

## **Análise comparativa entre o óleo-resina de copaíba e o digluconato de clorexidina no processo de cicatrização tecidual.**

### **Estudo histológico em dorso de ratos**

*Antonio Teixeira CAVALCANTI NETO<sup>a</sup>, Thiane Elys Prado ARRUDA<sup>a</sup>*

*Theodora Thays Prado ARRUDA<sup>a</sup>, Sérgio Luís da Silva PEREIRA<sup>b</sup>*

*Eveline TURATTI<sup>c</sup>*

*<sup>a</sup>Aluno de graduação, Curso de Odontologia, Universidade de Fortaleza, UNIFOR, 60811-341 Fortaleza - CE*

*<sup>b</sup>Disciplina de Periodontia, Curso de Odontologia, Universidade de Fortaleza, UNIFOR, 60811-341 Fortaleza - CE*

*<sup>c</sup>Disciplina de Patologia Bucal, Curso de Odontologia, Universidade de Fortaleza, UNIFOR, 60811-341 Fortaleza - CE*

Cavalcanti Neto AT, Arruda TEP, Arruda TTP, Pereira SLS, Turatti E. Comparative evaluation between copaiba oil-resin and chlorhexidine digluconate on wound healing. Histological study in rats. Rev Odontol UNESP. 2005; 34(2): 107-112.

**Resumo:** O objetivo deste estudo foi comparar histologicamente o processo de cicatrização de feridas cutâneas em dorso de 15 ratos machos adultos, após duas aplicações tópicas diárias de óleo-resina de copaíba, digluconato de clorexidina a 0,12% e soro fisiológico em três períodos predeterminados de 1, 7 e 15 dias. Os resultados histológicos quantitativos demonstraram uma redução estatisticamente significativa no grau de inflamação nos três grupos ( $p < 0,05$ ), embora o grupo soro fisiológico tenha apresentado uma inflamação mais severa no dia 1 ( $p < 0,05$ ). A análise histológica qualitativa demonstrou que, nos períodos inicial e final, havia um padrão semelhante de cicatrização entre os tratamentos. Entretanto, no período intermediário de 7 dias, as feridas cutâneas estavam completamente epitelizadas apenas nos grupos clorexidina e copaíba, apesar de este apresentar um processo de reparo do tecido conjuntivo mais lento. As feridas cutâneas tratadas com solução aquosa de digluconato de clorexidina a 0,12% apresentaram uma cicatrização mais rápida quando comparadas àquelas tratadas com soro fisiológico e óleo-resina de copaíba.

**Palavras-chave:** *Cicatrização; ratos; óleo-resina de copaíba; clorexidina.*

**Abstract:** The aim of this study was to compare by histological analysis the effects of two experimental solutions on wound healing. Standardized circular wounds were performed in the back of 15 adults rats. The wounds were rinsed twice a day for 15 days, using the following experimental solutions: 0.12% chlorhexidine digluconate (Group 1) and copaiba oil-resin (Group 2). In Group 3 (control) saline solution was used. All groups showed a statistically significant reduction in inflammation ( $p < 0.05$ ), although the group 3 had presented severe inflammation at day 1 ( $p < 0.05$ ). At the days 1 and 15 the wound healing was similar among groups. However, at 7 days the wounds were epithelized in the groups 1 and 2, although the granulation tissue could be observed in group 2. Thus, the use of 0.12% chlorhexidine digluconate rinsing solution can enhance the wound healing in comparison to copaiba oil-resin and saline solution.

**Keywords:** *Wound healing; rats; copaiba oil-resin; chlorhexidine.*

## Introdução

O objetivo de todo procedimento cirúrgico periodontal é a cicatrização por primeira intenção, utilizando-se retalhos que, uma vez suturados, permitem a proteção da ferida e a estabilização do coágulo sanguíneo<sup>1</sup>. Entretanto, em gengivectomias de bisel externo e áreas doadoras de enxerto gengival livre, permanece uma área exposta de tecido conjuntivo ocasionando desconforto durante o período pós-operatório. Assim sendo, a utilização de agentes que possam agir diretamente no processo de reparo ou indiretamente reduzindo o processo inflamatório e acelerando o processo de cicatrização pelo controle da infecção bacteriana, torna-se um artifício benéfico ao paciente no período pós-cirúrgico<sup>6</sup>.

Entre essas substâncias, o digluconato de clorexidina é o controle químico de placa bacteriana mais utilizado na fase pós-cirúrgica, sendo eficiente no controle do biofilme supragengival<sup>5,20,23</sup>. Apesar de trabalhos *in vitro* demonstrarem o efeito citotóxico da clorexidina<sup>19,22</sup>, estudos em animais<sup>15,17,24,26,29</sup> e estudos clínicos em humanos<sup>1,16,25</sup> demonstraram uma ação eficaz da clorexidina também no processo de reparação, em virtude principalmente de sua propriedade antibacteriana.

Com a valorização da medicina popular, houve um aumento no interesse em pesquisas com fitoterápicos objetivando a produção de fármacos mais baratos e com efeitos semelhantes aos dos medicamentos tradicionais<sup>10,28</sup>. Dentro dessa linha, o óleo de copaíba, utilizado para fins medicinais desde o século XVI, é usado popularmente no tratamento de enfermidades tais como cistites, bronquites, diarreias crônicas, reumatismo e psoríase<sup>28</sup>.

Constituída por 45% de óleos essenciais e 55% de resina, o óleo-resina de copaíba advém de árvores do gênero *Copaifera*, família das leguminosas, sendo as principais a *C. officinalis*, *C. reticulata*, *C. langsdorffii* e *C. guyanensis*, encontradas em países do norte da América do Sul, tais como Venezuela e Colômbia<sup>3</sup>. Pará e Amazonas são os principais produtores brasileiros, sendo a espécie *Copaifera reticulata* a mais importante<sup>8,28</sup>.

A estrutura química dos constituintes do óleo-resina, assim como do óleo obtido das sementes, é formada por vários diterpenos, sesquiterpenos e ácido polilático<sup>3,7</sup>, responsáveis pelo efeito analgésico<sup>14</sup>, antiinflamatório<sup>2,4,8,11,13,14,21,27,30</sup>, antisséptico<sup>4,13,14</sup> e cicatrizante<sup>7,11</sup>, quando aplicados via oral ou tópica.

Nos poucos trabalhos que avaliaram a ação tópica do óleo de copaíba como cicatrizante, foram observados macroscopicamente um aumento do diâmetro da crosta das lesões, perda de pêlos e presença de escaras em torno de feridas cutâneas em ratos<sup>8</sup>, as quais corresponderam microscopicamente à presença de um maior tecido de granulação e ao aumento do número de vasos sanguíneos, porém com diminuição da quantidade de fibras colágenas<sup>9</sup>. Entretanto, em um estudo

mais recente realizado por Paiva et al.<sup>21</sup> (2002), a aplicação tópica do óleo de copaíba acelerou significativamente a contração de feridas cutâneas em dorso de ratos em comparação a uma solução de soro fisiológico.

Com base nessas considerações iniciais, o objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente o efeito do óleo-resina de copaíba e o de uma solução de clorexidina a 0,12% na cicatrização de feridas em dorso de ratos, uma vez que não se encontram na literatura trabalhos comparativos entre essas substâncias quando utilizadas como coadjuvantes no processo de reparo tecidual.

## Material e método

### Princípios éticos

O protocolo utilizado está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Pesquisa em Animais da Universidade Federal do Ceará (CEPA/UFC – protocolo nº 41/04), em convênio com a Universidade de Fortaleza/CE.

### Amostra

Foram utilizados 15 ratos saudáveis, adultos machos, albinos (*Rattus norvegicus*), da raça Wistar, pesando entre 200 g e 250 g, provenientes do biotério central da Universidade de Fortaleza/CE, os quais foram subsequentemente isolados em gaiolas individuais e mantidos em temperatura ambiente com água e ração à vontade durante todo o período experimental.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais de acordo com o período de aplicação das substâncias (dias 1, 7 e 15). Cada grupo continha cinco ratos, nos quais foram realizadas três feridas cutâneas tratadas posteriormente com diferentes soluções, como descrito a seguir (Tabela 1).

### Período experimental

Os animais foram anestesiados associando-se anestésico com relaxante muscular, empregando-se cloridrato de quetamina a 10%, via intramuscular, na dosagem de 0,1 mL/100 g de peso corporal, e cloridrato de xilazina, via intraperitoneal, na dosagem de 0,01 mL/100 g de peso corporal. Procedeu-se à tricotomia da região dorsal por meio de tesouras e barbeador descartável para, então, realizar-se três feridas cutâneas, distantes 3 cm umas das outras, utilizando um bisturi circular descartável (“punch”) de 4 mm de diâmetro e profundidade padrão de 1 mm. Após executada a perfuração, efetuou-se a excisão do tecido por meio de uma pinça e uma tesoura de ponta fina. Em seguida, procedeu-se à aplicação tópica das substâncias por meio de uma seringa de insulina em volume suficiente (0,1 mL) por 10 segundos.

Para a relação ferida/substância, foi estabelecido o seguinte protocolo: ferida caudal (grupo clorexidina - solução aquosa de digluconato de clorexidina a 0,12%), ferida central (grupo controle - soro fisiológico a 0,9%), ferida cranial (grupo copaíba - óleo-resina de copaíba). O óleo-resina de copaíba, procedente do município de Calçoene, estado do Amapá, foi obtido do tronco da árvore *Copaifera reticulata* e adquirido na feira do produtor, no bairro Buritizal. As aplicações tópicas das substâncias foram realizadas duas vezes ao dia, respeitando-se o intervalo de 12 horas entre elas.

#### *Processamento histológico*

Ao final dos períodos experimentais preestabelecidos de 1, 7 e 15 dias, os animais foram mortos por meio de deslocamento cervical. Os fragmentos de tecido foram removidos por meio de incisões retangulares, aprofundadas até a região muscular e envolvendo toda a ferida, respeitando-se uma margem de segurança de 1 mm nas bordas da mesma. Imediatamente após a remoção, as peças foram colocadas em frascos com formol a 10%, previamente identificados com relação ao grupo e período, permanecendo nessa solução por 80 horas para uma completa fixação. As peças foram seccionadas ao meio, e as duas seções foram incluídas de tal forma que cortes histológicos da região central da ferida pudessem ser realizados. Após os procedimentos laboratoriais de rotina, cortes sagitais seriados de 5 µm de espessura foram obtidos e corados com hematoxilina e eosina.

#### *Análise histológica*

A análise histológica foi realizada por um único examinador, em microscopia de luz com aumentos de 100 x e 250 x, por meio de uma descrição qualitativa dos eventos microscópicos do processo cicatricial. O grau de inflamação do tecido conjuntivo também foi observado, utilizando-se da seguinte categorização da variável ordinal: 1. ausente; 2. discreta; 3. moderada; 4. intensa; A - presença de abscesso e B - ausência de abscesso. As comparações das medianas entre os grupos, para cada período experimental, foram realizadas pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. O teste não-paramétrico de Friedman foi utilizado para avaliar as diferenças entre os graus de inflamação no decorrer do período experimental em cada grupo. Esses dados foram analisados pelo programa Bioestat 2.0, em nível de significância de 5%.

## **Resultado**

#### *Análise histológica quantitativa*

Como não houve presença de abscesso em nenhum dos cortes avaliados, esse parâmetro não foi avaliado estatisticamente. De acordo com a Tabela 2, pode-se constatar que houve diferença estatisticamente significativa no grau de inflamação entre os dias 1 e 15 em cada grupo ( $p = 0,5477$ ).

O grupo controle apresentou inflamação intensa no início do período experimental, porém, ao final do experimento, não havia presença de inflamação. Essa involução no processo inflamatório pôde ser observada de forma semelhante no grupo copaíba. No grupo clorexidina, ainda foi constatada uma maior prevalência de inflamação discreta no dia 15, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos nesse período experimental ( $p = 0,7789$ ).

No dia 7, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p = 0,3231$ ), embora os espécimes do grupo controle tenham apresentado um grau de inflamação moderado nesse período. As diferenças mais presentes ocorreram no dia 1, em que o grau de inflamação foi intenso em todos os espécimes tratados com controle e moderado nos outros dois grupos. Comparando-se os dados nesse período, constatou-se que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e clorexidina ( $p = 0,0237$ ) e entre os grupos controle e copaíba ( $p = 0,0477$ ), porém não houve diferença estatisticamente significativa ao se comparar os grupos clorexidina e copaíba ( $p = 0,7773$ ).

#### *Análise histológica qualitativa*

##### **Dia 1**

Observando os cortes histológicos, foi possível constatar que não houve diferenças relevantes entre os grupos estudados. Em todos os cortes, pôde ser observada extensa área de ulceração e presença de coágulo sanguíneo correspondendo à região da realização da ferida, em cuja superfície havia um infiltrado inflamatório de moderado a intenso predominantemente agudo. No tecido conjuntivo denso e bastante celularizado, a presença de um edema intercelular permeado por um discreto infiltrado inflamatório mononuclear foi evidente.

##### **Dia 7**

Analisando os cortes histológicos, foram observadas diferenças no processo de cicatrização. No grupo controle, havia a presença de um tecido conjuntivo denso e bastante celularizado, permeado por um discreto infiltrado inflamatório mononuclear, porém já não havia mais a presença de infiltrado inflamatório agudo na superfície da ferida. Em alguns cortes, foi observada a presença de um tecido de granulação associado a um moderado infiltrado inflamatório mononuclear. Nas bordas da ferida, havia a proliferação de um epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado com dois a três estratos celulares, porém não recoberto totalmente a ferida.

No grupo clorexidina, a derme apresentava, além de anexos cutâneos, uma maior deposição de fibras colágenas permeadas por um discreto infiltrado inflamatório predo-

**Tabela 1.** Distribuição quantitativa dos animais com relação a grupo, substância utilizada e tempo de aplicação das soluções

| Dia | Grupo  |  |   |
|-----|--|--|---|
|     | Clorexidina<br>(digluconato de clorexidina)<br>0,12% | Controle<br>(soro fisiológico)<br>0,9% | Copaíba<br>(óleo-resina de copaíba)<br>puro |
| 1   | n = 5  | n = 5                                  | n = 5                                       |
| 7   | n = 5  | n = 5                                  | n = 5                                       |
| 15  | n = 5  | n = 5                                  | n = 5                                       |

**Tabela 2.** Comparação inter e intragrupos dos dados do grau de inflamação, expressos em mediana (Med.) e desvio padrão (D.P.)

| Dia        | Grupo                         |                               |                               | valor de p                                     |
|------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--|
|            | Clorexidina                   | Controle                      | Copaíba                       |  |
| 1          | Med. = 3 (a,C)<br>D.P. = 0,71 | Med. = 4 (a,b)<br>D.P. = 0,00 | Med. = 3 (b,C)<br>D.P. = 0,45 | p < 0,05 (axa)<br>p < 0,05 (bxb)<br>NS (C x C) |
| 7          | Med. = 2<br>D.P. = 0,45       | Med. = 3<br>D.P. = 0,89       | Med. = 2<br>D.P. = 0,89       | NS   |
| 15         | Med. = 2<br>D.P. = 0,55       | Med. = 1<br>D.P. = 0,55       | Med. = 1<br>D.P. = 0,55       | NS   |
| valor de p | p < 0,05                      | p < 0,05                      | p < 0,05                      |  |

minantemente mononuclear. A área superficial da ferida apresentava-se completamente recoberta por um epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado.

No grupo copaíba, havia a presença de um exuberante tecido de granulação com infiltrado inflamatório de discreto a moderado predominantemente mononuclear, recoberto totalmente por um epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado; porém, não havia a presença de anexos cutâneos.

Dia 15

Não houve diferenças relevantes entre os grupos controle e clorexidina. As áreas da ferida estavam completamente cicatrizadas, com presença de epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado na superfície e inúmeros anexos cutâneos na derme. O grupo copaíba apresentou resultados semelhantes, porém, em alguns cortes, ainda havia presença de tecido de granulação e ausência de anexos cutâneos.

## Discussão

A cicatrização é um fenômeno físico, químico e biológico que se inicia logo após uma lesão tecidual, quer seja acidental quer cirúrgica, e que tem por finalidade reconstruir os tecidos da maneira mais fiel possível<sup>18,21</sup>. Segundo Clark<sup>12</sup> (1985), a reparação de uma ferida cirúrgica apresenta uma evolução de três fases básicas distintas e sucessivas denominadas inflamação, formação de tecido de granulação e estruturação da matriz e remodelação.

Neste estudo foi demonstrado que as feridas cutâneas em dorso de ratos tratadas com soro fisiológico tiveram um padrão de reparação normal em relação ao tempo, visto que todas as feridas estavam cicatrizadas após 15 dias, concordando com os relatos de outros achados<sup>30,31</sup>. Porém, Brito et al.<sup>8,9</sup> (1998, 1999) e Paiva et al.<sup>21</sup> (2002) observaram um fechamento incompleto nesse período, provavelmente em virtude da utilização de feridas de diâmetros maiores, 1,5 cm e 2 cm, respectivamente.

No presente estudo, pôde-se constatar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com relação ao grau de inflamação nos períodos intermediário e final da cicatrização. Esse fato não é corroborado por Brito et al.<sup>9</sup> (1999), em cujo trabalho o óleo de copaíba apresentou um grau de inflamação estatisticamente maior com relação ao grupo soro fisiológico nesses períodos. Entretanto, a análise qualitativa apresentou resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, principalmente no período de sete dias, em que foi preponderante a presença de um tecido de granulação mais desenvolvido no grupo copaíba.

Essas divergências encontradas podem ser advindas de diferenças metodológicas. No estudo de Brito et al.<sup>9</sup> (1999), o diâmetro da ferida foi quatro vezes maior, induzindo maior trauma com conseqüente aumento do processo inflamatório. Acrescente-se a isso o fato de que a amostra utilizada neste estudo foi menor, limitando o número de repetições dos fenômenos avaliados.

Histologicamente, houve um padrão não linear quanto ao processo de reparação da ferida entre os grupos clorexidina e copaíba quando comparados entre si e ao grupo controle. A cicatrização no grupo clorexidina aos sete dias apresentou-se mais adiantada, concordando com os relatos de Tramontina et al.<sup>29</sup> (1997), que observaram, ainda, uma área de tecido de granulação significativamente menor em relação ao soro fisiológico.

Magro Filho et al.<sup>18</sup> (1998) observaram que a clorexidina foi um pouco mais irritante que o soro fisiológico, fator decorrente do álcool na sua composição, o que poderia precipitar e desidratar o citoplasma celular. No presente estudo, esse efeito negativo da clorexidina não foi observado provavelmente em virtude do veículo utilizado ser aquoso. Estudos *in vitro* demonstraram o efeito citotóxico da clorexidina reduzindo a produção de proteínas colágenas pelos fibroblastos e interferindo com sua proliferação<sup>19,22</sup>. Porém, a ação antimicrobiana pretere qualquer ação danosa dessa substância, uma vez que vários estudos clínicos demonstraram que a redução da contaminação bacteriana acelera o processo de cicatrização tecidual *in vivo*<sup>20,24,25,26</sup>.

Veiga Jr. et al.<sup>30</sup> (2001) verificaram que, dos óleos de copaíba disponíveis para comercialização no Brasil, os encontrados na região norte foram os que apresentaram os constituintes necessários em quantidade suficiente para exercerem suas ações antiinflamatórias e cicatrizantes, como os diterpenos. Apesar de não ter sido feita análise química de seus componentes ou detectada a presença de uma possível contaminação, pode-se sugerir que, pela sua procedência e pelos resultados histológicos encontrados e ausência de inflamação severa ou abscesso, o óleo-resina de copaíba utilizado no presente trabalho possivelmente continha essas substâncias.

Toda substância não-inócua aplicada topicamente causa irritação tecidual, que demanda uma resposta inflamatória em diferentes graus. Esse fato foi preponderante no dia 1, em que houve inflamação mais intensa no grupo fisiológico e moderada nos grupos tratados, porém sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Embora o fator principal do processo inflamatório nessa fase seja o trauma cirúrgico, os resultados encontrados permitem inferir que o soro fisiológico foi mais irritante em relação ao óleo de copaíba, apesar de este apresentar um potencial irritativo semelhante ao do soro fisiológico<sup>9</sup>. Talvez um dos fatores que possa explicar essa diferença seja o veículo oleoso da copaíba, o qual dificulta a difusão da substância ativa para os tecidos mais profundos.

Entretanto, aos sete dias havia um tecido de granulação mais exuberante no grupo copaíba, o qual poderia ser decorrente de um efeito cumulativo das aplicações diárias da droga, levando a um atraso no reparo do tecido conjuntivo<sup>9</sup>. Por outro lado, nesse mesmo período, esse possível potencial irritativo não interferiu com a fase proliferativa, o que foi

constatado pela epitelização completa da ferida, discordando dos relatos de Brito et al.<sup>8</sup> (1998), que observaram atraso na contração e na epitelização de feridas e o atribuíram à irritação local causada por algum componente do óleo.

A necessidade de duas aplicações diárias pode ser desnecessária, como visto por Paiva et al.<sup>21</sup> (2002), que constataram epitelização total de feridas cutâneas após uma aplicação tópica diária da droga. Este fato foi atribuído a uma contração tecidual significativamente maior no grupo copaíba (80%) em relação ao controle (40%) após um período de nove dias, o qual poderia ser decorrente de um aumento da atividade dos miofibroblastos pela ação de alguns componentes do óleo<sup>21</sup>.

O óleo de copaíba não apresenta fatores de crescimento capazes de estimular a proliferação celular, portanto seu efeito cicatrizante também pode ser indireto devido às suas propriedades antiinflamatórias, o que reduz a fase exsudativa que ocorre nos primeiros dias do processo de reparo<sup>31</sup>. Essa ação antiedematogênica foi constatada por Veiga Jr. et al.<sup>30</sup> (2001) e pode ser atribuída à inibição da permeabilidade vascular, apesar de seu exato mecanismo de ação ainda permanecer obscuro<sup>4</sup>.

O interesse no uso de fitoterápicos não objetiva substituir os fármacos já registrados e comercializados e sim proporcionar uma variedade de produtos com a mesma efetividade, porém de baixo custo, legitimando o empirismo da medicina popular<sup>10</sup>. Os resultados encontrados neste e em outros estudos<sup>14,21,23,30</sup> demonstraram a biocompatibilidade do óleo-resina de copaíba e a aceleração no processo de epitelização de feridas quando comparado aos elementos do grupo controle. Entretanto, o óleo-resina de copaíba retardou o processo de maturação do tecido conjuntivo, interferindo negativamente na cura total das feridas.

Os resultados divergentes encontrados na literatura analisando o papel da copaíba na cicatrização tecidual devem ser avaliados com cautela, em virtude de suas diversas espécies, procedência e diferentes formas de apresentação (óleo ou óleo-resina). Há necessidade de uma padronização e categorização desse produto, por meio de análises prévias, para que se identifique seu real valor terapêutico, evitando sua comercialização indiscriminada como substituto a terapias já consagradas.

## Conclusão

As feridas cutâneas tratadas com solução aquosa de digluconato de clorexidina a 0,12% apresentaram cicatrização mais rápida quando comparadas àquelas tratadas com soro fisiológico e óleo-resina de copaíba.

## Agradecimento

Os autores agradecem ao professor Juviano Brasil pelo fornecimento dos "punchs" e aos funcionários Francisco Oleandro Rodrigues de Lima, pelo cuidado e manejo com

os animais, e Elizabeth Rodrigues Lima, pelo processamento laboratorial das lâminas para microscopia.

## Referências

1. Addy M, Douglas WH. A chlorhexidine-containing methacrylic gel as a periodontal dressing. *J Periodontol*. 1975; 46: 465-8.
2. Albuquerque JM. Plantas medicinais de uso popular. ABEAS/MEC: Brasília; 1989.
3. Bandeira MFCL, Oliveira MRB, Pizzolitto AC, Benatti Neto C, Jorge Neto J. Estudo farmacológico preliminar de *Copaifera multijuga* (óleo de copaíba). *BCI*. 1998; 3 (16): 39-41.
4. Basile AC, Sertie JA, Freitas PC, Zanini AC. Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *Copaifera*. *J Ethnopharmacol*. 1988; 22: 101-9.
5. Beiswanger BB, Mallat ME, Jackson RD, Mau MS, Farah CF, Bosma ML, et al. Clinical effects of a 0.12% chlorhexidine rinse as an adjunct to scaling and root planing. *J Clin Dent*. 1992; 3 (2): 33-8.
6. Bosco AF, Pereira SLS, Lacerda Junior N, Milanezi LA. Análise clínica das áreas doadoras de enxerto gengival livre. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 1996; 50: 515-21.
7. Braga WF, Rezende CM, Antunes OAC, Pinto AC. Terpenoids from *Copaiba cearensis*. *Phytochemistry*. 1998; 49: 263-4.
8. Brito NMB, Simões MJ, Pessoa AF, Melo MCF. Efeitos do óleo de copaíba na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos. *Rev Para Med*. 1998; 12 (2): 28-32.
9. Brito NMB, Simões MJ, Gomes PO, Pessoa AF, Melo MCF. Aspectos microscópicos da cicatrização de feridas cutâneas abertas tratadas com óleo de copaíba em ratos. *Rev Para Med*. 1999; 13 (1): 12-6.
10. Cancelieri NM. Plantas medicinais: uma abordagem multidisciplinar. *UNESC em Revista*. 2003; 6 (14): 181-91.
11. Carvalho PER. Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Embrapa-CNPE. Brasília; 1994.
12. Clark RAF. Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations I. *J Am Acad Dermatol*. 1985; 13: 701-25.
13. Estrella E. Plantas medicinales amazônicas: realidades y perspectivas. Peru: TCA; 1995.
14. Fernandes RM, Pereira MA, Paulo LG. Anti-inflammatory activity of copaiba balsam. *Rev Bras Farm*. 1992; 73 (3): 53-6.
15. Hamp SE, Rosling B, Lindhe J. Effect of chlorhexidine on gingival wound healing in the dog. A histometric study. *J Clin Periodontol*. 1975; 2: 143-52.
16. Langebaek J, Bay L. The effect of chlorhexidine mouthrinse on healing after gingivectomy. *Scand J Dent Res*. 1976; 84: 224-8.
17. Lindhe J, Heyden G, Svanberg G, Loe H, Schiott CR. Effect of local applications of chlorhexidine on the oral mucosa of the hamster. *J Periodontol Res*. 1970; 5: 177-82.
18. Magro Filho O, Okamoto T, Garcia Junior IR, Aranega A, Dezan Junior E. Biocompatibilidade das soluções de iodo polivinilpirrolidona (PVP-I) e de clorexidina. Estudo histológico em ratos. *BCI*. 1998; 5 (3): 9-16.
19. Mariotti AJ, Rumpf DA. Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. *J Periodontol*. 1999; 70: 1443-8.
20. Newman MG, Sanz M, Nachnani S, Saltin IC, Anderson L. Effect of 0.12% chlorhexidine on bacterial recolonization following periodontal surgery. *J Periodontol*. 1989; 60: 577-81.
21. Paiva LAF, Alencar Cunha KM, Santos FA, Gramosa NV, Silveira ER, Rao VS. Investigation on the wound healing activity of oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. *Phytother Res*. 2002; (16): 737-9.
22. Pucher JJ, Daniel JC. The effects of chlorhexidine digluconate on human fibroblasts in vitro. *J Periodontol*. 1992; 63: 526-32.
23. Röla G, Melsen B. On the mechanism of plaque inhibition by chlorhexidine in man. *J Dent*. 1975; 54 (special issue): 55-7.
24. Sanchez IR, Swaim SF, Nusbaum KE, Hale AS, Henderson RA, McGuire JA. Effects of chlorhexidine diacetate and povidone-iodine only wound healing in dogs. *Vet Surg*. 1988; 17: 291-5.
25. Sanz M, Newman MG, Anderson L, Matoska W, Otomo Corgel J, Saltini C. Clinical enhancement of post-periodontal surgical therapy by a 0.12% chlorhexidine gluconate mouthrinse. *J Periodontol*. 1989; 60: 570-6.
26. Shahan NH, Chuang AH, Brennan WA, Dirksen TR, Van Dyke TE, McPherson JC. The effect of chlorhexidine irrigation on tensile wound strength. *J Periodontol*. 1993; 64: 719-22.
27. Shanley P, Cymerys M, Galvão J. Frutíferas da mata na vida amazônica. Belém; 1998.
28. Souza-Júnior OG, Damous SHB, Lamarão LG. Revisão crítica do uso médico do óleo de copaíba. *Rev Para Med*. 2000; 14 (1): 71-5.
29. Tramontina VA, Nogueira Filho GR, Pereira SLS, Milczewski MS, Nociti Jr, FH, Sallum EA. Avaliação do efeito de uma solução de clorexidina a 0,12% e de uma solução de triclosan a 0,03% no processo de reparação de feridas em dorso de ratos. *Rev Periodontia*. 1997; 6 (2): 59-63.
30. Veiga Jr. V. Phytochemical and antioedematogenic studies of commercial copaiba oils available in Brazil. *Phytother Res*. 2001; 15: 476-80.
31. Villa LMR., Milanezi LA, Melhado RM, Garcia VG. Avaliação do processo de cicatrização de feridas cirúrgicas submetidas à ação de diferentes medicamentos: estudo histológico em ratos. *Rev Odontol Araçatuba*. 2003; 24: 45-53.