

EVALUATION OF THE EFFICACY OF CALENDULA OFFICINALIS TINCTURE IN SURGICAL WOUND CARE TREATMENT: A FACTORIAL MONOCENTRIC RANDOMIZED PHASE III SINGLE-BLIND CLINICAL STUDY

VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DI CALENDULA OFFICINALIS (TINTURA MADRE) NEL TRATTAMENTO DELLE FERITE POST-CHIRURGICHE: STUDIO CLINICO FATTORIALE MONOCENTRICO RANDOMIZZATO DI FASE III, IN SINGOLO-CIECO

Edoardo Raposio^a, Iliaria Balzelli^a, Luca Boni^b, Alessandro Caielli^a, Eleonora Canini^a, Claudia Porzio^a, Fiammetta Ugolini^a, PierLuigi Santi^a

^a U.O. di Chirurgia Plastica, DICMI, Università degli Studi di Genova.

^b CBA, Centro Biotecnologie Avanzate, IST, Genova.

Correspondence: alessandro.caielli@yahoo.it

CAPSULA EBURNEA, 2(19):1-4, 2007.

Received: 15th November 2007, Accepted: 28th November 2007.

Abstract. The aim of this study was to compare wound care treatment with Iodine solution against tincture made of a natural plant, *Calendula officinalis*. This plant is famous for the anti-flogistic and anti-bacterial action.

We have selected 28 patients, randomized in two arms of treatment: arm-A (medication with Betadine®); arm B (medication with *Calendula officinalis*).

We have measured wound areas at the 3rd and 15th day of medications by a digital photo system and the software Adobe Photoshop.

To evaluate the flogistic parameters, we have used the same software, considering different colour parameters.

Statistic analyses have shown a significant decrease of both areas and flogistic parameters in both arms of treatment

In conclusion, the *Calendula officinalis* has shown re-epithelizing anti-flogistic effects, without damage or obstacle of the healing process.

KEYWORDS

Calendula, wound healing, re-epithelization.

Introduzione

Il seguente studio ha avuto come scopo la valutazione comparativa del trattamento di ferite post-chirurgiche con un disinfettante a base di Iodio (BETADINE®, Purdue Pharma L.P., Stamford, Connecticut) associato o meno ad una sostanza fitoterapica, la *Calendula officinalis*. Quest'erba officinale

Abstract. Lo scopo di questo lavoro era valutare l'efficacia di *Calendula officinalis* nel trattamento delle ferite post-chirurgiche, in confronto a soluzione di Iodopovidone (Betadine®), al fine di ottenere un miglioramento nel processo di guarigione delle ferite. Abbiamo selezionato 28 pazienti suddivisi, a random, in due bracci di trattamento disinfettante: braccio A (medicazione con Betadine®); braccio B (medicazione con *Calendula officinalis*). La misurazione della ferita è stata effettuata con ausilio del programma Adobe Photoshop. Sempre con lo stesso metodo, abbiamo estrapolato, dall'area della ferita e dall'area contigua di cute sana, il valore medio di pigmento, cioè il grado dei parametri di colore nell'immagine selezionata, derivandone una media tra giorno 3 ed il giorno 15. L'analisi statistica dei valori delle aree e dei parametri colore medi ha confermato significativamente che il trattamento delle ferite è stato efficace in entrambi i nostri bracci di studio. In conclusione, la sostanza fitoterapica è efficace inducendo la guarigione e non determinandone effetti ostacolanti.

PAROLE CHIAVE

Calendula Officinalis, trattamento delle ferite, riepitelizzazione.

è conosciuta sin dall'antichità per le sue proprietà antiflogistiche, antibatteriche e riepitelizzanti; scientificamente il tutto è confermato da studi, tra cui il più significativo quello di Lavagna et al (1).

L'obiettivo principale del presente studio è stato valutare l'efficacia dell'applicazione di *Calendula Officinalis* (C.O.) per via topica,

al fine di ottenere un miglioramento in termini di velocità di cicatrizzazione e di diminuzione dell'area delle ferite cutanee. Obiettivo secondario è stato verificare se il composto fitoterapico in studio fosse in grado di ridurre l'incidenza di infezioni locali e la risposta infiammatoria locale post-chirurgica.

In particolare, la C.O. è una pianta comune della Famiglia delle Asteraceae; è tipica delle zone del Mediterraneo, riconoscibile per il luminoso color giallo-arancio dei suoi fiori simili a quelli della margherita. Composizione chimica: principalmente saponine (glucosidi), polisaccaridi, tannini, flavonoidi, calendulosidi, faradiolo e taraxasterolo (2). Le attività farmaco-biologiche della C.O. sono principalmente anti-infiammatorie, immunomodulatorie, antibatteriche, antifungine, antivirali ed antiparassitarie (tricomonoavidali) (3-5). Se ne fa un uso esterno come lozione eudermica e lenitiva in caso di ustioni di I grado, disepitelizzazioni, esantemi. Tra gli effetti collaterali locali sono state riportate rare reazioni da ipersensibilità, mentre tra quelli sistemici sono descritti emolisi (rara), causata probabilmente dal legame dei saponosidi con strutture della membrana dei globuli rossi. Le interazioni più importanti avvengono coi barbiturici (gli estratti idroalcolici aumentano il tempo di sonnolenza).

Materiali e metodi

Le moderne preparazioni fitoterapiche sono ottenute a partire da una base vegetale, fresca od essiccata, tramite estrazioni con solventi e metodiche dedicate; la sostanza utilizzata nel nostro studio aveva come solvente l'etanolo in precise percentuali (rapporto estratto calendula secco/etanolo di 1:20): si parla perciò di estratti idroalcolici o di tinture madri. Le tinture madri possono essere preparate principalmente secondo le indicazioni della Farmacopea Omeopatica Francese (CODEX) e della Farmacopea Omeopatica Tedesca (HAB). Le tinture madri in uso nel nostro studio (Dynamis, CEMON s.r.l. - Napoli), seguono la Farmacopea Tedesca HAB, che permette una diminuzione sensibile della posologia. Popolazione in studio: l'arruolamento è avvenuto in un periodo compreso tra il 30 giugno e il 21 novembre 2006. Il numero dei pazienti inseriti nello studio è stato 28 (12 maschi e 16 femmine), di età compresa tra i 18 ed i 74 anni (Tab. 1). Tutti sono

stati sottoposti, all'interno della nostra unità ospedaliera, ad exeresi chirurgica di piccole neoformazioni pigmentate in diverse regioni corporee. Per le successive medicazioni li abbiamo suddivisi, secondo randomizzazione computerizzata (con rapporto di assegnazione pari a 1:1) in due bracci di trattamento:

- Braccio A: la ferita è stata sottoposta a medicazione post-chirurgica con Betadine® (nei giorni 0, 3, 7, 10)

- Braccio B: la ferita è stata sottoposta a medicazione post-chirurgica con Betadine® al giorno 0. Nei giorni 3, 7 e 10 è stata applicata sulla ferita una garza, rimasta in sede fino a successiva medicazione grazie ad un bendaggio occlusivo, imbevuta di una soluzione di C.O.

L'applicazione del Betadine® e delle tinture di C.O. sono state eseguite in un regime di asepsi, versando i disinfettanti su una garza sterile, a piatto, in una quantità di 4 ml. Tale garza è stata poi tamponata sulla ferita chirurgica.

La misurazione della ferita è stata effettuata mediante metodo digitale con ausilio del programma Adobe Photoshop CS2. Questo programma ha consentito di misurare, a partire da un'immagine digitale, la superficie corporea interessata dividendo l'immagine in pixel. Il rapporto di queste misurazioni con altre effettuate nella stessa immagine di una superficie affiancata da un riferimento millimetrato, ci ha permesso di ottenere il valore in millimetri quadrati dell'area.

Sempre con ausilio del software descritto abbiamo estrapolato dall'area della ferita e dall'area contigua di cute sana di riferimento il valore medio di pigmento, cioè il grado nell'immagine selezionata dei parametri colore, derivando una media tra giorno 3 e il giorno 15. Tramite l'analisi di questa media abbiamo derivato le considerazioni per quanto riguarda il grado della ri-

Tabella 1: Età e sesso alla randomizzazione per gruppo di studio assegnato.

Gruppo	Betadine (N=14)	C. O. (N=14)
Età (anni)		
media	41.29	43.29
mediana	42.5	42.5
range	19-66	18-74
Sesso (M/F)	(6/8)	(6/8)

sposta infiammatoria locale post-traumatica, essendo il valore assoluto della media direttamente proporzionale alla differenza cromatica tra cute interessata e cute illesa adiacente. Tutte le misurazioni necessarie nel corso dello studio sono state effettuate da un singolo valutatore, il quale non era a conoscenza del trattamento somministrato ai singoli pazienti.

Durante la procedura di randomizzazione è stato utilizzato come fattore di stratificazione la presenza di diabete, inteso come soggetto affetto da diabete mellito di tipo I o II secondo gli attuali criteri OMS.

Ai fini del calcolo della dimensione del campione e della potenza dello studio, per entrambi i confronti principali sono state definite le stesse ipotesi nulla ed alternativa.

Per un test F dell'effetto del trattamento, nell'ambito di un modello lineare generalizzato ad effetti fissi, con distribuzione normale dell'errore, aggiustando per il valore della superficie della ferita misurato al giorno 3 dall'intervento chirurgico, prima dell'inizio del trattamento, assumendo che la media della superficie della ferita nel gruppo di controllo al giorno 15 dall'intervento chirurgico fosse pari a 12.66 cm² con una deviazione standard uguale a 2.5 cm² (aggiustata a 2.29 cm² per un coefficiente di correlazione stimato fra la covariata e la variabile di risposta uguale a 0.40) è stato necessario inserire in studio 7 pazienti per braccio (totale 28 pazienti) per ottenere una potenza di almeno il 90% (valore esatto uguale a 91.6%), utilizzando un livello di significatività pari al 5% a due

code, nei confronti di un valore medio della superficie della ferita nel gruppo sperimentale al giorno 15 pari a 8.16 o inferiore.

Al fine di garantire un'adeguata potenza al test per l'interazione tra i due fattori sperimentali, il numero di pazienti per braccio è stato aumentato a 14 (totale 56 pazienti). L'analisi della significatività statistica è stata effettuata con test di Wilcoxon.

Risultati

Attraverso l'analisi statistica dei risultati abbiamo derivato i valori sia di diminuzione media delle aree della ferita al giorno 15, sia della variazione assoluta dei parametri colore per trattamento assegnato. In centimetri quadri la diminuzione dell'area è stata per il Braccio A (Betadine®) da 0,55 a 0,30 e per il Braccio B (Calendula officinalis) da 0,80 a 0,45 cm² (Tab. 2).

Per quanto riguarda le variazioni assolute di pigmento al fine di valutare la risposta infiammatoria locale post-chirurgica i valori sono stati i seguenti:

- braccio A: diminuzione da 22,48 a 14,88;
- braccio B: diminuzione da 31,29 a 29,90 (Tab. 3). Questi valori vanno interpretati tenendo conto come sia direttamente proporzionale al giorno 3 e al giorno 15 la differenza di colore tra cute in cui è avvenuto il processo di guarigione e cute illesa adiacente.

Entrambi i valori medi sono stati confermati con alta significatività dal test di Wilcoxon ($p < 0,0001$ e $p < 0,0231$).

Discussione e conclusioni

L'analisi dei risultati ci ha permesso di

confermare l'attività antinfiammatoria e ripitelizzante di questa pianta officinale. In particolare, analizzando i valori medi di diminuzione delle aree possiamo affermare che il trattamento con C.O. è stato quello che ha condotto in generale ad un miglior processo di guarigione delle ferite. In termini percentuali, infatti, la

Tabella 2: Risultati relativi all'area della ferita per braccio di trattamento.

Risultati	Betadine (N=14)	Calendula (N=14)
Area ferita al giorno 3 (cm ²)		
media (DS)	0.55 (0.30)	0.80 (0.24)
mediana	0.48	0.78
range (min/max)	0.17/1.21	0.43/1.21
Area ferita al giorno 15 (cm ²)		
media (DS)	0.30 (0.16)	0.45 (0.21)
mediana	0.27	0.44
range (min/max)	0.09/0.68	0.07/0.92
Variazione percentuale dell'area della ferita		
media (DS)	-42.06 (19.30)	-44.73 (20.12)
mediana	-44.82	-45.55
range(min/max)	-79.07/-12.00	-87.93/-13.46

Caratteristica	Betadine N=14	Calendula N=14
Parametro RGB al giorno 3		
media (DS)	22.48 (13.95)	31.29 (16.16)
mediana	22.84	28.50
range(min/max)	0.00 /41.67	4.00/58.00
Parametro RGB al giorno 15		
media (DS)	14.88 (8.34)	29.90 (22.52)
mediana	12.17	24.67
range(min/max)	5.00 /28.67	5.33/87.00
Variazione assoluta del parametro RGB		
media (DS)	-7.60 (16.78)	-1.38 (20.40)
mediana	-9.17	-5.50
range(min/max)	-34.33/20.34	-24.67/31.67

Tabella 3: Risultati relativi al parametro colore per braccio di tratta-

diminuzione dal giorno 3 al giorno 15 è stata nel Braccio di trattamento con C.O. del 44,73% e nel trattamento a base di Betadine® del 42,06%. Per quanto riguarda l'attività antinfiammatoria ed antibatterica locale della sostanza fitoterapica valutata con i parametri colore-medi, la variazione assoluta dal giorno 3 al giorno 15 è stata nel Braccio di trattamento con C.O. di 1,38 e nel trattamento con Betadine® di 7,60. Alla fine del nostro periodo di osservazione di ciascun paziente, le differenze cromatiche della regione della ferita e della cute sana di riferimento si sono dimostrate minime in entrambi i nostri bracci di trattamento, fino ad essere quasi uguali nel trattamento con C.O. (v. -1,38). Nessun paziente ha sviluppato infezioni locali nel periodo post-operatorio considerato. In conclusione, le sostanze utilizzate nel nostro studio hanno portato ad una diminuzione delle aree in oggetto e dell'infiammazione locale post-chirurgica attorno alla ferita; la sostanza fitoterapica analizzata (C.O) si è dimostrata utile nel favorire il processo di guarigione e non determina effetti avversi od ostacolanti.

Bibliografia

1. Lavagna SM, Secci D, Chimenti P, Monsignore L, Ottaviani A, Bizzarri B. Efficacy of Hypericum and Calendula oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section. *IL FARMACO* 2001; 56: 451-453.
2. Della Loggia R, Tubaro S, Sosa A, Becker H, Saar S, Isaa O. The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of calendula officinalis flowers. *Planta Medica* 1994; 60, 516-520.
3. Lievre M, Manchy J, Baux S, Foyatier JL, Perrot J, Boisse JP. Controlled study of three ointments for the local management of 2nd and 3rd degree burns. *Clinical Trials and Meta Analysis* 1992; 28: 9-12.
4. Peyrox J, Rossignol P, Delavean P. Oedemateuses et anti-hyeerhé miantes du Calendula officinalis L., *Plantes Medicinales et Phytotherapie* 1981; 15: 210-216.
5. Perri de Carvalho PS, Tagliavini DG, Tagliavini RL. Cutaneous cicatrization after topic application of calendulas cream and comfrey, propolis and honey association in infected wound of skin, *Revista Ciencia Biomedica (San Paulo)* 1991; 12: 39-50.