of radioinduced OM in patients with HNC.	105 patients over the age of 8 years and with HNC were allocated to 3 groups: Honey group, Chamomile group and Control group.	Radiotherapy in head and neck region - 200 cGY/day.	Mouthwash with chamomile for 60 seconds, for 3 weeks.	Honey group: Mouthwash with 20 mL or 5 tablespoons of honey mixed in a glass of water and divided into two equal parts (30 seconds of use for each part). Control group: Mouthwash with 20 mL of water after each meal. Use for 3 weeks.	Evaluation of OM with WHO scale.	There was a statistically significant difference between the 3 groups regarding the severity of OM on the 14th day ($p = .028$ e $p = .00$).	The application of natural honey was effective in the control and prevention of radiation-induced OM in patients with HNC.	Absolute value: 25 67.5% meeting the criteria
dos Reis et al. (2016), Brazil, Blind randomized pilot study	Compare cryotherapy with water and cryotherapy with chamomile infusion in preventing and reducing the intensity of OM induced by 5-FU.	38 patients over 18 years with gastric or colorectal cancer were allocated into two groups: Control group (CG): Cryotherapy with water, n = 18); Experimental group (EG): Cryotherapy with chamomile, n = 20).	Exclusive CT with 5-FU and leucovorin (4 to 6 cycles), for 5 consecutive infusion days and 21-day rest.	Ice chips made with 2.5% chamomile infusion. Patients instructed to rub the ice in their oral cavity for at least 30 min during CT, starting 5 min before the infusion.	The patients received a cup with ice chips made with pure water and were instructed to use it similarly to the chamomile group.	During the use of the chips, there was the filling of a form referring to the taste of the ice (good, bad or indifferent), pain and discomfort (scale with 10 points).	With regard to pain, the CG had a higher score in all the periods evaluated ($p = 0.02$, $p = .09$ e $p = .14$, respectively). The presence of ulceration was significant only on day 8 ($p = 0.10$). Regarding the OM, the occurrence was observed in 50% of the patients in the CG and 30% in the patients of the EG, with no one manifesting OM grade 2 or more.	The occurrence of OM and pain was lower in patients who used chamomile compared to CG. No toxicity to chamomile was observed.	Absolute value: 31 83.78% meeting the criteria

TABLE 2 (Continued)

Author/year/ country of study	Purpose	Sample (n) and sample description	Design: Study type	Intervention group (chamomile) and comparative protocol	Control group or comparative group	Evaluated Parameters	Results	Outcomes	Consort grade
Franseswar et al. (2017), Brazil	To compare the effects of topical rinses based on sage, peppermint and chamomile in the prevention of CT-induced OM in children with cancer	62 children (8 to 15 years old) with ALL were divided into 2 groups: Control group and Test group	Randomized controlled trial with a blinded outcome assessor	The control group used mouthwash with chlorhexidine 0.12% three times a day before the CT and continued for 28 consecutive days	The use of the rinses (sage, sage and chamomile) 7.5% bicarbonate in saline solution started one day before CT and continued for 14 consecutive days. After brushing, patients rinsed three times a day	Evaluation of OM with WHO scale	The frequency and severity of OM on the seventh day after CT in both groups were not statistically significant ($p = 1.45$). On the 14th postCT day, the Chamomile group had a higher level of OM than the control group ($p = 0.001$).	Mouthwash with chamomile was effective in preventing OM in oncological children	Absolute value: 20 34.03% meeting the criteria

Abbreviations: OM Oral Mucositis; CT: Chemotherapy; WHO: World Health Organization; ALL: Acute Lymphoblastic Leukemia; 5-FU: 5-Fluorouracil; HCT: Hematopoietic Stem Cell Transplantation; GV: grafting; RBC: Red and Black Cancer.

Fiddler et al. (1996) used in their experiment an antiseptic from a mixture of 100 mL of water with 30 drops of concentrated chamomile (ASTA Medica, Incorporated, Hackensack, NJ).

In regard to the administration of chamomile, a study guided the application twice a day (Braga et al., 2015), and 2 experiments indicated topical use 3 times a day (Fiddler et al., 1996; Pourdeghatkar et al., 2017). A single study was conducted with the daily topical application of 4 times (Shabanloei et al., 2009), and the study of dos Reis et al. (2016) adopted the use of cryotherapy with chamomile as a single-use, which started in pre-chemotherapy and remained during the infusion of the chemical agent, as described in Table 2. It is noteworthy that a single clinical trial did not clarify the recommended daily use of topical chamomile and only provided information about rinsing for 60 s for 3 weeks (Bahramnezhad et al., 2015).

All studies evaluated the clinical parameters of OM using the grading system proposed by the World Health Organization (WHO) (OMS, 1979) (Fiddler et al., 1996; Shabanloei et al., 2009; Braga et al., 2015; Bahramnezhad et al., 2015; dos Reis et al., 2016; Pourdeghatkar et al., 2017). In addition to the evaluation of OM, the study of Shabanloei et al. (2009), assessed pain associated with chemo-induced OM, dos Reis et al. (2016) analyzed pain, the degree of discomfort, and perception of taste associated with the topical use of this agent, Braga et al. (2015) evaluated the organoleptic properties of the chamomile rinse and the adverse effects manifested by topical use, through interviews with the adoption of the terms 'never' until 'very frequent', and Fiddler et al. (1996) applied a questionnaire regarding the toxicity of this natural agent. All these data, along with the periods of analysis, are also compiled in Table 2.

In regard to the evaluation periods of clinical parameters, Shabanloei et al. (2009) evaluated the variables OM and pain in 4 distinct phases, which comprised a total period of 16 days of chamomile use, starting on day 1 of chemotherapy. However, the authors did not accurately mention the start and end days of each phase. Assessments in the study by Pourdeghatkar et al. (2017) were started 1 day before starting chemotherapy on the seventh and 14th day after infusion. In the clinical trial of dos Reis et al. (2016), the assessment of OM and pain was carried out on days 8, 15, and 22 after the first infusion of chemotherapy, and Bahramnezhad et al. (2015) measured the mucositis gradation at 3 different times; that was, however, done on days 1, 7, and 14 after the start of locoregional radiotherapy. Finally, Fiddler et al. (1996) followed the development of the OM from the first dose of 5-fluorouracil until day 14, and provided a questionnaire to assess toxicity on day 1 of chemotherapy and 3 weeks after chemotherapy.

As for the outcome of the selected studies, it was observed that the application of topical chamomile in OM was effective in most studies from a clinical point of view (Shabanloei et al., 2009; Braga et al., 2015; dos Reis et al., 2016; Pourdeghatkar et al., 2017). However, 2 studies have shown no superiority of chamomile over honey (Bahramnezhad et al., 2015) and placebo (Fiddler et al., 1996). Furthermore, topical chamomile has not been shown to cause toxicity (Fiddler et al., 1996; dos Reis et al., 2016) or intolerance (Braga et al., 2015).

Regarding the application of the CONSORT strategy, in the study of dos Reis et al. (2016), 31 recommendations were implemented out

of 37 previously established criteria (83.78%), and in the study of Braga et al. (2015) and Bahramnezhad et al. (2015), 25 recommendations were entered (67.5%). The other studies obtained similar rates with some limitations in methods, but that does not interfere with the possibility of reproduction of them, which makes transparent articles, ordered logically, well-conducted and with precise objectives (Table 2). The risk of bias was considered low for the included studies, considering that some additional information from the authors (unpublished) was necessary for this evaluation. There was a minimum decrease in quality, but there was no information about blinding of outcomes assessment in some studies (Fiddler et al., 1996; Shabanloei et al., 2009; Bahramnezhad et al., 2015; dos Reis et al., 2016; Pourdeghatkar et al., 2017) and selective reporting (Shabanloei et al., 2009; dos Reis et al., 2016; Pourdeghatkar et al., 2017) (Figure 2).

4 | DISCUSSION

The present study aimed to conduct a systematic review of the literature on the use of topical chamomile in the management of

radiochemotherapy by means of clinical trials. To maximize the evaluation and use of the information presented by the studies, the PICO strategy was used (Patient, Intervention, Comparison, and Outcome) (Santos, Pimenta, & Nobre, 2007). Four of the 6 studies included in this review suggest that the application of chamomile has the ability to prevent or treat OM lesions in cancer patients undergoing myeloablative conditioning regimens for hematopoietic stem cell transplantation (Braga et al., 2015; Pourdeghatkar et al. 2017) and in patients with solid malignancies undergoing treatment with chemotherapy (Shabanloei et al., 2009; dos Reis et al., 2016).

Regarding the studied population, although there was a wide variation in the age of the included cancer patients (6–64 years), it was observed that in addition to the positive results regarding chamomile in the management of OM (Shabanloei et al., 2009; Braga et al., 2015; dos Reis et al., 2016; Pourdeghatkar et al. 2017), chamomile was well accepted and tolerated by most patients of all age groups; these patients, even under the presence of common side-effects of cancer therapy such as nausea and vomiting, did not manifest severe effects of this natural agent (Braga et al., 2015; dos Reis et al., 2016).

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Blinding of outcome assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Other bias
Bahramnezhad et al., 2015	+	+	+	?	+	+	+
Braga et al., 2015	+	+	+	+	+	+	+
dos Reis et al., 2016	+	+	+	?	+	?	+
Fiddler et al., 1996	?	+	+	?	+	+	+
Pourdeghatkar et al., 2017	?	?	+	?	+	?	+
Shabanloei et al., 2009	+	+	?	?	+	?	?

FIGURE 2 Summary of review methods: assessment of reviewers/authors on each methodological aspect (presenting the quality of each item in the included studies)

According to the methodology used to evaluate OM, all studies adopted the same graduation scale (WHO, 1979) that favors the standardization of clinical analysis of results in a more reliable way, since the same criteria were adopted to assess the tissue repair process. Furthermore, although there are several OM measurement systems, the classification proposed by the WHO combines different objective and subjective aspects of mucositis, as it broadly and practically analyzes the signs, symptoms, and functional disorders of cancer patients, which makes its application simple and determines an effective global score (Sonis et al., 2004).

All studies adopted the use of topical chamomile in the management of OM, according to the established inclusion criteria; however, a particular difference observed between the studies was in the pattern of use and presentation of chamomile. In the studies conducted by Shabanloei et al. (2009), dos Reis et al. (2016), and Braga et al. (2015) a production of the rinse from flowers of the plant was carried out, while Pourdeghatkar et al. (2017) and Bahramnezhad et al. (2015) used different types of chamomile rinse commercially available in Iran, and Fidler et al. (1996) adopted the use of a concentrated chamomile mixture (ASTA Medica, Incorporated, Hackensack, NJ) diluted in water, which formed a mouthwash. In a different way, dos Reis et al. (2016) produced chamomile ice chips, which possibly represents a combined action of the beneficial effects of this natural agent with cryotherapy, through the promotion of local vasoconstriction. According to WHO monography (1999), the presentation forms of chamomile also include dried flower-heads, liquid extract (1:1 in 45% alcohol), tinctures, and other galenicals. In addition, vapour, capsule or tablet containing dry extract, tinctures, infusion and volatile oil, can also be found (Ministério da Saúde, 2016). Regarding the topical administration of chamomile, its use was varied from twice a day (Braga et al., 2015) up to 4 times a day (Shabanloei et al., 2009). While 2 studies performed topical application 3 times daily (Pourdeghatkar et al., 2017; Fidler et al., 1996). Although there is a difference between the forms of presentation, dosages, and use of chamomile, most studies have demonstrated satisfactory effects of topical chamomile, with regard to a lower occurrence or decrease in the severity of OM-related injuries (Shabanloei et al., 2009; Braga et al., 2015; dos Reis et al., 2016; Pourdeghatkar et al., 2017), along with the painful symptoms associated with these lesions (Shabanloei et al., 2009; dos Reis et al., 2016).

The favorable effect of topical chamomile according to the included studies is due to its previously established medicinal properties, which include anti-inflammatory and analgesic action, due to the presence of chamazulene, alpha bisabolol, bisabolol oxides, spiroesters, and flavonoid compounds (O'Hara et al., 1998; Presibella, Villas-Bôas, Belletti, Santos, & Weffort-Santos, 2006; McKay e Blumberg, 2006). According to 2 of the 6 studies included in this review (Braga et al., 2015; dos Reis et al., 2016), chamomile was effective in the management of chemo-induced mucositis due to the inhibition of the production of cyclooxygenase-2 (COX-2), an enzyme belonging to the inflammation cascade. Furthermore, Braga et al. (2015) stated that the amount of aspegenin-7-glycoside, which is a flavonoid compound, determines the anti-inflammatory activity of this natural agent.

However, in the study carried out by Fidler et al. (1996), the results did not show that chamomile was superior to the placebo group, with respect to the decrease in the severity of OM lesions induced by 5-fluorouracil. A possible reason for this result could be due to the fact that patients in both groups underwent cryotherapy prior to each dose of chemotherapy. This mechanism alone prevents mucositis induced by chemotherapeutic agents with a short half-life, as is the case with 5-fluorouracil, according to the guidelines proposed by MASCC/ISSO (Lalla et al., 2014). Thus, this result should be carefully evaluated, since the combination of two therapeutic modalities is considered preventive in the management of mucositis and may constitute a bias when compared with studies that have used topical chamomile exclusively.

For this reason, the study conducted by dos Reis et al. (2016) evaluated not only the reparative capacity but also the analgesic potential of this natural agent through the application of a visual analog scale. According to the results obtained, the perception of pain in the control group was greater than that in the chamomile group in all evaluation periods, which occurred on days 8, 15, and 22 after chemotherapy, which confirms the analgesic potential of chamomile. The analgesic potential of chamomile, as mentioned earlier, is due to its ability to inhibit COX-2 (Braga et al., 2015).

A single study evaluated the effect of topical chamomile on the prevention of OM in patients undergoing radiotherapy in the head and neck region (Bahramnezhad et al., 2015). The results did not reveal the superiority of this natural agent as a mouthwash used with natural honey. One of the possible causes could be that the biological cascade of induction of radiotherapy-induced mucositis is different than that induced by chemotherapeutic agents (Sonis et al., 2004). Radiotherapy involves the use of ionizing radiation directly on the target, having a locoregional effect, while chemotherapy involves the systemic administration of chemical agents, capable of acting on the cells of the oral cavity with high rates of replication (Sonis, 2004; Sonis, 2007). Given this context, according to MASCC/ISSO (Lalla et al., 2014), there are recommended therapies exclusively for the management of chemo-induced OM, such as cryotherapy and benzidamine, which represents a non-steroidal anti-inflammatory effect for topical use, and is recommended for the prevention of these injuries in patients who receive a moderate radiation dose (<50 Gy) (Ariyawardana et al., 2019). In a complementary way, the literature suggests the use of other therapies directed at mucositis from all oncological therapies, as is the case with adequate oral hygiene protocols, which include brushing associated with oral hygiene guidance and professional care (Hong et al., 2019).

One possible reason for the contradictory findings of the 2 experiments is methodological differences, which includes the method of presenting chamomile and its application in different oncological groups (Bahramnezhad et al., 2015; Fidler et al., 1996). However, when considering that cancer patients make use of a range of medications due to their systemic condition associated with the increase in expenses generated by antineoplastic therapy, the search for easily accessible and low-cost therapeutic alternatives is necessary, which favors the studies that use natural agents, such as chamomile. Allied

to this fact, chamomile is well tolerated by the body because of its low toxicity, as demonstrated in studies by Braga et al. (2015), in which 84% of patients rated chamomile with a very pleasant or pleasant taste, and dos Reis et al. (2016) observed an absence of toxicity in the patients. In this way, the progressive increase in their consumption becomes feasible, as demonstrated in the present review, in which 4 of the 6 studies were carried out during 2014–2017. It is noteworthy that, due to lack of rigorous regulation, the need for the manufacturer of the nutraceutical to prove efficacy, safety and quality of a marketed product is less strongly enforced than in the pharmaceutical sector. Therefore, many available products might be ineffective.

Regarding the final OM evaluation period in the studies included in the present review, there was a variation between day 14 after the beginning of cancer therapy until day 22. However, this difference between the studies does not constitute a methodological bias, since all studies cover the period in which OM lesions are expected to develop after chemotherapy infusion or after radiotherapy in the head and neck region.

It is noteworthy that systematic reviews and meta-analyses are at the top of the hierarchy of the clinical evidence, so the practice of evidence-based medicine for patients can be informed by this available evidence (Izzo, Hoon-Kim, Radhakrishnan, & Williamson, 2016; Williamson, Liu, & Izzo, 2020).

5 | LIMITATIONS

In general, most of the studies showed adequate allocation concealment and blinding of outcome assessors. Of the six studies analyzed, four were clear about allocation concealment (Fiddler et al., 1996; Braga et al., 2015; Bahramnezhad et al., 2015; dos Reis et al., 2016), and in one (Pourdeghatkar et al. 2017), this evaluation was not possible. It is noteworthy that the potential publication bias, where the limited number of articles led us to lower the degree of evidence.

Some limitations were observed during the construction of this study. In the study by Shabanloei et al. (2009), the minimum age of the included patients was not informed, and there was no specification of the sites involved or the chemotherapeutic agents used. Similarly, Fiddler et al. (1996) did not report the solid tumors involved in cancer treatment. Bahramnezhad et al. (2015) did not clarify the amount of daily administration of topical chamomile and only mentioned that the rinse was performed for 60 s for 3 weeks. Despite these limitations, it is strongly recommended to conduct new controlled clinical trials aimed at the use of topical chamomile in the management of OM, as there is no isolated therapy considered the gold standard for the prevention and/or treatment of this debilitating condition for cancer patients, which often requires the interruption of antineoplastic therapy, with a decreased quality of life or even a risk of death to the patient (Lalla et al., 2014; Raber-Durlacher et al., 2010; Saunders et al., 2013; Sonis, 2004).

Based on this literature review, it can be considered that topical therapy with chamomile in the preventive and therapeutic of chemo-

induced OM in cancer patients with a wide age range is well tolerated. In addition, as this natural agent is easily accessible and financially feasible, further high-quality studies are needed to firmly establish the best dosage form, concentration, dosing interval, and duration of treatment. The clinical efficacy of the plant will determine useful protocols for its users to manage and improve the quality of life in cancer patients. The stage of cancer, type of cancer, chemotherapy agents, the number of chemotherapy cycles may be important factors in response to the treatment.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to gratefully acknowledge the support of the Bahia Research Foundation (FAPESB) for the doctoral fellowship.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

PROSPERO database (CRD42020210862) https://www.crd.york.ac.uk/prosperto/export_details_pdf.php

ORCID

Juliana Borges de Lima Dantas  <https://orcid.org/0000-0002-9798-9016>

Tila Fortuna Costa Freire  <https://orcid.org/0000-0002-9676-9185>

Ana Caria Barletta Sanchez  <https://orcid.org/0000-0003-2342-6584>

Erielle Lomba Dias Juliano  <https://orcid.org/0000-0003-1715-1887>

Alena Ribeiro Alves Peixoto Medrado  <https://orcid.org/0000-0003-4074-4680>

Gabriela Botelho Martins  <https://orcid.org/0000-0002-0917-4598>

REFERENCES

- Ariyawardana, A., Cheng, K. K. F., Kandwal, A., Tilly, V., Al-Azri, A. R., Galiti, D., ... Elad, S. (2019). Systematic review of anti-inflammatory agents for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines. *Support Care in Cancer*, 27, 3985–3995. <https://doi.org/10.1007/s00520-019-04888-w>
- Bahramnezhad, F., Nayeri, N. D., Bassampour, S. S., Khajeh, M., & Asgari, P. (2015). Honey and radiation-induced stomatitis in patients with head and neck cancer. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 17(10), e19256. <https://doi.org/10.5812/ircmj.19256>
- Barasch, A., & Peterson, D. E. (2003). Risk factors for ulcerative oral mucositis in cancer patients: Unanswered questions. *Oral Oncology*, 9(2), 91–100. [https://doi.org/10.1016/s1368-8375\(02\)00033-7](https://doi.org/10.1016/s1368-8375(02)00033-7)
- Bell, L. A., Epstein, J. B., Rose-Ped, A., Martin, P., & Fuchs, H. J. (2000). Patient reports of complications of bone marrow transplantation. *Support Care Cancer*, 8, 33–39. <https://doi.org/10.1007/s005209900095>
- Braga, F. T. M. M., Santos, A. C. F., Bueno, P. C. P., Silveira, R. C. C. P., Santos, C. B., Bastos, J. K., & Carvalho, E. C. (2015). Use of Chamomilla recutita in the prevention and treatment of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: A randomized, controlled Phase II clinical trial. *Cancer Nursing*, 30, 322–9. <https://doi.org/10.1097/NCC.0000000000000194>
- dos Reis, P. E. D., Ciol, M. A., Melo, N. S., Figueiredo, P. T. S., Leite, A. F., & Manzi, N. M. (2016). Chamomile infusion cryotherapy to prevent oral

- mucositis induced by chemotherapy: A pilot study. *Support Care Cancer*, 24, 4393–4398. <https://doi.org/10.1007/s00520-016-3179-y>
- Fidler, F., Loprinzi, C. L., O'Fallon, J. R., Leitch, J. M., Lee, J. K., Hayes, D. L., ... Michalak, J. C. (1996). Prospective evaluation of a chamomile mouthwash for prevention of 5-FU-induced oral mucositis. *Cancer*, 77, 522–525. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19960201\)77:3<522::AID-CNCR14>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19960201)77:3<522::AID-CNCR14>3.0.CO;2-6)
- Higgins J.P.T., & Altman D.G. (2011). S.J. (Editors). Chapter 8: assessing risk of bias in included studies. *Cochrane Handb Syst Rev Inters Version 5.10* [internet]. [updated March 2011; cited 2020 Available from: <https://doi.org/10.1001/jam.a.2013.109501>].
- Higgins J.P.T., & Green S. (2011). *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions version 5.1.0*. [internet]. [updated 2011 Mar; cited 2020 Aug 10]. Available from: <http://www.cochrane-handbook.org/>.
- Hong, C. H. L., Gueiros, L. A., Fulton, J. S., Cheng, K. K. F., Kandwal, A., Galini, D., ... Elad, S. (2019). Systematic review of basic oral care for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines. *Support Care in Cancer*, 27, 3949–3967. <https://doi.org/10.1007/s00520-019-0484-4>
- Izzo, A. A., Moon-Kim, S., Radhakrishnan, R., & Williams, E. M. (2016). A critical approach to evaluating clinical efficacy, adverse events and drug interactions of herbal remedies. *Phytotherapy Research*, 30, 691–700. <https://doi.org/10.1002/ptr.5591>
- Kato, S., Saito, A., Matsuda, N., Suzuki, H., Ujii, M., Sato, S., ... Satoh, H. (2017). Management of aflatinib-induced stomatitis. *Molecular and Clinical Oncology*, 6, 603–605. <https://doi.org/10.3892/mco.2017.1184>
- Lalla, R. V., Bowen, J., Barasch, A., Elting, L., Epstein, J., & Keefe, D. M. (2014). MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. *Cancer*, 120, 1453–1561. <https://doi.org/10.1002/onc.28592>
- McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytotherapy Research*, 20, 519–530. <https://doi.org/10.1002/ptr.1900>
- Ministério da Saúde. Brasil, ANVISA. (2016). *Manual de Fitoterápico. Farmacopeia Brasileira*. Brasília: 1 ed, 63–64.
- Miraj, S., Azizi, N., & Kiani, S. (2016). A review of chemical components and pharmacological effects of *Melissa officinalis* L. *Der Pharmacia Letter*, 8(5), 229–237.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., & Altman, D. G. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Medicine*, 6(7), e1000097. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>
- O'Hara, M., Kiefer, D., Farrell, K., & Kemper, K. (1998). A review of 12 commonly used medicinal herbs. *Archives of Family Medicine*, 7, 523–536. <https://doi.org/10.1001/archfam.7.6.523>
- Peterson, D. E. (1999). Research advances in oral mucositis. *Current Opinion in Oncology*, 11, 261–266. <https://doi.org/10.1097/00001622-199907000-00005>
- Presibella, M. M., Villas-Bôas, L. S., Belletti, K. M. S., Santos, C. A. M., & Weyfert-Santos, A. M. (2006). Comparison of chemical constituents of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert essential oil and its anti-chemotherapeutic activity. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(5), 717–724. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132006000600005>
- Pourdeghatkar, F., Motaghi, M., Darbadi, B., & Baghersalimi, A. (2017). Comparative effect of chamomile mouthwash and topical mouth rinse in prevention of chemotherapy-induced oral mucositis in Iranian pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Iranian Journal of Blood and Cancer*, 9(3), 84–88.
- Raber-Durlacher, J. E., Elad, S., & Barash, A. (2010). Oral mucositis. *Oral Oncology*, 46, 452–456. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2010.03.012>
- Santos, C. M. C., Pimenta, C. A. M., & Nobre, M. R. C. (2007). A estratégia PICO para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. *Rev Latino-Am Enfermagem*, 15(3), 1–4. <https://doi.org/10.1590/S0104-11692007000300023>
- Saunders, D. P., Epstein, J. B., Elad, S., Allemanno, J., Bossi, P., Van de Wetering, M. D., ... Lalla, R. V. (2013). Systematic review of antimicrobials, mucosal coating agents, anesthetics, and analgesics for the management of oral mucositis in cancer patients. *Support Care Cancer*, 21, 3191–3207. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-1871-y>
- Schulz, K. F., Altman, D. G., & Moher, D. (2010). CONSORT 2010 statement: Updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *BMJ*, 340, 332–332. <https://doi.org/10.1136/bmj.e332>
- Shabanlouei, R., Ahmadi, F., Vaez, J., Ansarin, K., Hajizadeh, E., & Javadzadeh, Y. (2009). Allopurinol, chamomile and normal saline mouthwashes for the prevention of chemotherapy-induced stomatitis. *J Clin Diag Res*, 3, 1537–1542.
- Silverman, S., Jr. (2007). Diagnosis and management of oral mucositis. *The Journal of Supportive Oncology*, 5(suppl 1), 13–21.
- Sonis, S. T. (2004). Pathobiology of mucositis. *Seminars in Oncology Nursing*, 20, 11–15. <https://doi.org/10.1053/j.soncn.2003.10.003>
- Sonis, S. T. (2007). Pathobiology of oral mucositis: Novel insights and opportunities. *The Journal of Supportive Oncology*, 5(5), 3–11.
- Sonis, S. T., Elting, L. S., Keefe, D., Peterson, D. E., Schubert, M., Hauer-Jensen, M., ... Rubenstein, E. B. (2004). Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: Pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. *Cancer*, 100(9 Suppl), 1995–2025. <https://doi.org/10.1002/enr.20162>
- WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. (1999). Geneva: World Health Organization, 1, 86–94.
- Williams, E. M., Liu, X., & Izzo, A. A. (2020). Trends in use, pharmacology and clinical applications of emerging herbal nutraceuticals. *British Journal of Pharmacology*, 177(6), 1227–1240. <https://doi.org/10.1111/bph.14943>
- World Health Organization. (1979). *Handbook for reporting results of cancer treatment* (pp. 15–22). Geneva: World Health Organization.
- Yaron, N., Hovan, A., Bossi, P., Ariyawardana, A., Jensen, S. B., Gobbo, M., ... Elad, S. (2020). Systematic review of natural and miscellaneous agents, for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines — Part 2: Honey, herbal compounds, saliva stimulants, probiotics, and miscellaneous agents. *Support Care Cancer*, 28, 2457–2472. <https://doi.org/10.1007/s00520-019-05256-4>

How to cite this article: de Lima Dantas, J. B., Freire, T. F. C., Sanchez, A. C. B., Julião, E. L. D., Medrado, A. R. A. P., & Martins, G. B. (2022). Action of *Matricaria recutita* (chamomile) in the management of radiochemotherapy oral mucositis: A systematic review. *Phytotherapy Research*, 1–11. <https://doi.org/10.1002/ptr.7378>

ANEXO B – Carta de Anuência do Laboratório de Neurociências do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA).



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



CARTA DE ANUÊNCIA

Eu, **"REJANE CONCEIÇÃO SANTANA"**, na qualidade de responsável pelo(a) **"BIOTÉRIO DO LABORATÓRIO DE NEUROCIÊNCIAS DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA"**, autorizo a realização da pesquisa intitulada **"EFEITO DA CAMOMILA NA CICATRIZAÇÃO DA MUCOSA ORAL DE RATOS"**, cujo objetivo é avaliar o efeito da *Chamomilla Recutita (L.)* na cicatrização de ferida cirúrgica em língua de ratos, a ser conduzida sob a responsabilidade do pesquisador **"GABRIELA BOTELHO MARTINS E EQUIPE "**; e DECLARO que o mesmo apresenta infraestrutura necessária à realização da referida pesquisa.

Salvador, 03 de abril de 2018.



Profa. Dr.ª. Rejane Conceição Santana

Coordenadora do Biotério do Laboratório de Neurociências – ICS/UFBA

ANEXO C - Carta de Anuência do Laboratório de Bioquímica Oral do Instituto de Ciência da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA).



Universidade Federal da Bahia
Instituto de Ciências da Saúde
Departamento de Bioquímica e Biofísica
Laboratório de Bioquímica Oral



TERMO DE ANUÊNCIA

Declaro para os devidos fins que o Laboratório de Bioquímica Oral está de acordo com a execução do projeto "EFEITO DA CAMOMILA NA CICATRIZAÇÃO DA MUCOSA ORAL DE RATOS", coordenado pela professora **Gabriela Botelho Martins** e assume o compromisso de apoiar o desenvolvimento da referida pesquisa nesta Instituição durante a realização da mesma.

Esta instituição está ciente de suas co-responsabilidades como instituição coparticipante do presente projeto de pesquisa, e de seu compromisso dispondo de infra-estrutura necessária para a execução do mesmo, cumprindo as Resoluções Éticas, em especial a Resolução 466/2012 do CNS.

Salvador, 03 de Abril de 2018

Elisângela de Jesus Campos

Profa. Adjunto de Bioquímica
Coordenadora do Laboratório de Bioquímica Oral
Departamento de Bioquímica e Biofísica
Instituto de Ciências da Saúde
Universidade Federal da Bahia
Campus do Canela

Laboratório de Bioquímica Oral/ Sala 400 – Instituto de Ciências da Saúde da UFBA
Av. Reitor Miguel Calmon, s/n – Vale do Canela, Campus do Canela,
Tel. (71) 3283-8891 - CEP: 40160-100 – Salvador – Bahia – Brasil

ANEXO D - Parecer do CEUA do Instituto de Ciência da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA).



Comissão de Ética no Uso de Animais

Instituto de Ciências da Saúde - UFBA



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CAMOMILA NA CICATRIZAÇÃO DA MUCOSA ORAL DE RATOS", protocolada sob o CEUA nº 3562050618, sob a responsabilidade de **Gabriela Botelho Martins** e equipe; *Tíla Fortuna Costa; Juliana Borges de Lima Dantas; Rejane Conceição Santana; Gabriela Botelho Martins; Roberto Paulo Correia de Araújo* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde) (CEUA/ICS.UFBA) na reunião de 29/09/2018.

We certify that the proposal "EVALUATION OF THE EFFECT OF CAMOMILE IN THE HEALING OF ORAL MUCOSUS OF RATS", utilizing 108 Heterogenics rats (108 males), protocol number CEUA 3562050618, under the responsibility of **Gabriela Botelho Martins** and team; *Tíla Fortuna Costa; Juliana Borges de Lima Dantas; Rejane Conceição Santana; Gabriela Botelho Martins; Roberto Paulo Correia de Araújo* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Bahia (Health Sciences Institute) (CEUA/ICS.UFBA) in the meeting of 09/29/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **09/2018** a **09/2019** Área: **Ciências da Saúde**

Origem: **Não aplicável biotério**
 Espécie: **Ratos heterogênicos** sexo: **Machos** idade: **60 a 90 dias** N: **108**
 Linhagem: **Wistar** Peso: **200 a 300 g**

Local do experimento: O procedimento cirúrgico e os procedimentos de aplicação das medicações, bem como as aplicações do laser serão realizados em sala específica para manipulação de animais no Laboratório de Neurociências do Instituto de Ciências da Saúde da UFBA. As análises das lâminas confeccionadas após a morte dos animais acontecerão no Laboratório de Bioquímica Oral do ICS/UFBA.

Salvador, 02 de outubro de 2018

Dra. Luciana Lyra Casais-e-Silva
 Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
 Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde)

MSc. Marcos Borges Ribeiro
 Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
 Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde)



Instituto de Ciências da Saúde
Programa de Pós Graduação
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100
Salvador, Bahia, Brasil

<http://www.ppgorgsistem.ics.ufba.br>