

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA APLICAÇÃO DA MEMBRANA DE LÁTEX
NATURAL E DO EXTRATO DA PELE DE RÃ (*Lithobates
catesbiana*) (SHAW, 1802), EM FERIDAS CIRÚRGICAS EM
RATOS WISTAR**

Flávia Neme Borsari

Médica Veterinária

JABOTICABAL - SÃO PAULO – BRASIL
Julho de 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA APLICAÇÃO DA MEMBRANA DE LÁTEX
NATURAL E DO EXTRATO DA PELE DE RÃ (*Lithobates
catesbiana*) (SHAW, 1802), EM FERIDAS CIRÚRGICAS EM
RATOS WISTAR**

Flávia Neme Borsari

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Rita Fernandes Machado

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de mestre em Cirurgia Veterinária

JABOTICABAL - SÃO PAULO – BRASIL
Julho de 2008

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

FLÁVIA NEME BORSARI – nasceu na cidade de Jaboticabal, em 01 de março de 1980. Em março de 2001, iniciou o curso de graduação em Medicina Veterinária, pela Fundação de Ensino Octávio Bastos, UNIFEOB, São João da Boa Vista – SP, que foi concluído em dezembro de 2005. Foi bolsista de Iniciação Científica pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, no período de julho de 2002 a julho de 2003. Em março de 2006, ingressou no curso de Mestrado, no Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária, pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, UNESP; neste período, foi concedida cota de Bolsa de Mestrado com duração de 24 meses, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP. Em 25 de julho de 2008 obteve o título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

CARTA AO SER HUMANO

“Fui criado pelo mesmo Deus que criou você.

Sinto frio, fome, sede, medo, dor, assim como você.

Por favor, não me use para se divertir, não me exponha ao ridículo, não me humilhe, não me maltrate e nem abuse de mim. Só o que quero é sua amizade e carinho.

Não peço que goste de mim, mas somente que me respeite.

Olhe nos meus olhos e depois olhe nos seus e verá como somos parecidos. No meu olhar você pode ver doçura, alegria, tristeza, desespero, amor ou sofrimento, e isso eu também posso ver no seu olhar!

Por capricho do nosso criador, não posso falar e nem me defender da brutalidade e crueldade dos seus semelhantes, mas se eu pudesse falar agora, diria a todos que eu também mereço viver e sou digno de respeito, assim como você”

Com carinho, Um animal.

(Autora: Martha Marganha)

Aos meus pais Silvio e Cecília que me deram à vida me ensinando a vivê-la com dignidade. A vocês, que não mediram esforços para que eu conseguisse chegar até aqui. Que muitas vezes renunciaram aos seus sonhos, para que, eu pudesse realizar o meu. Vocês são a minha vida, meu espelho, meu orgulho. Obrigada por proporcionarem o melhor de vocês para mim. Meu amor e reconhecimento eterno. Amo vocês!

Dedico

Ao meu irmão Hugo que sempre torceu por mim, não importando qual fosse a minha escolha; você é o laço mais valioso que tenho com o meu passado. Te amo muito. Ao meu namorado Neto, meu grande amor e amigo, por estar sempre ao meu lado, torcendo pelo meu sucesso. Você passou comigo nesses anos coisas que jamais esquecerei. Amo muito você.

Ofereço

Agradecimentos especiais

A minha eterna mestre e amiga Profa. Dra. Márcia Rita Fernandes Machado, por estar sempre ao meu lado, indicando a decisão certa a ser tomada nos momentos de maior dificuldade. Obrigada pela confiança em mim depositada, por me ensinar tudo o que aprendi no mestrado e principalmente por me ensinar o significado das palavras humanidade e profissionalismo. Nunca esquecerei o que fez por mim. Serei sempre grata a você. Te adoro muito!!!

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Daleck, o qual tenho uma grande admiração, por ter ajudado na correção da minha qualificação e na redação final desse trabalho. Sua contribuição foi muito importante. Obrigada!

A Profa. Dra. Flávia Thomaz Verechia Pereira, pela amizade e incentivo e por ter acrescentado muito na composição final do meu trabalho. Obrigada por tudo!

A Profa. Dra. Maria Rita Pacheco pelo apoio, pela imensa ajuda no entendimento da histologia e por ter auxiliado de forma relevante na minha qualificação. Obrigada!

Agradecimentos

A Deus por guiar, iluminar e proteger a minha vida.

Ao meu avô Abdo (in memorian) “aonde quer que eu vá...levo você no olhar”; obrigada por me acompanhar aonde quer que esteja. A minha avó Terezinha...minha linda, que sempre reza por mim. Te amo!

Aos meus avós Silvio e Ondina (in memorian) que olham sempre por mim. Gostaria de ter tido mais tempo com vocês.

Aos meus tios e primos que são o meu apoio. Cé, Cris e tia Val, vocês foram especiais nessa minha trajetória. Obrigada por tudo.

A minha sempre amiga e cunhada Fernanda De Simoni Borsari, pela companhia, anos e histórias maravilhosas que temos juntas e também por fazer parte da minha família.

Aos meus “sogros” Ico e Lisa por terem me acolhido como filha em suas vidas. Vocês são muito importantes para mim.

Aos meus “cunhados” queridos André e Lucca pela convivência e torcida.

As minhas amigas-irmãs Fabiana, Guta, Milena, Nanda, Marita e Marina por fazerem parte dos melhores e piores momentos da minha vida. Obrigada por participarem da minha história.

As minhas tias de coração: Cláudia, Rose, Cândida, Sônia e Alessandra pelo carinho e força a mim dispensados. Vocês fazem parte da minha família.

A minha amiga Carla, pelas longas horas de conversa. Adoro muito você e sua família!!!

As minhas mais novas e importantes amigas Renata, Carol, Juliana, Gege e Sabrina por ingressarem na minha vida fazendo com que cada dia tenhamos novas histórias juntas.

A Médica Veterinária Carla Marconato que sempre me acolheu em sua clínica me auxiliando no entendimento dos casos clínicos e cirúrgicos. Muito obrigada pela sua amizade.

Ao Prof. Dr Joaquim Coutinho Neto pela imensurável ajuda no planejamento do meu trabalho e nas dúvidas que apareceram no decorrer do mesmo e também por ter cedido a Biomembrana de Látex. Meus eternos agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Edanir dos Santos pelas ótimas conversas, conselhos e por ter cedido material para a realização desse trabalho.

Ao meu braço "direito" e "esquerdo" Henrique que passou comigo as fases mais difíceis dessa trajetória estando sempre pronto a me ajudar. Você faz parte desse trabalho. Obrigada!!!

Aos meus amigos de departamento Leandro, Ana Carolina e Mônica que tanto me ajudaram nas longas horas de cirurgias. Obrigada!!!

A minha amiga do departamento Luciana pela preocupação, amizade e grande ajuda nas fotomicrografias desse trabalho e por ter me auxiliado nos procedimentos laboratoriais. Muito obrigada Lu!!!

Aos orientados da Profa. Márcia: Leonardo, Alessandra, Denise, Tatiana, Sérgio, Leninha e Zé Geraldo pela amizade.

Ao meu amigo André, pelo apoio na decisão do melhor anestésico a ser utilizado nas cirurgias e pela disponibilidade de me ajudar sempre.

Ao meu grande amigo "Clidão" que esteve sempre disposto a me ajudar nas cirurgias, nas coletas, me apoiando, me escutando, me aconselhando e me

ensinando tudo o que fosse necessário para o aprimoramento da minha pesquisa. Obrigada!

Ao Sr. Orandir, que tanto me ajudou e apoiou nas coletas passando para mim os seus valiosos ensinamentos laboratoriais. Obrigada!

A Damaris, pela ajuda na requisição dos animais e na instalação dos mesmos. Adoro você!

Ao Prof. Dr. João Pissauro por ter cedido seu Biotério quando mais precisei. Muito obrigada!!!

Aos funcionários Iara, D. Marilda, Cobrinha, Bel e Fátima por me ajudarem sempre quando necessário.

Aos meus amigos funcionários Fátima, Marcos, Marilda, Cícero e Vera, que estão comigo há anos e a mais "nova" integrante, Gilda; obrigada por estarem sempre ao meu lado, torcendo e rezando por mim.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de bolsa de mestrado e de auxílio à pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, UNESP.

Aos meus amados cachorros Belle (in memorian)...quanta saudade, Luma, Athos e Meggy. Vocês são meus anjos, minha alegria diária, meu entusiasmo, minha força. Com vocês aprendo o significado da palavra lealdade. Vocês são meus bebês eternos!!!

Aos meus queridos ratinhos que tanto contribuíram para o enriquecimento dessa pesquisa e para a obtenção do meu título de mestre, mesmo sem terem tido a oportunidade de escolhas. Obrigada e me perdoem!!!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	ii
LISTA DE ESQUEMA.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	xi
SUMMARY.....	xii
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Reparação Tecidual.....	3
2.2 Considerações Gerais Sobre Membranas Biológicas.....	5
2.3 Considerações Referentes à Pele de Rã e sua Utilização no Tratamento Alternativo de Feridas.....	10
2.4 Emprego da Estereologia.....	12
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Animais.....	15
3.2. Considerações éticas.....	16
3.3 Aquisição da Membrana de Látex Natural e do Extrato da Pele de Rã.....	16
3.4 Procedimento Experimental.....	17
IV. RESULTADOS.....	26
4.1 Parâmetros Observados no Período Pós-Operatório.....	26
4.2 Avaliação Macroscópica da Região da Ferida Cirúrgica.....	27
4.3 Avaliação Microscópica da Região da Ferida Cirúrgica.....	31
4.4 Avaliação Estereológica e Estatística.....	53
V. DISCUSSÃO.....	66
VI. CONCLUSÃO.....	70
VII. REFERÊNCIAS.....	71

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Imagem fotográfica, ilustrando a seqüência da ferida cirúrgica na região dorsal de ratos (Wistar). Observar em A a demarcação da lesão, em B e C a realização da incisão e em D a lesão.....	17
Figura 2.	Imagem fotográfica, ilustrando a seqüência do emprego da membrana de látex na região dorsal de ratos (Wistar). Observar em A a delimitação da incisão na pele do dorso (circundada), em B o rebatimento do segmento de pele a ser retirado (seta), em C a lesão circundada e em D a ferida recoberta com membrana de látex; observar os pontos de sutura (setas).....	18
Figura 3.	Imagem fotográfica, ilustrando a seqüência do uso do extrato de óleo de rã na região dorsal de ratos (Wistar). Observar em A e B a seqüência da realização da lesão, em C aplicação do óleo de rã e em D o aspecto final da lesão.....	19
Figura 4.	Imagem fotográfica, ilustrando a seqüência do uso do extrato de óleo de rã e emprego de membrana de látex na região dorsal de ratos (Wistar). Observar em A a demarcação da lesão, em B a lesão, em C a aplicação do óleo de rã e em D a colocação da membrana em ratos Wistar, machos.....	20
Figura 5.	Imagem fotográfica das feridas cirúrgicas no dorso de ratos Wistar no 3º dia pós-cirúrgico. A) controle; B) membrana; C) óleo e D) membrana + óleo; observar hiperemia em todas as lesões; início da presença de crostas em A (seta); presença de exudato amarelado em C e D (seta vasada).....	27
Figura 6.	Imagem fotográfica das feridas cirúrgicas no dorso de ratos Wistar no 5º dia pós cirúrgico. A) controle; B) membrana; C) óleo e D) membrana + óleo; observar as margens das lesões retraídas, em todos os grupos; crostas que cobrem toda a lesão do grupo controle (C); tecido de granulação nas margens da ferida do grupo membrana (G); algumas crostas e aspecto hiperêmico com tecido de granulação no grupo óleo (O) e tecido de granulação intenso no grupo membrana + óleo (I).....	28
Figura 7.	Imagem fotográfica das feridas cirúrgicas no dorso de ratos Wistar no 7º dia pós cirúrgico. A) controle; B) membrana; C) óleo e D) membrana + óleo; observar a regressão das margens das lesões de todos os grupos; presença de granulação vermelho brilhante e crostas espessas, principalmente nos grupos controle (A), membrana (B) e óleo (C).....	29

Figura 8	Imagem fotográfica das feridas cirúrgicas no dorso de ratos Wistar no 14º dia pós-cirúrgico. A) controle; B) membrana; C) óleo e D) membrana + óleo; observar a expressiva retração das margens das lesões.....	30
Figura 9.	Imagem fotográfica das feridas cirúrgicas no dorso de ratos Wistar no 21º dia pós cirúrgico. A) controle; B) membrana; C) óleo e D) membrana + óleo; observar a epitelização, praticamente completa nos animais dos grupos controle (A) e membrana (B).	31
Figura 10.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 3º dia após o procedimento. Observa-se neovasos (V), infiltrado inflamatório – neutrófilos (seta); macrófago (círculo) e fibroblasto (seta vasada) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	32
Figura 11.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 5º dia após o procedimento. Observa-se grande quantidade de neovasos (V) e fibroblasto (seta vasada) (Paraplast, Tricrômio de Masson, 20X).....	33
Figura 12.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 5º dia após o procedimento. Observam-se intensa neovascularização (V), com expressiva presença de fibroblastos (seta vasada), alguns macrófagos (círculo), linfócitos (quadrado) e neutrófilos (seta) (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X).....	33
Figura 13.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Evidenciou-se neovasos (V), fibrócitos (seta grossa); além de adipócitos (A) (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X).....	34
Figura 14.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Evidenciou-se neovasos (V), fibroblastos (seta vasada) e linfócitos (quadrado) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	35
Figura 15.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 14º dia após o procedimento. Verificou-se ocorrência normal de vasos (V), fibras colágenas (Fc), fibrócitos (seta grossa), além de células normais do tecido conjuntivo (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X).....	36

- Figura 16.** Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 14º dia após o procedimento. Verificou-se ocorrência de vasos (v), fibras colágenas (Fc), fibrócitos (seta grossa) e mastócito (MS) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X)..... 36
- Figura 17.** Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Epiderme regenerada (E), derme reticular (DR), derme papilar (DP) folículo piloso (F), glândula sebácea (GS) e hipoderme (H) (Paraplast, Tricrômio de Masson, 5X)..... 37
- Figura 18.** Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Epiderme regenerada (E), crista epidérmica (estrela), derme papilar (DP), derme reticular (DR), fibras colágenas (Fc), fibroblasto (seta vasada), fibrócito (seta grossa) e linfócito (quadrado) (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X)..... 38
- Figura 19.** Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 3º dia após o procedimento. Ausência de epiderme (seta vasada), fibras colágenas (Fc), neutrófilos (seta), macrófagos (círculo). (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X)..... 39
- Figura 20.** Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 5º dia após o procedimento. Fibroblasto (seta vasada), fibrócito (seta grossa), macrófago (círculo), linfócito (quadrado) (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X)..... 40
- Figura 21.** Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Observa-se presença de linfócito (quadrado), desorganização epitelial com presença de grande quantidade de células inflamatórias (traço) e eosinófilo (seta curvada) (Historesina, Tricrômio de Masson, 40X)..... 41
- Figura 22.** Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Presença de célula gigante binucleada (Bi), célula gigante multinucleada (Mu), macrófago (círculo) e fibroblasto (seta vasada) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X)..... 41
- Figura 23.** Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados ao 14º dia após o procedimento. Observa-se a presença de fibras colágenas (Fc), fibrócito (seta grossa), macrófago (círculo), linfócito (quadrado) e células de ocorrência normal no tecido conjuntivo. (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X)..... 42
- Figura 24.** Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão

	cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Nota-se ausência de regeneração epidérmica (seta), epiderme (E) com aspecto histológico normal, pela presença de fibras colágenas (Fc), derme (D), núcleos de células do tecido conjuntivo (elipse), folículo piloso (F), além de vasos (V). (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 20X).....	43
Figura 25.	Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Observa-se presença de linfócito (quadrado), macrófago (círculo), vaso (V), fibroblasto (seta vasada) e fibrócito (seta grossa) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	43
Figura 26.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 3º dia após o procedimento. Observa-se grande quantidade de macrófagos (círculo), mastócito (MS) e linfócito (quadrado) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	44
Figura 27.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 5º dia após o procedimento. Observa-se presença de neovasos (V), macrófago (círculo), mastócitos (MS) e fibroblastos (seta vasada) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	45
Figura 28.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Observa-se presença de fibroblastos (seta vasada), neutrófilo (seta), vasos (V) e eosinófilo (seta curvada) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	46
Figura 29.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Observa-se presença de macrófago (círculo), plasmócito (pentágono) e adipócito (A) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 100X).....	46
Figura 30.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 14º dia após o procedimento. Observa-se presença epiderme em reorganização (traço) e fibras colágenas (Fc) (Historesina, Tricrômio de Masson, 40X).	47
Figura 31.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Observa-se epiderme reconstituída (E) com presença de extrato córneo (seta), fibras colágenas organizadas (Fc) e folículo piloso (F) (Historesina, Tricrômio de Masson, 40X).....	48
Figura 32.	Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Observa-se grande quantidade de linfócitos (quadrado) e de fibrócitos (seta grossa), fibras	48

	colágenas (Fc) e grande quantidade de vasos (V) (Histoiresina, Tricrômio de Masson, 40X).....	
Figura 33.	Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 3º dia após o procedimento. Observa-se presença de eosinófilo (seta curvada), neutrófilo (seta), linfócito (quadrado) e vasos (V) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	49
Figura 34.	Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 5º dia após o procedimento. Observa-se presença de fibroblastos (seta vasada), fibrócitos (seta grossa), fibras colágenas (Fc), vasos (V) e macrófago (círculo) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	50
Figura 35.	Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Observam-se infiltração de células inflamatórias principalmente neutrófilos (traço), neutrófilo (seta) e vasos (V) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	50
Figura 36.	Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 14º dia após o procedimento. Observa-se macrófago (círculo), vasos (V), fibroblasto (seta vasada), eosinófilo (seta curvada), linfócito (quadrado) e neutrófilo (seta) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	51
Figura 37.	Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Observa-se epiderme em reorganização (traço) macrófago (círculo) e fibras colágenas (Fc) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).....	52
Figura 38.	Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Observa-se macrófago (círculo), mastócito (MS), fibrócito (seta grossa), fibroblasto (seta vasada) e fibras colágenas (Fc) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 100X).....	52
Figura 39.	Gráfico representativo dos valores médios da densidade numérica (Nv) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, dos grupos Controle (GC), Membrana (GM), Óleo (GO) e Membrana e Óleo (GMO).....	55
Figura 40.	Gráfico representativo dos valores médios da densidade de volume (Vv) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, dos grupos Controle (GC), Membrana (GM), Óleo (GO) e Membrana e Óleo (GMO).....	58
Figura 41.	Gráfico representativo dos valores médios do volume celular médio (Vol.) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, dos grupos Controle (GC), Membrana (GM), Óleo (GO) e Membrana e Óleo (GMO).....	61
Figura 42.	Gráfico representativo dos valores médios do número total de partículas (N) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, dos grupos Controle (GC), Membrana (GM), Óleo (GO) e Membrana e Óleo (GMO).....	64

LISTA DE ESQUEMA

	Página
Esquema 1. Desenho esquemático onde se observa a região da lesão dos ratos analisados em azul e a região do material colhido em vermelho.....	21
Esquema 2. Desenho esquemático onde estão representados o segmento colhido inicialmente em azul; a película de acetato quadriculada sobre esse segmento e, em vermelho as amostras colhidas com auxílio de “punch” para serem processadas em resina plástica.....	22
Esquema 3. Em A, observa-se o sistema-Teste triangular M-42 de “multiuso”, que apresenta 21 linhas com comprimento conhecido (d); ainda em A, nota-se os pontos de teste em cada extremidade (total de 42 pontos-teste). As linhas grossas são proibidas, ou seja, todas as estruturas que tocam as linhas grossas não são consideradas nas contagens. Em B, verifica-se o teste M-42, sobreposto à imagem a ser analisada.....	24

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1.	Registros referentes à densidade numérica (Nv) do Grupo Controle (GC) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	53
Tabela 2.	Registros referentes à densidade numérica (Nv) do Grupo Membrana de Látex (GM) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	53
Tabela 3.	Registros referentes à densidade numérica (Nv) do Grupo Óleo (GO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	54
Tabela 4.	Registros referentes à densidade numérica (Nv) do Grupo Membrana de Látex e Óleo de Rã (GMO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	54
Tabela 5.	Registros referentes à média, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação da densidade numérica (Nv), de todos os grupos, dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilos. Jaboticabal, 2008.....	55
Tabela 6.	Registros referentes à densidade de volume (Vv) do Grupo Controle (GC) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	56
Tabela 7.	Registros referentes à densidade de volume (Vv) do Grupo Membrana de Látex (GM) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	56
Tabela 8.	Registros referentes à densidade de volume (Vv) do Grupo Óleo de Rã (GO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	57
Tabela 9.	Registros referentes à densidade de volume (Vv) do Grupo Membrana de Látex e Óleo de Rã (GMO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	57

Tabela 10.	Registros referentes à média, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação da densidade volume (Vv), de todos os grupos, dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilos. Jaboticabal, 2008.....	58
Tabela 11.	Registros referentes ao volume celular médio (Vol) do Grupo Controle (GC) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	59
Tabela 12.	Registros referentes ao volume celular médio (Vol) do Grupo Membrana de Látex (GM) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	59
Tabela 13.	Registros referentes ao volume celular médio (Vol) do Grupo Óleo de Rã (GO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	60
Tabela 14.	Registros referentes ao volume celular médio (Vol) do Grupo Membrana de Látex e Óleo de Rã (GMO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	60
Tabela 15.	Registros referentes à média, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação do volume celular médio (Vol), de todos os grupos, dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilos. Jaboticabal, 2008.....	61
Tabela 16.	Registros referentes ao número total (N) do Grupo Controle (GC) dos: fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	62
Tabela 17.	Registros referentes ao número total (N) do Grupo Membrana de Látex (GM) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	63
Tabela 18.	Registros referentes ao número total (N) do Grupo Óleo de Rã (GO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	63
Tabela 19.	Registros referentes ao número total (N) do Grupo Membrana de Látex e Óleo de Rã (GMO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.....	64
Tabela 20.	Registros referentes à média, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação do número total (N), de todos os grupos, dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilos. Jaboticabal, 2008.....	65

Efeito da Aplicação da Membrana de Látex Natural e do Extrato da Pele de Rã (*Lithobates catesbiana*) (Shaw, 1802), em Feridas Cirúrgicas em Ratos Wistar

RESUMO - Neste estudo, implantou-se biomembrana de látex natural isolada e em conjunto com o extrato da pele de rã em feridas cutâneas (2,0 X 2,0 cm) na região dorsal de ratos com o intuito de se avaliar o processo de reparação tecidual no que se refere à biocompatibilidade, capacidade de reparação e possíveis complicações. Utilizou-se 60 ratos da linhagem Wistar, adultos, machos inteiros, divididos em grupos experimentais: grupo controle (GC), membrana de látex (GM), grupo óleo de rã (GO) e grupo membrana de látex e óleo de rã (GMO), cada um com 15 animais. Aos três, cinco, sete, 14 e 21 dias de pós-operatório, os animais foram eutanasiados mediante o emprego de uma dose elevada de tiopental sódico para avaliações macroscópicas, histológicas e histomorfométricas da região da lesão. No terceiro dia pós-operatório, em todos os grupos, as lesões apresentavam-se hiperêmicas e não edematosas. No grupo controle havia início da presença de crostas e de tecido de granulação. Observou-se a presença de exudato amarelado e tecido de granulação nas lesões referentes aos grupos óleo e membrana + óleo, neste último, em menor quantidade. No quinto dia pós-operatório as lesões, de todos os grupos, apresentaram-se com as margens retraídas; no GC as crostas cobriram toda a lesão; no GM observou-se a presença de tecido de granulação nas margens da ferida; no GO verificou-se a presença de algumas crostas e aspecto hiperêmico com tecido de granulação, no grupo membrana + óleo o tecido de granulação foi intenso. No sétimo dia de pós-operatório, verificou-se que a retração progrediu nas margens das lesões, além da presença de granulação vermelho brilhante e crostas, principalmente nos grupos GC, GM e GO. Após este período houve espessamento das crostas e retração contínua, ainda com presença de tecido de granulação. No 14º dia as crostas começaram a se destacar evoluindo para a epitelização que se completou no 21º dia, com surgimento de novos pelos ao redor da lesão, em todos os animais. Foram observados, sob microscopia de luz, células normais envolvidas no processo de reparação tecidual em todos os grupos, além de neovasos. No grupo GM a neovascularização foi mais intensa que nos grupos GC, GO e GMO, o que propiciou acelerada reparação tecidual.

Palavras-chave: pele, cicatrização, reparação, látex, óleo

Effect of Implementation of the membrane of Natural Latex and extract the skin of Frogs (*Lithobates catesbiana*) (Shaw, 1802), in surgical wound in Wistar rats

SUMMARY: In this study of the biomembrane of the natural latex and extract of the skin frog, isolated and together, where implanted utilized to replace a cutaneous rats in the dorsal region of the mice, with purpose of evaluation of the tissue repair process in regard of its biocompatibility, scar formation ability and possible complication. Sixty Wistar mice adult and entire males were divided in four experimental groups: control group (GC), membrane of the latex group (GM), oil of the frog group (GO) and group membrane of latex with oil of the frog group (GMO), each one with 15 animals. The animals were euthanized at three, five, seven, 14 and 21 days of post operative, by use of an elevated dosage of sodium tiopental, followed by macroscopic, microscopic and stereologic evaluations of the area of the lesion. Macroscopically, in the third post operative day, in all of the groups, the lesions were hiperemic but were not edematous. In the control group there were present crusts and of granulation tissue. It was observed the presence of yellowish exudato and granulation tissue in the lesions to the groups oil and membrane with oil, in this last one, in smaller amount. In the 5th post operative day the lesions, of all the groups, came with the reserved margins; in GC the crusts covered the whole lesion; in GM the presence of granulation tissue was observed in the margins of the wound; in GO it verified the presence of some crusts and hiperemic aspect with tissue granulation. In the group membrane with the oil the granulation tissue was intense. In the 7 th day of post operative, it was verified that the retraction progressed in the margins of the lesions, besides the brilliant red granulation presence and crusts, mainly in the groups GC, GM and GO After this period there was thickening of the crusts and continuous retraction, still with the presence of granulation fabric. In the 14th day the crusts began standing out developing for the epithelization that was completed in the 21st day, with appearance of new for the around of the lesion0, in animals of all groups. There were observed by microscopic, normal cells involved in the tissue repair process and neovascularization in all the groups besides, new vessels. In the group GM the neovascularization was more intense than in the groups GC, GO and GMO, that propitiated accelerated repair tissue.

Keywords: skin, healing, repair, latex, oil,

I. INTRODUÇÃO

As lesões de pele, particularmente as feridas, possuem grande importância clínica em função da sua alta frequência, da morbidade que causam, da alta incidência de proliferação bacteriana que ocorre na maioria delas e, ainda devido ao alto custo dos tratamentos, tanto em decorrência do preço dos medicamentos, da quantidade de fármacos utilizadas e ainda em consequência do tempo necessário para que ocorra cicatrização por segunda intenção. (SOUZA, 1989).

O abuso e o uso indiscriminado de fármacos são os principais fatores de indução à resistência de microrganismos aos medicamentos (HEINEMANN JR. et al., 2000) e este crescente impacto tem movimentado vários grupos de pesquisa, assim como a indústria farmacêutica para desenvolvimento de novos fármacos que sejam capazes de lidar efetivamente com as estratégias de adaptação que esses organismos elaboram, em face de todo o tipo de situação adversa (PRATES & BLOCH JR., 2004).

Nesta busca predomina a procura por substâncias mais adequadas existentes na natureza que constituem alternativas para o tratamento local das feridas, diminuindo os custos elevados dos curativos oclusivos, sintéticos ou biossintéticos (CHANDA et al., 1994).

Vários materiais biológicos têm sido empregados como curativo oclusivo, por possuírem propriedades antibacterianas e analgésicas, além de acelerar a formação de tecido de granulação e epitelização, (PREVEL et al., 1995). Os tecidos de origem biológica, obtidos a partir de animais da mesma espécie ou de espécies diferentes comportam-se, do ponto de vista imunológico, respectivamente, como materiais alogênicos e xenogênicos, podendo induzir rejeição, constituindo assim, fator que restringe a eficácia e o tempo de uso como curativo ou enxerto (CHEM et al., 1992; JIA et al. 1995; SANTILLAN-DOHERTY et al., 1996; ESCUDERO et al., 1997; RICHTERS et al. 1997; SCHORLEMMER & KURRLE, 1997; SCHORLEMMER & KURRLE, 1998).

Pesquisadores dos Departamentos de Bioquímica, Imunologia Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, recentemente, descobriram que o látex extraído da seringueira (*Hevea brasiliensis*), quando adequadamente processado, possuía propriedades que facilitavam a regeneração tecidual, acelerando a reconstituição de diversos tecidos do corpo.

Neste contexto, interessaram, particularmente, estudar a aplicação da biomembrana derivada do látex natural, e do óleo de rã (*Rana catesbeiana* - Shaw, 1802) como tratamentos alternativos naturais na cicatrização de lesões, pois poucos são os estudos específicos sobre o assunto na literatura especializada.

Assim, objetivou-se analisar estruturalmente, quantitativamente e comparativamente os efeitos da aplicação isolada e conjunta da Membrana de Látex e do Óleo de Rã, em lesões cutâneas provocadas experimentalmente medindo 2 cm X 2 cm, na região do dorso de Ratos Wistar, machos com peso entre 150 a 200 gramas.

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Reparação Tecidual

Os processos de cicatrização tecidual, essenciais para a sobrevivência dos seres vivos, de um modo geral, são fenômenos que podem ser apresentados subdivididos nas seguintes fases: (1) fase de Coagulação, de início imediato logo após o trauma, caracterizada pela formação de um tampão hemostático primário (crosta hemato-fibrinosa), formado por plaquetas, ativação dos fatores da coagulação e liberação de mediadores químicos solúveis, responsáveis pelo desencadeamento dos estágios subseqüentes; (2) fase inflamatória, responsável por alterações vasculares e influxo de células inflamatórias (polimorfonucleares, macrófago e linfócito) para o sítio da lesão; (3) fase de proliferação, caracterizada pela proliferação de células endoteliais de pequenos vasos sanguíneos (angiogênese), fibroblastos e produção de matriz colágeno, responsáveis pela formação do tecido de granulação, e início da proliferação de células epiteliais das camadas basais; e (4) fase reparadora, responsável pela remodelagem tecidual, com a substituição do tecido de granulação por tecido conjuntivo denso, e a

recomposição celular da epiderme (GONÇALVES & PARIZOTTO, 1998; STEVENS, 2000; ROBINS et al; 2005).

Em feridas cirúrgicas, aproximadas por suturas, ocorre à cicatrização por primeira intenção, evento este também denominado de união primária. A cicatrização por segunda intenção ocorre quando a perda de células e tecidos é mais intensa. No processo de cicatrização tanto por primeira, quanto por segunda intenção, ocorrem as seguintes etapas: No período inicial de 24 horas, surgem neutrófilos nas margens da incisão, que se deslocam para o coágulo de fibrina. A epiderme sofre espessamento nas bordas seccionadas em decorrência da atividade mitótica das células basais, e, entre 24 a 48 horas, projeções de células epiteliais das bordas migram e crescem ao longo das margens cortadas da derme, depositando componentes da Membrana Basal (MB) à medida que se deslocam. Essas células fundem-se na linha média, abaixo da crosta superficial, produzindo, assim, uma camada epitelial contínua, porém fina. A partir do terceiro dia, os neutrófilos são, em sua maior parte, substituídos por macrófagos. O tecido de granulação invade progressivamente o espaço da incisão. Nesse momento, aparecem fibras de colágeno nas margens da incisão; sendo que, inicialmente, possuem orientação vertical e não estabelecem pontes sobre a incisão. A proliferação de células epiteliais prossegue com conseqüente espessamento da camada epidérmica de revestimento. Até o quinto dia, o espaço incisional é preenchido por tecido de granulação. A neovascularização torna-se máxima. As fileiras de colágeno ficam mais abundantes e começam a formar pontes na incisão. A epiderme recupera a sua espessura normal, e a diferenciação das células superficiais produz uma arquitetura epidérmica madura com queratinização superficial (COTRAN et al., 2000).

COTRAN et al., (2000) acrescentaram que durante a segunda semana, ocorre acúmulo contínuo de colágeno, bem como proliferação dos fibroblastos. O infiltrado de leucócitos, o edema e o aumento da vascularização já desaparecem em sua maior parte. Nessa ocasião, inicia-se o longo processo de empalidecimento, devido ao aumento do acúmulo de colágeno na cicatriz incisional, acompanhado de regressão dos canais vasculares (COTRAN et al.,

2000). No final do primeiro mês, a cicatriz consiste em tecido conjuntivo celular destituído de infiltrado inflamatório, recoberto por uma epiderme intacta. Os anexos dérmicos destruídos na linha de incisão são perdidos permanentemente. A força elástica da ferida aumenta posteriormente, mas podem ser necessários meses para que a recuperação tecidual consiga sua força máxima. Embora ocorra cicatrização eficiente da maioria das lesões cutâneas, a cicatriz final pode não ser funcionalmente perfeita. Os anexos epidérmicos não se regeneram, e pode permanecer uma cicatriz densa de tecido conjuntivo no lugar da rede mecanicamente eficiente de colágeno na derme não lesada.

2.2 Considerações Gerais Sobre Membranas Biológicas

Quanto às membranas biológicas, o principal objetivo da utilização desta estrutura, originárias de diferentes espécies animais, bem como o emprego de implantes sintéticos, é fornecer arcabouço para orientação e desenvolvimento de novos tecidos mediante processos de reparação, que restabeleçam a estrutura e a função do órgão atingido (BATISTA et al., 1996).

O processamento químico do látex realizado introduziu modificações nas propriedades biológicas do látex necessárias para seu uso no corpo de mamíferos. Essas modificações envolveram filtração, adições químicas e uma forma especial de vulcanização do material. Desse processamento resultou em uma delgada membrana que foi utilizada em diversos experimentos, realizados para conhecer as características físico-químicas e estruturais do material, bem como determinar sua biocompatibilidade com os sistemas biológicos (THOMAZINI et al., 1997; LACHAT et al., 1997; MRUÉ et al., 2004).

Para a confecção da membrana de látex utilizou-se como matéria prima o látex extraído da *Hevea brasiliensis*, árvore popularmente conhecida como seringueira. O látex foi processado através de uma técnica diferente da vulcanização, que é a convencional. A vulcanização consiste no mecanismo pelo qual a Indústria da Borracha produz materiais amplamente usados na prática

médica como, por exemplo: luvas, tubo traqueal, preservativos entre outro. A adição de talco na finalização de alguns desses produtos, reagem com certas proteínas do látex o que promove, em alguns casos, reações de hipersensibilidade (MRUÉ, 1996; MRUÉ et al., 2004).

A membrana de látex obtida é fina, elástica, translúcida, com estrutura composta de cadeias de poliisopreno e proteínas, similar a uma membrana celular. À microscopia eletrônica, revelou que esta possui uma microarquitetura de superfície com aspecto rugoso, com reentrâncias e saliências. Há ainda em sua composição 0,1% de polilisina que é uma proteína sintética capaz de proporcionar estímulo à adesão de células. Essas duas características associadas desempenham papel importante nos processos de adesão celular e manutenção da vascularização da interface tecido-membrana (MRUE, 1996; MRUÉ, 2000).

Após 10 dias do implante de membrana de látex como substituta parcial no esôfago cervical de oito cães, as próteses íntegras foram expelidas nas fezes e ao se realizarem endoscopias e análise histológica, constatou-se que um novo esôfago havia se formado, com camadas iguais ao tecido esofágico nativo (MRUÉ, 1996 e MRUÉ et al., 1996).

Foram aplicados testes físicos para avaliar a complacência e o ponto de ruptura do material. A membrana de látex se mostrou com alta resistência, com pontos de ruptura de $23,64 \times 10^6$ N/m² e $4,3 \times 10^6$ N/m² nas direções transversal e longitudinal, respectivamente. O limite elástico foi de $0,13 \times 10^6$ N/m² na transversal e $0,47 \times 10^6$ N/m² na longitudinal. Mostrou-se impermeável ao ser testada à passagem de corantes pela sua parede (THOMAZINI et al., 1997).

O biopolímero de látex foi inicialmente lançado para tratamento de úlceras crônicas de pés e pernas em humanos. POTÉRIO-FILHO et al. (1999) aplicaram a membrana sob forma de curativos diários em 11 pacientes que possuíam úlceras isquêmicas de pernas e pés há mais de quatro meses, observando a ocorrência de rápida cicatrização devido à potente ação angiogênica do produto. Seis pacientes apresentaram cicatrização completa das úlceras, quatro tiveram cicatrização até 50% da ferida e em somente um a alteração foi mínima.

A membrana foi utilizada como implante transitório na técnica cirúrgica denominada Miringoplastia em 35 pacientes humanos que apresentavam perfuração timpânica, em graus variáveis, sendo observado que em 100% dos casos a cicatrização foi acelerada com intensa neovascularização (OLIVEIRA et al., 1999).

O implante parcial do biopolímero de látex no pericárdio de quatro cães mostrou-se efetivo em 75% dos casos (três animais). Transcorrido 345 dias do procedimento cirúrgico, apresentaram regeneração do pericárdio original. Não foi observada aderência de nenhuma estrutura da cavidade torácica à membrana. Os aspectos histológicos, da interface enxerto-tecido nativo, evidenciaram proliferação fibroblástica e vascular, além de revestimento mesotelial crescente (SADER et al., 2000).

Na busca de material ideal para a confecção de cápsula como dispositivo de isolamento celular, especificamente no isolamento de ilhotas pancreáticas para implante em diabéticos, MENTE & CENEVIVA (2001) implantaram segmento de material a base de látex no subcutâneo do dorso de ratos normais e diabéticos, avaliando a biocompatibilidade e ocorrência de neoformação vascular; assim verificaram que após 21 dias, os dois tipos de membranas (com e sem polilisina) mostraram-se biocompatíveis com o organismo, tanto nos animais normais quanto nos diabéticos. Observaram aumento da vascularização local, também não houve aderências com o tecido adjacente, sendo as membranas facilmente removíveis. Analisando os cortes histológicos de material de todos os animais constataram que na interface tecido-membrana houve formação de epitélio constituído por células alongadas que lembravam o endotélio, e também infiltrado mononuclear. No tecido conjuntivo frouxo de cerca de 40 μ m da membrana havia discreto infiltrado inflamatório crônico, poucos fibrócitos e fibroblastos, discreta fibrose e aumento moderado da quantidade de capilares. Concluíram que mediante achados iniciais, o material poderia apresentar algum potencial para a confecção de dispositivos de isolamento celular.

Dezesseis pacientes humanos que apresentavam úlceras crônicas de membro inferior (perna), secundárias à insuficiência venosa isolada ou associada

à hipertensão arterial, foram submetidos a tratamento com a membrana de látex e verificou-se a presença de sinais clínicos de granulação, após sete dias; a reepitelização foi confirmada mediante exame histopatológico (FRADE et al., 2003).

Ao se aplicar o biopolímero de látex, por dias alternados, em humanos acometidos de diabetes tipo II que apresentava úlcera de aspecto necrótico e sensibilidade dolorosa local, nos membros inferiores, constatou-se, após uma semana, a ocorrência de cicatrização em 70% da lesão, além da ausência de dor. No quarto mês o local da lesão apresentava-se totalmente reepitelizado (FRADE et al., 2003).

Na utilização da membrana de látex em miringoplastia, realizada em 200 pacientes humanos, nos quais havia perfuração timpânica, verificou-se que aos 28 dias pós-operatório, 90,5% dos ouvidos apresentaram perda total do enxerto; também foi observada a ocorrência de grande vascularização e hiperemia, fato este não verificado em miringoplastias clássicas. Após dois meses, os tímpanos estavam normais. (OLIVEIRA et al., 2003).

Detectou-se a presença de fatores de crescimento, tais como vascular endotelial “growth factor (VEGF)” e “transforming growth factor β 1 (TGF β 1)” na composição da biomembrana, os quais provavelmente são responsáveis pela indução da cicatrização (FRADE et al., 2004).

Mediante a aplicação experimental da membrana de látex na reconstrução conjuntival em 15 coelhos, constatou-se a não aderência dessa membrana ao tecido subjacente. A recuperação satisfatória, verificada em nove animais, sugere que este material pode acelerar a cicatrização da conjuntiva; o potencial de promover a reparação foi inferido à ocorrência do elevado número de vasos observados, por campo óptico analisado, na microscopia de luz, sendo este número o dobro daquele verificado no tratamento convencional, confirmando o potencial desta membrana em promover a neoangiogênese (PINHO et al., 2004).

Comparando-se o implante de membrana de látex da seringueira com e sem polilissina 0,1% ao da aplicação da tela de márlex na recuperação de defeitos abdominais iatrogênicos em ratos, verificaram-se, como principais alterações, a

ocorrência de deiscência e evisceração. Nos grupos tratados com membranas de látex; também nesses grupos ocorreu a eliminação dos implantes no período médio de 13,8 dias. Na análise histopatológica de ambos os grupos verificou-se que aos cinco dias houve reação de granulação fibrovascular, com expressiva angiogênese, na face peritoneal do implante, além de reação granulomatosa, tipo corpo estranho, nas bordas da ferida. A similaridade histológica entre os grupos, caracterizada pela presença de infiltrado inflamatório granulomatoso com proliferação de tecido conjuntivo fibroso, grande quantidade de macrófagos, células gigantes multinucleadas tipo Langerhans e corpo estranho, linfócitos e plasmócitos de permeio, neutrófilos, eosinófilos e raros mastócitos e também, a formação de tecido conjuntivo fibroso de reparação, sugerem similaridade na aplicação de ambos os materiais (PAULO et al., 2005).

Para o revestimento da cavidade aberta nas timpanomastoidectomia foram analisadas 64 orelhas de humanos submetidos a esta técnica e a meatoplastia. A membrana de látex foi utilizada em 54 das orelhas operadas, sendo que, nas outras 10 orelhas, foi realizado o tamponamento da cavidade, somente com fita cardíaca. Na maioria das 54 orelhas onde a membrana foi utilizada observou-se maior facilidade na remoção do curativo tampão (sem sangramento ou desconforto para o paciente), menor demanda de tempo para sua retirada, além da epitelização mais precoce da neocavidade (SOUSA et al., 2007).

Foram implantados dois tipos de membranas de látex confeccionadas no Laboratório de Tecnologia Química da Universidade de Brasília (LATEQ – UnB) e uma membrana já em uso comercial: M1 - látex *in natura* (não centrifugado), M2 - látex *in natura*, mais enxofre (3ml) e ácido fórmico; M3 - látex centrifugado, polilissina 0,1%^a (modelo comercial) no intuito de verificar a biocompatibilidade e a resistência dos três diferentes tipos de membranas de látex. Os implantes foram colocados entre os músculos cutâneo e reto do abdome, em seis cadelas, mediante procedimento cirúrgico e, após 45 dias, foram removidos e submetidos a exames histológicos e verificou-se que as diferentes formulações para as membranas de látex testadas oferecem resistência apropriada para a sua implantação na reparação da bainha muscular em cães; no entanto, apenas as

formulações das membranas M1 e M3 são biocompatíveis (ZIMMERMANN et al., 2007).

2.3 Considerações Referentes à Pele de Rã e sua Utilização no Tratamento Alternativo de Feridas

No que se refere à pele de rãs, sabe-se que os vertebrados, mais precisamente os anfíbios da ordem Anura, representam um verdadeiro laboratório de bioquímica, tendo em vista o arsenal de toxinas que fabricam (SEBBEN, et al., 1993).

Nas células que revestem as paredes das glândulas presentes na pele desses animais é produzida uma variedade de princípios ativos que compreendem moléculas alifáticas, aromáticas e heterocíclicas, além de uma diversificada gama de esteróides, de alcalóides, de aminas biogênicas, de derivados guanidínicos, de proteínas, peptídeos, e todo o sistema enzimático envolvido na sua biossíntese. Essas moléculas acumulam-se em grânulos, os quais compõem uma luz de glândulas dérmicas e são liberadas mediante estímulos apropriados. Seu papel é muito diversificado sobre as funções fisiológicas da pele ou na defesa contra predadores e microrganismos. Grande número desses compostos já se encontra caracterizado estrutural e funcionalmente (SEBBEN, et al., 1993).

A rã como a maioria das espécies de anfíbios apresenta grande variedade de substâncias químicas no muco secretado pelas glândulas epidérmicas, as quais vêm sendo estudadas pela indústria farmacêutica para a fabricação de antibióticos e outros medicamentos, constituindo-se em um novo campo de estudo da farmacologia (CLARK *et al.*, 1994; MOR *et al.* 1994; FEIO, 1997).

A pele de rã da espécie *Lithobates catesbiana* – (Shaw, 1802) tem sido utilizada como tratamento alternativo em queimaduras de segundo grau. Outra aplicação é em cobertura temporária em área doadora de enxerto de pele e em ferida com tecido em fase de granulação (CANDIDO, 2001).

A rã-touro ou rã americana cujo nome científico é *Rana catesbeiana* – (Shaw, 1802) é uma espécie originária da América do Norte e foi introduzida no Brasil em 1935, apresentando excelente adaptação às nossas condições climáticas, com rápido desenvolvimento e maturidade precoce. (CANDIDO, 2001).

Segundo MORAES, (2004), a pele da rã possui uma camada transparente abaixo da derme que não reage contra a epiderme humana sendo ideal para a formação de bancos de pele para tratamento de queimaduras extensas e graves. A queratina presente em sua pele serve para produzir gelatinas ricas em ômega-3, para fabricação de cosméticos e tratamento de queimaduras, sendo o colágeno utilizado na fabricação de cosméticos.

Durante o uso de pele de *Rana catesbeiana* como cobertura temporária de feridas produzidas por queimadura grave em humanos, conservada por congelamento, sem a preocupação de manter a viabilidade desse tecido, não foram relatados fenômenos de rejeição (GOMES et al., 1995). Por outro lado, a depressão imunológica encontrada em pacientes portadores de queimaduras extensas também poderia concorrer para o aumento de tolerância aos enxertos (KOLENIK et al., 1995;).

FALCÃO et al. (2002) a investigarem o efeito da pele de rã *Rana catesbeiana* preservadas em solução de NaCl e glicerol sob temperatura de -4°C , que foram descongeladas e aplicadas como curativo oclusivo em feridas cutâneas de cães, constataram que a pele de rã não foi efetiva neste tratamento, havendo ocorrência de rejeição, sugerida como um fator causal. Assim, estes autores ressaltam a necessidade do desenvolvimento de outros projetos com o propósito de estabelecer o modo mais eficaz de utilizar a pele de *Rana catesbeiana*, como curativo biológico oclusivo, em feridas cutâneas excisionais.

Para avaliar a cicatrização de feridas na pele de ratos Wistar fêmeas pesando 100-120 gramas, (SAI & BABU, 2001) realizou-se lesões com o tamanho padrão de 5 cm^2 nos animais, os quais foram divididos em dois grupos, a saber: experimental e controle. No grupo experimental as feridas foram revestidas com a pele do dorso de rãs (*Rana tigerina*), recentemente sacrificadas. No grupo controle foram recobertas com gaze de algodão. Após verificações macroscópicas de dois

em dois dias, até a cicatrização total das feridas, constatou-se a cicatrização mais rápida no grupo experimental, quando comparada à do grupo de controle. Também foi extraído o colágeno, da pele das rãs para a caracterização de sua identidade e organização, pois esta substância é a maior matriz protéica conhecida, que desempenha um importante papel na cicatrização de feridas. Assim, foram observadas diferenças interessantes no colágeno da pele da rã, quando comparado ao colágeno de outros vertebrados. O colágeno da pele da rã possui propriedades físico-químicas únicas correlacionadas ao *habitat* dos anfíbios

Para SÁ (2005) a pele dos anfíbios exibe um verdadeiro arsenal de compostos químicos naturais, com diversificadas atividades biológicas. Esses compostos fazem parte de um complexo sistema de defesa passiva dos anfíbios contra substâncias prejudiciais com as quais eles têm contato nos seus *habitats*. Este mesmo autor, ao investigar a atividade imunomoduladora dos extratos preparados das peles e glândulas de oito espécies de anuros nativos ou endêmicos da região do semi-árido brasileiro demonstrou que essas espécies apresentam uma potencial fonte de moléculas com atividade imunomoduladora.

2.4 Emprego da Estereologia

O emprego de avaliações morfológicas e, principalmente, estereológicas foram fundamentais na análise comparativa entre mucosa vesical normal e comprometida por variados graus de carcinoma, em humanos, pois permitiu a estimativa imparcial do volume nuclear das células epiteliais vesicais, sendo esses dados mais precisos essenciais na diferenciação entre lesões neoplásicas e não neoplásicas (NIELSEN et al., 1986).

Nos últimos 50 anos, estudos estereológicos apareceram com maior freqüência na literatura, tendo como objetivo determinar parâmetros quantitativos tridimensionais de estruturas anatômicas, a partir de cortes bidimensionais. Utiliza-se a geometria e os cálculos são baseados na estatística, os dados obtidos provêm diretamente da microscopia óptica e eletrônica. Apresenta como conceito

básico determinações “sem desvio” (sem viés) e pouca variabilidade (PEREIRA & MANDARIM-DE-LACERDA, 2001).

A Estereologia apresenta ainda vantagens, quanto aos estudos qualitativos, pois seus resultados são numéricos e não subjetivos, sendo, portanto reproduzíveis em qualquer outro laboratório, além é claro do fundamento estatístico bem estabelecido que respalde este método (PEREIRA & MANDARIM-DE-LACERDA, 2001).

Realizou-se experimentalmente a obstrução uretral em “minipigs” para observar a ocorrência de possíveis alterações morfológicas na bexiga destes animais. Mediante análise estereológica pôde-se quantificar o tamanho e o número de células vesicais, além do tipo de colágeno presente, sendo observada, após o período de recuperação, mudança irreversível quanto ao aumento no número de células musculares lisas e maior proporção de colágeno tipo I em relação ao do tipo II. Por outro lado, constatou-se que todas as outras alterações foram reversíveis (NIELSEN, 1997).

Em estudo sobre os efeitos da obstrução uretral parcial na musculatura da bexiga urinária de coelhos da raça Norfolk, SASAHARA et al. (2007), ao utilizarem a estereologia verificaram tanto a ocorrência dos mecanismos de hipertrofia e hiperplasia na bexiga urinária desses animais, como também puderam detalhar a seqüência exata em que estes eventos aparecem.

ÁGUILA et al. (1998) utilizaram esta metodologia para comparar as diferenças quantitativas na composição e estrutura do miocárdio de ratos jovens e idosos, revelando que no envelhecimento ocorre perda de miócitos cardíacos e hipertrofia das células remanescentes.

Entre outras aplicabilidades, a estereologia, possibilitou detectar e quantificar as alterações que ocorrem na parede do cólon em conseqüência da derivação (colostomia em alça), por meio de estudo comparativo entre ratos adultos da raça Wistar, do sexo masculino, divididos em um grupo controle e um grupo submetido à derivação, assim, o autor concluiu que a derivação causa atrofia da mucosa colônica, devida principalmente à atrofia do epitélio (LOPES, 2002).

III. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 60 ratos, machos, da linhagem Wistar pesando entre 150 e 200 gramas provenientes do Biotério Central do Campus de Botucatu – UNESP.

Os animais foram mantidos, durante a fase experimental, em gaiolas individuais de 30cm x 20cm x 18cm localizadas no Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da FCAV, Câmpus de Jaboticabal, UNESP, e receberam ração e água à vontade.

Os animais foram divididos, de acordo com os devidos tratamentos em quatro grupos experimentais: Grupo Controle (n=15); Grupo Membrana de Látex (n=15); Grupo Óleo de Rã (n=15) e Grupo Membrana de Látex e Óleo de Rã (n=15).

3.2. Considerações éticas

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da FCAV, Câmpus de Jaboticabal, UNESP, sob protocolo nº 008579-07, pois está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

3.3 Aquisição da Membrana de Látex Natural e do Extrato da Pele de Rã

A membrana de látex natural, nome comercial Biocure® produzida pela empresa Pelenova Biotecnologia S. A., inscrita no CNPJ sob o nº 05 051 581/0001-01, foi fornecida pelo Prof. Dr. Joaquim Coutinho Netto do Departamento de Bioquímica e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

O produto foi mantido em sua embalagem original, em local fresco e seco, até o momento do procedimento cirúrgico.

O extrato da pele de rã (*Rana catesbeiana* - Shaw, 1802) utilizado foi proveniente de Asmarana Indústria e Comércio de Produtos Naturais Ltda, (Av. Deodoro da Fonseca, 533, Natal, RN), lote 179.

3.4 Procedimento Experimental

Para a realização da ferida cirúrgica no dorso dos animais após jejum alimentar de 12 horas (água “ad libitum”), procedeu-se à anestesia que constou do seguinte protocolo: associação anestésica de 1 ml de quetamina 5% com 1ml de xilasina 2%, na dose de 0,2ml/100g de peso corporal (aplicação única) pela via intramuscular.

Em seguida os animais foram posicionados em decúbito ventral, realizou-se a ampla tricotomia da região dorsal, anti-sepsia com iodo degermante, álcool 70% e iodo povidini. Em seqüência, com o uso de um bisturi, foi feita uma incisão cranial – caudal da pele e com o auxílio de tesoura foi retirado segmento de pele de 2cm X 2cm do dorso desses animais e submetidos ao procedimento descrito a saber:

No Grupo Controle (n=15) foi efetuada, a retirada de segmento cutâneo na região do dorso de cada animal (FIGURA 1).

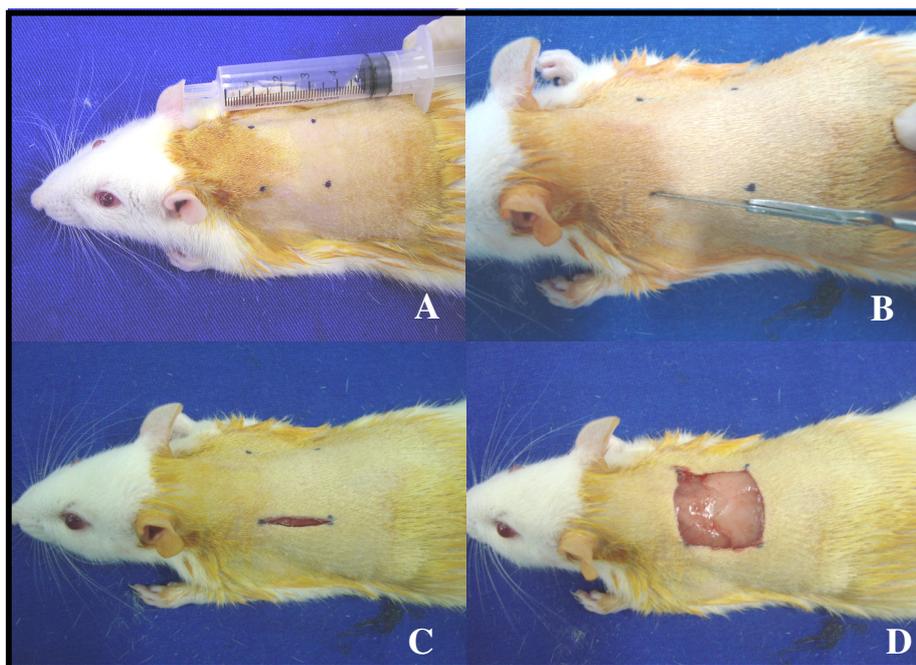


FIGURA 1. Imagem fotográfica, ilustrando a seqüência da ferida cirúrgica na região dorsal de ratos (Wistar). Observar em **A** a demarcação da lesão, em **B** e **C** a realização da incisão e em **D** a lesão.

No Grupo Membrana de Látex (n=15), a região preparada cirurgicamente recebeu fragmento de membrana de látex de dimensão aproximada, que foi

suturada no local, com fio inabsorvível sintético (náilon 4-0) com pontos simples separados nas quatro bordas da ferida (FIGURA 2).

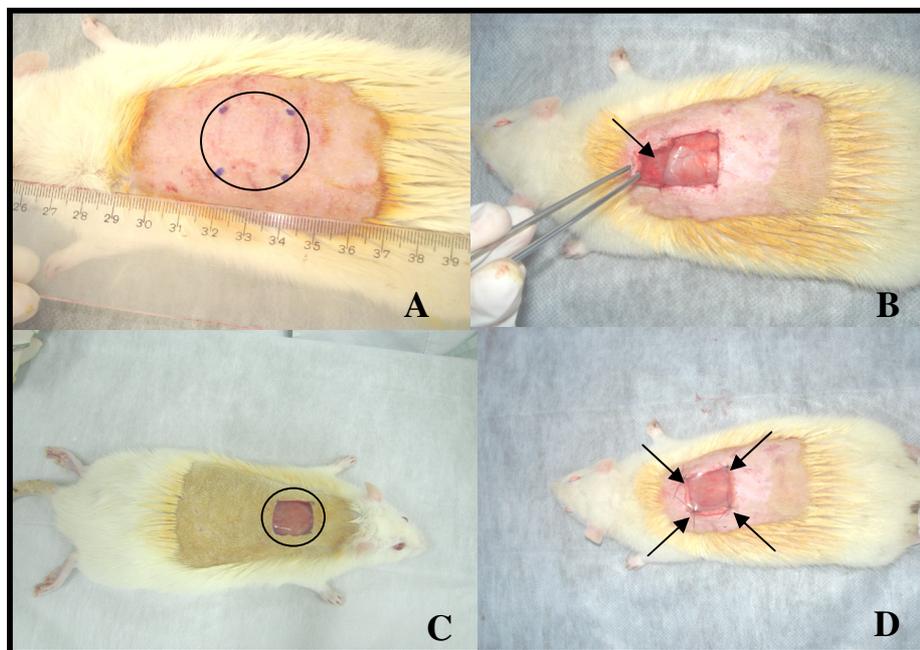


FIGURA 2. Imagem fotográfica, ilustrando a seqüência do emprego da membrana de látex na região dorsal de ratos (Wistar). Observar em **A** a delimitação da incisão na pele do dorso (circundada), em **B** o rebatimento do segmento de pele a ser retirado (seta), em **C** a lesão circundada e em **D** a ferida recoberta com membrana de látex; observar os pontos de sutura (setas).

No Grupo Óleo de Rã (n=15), após a retirada do segmento cutâneo na região dorsal de cada animal, foi aplicado no local três gotas de extrato de óleo de rã (FIGURA 3).

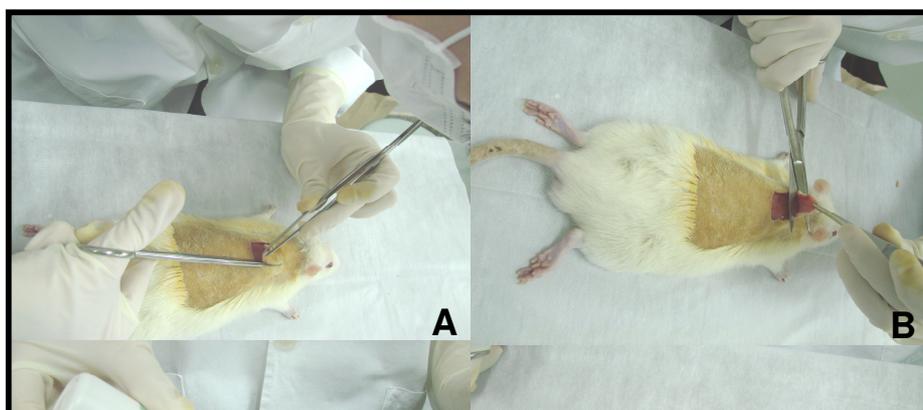


FIGURA 3. Imagem fotográfica, ilustrando a seqüência do uso do extrato de óleo de rã na região dorsal de ratos (Wistar). Observar em **A** e **B** a seqüência da realização da lesão, em **C** aplicação do óleo de rã e em **D** o aspecto final da lesão.

No Grupo Membrana de Látex e Óleo de Rã (n=15), após a retirada de segmento cutâneo na região dorsal de cada animal, foi aplicado no local da lesão três gotas de extrato de óleo de rã seguido do implante da membrana de látex de dimensão aproximada, que foi suturada no local, com fio inabsorvível sintético (náilon 4-0) com pontos simples separados nas quatro bordas da ferida (FIGURA 4).

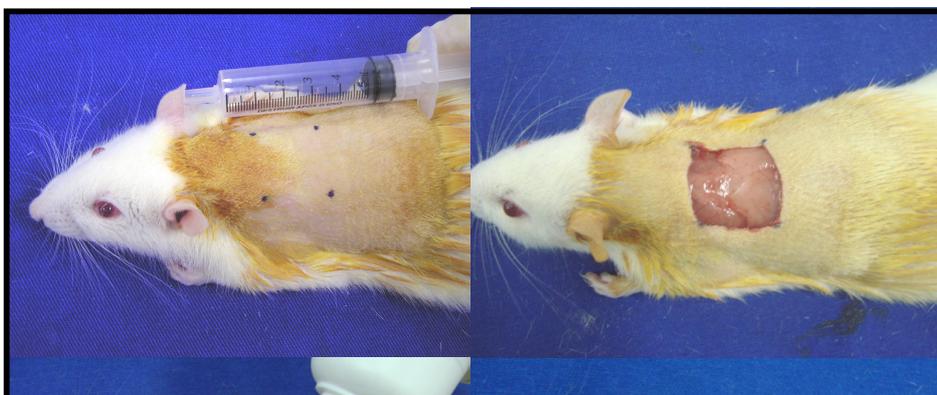


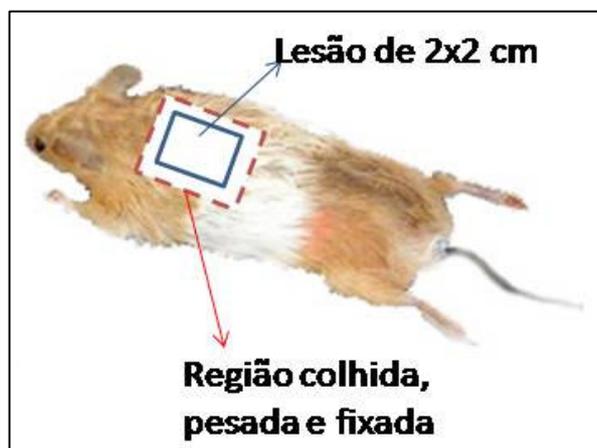
FIGURA 4. Imagem fotográfica, ilustrando a seqüência do uso do extrato de óleo de rã e emprego de membrana de látex na região dorsal de ratos (Wistar). Observar em **A** a demarcação da lesão, em **B** a lesão, em **C** a aplicação do óleo de rã e em **D** a colocação da membrana em ratos Wistar, machos.

Todos os animais foram avaliados no período pós-operatório imediato quanto à recuperação anestésica e a cada 24 horas. Foi feita avaliação em cinco tempos distintos, a saber: aos três (3), cinco (5), sete (7), 14 e 21 dias pós-operatórios, sendo que três ratos de cada grupo experimental (GC, GM, GO e GMO) foram eutanasiados em cada tempo. Durante todo o período que antecedeu a colheita do material a ser analisado, foram observadas as seguintes características: aspecto da ferida cirúrgica, estado geral dos animais, ingestão de alimento e água e aspecto das fezes. Para avaliações macroscópicas e histológicas, os ratos foram eutanasiados mediante a administração de dose elevada (400mg/Kg) de tiopental sódico, por via intraperitoneal (IP), procurando evitar qualquer tipo de desconforto ao animal.

Após a eutanásia dos animais, foram analisadas as ocorrências de hemorragia e de rejeição, tanto da membrana quanto do óleo, além da presença de crostas, secreção, e necrose.

Após os procedimentos descritos, o material foi colhido com margem de aproximadamente 1 cm ao redor da lesão (Esquema1), pesado em balança

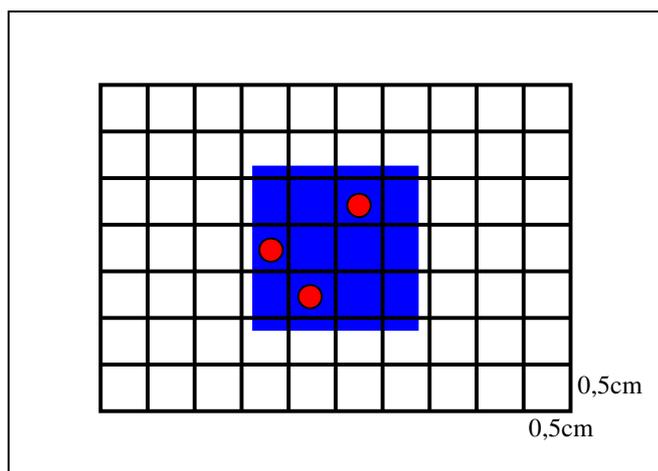
adequada (BEL MARK 210A), fixado em Karnowisk e, em seqüência, preparado e analisado histologicamente.



ESQUEMA 1. Desenho esquemático onde se observa a região da lesão dos ratos analisados em azul e a região do material colhido em vermelho.

O segmento de cada animal foi pesado logo após sua retirada e, em seguida colocado em fixador Karnowisk, onde permaneceu por 24 horas; após a fixação foi lavado em solução tampão fosfato de sódio e colocado para conservação em álcool 80% até o momento da inclusão em Historessin® (Leica-Germany).

Para esta inclusão necessitou-se da retirada de amostras do segmento total. Para tanto, sobre cada segmento colocou-se uma película de acetato quadriculada ($0,5\text{cm} \times 0,5\text{cm} = 0,25\text{cm}^2$) e colheram-se três amostras aleatórias com o auxílio de um “punch” de 0,3 cm (Esquema 2).



ESQUEMA 2. Desenho esquemático onde estão representados: o segmento colhido inicialmente em azul; a película de acetato quadriculada sobre esse segmento e, em vermelho as amostras colhidas com auxílio de “punch” para serem processadas em resina plástica.

Com as amostras que foram colhidas com o auxílio de “punch” realizou-se a desidratação, infiltração, inclusão que consiste em misturar a historesina com o endurecedor, colocar essa mistura nos moldes de polietileno (histomold) e distribuir os fragmentos do material nestes moldes. O histomold foi levado para a estufa a 37,5°C até a polimerização. Na fase seguinte o material foi seccionado em micrótomo automático (Leica-RM2155), utilizando navalhas de vidro, obtendo-se cortes semi-seriados de três micrômetros, que foram corados com Hematoxilina e Floxina (HF) e Tricrômio de Masson (TM).

Após a remoção das amostras colhidas com o auxílio do “punch”, um segmento do material restante foi processado para inclusão em Histosec[®] (parafina), dessa forma, o segmento restante foi submetido à desidratação, em concentrações crescentes de álcool (80, 90, e 3 vezes em 100%), por aproximadamente 90 minutos. Após este procedimento, a embebição do material foi feita em Histosec[®] por 90 minutos, na faixa de 60°C a 70°C de temperatura, onde se procedeu a inclusão. A microtomia dos fragmentos foi realizada em micrótomo automático (Leica, RM 2155), com auxílio de navalhas descartáveis, obtendo-se cortes de 5µm de espessura, que foram fixados em lâminas e submetidos às colorações por Hematoxilina e Eosina (HE) e Tricrômio de Masson (TM).

Ambos os procedimentos foram realizados no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, UNESP e todas as preparações foram fotodocumentadas ao microscópico Leica DM 5000 B para análise morfológica.

Para cada período, ou seja, aos três, cinco, sete, 14 e 21, foram estudados, sob microscopia de luz, os perfis celulares presentes no processo de reparação tecidual, tais como: infiltrado inflamatório, constituído por eosinófilos, linfócitos, leucócitos, plasmócitos, monócitos, neutrófilos, macrófagos, mastócito; fibroblastos, fibrócitos, fibras colágenas e vasos sanguíneos.

Em seqüência, o material foi analisado por meio de estudo estereológico, com auxílio do “Software Leica Application Suite”. Assim, em cada um dos quatro cortes foram analisados quatro campos aleatórios, perfazendo um total de 16 áreas teste, analisadas em cada fragmento. Foram avaliados o número total de fibroblastos, vasos, linfócitos, macrófagos e neutrófilos presentes do processo de reparação tecidual em cada tempo determinado, utilizando o método do Disector Óptico (STERIO, 1984; PAKKENBERG; GUNDERSEN, 1988 e 1989; POVER; COGGESHALL, 1991; MAYHEW; GUNDERSEN, 1996; HOWARD E REED, 2004), que consiste em contar o número de perfis celulares “transects”, ao aparecerem ao longo de dois planos ópticos paralelos (PAKKENBERG; GUNDERSEN, 1988; MAYHEW; GUNDERSEN, 1996 e GUNDERSEN et al., 1999). Este valor retrata a densidade numérica (Nv) das células dentro do volume de todos os disectors investigados.

Para obtenção da densidade numérica foi empregada a seguinte fórmula matemática:

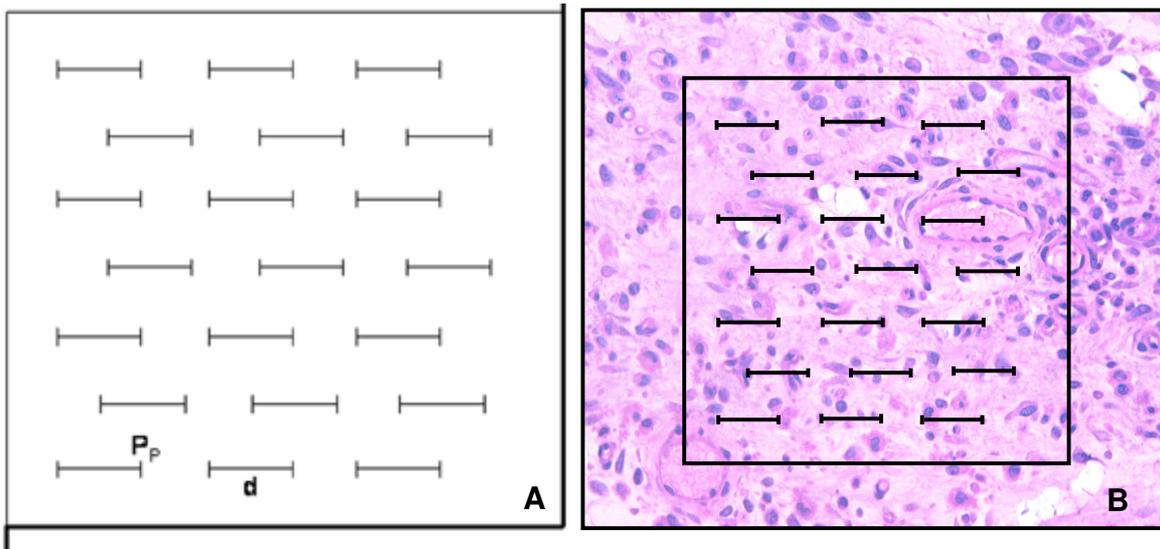
$$Nv = \sum Q^- / \sum V, \text{ onde:}$$

Q^- = o número das partículas contadas em cada disector utilizado

V= volume de cada disector

Utilizou-se ainda neste tipo de avaliação, o sistema-teste, que consiste de um conjunto de linhas tanto retas, quanto curvas, ou de pontos apresentando os arranjos geométricos triangular, quadrado ou hexagonal. Cada um destes arranjos

determina as características básicas do sistema-teste (AHERNE & DUNNILL, 1982). Este sistema foi superposto à imagem a ser analisada, de forma aleatória. Neste estudo priorizou-se o sistema-teste modelo M-42 (arranjo triangular), uma vez que apresenta melhor distribuição de pontos, com mais pontos-teste por unidade de área - mais pontos = mais precisão (ESQUEMA 3).



ESQUEMA 3 – Em **A**, observa-se o sistema-Teste triangular M-42 de “multiuso”, que apresenta 21 linhas com comprimento conhecido (d); ainda em **A** nota-se os pontos de teste em cada extremidade (total de 42 pontos-teste). As linhas grossas são proibidas, ou seja, todas as estruturas que tocam as linhas grossas não são consideradas nas contagens. Em **B**, verifica-se o teste M-42, sobreposto à imagem a ser analisada.

A densidade de volume (V_v) foi determinada pela contagem dos pontos, considerando-se os pontos que apenas tocavam os diferentes perfis celulares de acordo com a fórmula abaixo, sendo $P_{(p.c.)}$ os números dos perfis celulares que coincidem com os pontos do teste M-42 e P_t o número total de pontos teste = 42.

$$V_v (p.c.) = \frac{P_{(p.c.)}}{P_t}$$

Já o volume médio (Vol) de cada parâmetro celular (p.c.) foi determinado pela relação seguinte (ÁGUILA, 1998):

$$V(p.c.) = \frac{V_v(p.c.)}{N_v(p.c.)}$$

E finalmente, o número total das partículas (N) foi obtido multiplicando-se a densidade numérica (N_v) dos perfis celulares, que é amostrada entre o número total destes perfis e o volume total dos disectors utilizados, pelo Volume Referência ou Volume Celular do processo de reparação. De acordo com GUNDERSEN (1988) o Volume Referência ou Volume Celular deve ser estimado pelo método do “nucleator”, o que permite estimar o volume médio e a distribuição de tamanho das partículas independentemente da sua forma, distribuição ou orientação.

Os resultados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) paramétrica quando os dados mostrarem aderência à distribuição normal de probabilidades e não paramétrica quando este requisito não estiver presente. Em ambas as situações a análise foi complementada com o teste de Tukey. O nível de significância escolhido foi igual ou inferior a 5%.

IV. RESULTADOS

4.1 Parâmetros Observados no Período Pós-Operatório

No período pós-operatório, observou-se que, mediante o protocolo anestésico empregado, os animais apresentaram recuperação satisfatória, voltando a se alimentar de ração e a ingerir água normalmente. Nenhum deles apresentou anorexia ou qualquer outra alteração advinda da anestesia. Transcorrido o período de 24 horas do procedimento cirúrgico, não se observou alterações fisiológicas referentes à defecação. Verificaram-se, nos cinco primeiros dias de pós-operatório, que a região adjacente à ferida cirúrgica apresentava rubor e sensibilidade dolorosa ao toque, diminuindo no decorrer do período avaliado.

4.2 Avaliação Macroscópica da Região da Ferida Cirúrgica

Não foi observado em nenhum caso, presença de sinais macroscópicos de rejeição à membrana e ao óleo; presença de muco, ocorrência de hemorragia e, sinais de necrose.

No terceiro dia pós-operatório, em todos os grupos, as lesões apresentavam-se hiperêmicas e não edematosas. No grupo controle havia início da presença de crostas e de tecido de granulação. Observou-se a presença de exudato amarelado e tecido de granulação nas lesões referentes aos grupos óleo e membrana + óleo, neste último, em menor quantidade. (FIGURA 5)

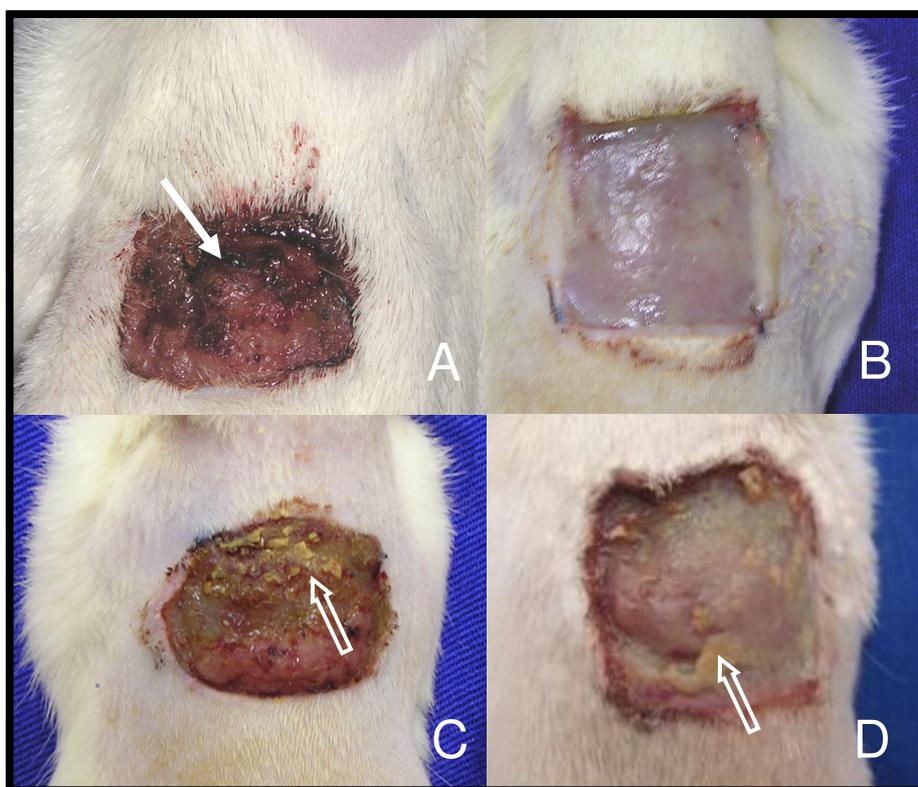


FIGURA 5. Imagem fotográfica das feridas cirúrgicas no dorso de ratos Wistar no 3º dia pós-cirúrgico. **A)** controle; **B)** membrana; **C)** óleo e **D)** membrana + óleo; observar hiperemia em todas as lesões; início da presença de crostas em **A** (seta); presença de exudato amarelado em **C** e **D** (seta vasada).

No quinto dia pós-operatório as lesões, de todos os grupos, apresentaram-se com as margens retraídas; no grupo controle as crostas cobriram toda a lesão; no

grupo membrana observou-se a presença de tecido de granulação nas margens da ferida; no grupo óleo verificou-se a presença de algumas crostas e aspecto hiperêmico com tecido de granulação, no grupo membrana + óleo o tecido de granulação foi intenso (FIGURA 6).

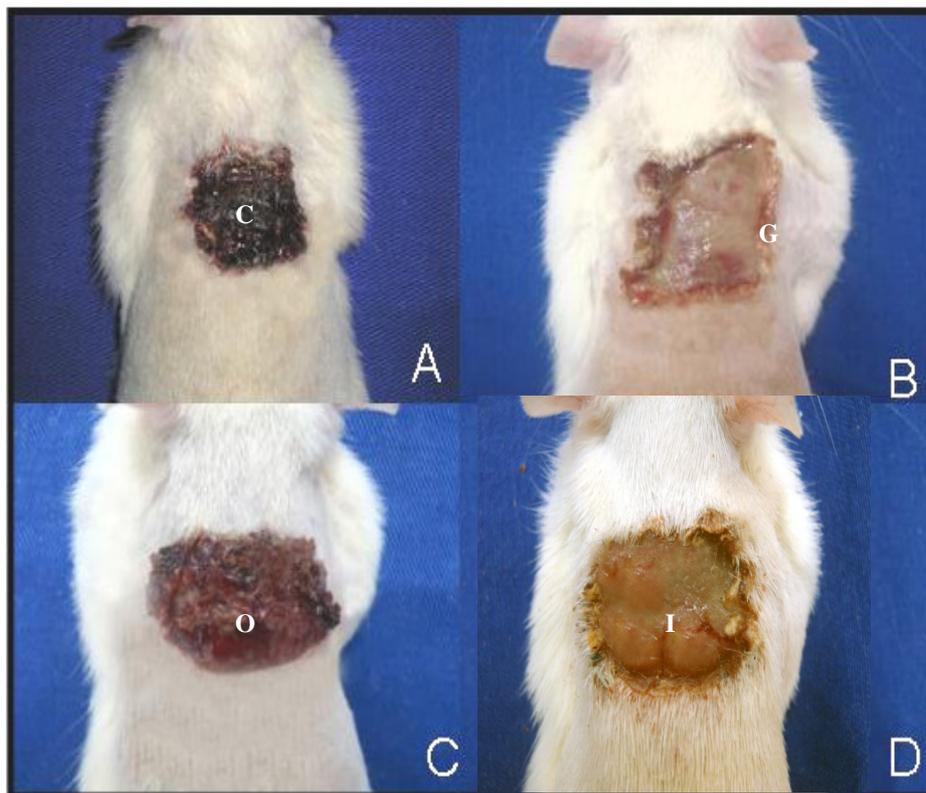


FIGURA 6. Imagem fotográfica das feridas cirúrgicas no dorso de ratos Wistar no 5º dia pós cirúrgico. **A)** controle; **B)** membrana; **C)** óleo e **D)** membrana + óleo; observar as margens das lesões retraídas, em todos os grupos; crostas que cobrem toda a lesão do grupo controle (**c**); tecido de granulação nas margens da ferida do grupo membrana (**G**); algumas crostas e aspecto hiperêmico com tecido de granulação no grupo óleo (**O**) e tecido de granulação intenso no grupo membrana + óleo (**I**).

No sétimo dia de pós-operatório, verificou-se que a retração progrediu nas margens das lesões, além da presença de granulação vermelho brilhante e crostas, principalmente nos grupos controle, membrana e óleo (FIGURA 7).



FIGURA 7. Imagem fotográfica das feridas cirúrgicas no dorso de ratos Wistar no 7º dia pós cirúrgico. **A)** controle; **B)** membrana; **C)** óleo e **D)** membrana + óleo; observar a regressão das margens das lesões de todos os grupos; presença de granulação vermelho brilhante e crostas espessas, principalmente nos grupos controle **(A)** , membrana **(B)** e óleo **(C)**.

Após este período houve espessamento das crostas e retração contínua, ainda com presença de tecido de granulação. No 14º dia as crostas começaram a se destacar evoluindo para a epitelização que se completou no 21º dia, com surgimento de novos pelos ao redor da lesão, em todos os animais (FIGURAS 8 e 9)

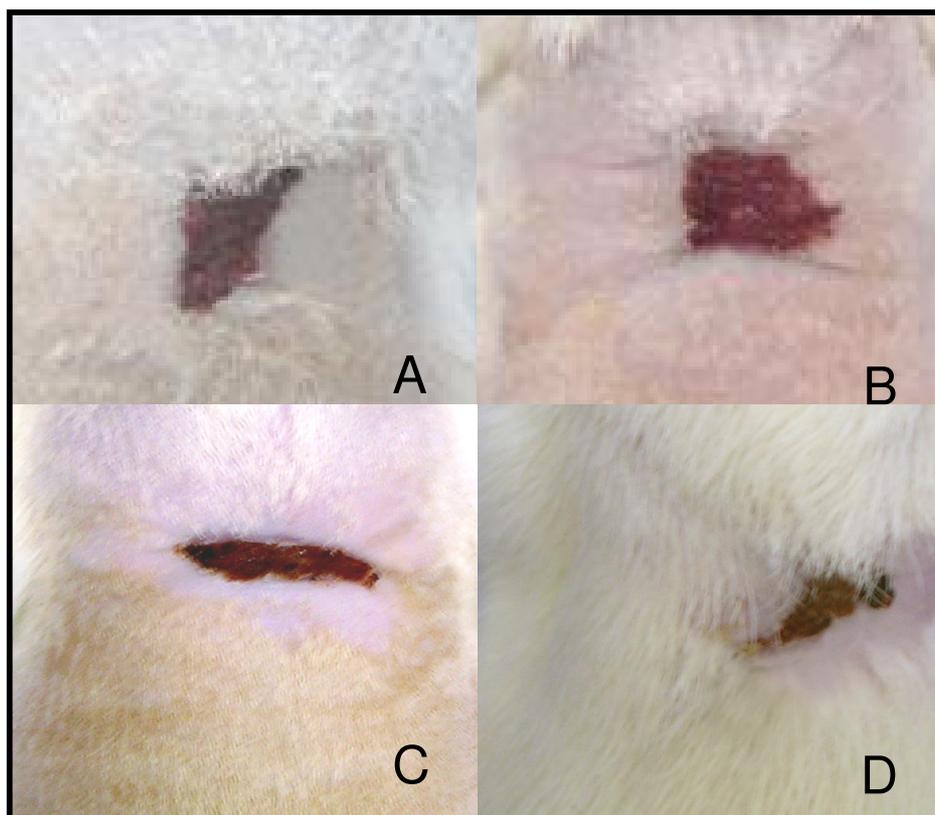


FIGURA 8. Imagem fotográfica das feridas cirúrgicas no dorso de ratos Wistar no 14º dia pós cirúrgico. **A)** controle; **B)** membrana; **C)** óleo e **D)** membrana + óleo; observar a expressiva retração das margens das lesões.



FIGURA 9. Imagem fotográfica das feridas cirúrgicas no dorso de ratos Wistar no 21º dia pós cirúrgico. **A)** controle; **B)** membrana; **C)** óleo e **D)** membrana + óleo; observar a epitelização, praticamente completa nos animais dos grupos controle (**A**) e membrana (**B**).

4.3 Avaliação Microscópica da Região da Ferida Cirúrgica

Nas amostras relativas à aplicação de membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados aos três dias após o procedimento, observadas à microscopia de luz, verificou-se presença de neovasos, infiltrado inflamatório e fibras colágenas neoformadas (Fig. 10).

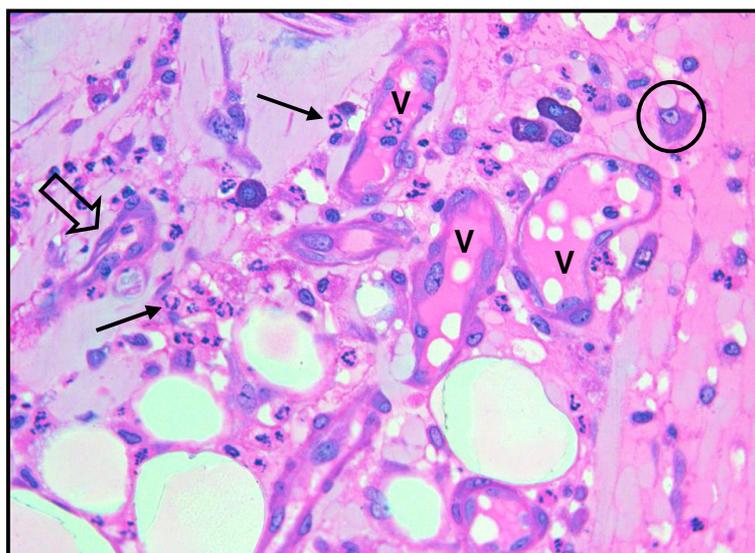


FIGURA 10. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 3º dia após o procedimento. Observa-se neovasos (V), infiltrado inflamatório – neutrófilos (seta); macrófago (círculo) e fibroblasto (seta vasada) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).

Nos ratos eutanasiados aos cinco dias de pós-operatório observou-se no local da lesão, onde foi aplicada a membrana de látex, intensa neovascularização, com expressiva presença de fibroblastos, alguns macrófagos e linfócitos (Figs. 11 e 12).

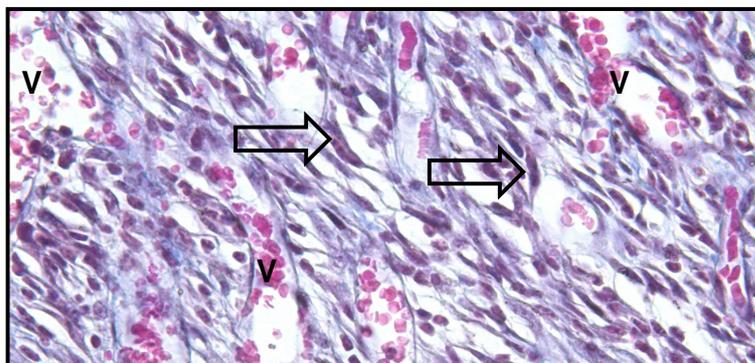


FIGURA 11. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 5º dia após o procedimento. Observa-se grande quantidade de neovasos (V) e fibroblasto (seta vasada) (Paraplast, Tricrômio de Masson, 20X).

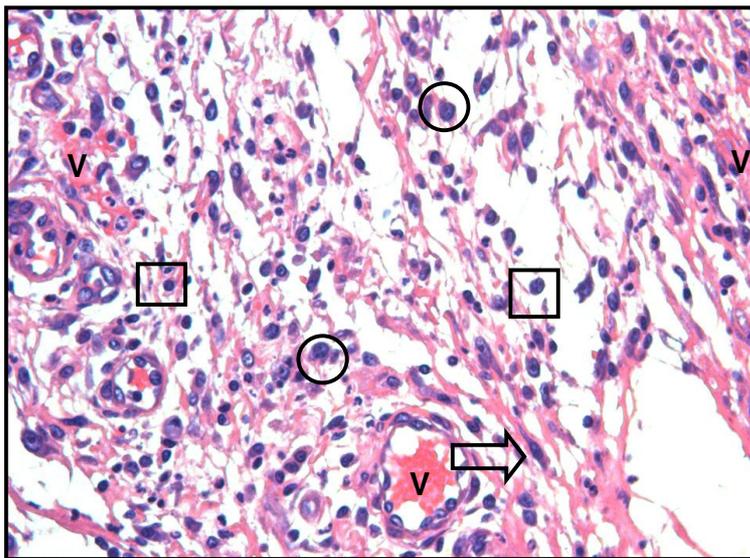


FIGURA 12. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 5º dia após o procedimento. Observam-se intensa neovascularização (V), com expressiva presença de fibroblastos (seta vasada), alguns macrófagos (círculo), linfócitos (quadrado) e neutrófilos (seta) (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X).

Nos sete dias de pós-operatório, evidenciaram-se presença de neovasos, células envolvidas no processo cicatricial, com grande quantidade de fibrócitos entre as fibras colágenas; além de adipócitos (Figs. 13 e 14).

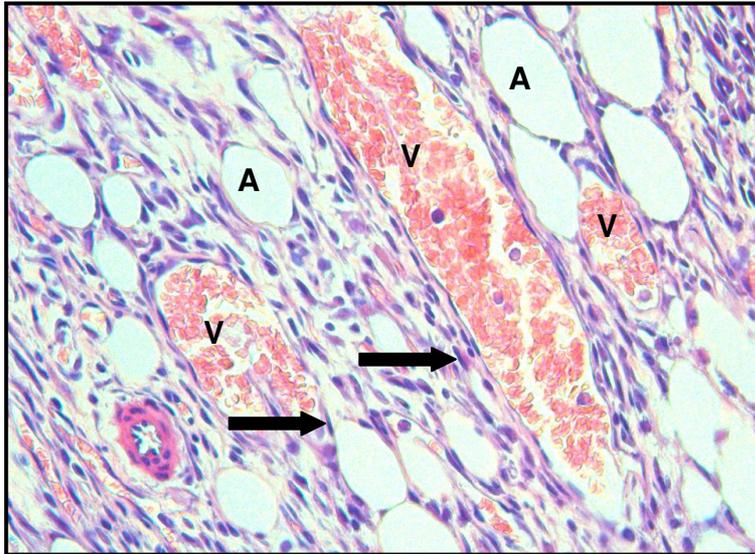


FIGURA 13. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Evidenciou-se neovasos (V), fibrócitos (seta grossa); além de adipócitos (A) (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X).

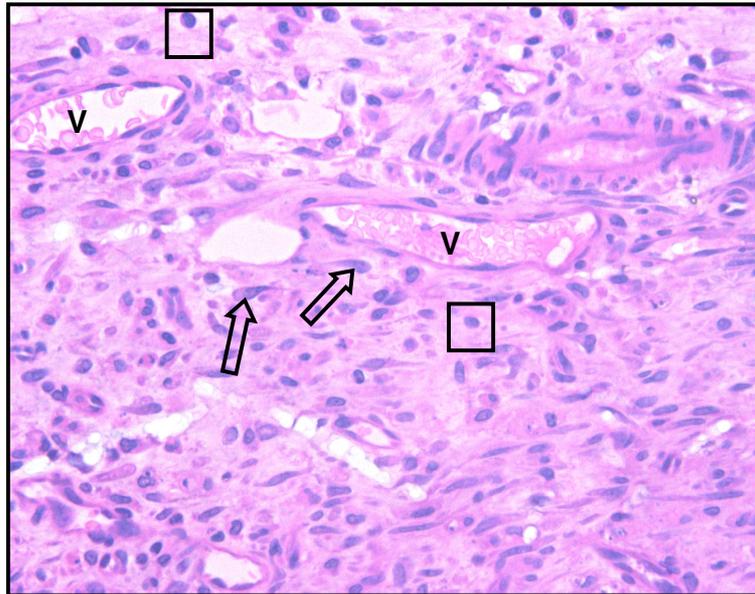


FIGURA 14. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Evidenciou-se neovasos (V), fibroblastos (seta vasada) e linfócitos (quadrado) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).

No 14º dia de pós-operatório, observou-se a ocorrência normal de vasos, fibras colágenas e células do tecido conjuntivo, indicando que houve regeneração da derme; pela presença de grande quantidade de fibrócitos entre as fibras colágenas (Figs. 15 e 16).

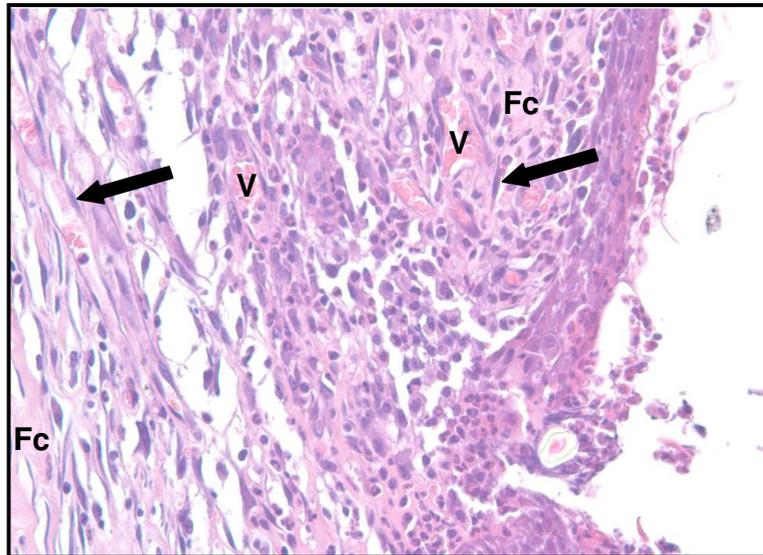


FIGURA 15. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 14º dia após o procedimento. Verificou-se ocorrência normal de vasos (V), fibras colágenas (Fc), fibrócitos (seta grossa), além de células normais do tecido conjuntivo (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X).

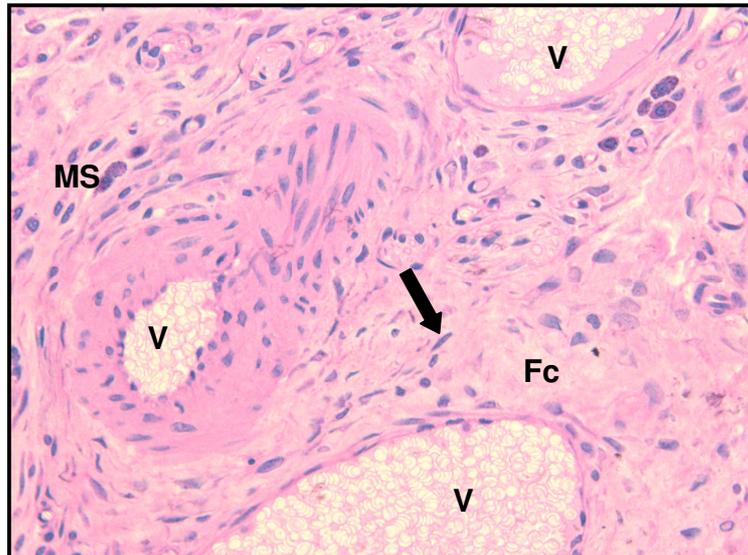


FIGURA 16. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 14º dia após o procedimento. Verificou-se ocorrência de vasos (v), fibras colágenas (Fc), fibrócitos (seta grossa) e mastócito (MS) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).

Nos animais eutanasiados no 21º dia de pós-operatório do grupo Membrana de Látex, comprovou-se regeneração completa da pele, ou seja, da epiderme e da derme. A primeira mostrou-se constituída pelos estratos usuais, os quais invaginaram em direção à derme, originando as cristas epidérmicas; a derme evaginou, dirigindo-se à epiderme, formando as papilas dérmicas. Este entrelaçamento da epiderme e derme possibilita maior aderência entre essas camadas. A derme reticular evidenciou vasos, fibras colágenas, células do conjuntivo, e anexos cutâneos. A hipoderme, rica em adipócitos, além de tecido conjuntivo frouxo, estava presente (Figs. 17 e 18).

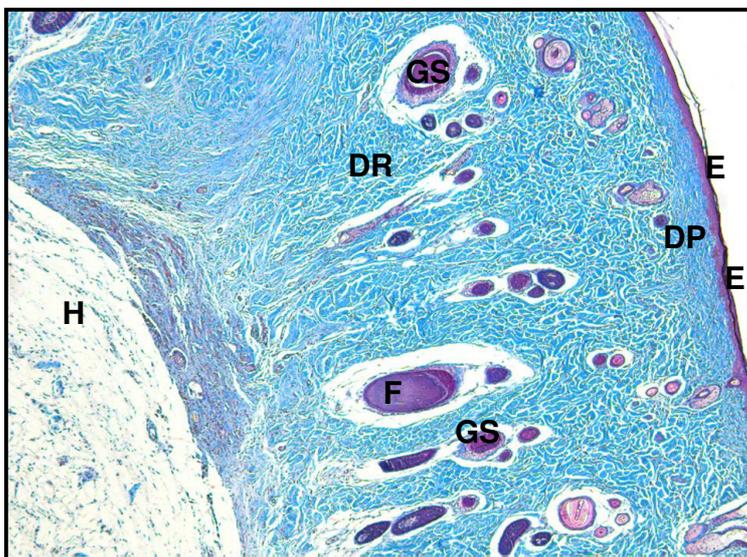


FIGURA 17. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Epiderme regenerada (E), derme reticular (DR), derme papilar (DP) folículo piloso (F), glândula sebácea (GS) e hipoderme (H) (Paraplast, Tricrômio de Masson, 5X).

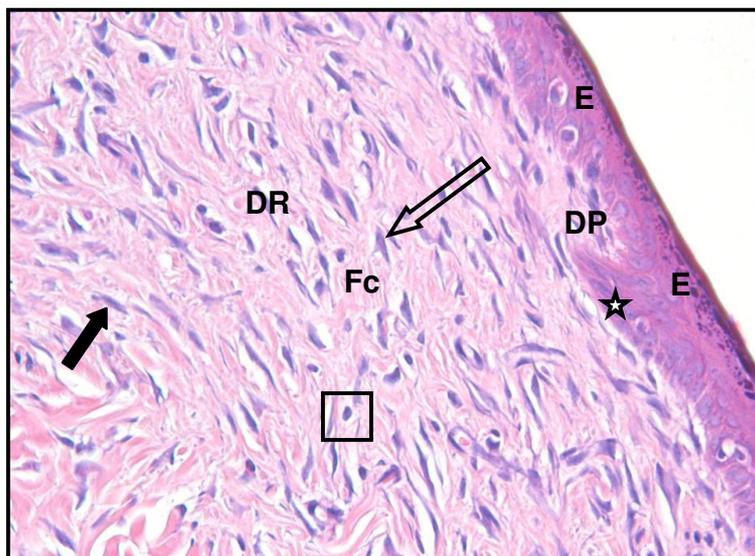


FIGURA 18. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Epiderme regenerada (E), crista epidérmica (estrela), derme papilar (DP), derme reticular (DR), fibras colágenas (Fc), fibroblasto (seta vasada), fibrócito (seta grossa) e linfócito (quadrado) (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X).

Nas amostras relativas à aplicação de óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados aos três dias após o procedimento cirúrgico verificou-se à microscopia de luz, ausência do epitélio; infiltrado inflamatório e fibras colágenas (Fig. 19).

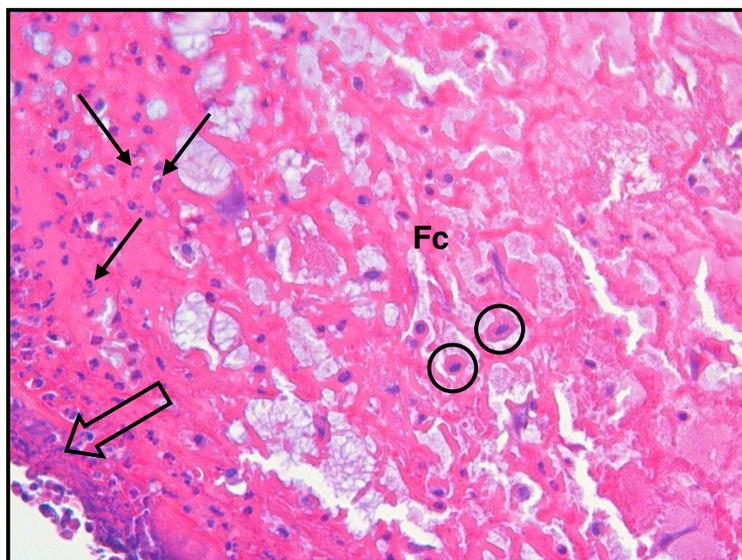


FIGURA 19. Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 3º dia após o procedimento. Ausência de epiderme (seta vasada), fibras colágenas (Fc), neutrófilos (seta), macrófagos (círculo). (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X).

No quinto dia após o procedimento cirúrgico, nas amostras referentes à aplicação de óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados mostraram a presença de grande quantidade de neovasos, alguns fibroblastos fibrócitos, neutrófilos, macrófagos e linfócitos entre as fibras colágenas da derme reticular. (Fig 20).

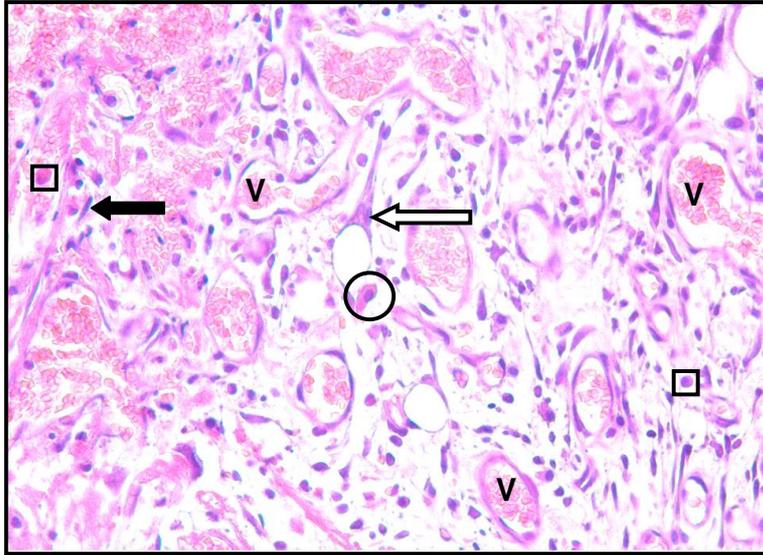


FIGURA 20. Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 5º dia após o procedimento. Observa-se expressiva quantidade de vasos (V), fibroblasto (seta vasada), fibrócito (seta grossa), macrófago (círculo), linfócito (quadrado) (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 40X).

As amostras relativas à aplicação de óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no sétimo dia após o procedimento cirúrgico, apresentaram intensa vascularização, fibras colágenas, grande quantidade de células inflamatórias, além daquelas de ocorrência normal no tecido conjuntivo. (Figs. 21 e 22).

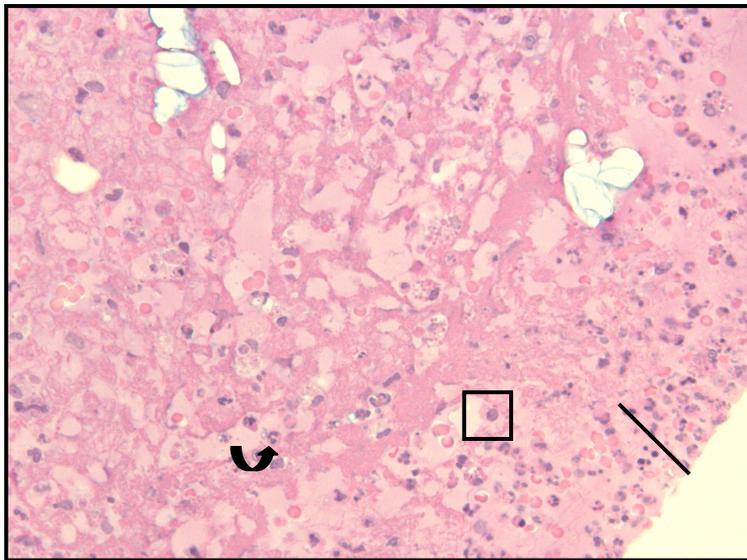


FIGURA 21. Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Observa-se presença de linfócito (quadrado), desorganização epitelial com presença de grande quantidade de células inflamatórias (traço) e eosinófilo (seta curvada) (Historesina, Tricrômio de Masson, 40X).

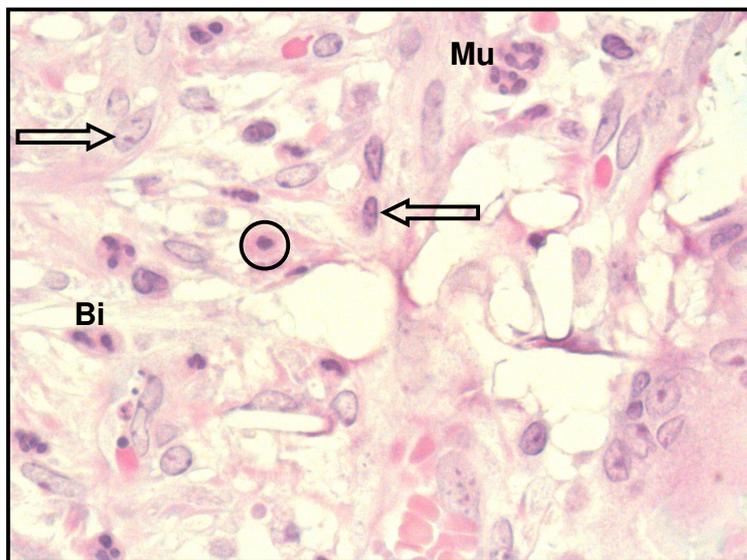


FIGURA 22. Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Presença de célula gigante binucleada (Bi), célula gigante multinucleada (Mu), macrófago (círculo) e fibroblasto (seta curvada) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).

As amostras alusivas à aplicação de óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 14º dia após o procedimento cirúrgico, indicaram regeneração dérmica constatada pela presença de fibras colágenas, fibrócito, macrófago e linfócito, as quais são de ocorrência normal no tecido conjuntivo. (Fig 23).

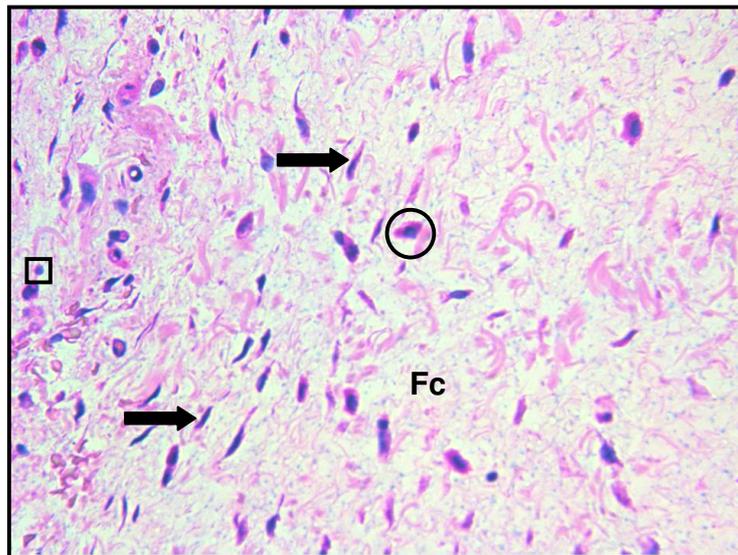


FIGURA 23. Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados ao 14º dia após o procedimento. Observa-se a presença de fibras colágenas (Fc), fibrócito (seta grossa), macrófago (círculo), linfócito (quadrado) e células de ocorrência normal no tecido conjuntivo. (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).

Nas amostras relativas à aplicação de óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dias após o procedimento cirúrgico, comprovou-se a ausência de regeneração epidérmica, enquanto que a derme mostrou-se com aspecto histológico normal, pela presença de fibras colágenas, núcleos de células do tecido conjuntivo, anexos cutâneos, além de vasos. (Figs. 24 e 25).

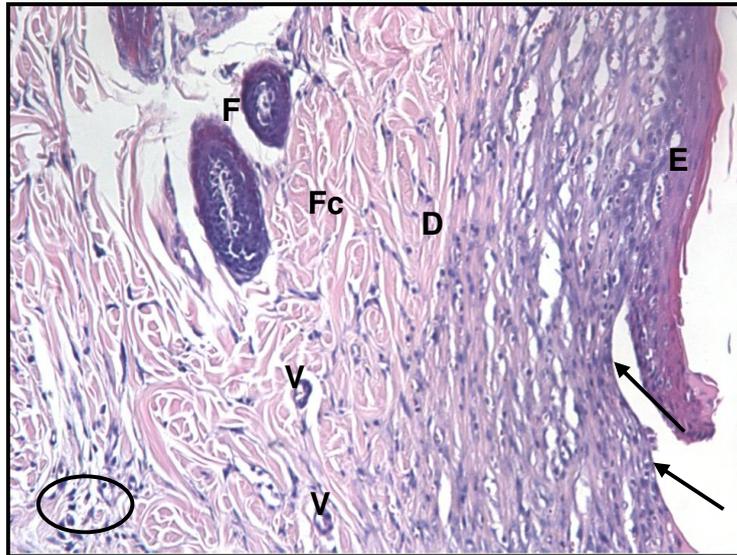


FIGURA 24. Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Nota-se ausência de regeneração epidérmica (seta), epiderme (E) com aspecto histológico normal, pela presença de fibras colágenas (Fc), derme (D), núcleos de células do tecido conjuntivo (elipse), folículo piloso (F), além de vasos (V). (Paraplast, Hematoxilina Eosina, 20X).

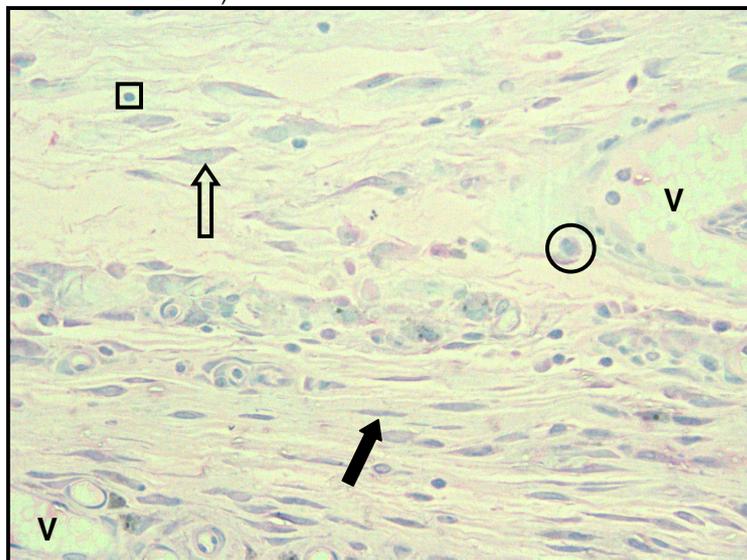


FIGURA 25. Fotomicrografia da região de aplicação do óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Observa-se presença de linfócito (quadrado), macrófago (círculo), vaso (V), fibroblasto (seta vasada) e fibrócito (seta grossa) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).

Nas amostras relativas à aplicação de membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados aos três dias após o procedimento cirúrgico, observou-se à microscopia de luz, grande quantidade de macrófagos além da presença de mastócitos e linfócitos; também se observou neovasos e neutrófilos (Fig. 26).

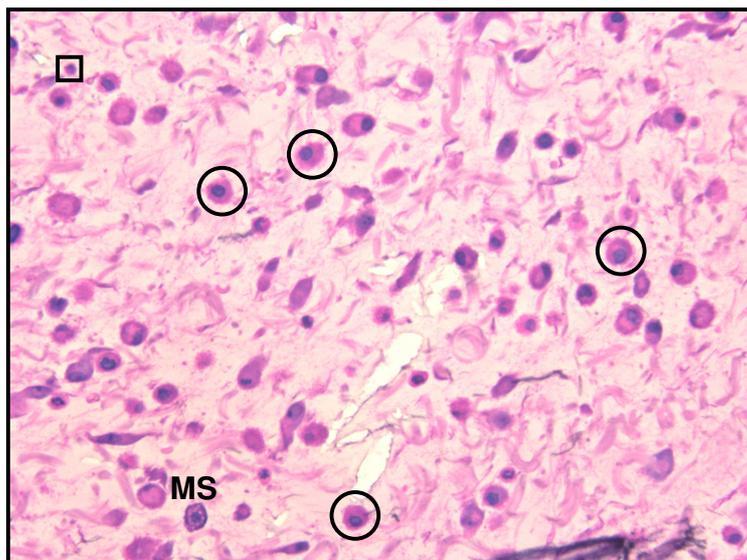


FIGURA 26. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 3º dia após o procedimento. Observa-se grande quantidade de macrófagos (círculo), mastócito (MS) e linfócito (quadrado) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).

Nas amostras relativas à aplicação de membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados aos cinco dias após o procedimento cirúrgico, observou-se à microscopia de luz, grande quantidade de neovasos, além de macrófago, mastócitos e fibroblastos (Fig. 27).

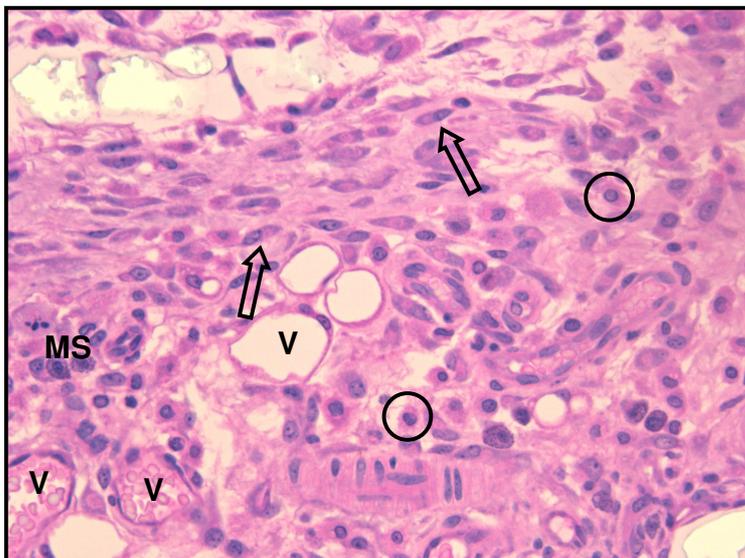


FIGURA 27. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 5º dia após o procedimento. Observa-se presença de neovasos (V), macrófago (círculo), mastócitos (MS) e fibroblastos (seta vasada) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).

Nas amostras relativas à aplicação de membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados aos sete dias após o procedimento cirúrgico, observou-se à microscopia de luz, presença de grande quantidade de neutrófilos e vasos; também se verificou presença de fibroblasto, macrófago, plasmócito e adipócito (Figs. 28 e 29).

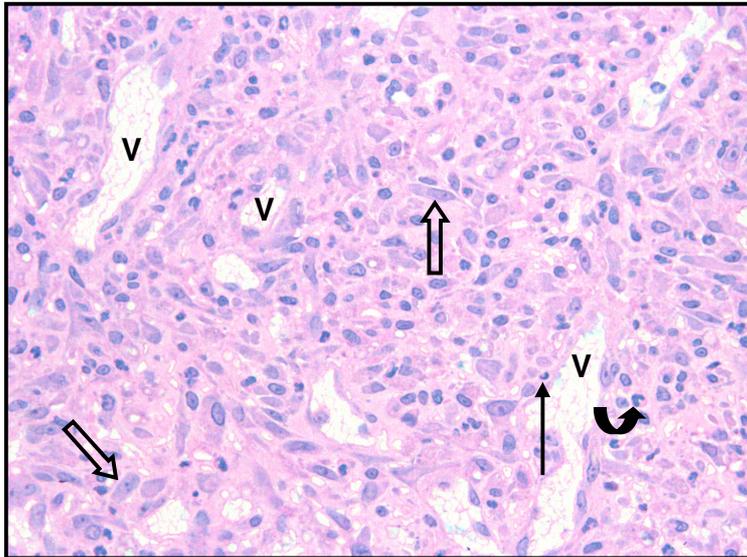


FIGURA 28. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Observa-se presença de fibroblastos (seta vasada), neutrófilo (seta), vasos (V) e eosinófilo (seta curvada) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).

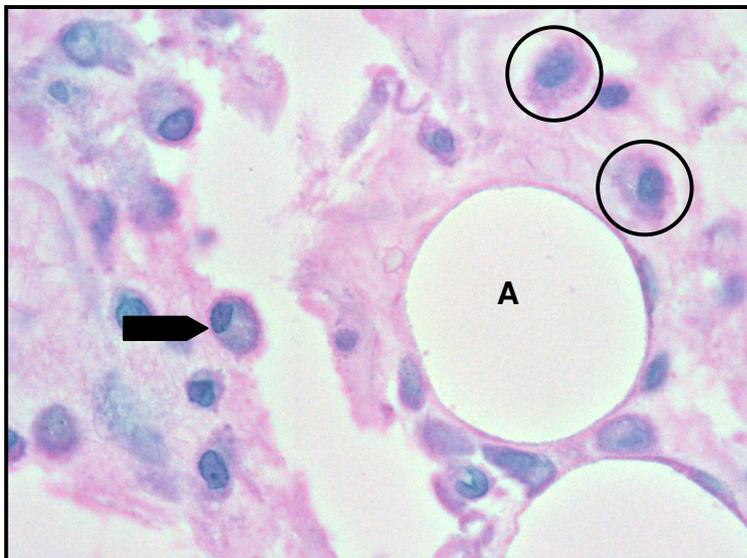


FIGURA 29. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Observa-se presença de macrófago (círculo), plasmócito (pentágono) e adipócito (A) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 100X).

Nas amostras relativas à aplicação de membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados aos quatorze dias após o procedimento cirúrgico, observou-se à microscopia de luz, epiderme em reorganização e presença de fibras colágenas (Fig. 30).

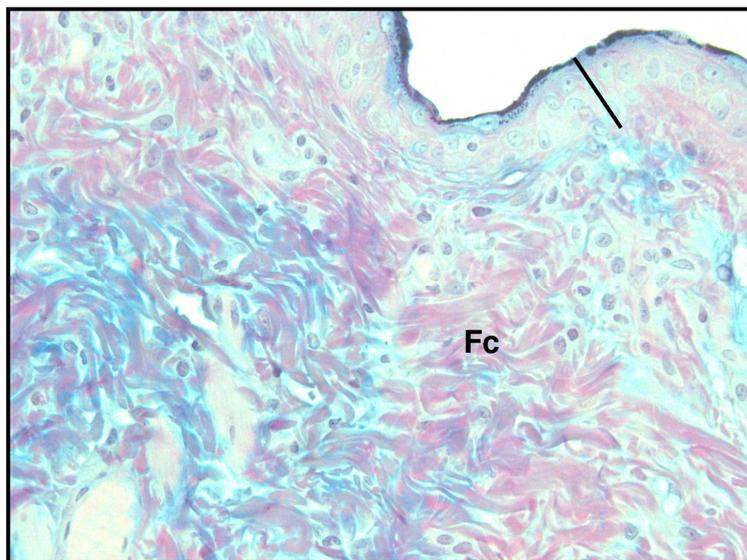


FIGURA 30. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 14º dia após o procedimento. Observa-se epiderme em reorganização (traço) e fibras colágenas (Fc) (Historesina, Tricrômio de Masson, 40X).

Nas amostras relativas à aplicação de membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados aos vinte e um dias após o procedimento cirúrgico, observou-se à microscopia de luz, tecido epitelial em organização, fibras colágenas e folículo piloso; também se verificou grande quantidade de linfócitos e fibrócitos (Figs. 31 e 32).

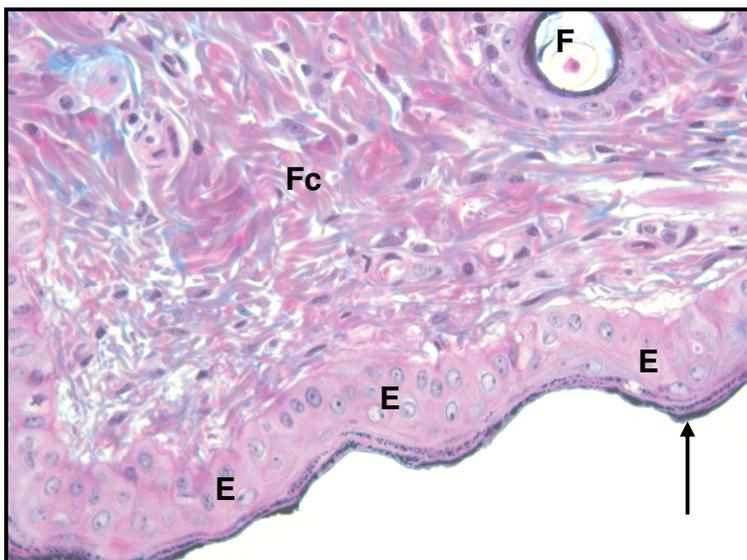


FIGURA 31. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Observa-se epiderme reconstituída (E) com presença de extrato córneo (seta), fibras colágenas organizadas (Fc) e folículo piloso (F) (Histoiresina, Tricrômio de Masson, 40X).

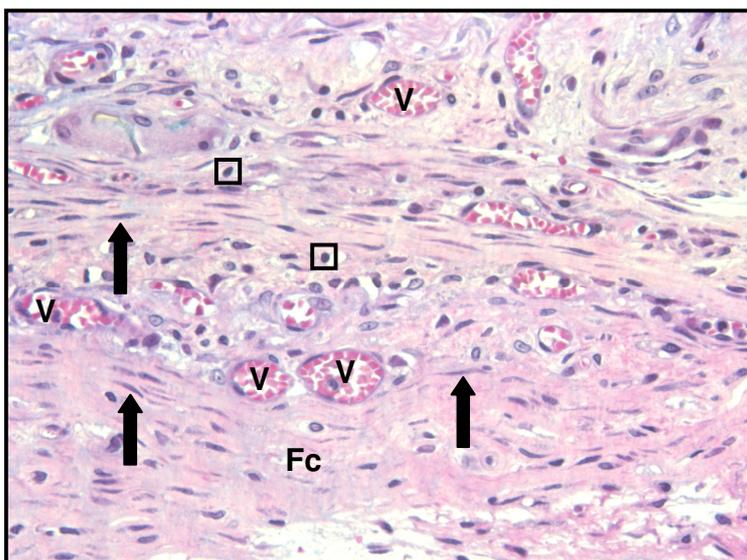


FIGURA 32. Fotomicrografia da região de aplicação da membrana de látex e óleo de rã na lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Observa-se grande quantidade de linfócitos (quadrado) e de fibrócitos (seta grossa), fibras colágenas (Fc) e grande quantidade de vasos (V) (Histoiresina, Tricrômio de Masson, 40X).

Nas amostras relativas ao grupo controle, no terceiro dia após o procedimento cirúrgico, observou-se à microscopia de luz, presença de grande quantidade de células inflamatórias, principalmente neutrófilos, além de eosinófilo e linfócito; constatou-se também a ocorrência de neovasos. (Fig. 33).

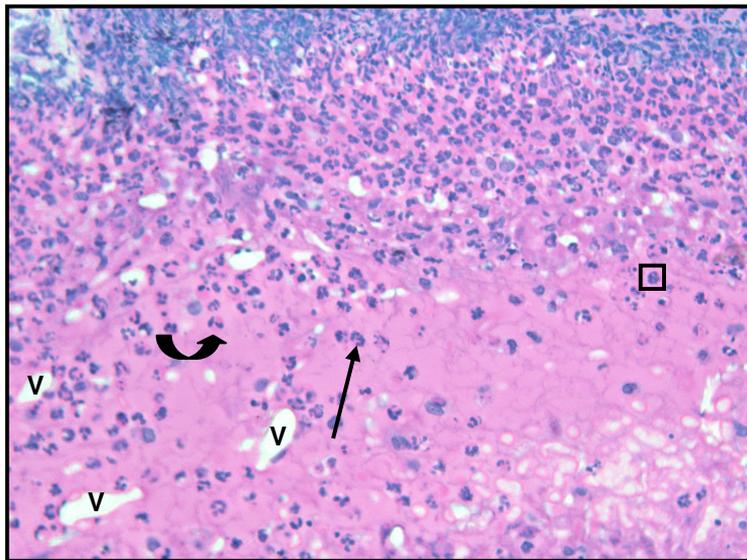


FIGURA 33. Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 3^o dia após o procedimento. Observa-se presença de eosinófilo (seta curvada), neutrófilo (seta), linfócito (quadrado) e vasos (V) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).

Nas amostras relativas ao grupo controle, aos cinco dias após o procedimento cirúrgico, observou-se à microscopia de luz, desorganização da epiderme além de fibroblastos, plasmócito e macrófago (Fig. 34).

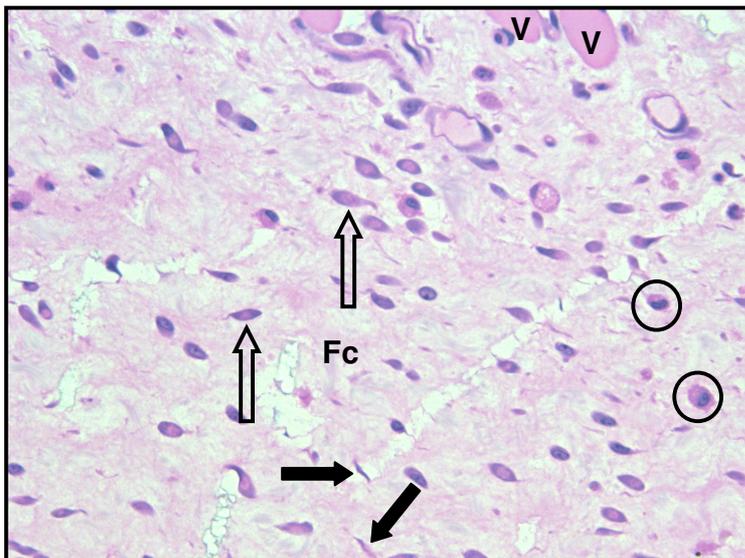


FIGURA 34. Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 5º dia após o procedimento. Observa-se presença de fibroblastos (seta vasada), fibrócitos (seta grossa), fibras colágenas (Fc), vasos (V) e macrófago (círculo) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).

Nas amostras relativas ao grupo controle, aos sete dias após o procedimento cirúrgico, observou-se à microscopia de luz, grande quantidade de neutrófilos, além de vasos (Fig. 35).

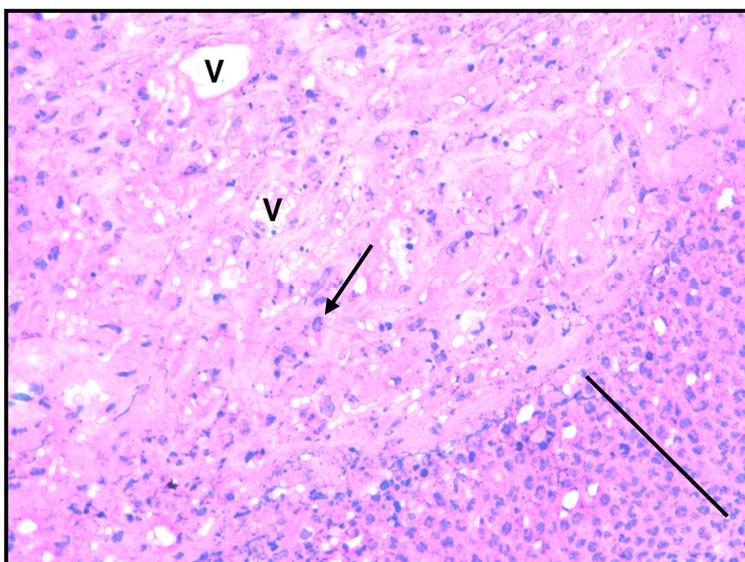


FIGURA 35. Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 7º dia após o procedimento. Observam-se infiltração de células inflamatórias principalmente neutrófilos (traço), neutrófilo (seta) e vasos (V) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).

Nas amostras relativas ao grupo controle, aos quatorze dias após o procedimento cirúrgico, observou-se à microscopia de luz, presença de macrófago, vasos, fibrócitos, eosinófilos e linfócitos (Fig. 36).

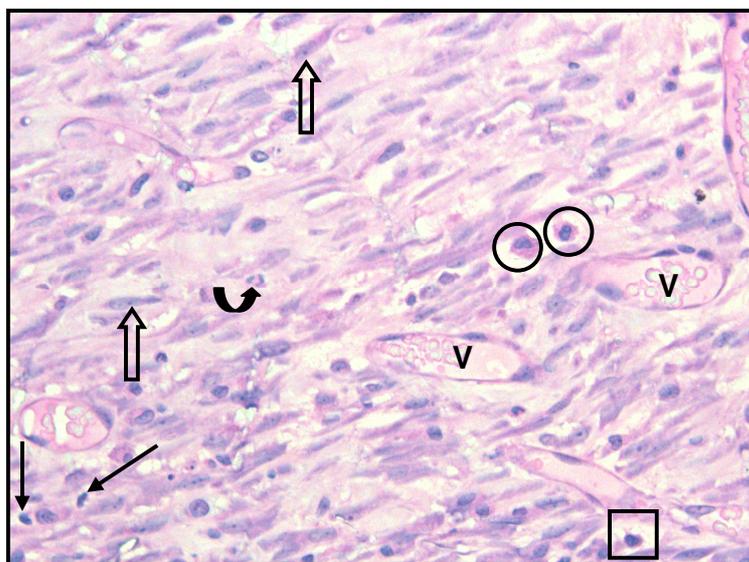


FIGURA 36. Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 14º dia após o procedimento. Observa-se macrófago (círculo), vasos (V), fibroblasto (seta vasada), eosinófilo (seta curvada), linfócito (quadrado) e neutrófilo (seta) (Historesina, Hematoxilina Floxina, 40X).

Nas amostras relativas ao grupo controle, aos vinte e um dias após o procedimento cirúrgico, observou-se à microscopia de luz, epiderme em reorganização, macrófago, mastócito e fibras colágenas (Figs. 37 e 38).

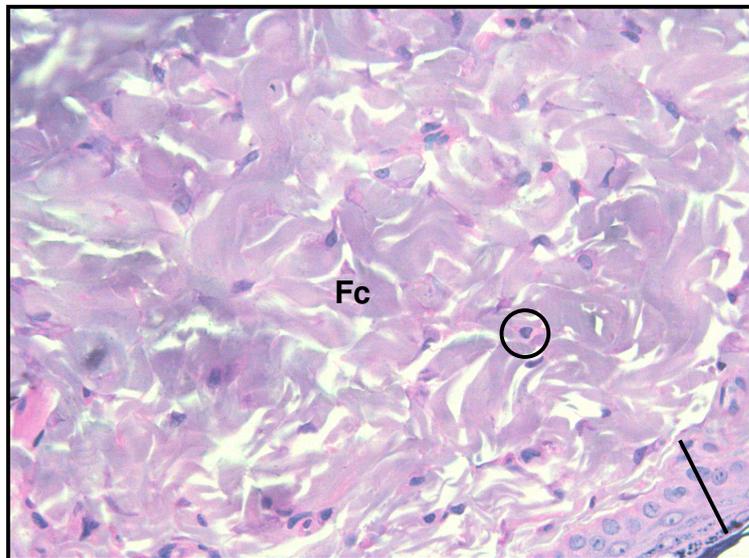


FIGURA 37. Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Observa-se epiderme em reorganização (traço) macrófago (círculo) e fibras colágenas (Fc) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 40X).

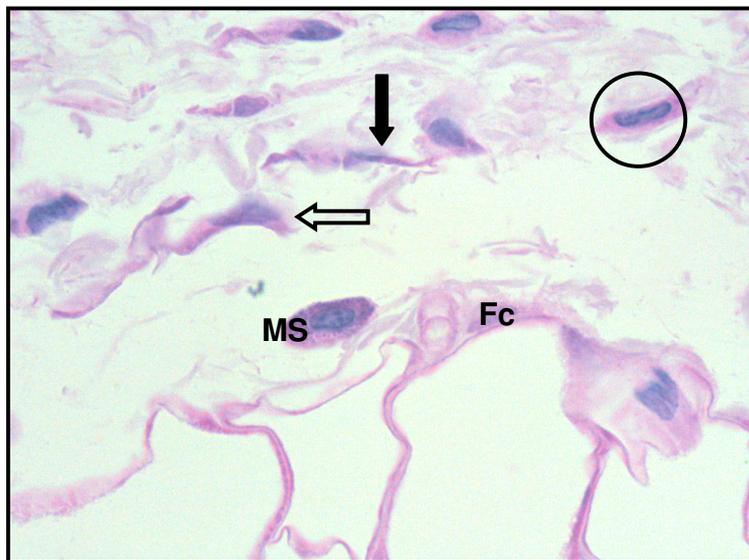


FIGURA 38. Fotomicrografia da região da lesão cutânea do dorso, dos animais eutanasiados no 21º dia após o procedimento. Observa-se macrófago (círculo), mastócito (MS), fibrócito (seta grossa), fibroblasto (seta vasada) e fibras colágenas (Fc) (Histoiresina, Hematoxilina Floxina, 100X).

4.4 Avaliação Estereológica e Estatística

Os valores obtidos mediante cálculo $Nv = \sum Q^{-} / \sum V$, referentes à densidade numérica (Nv) dos diferentes tipos celulares e vasos sanguíneos, presentes nos dias três, cinco, sete, 14 e 21 de pós-operatório estão registrados nas tabelas 1, 2, 3, 4, assim como as análises estatísticas desses dados, na tabela 5 e na figura 39.

TABELA 1: Registros referentes à densidade numérica (Nv) do Grupo Controle (GC) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Nv 1/mm ³				
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	0,750	1,833	1,083	1,000	4,417
5	2,667	1,833	2,583	2,917	3,583
7	2,583	1,917	1,583	2,167	2,000
14	3,500	1,500	1,750	1,250	1,083
21	2,333	0,833	1,750	0,750	0,500

TABELA 2: Registros referentes à densidade numérica (Nv) do Grupo Membrana de Látex (GM) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Nv 1/mm ³				
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	1,417	2,417	1,500	1,750	6,500
5	2,000	2,833	3,083	4,083	2,583
7	3,417	4,500	1,750	2,333	1,583
14	3,083	3,417	2,000	1,333	0,917
21	1,750	1,583	0,917	0,417	0,250

TABELA 3: Registros referentes à densidade numérica (Nv) do Grupo Óleo (GO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Nv 1/mm ³				
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	1,083	1,583	1,333	1,167	7,833
5	2,667	2,167	2,083	3,083	3,250
7	2,083	1,417	1,750	1,583	0,750
14	1,500	1,250	0,917	1,083	0,333
21	2,417	0,667	1,167	0,500	0,333

TABELA 4: Registros referentes à densidade numérica (Nv) do Grupo Membrana de Látex e Óleo de Rã (GMO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Nv 1/mm ³				
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	0,917	1,417	1,167	4,333	3,500
5	1,917	2,583	1,833	2,833	2,917
7	1,833	1,750	0,917	1,750	3,250
14	2,333	1,417	1,083	0,750	0,583
21	2,583	2,083	0,917	0,583	0,750

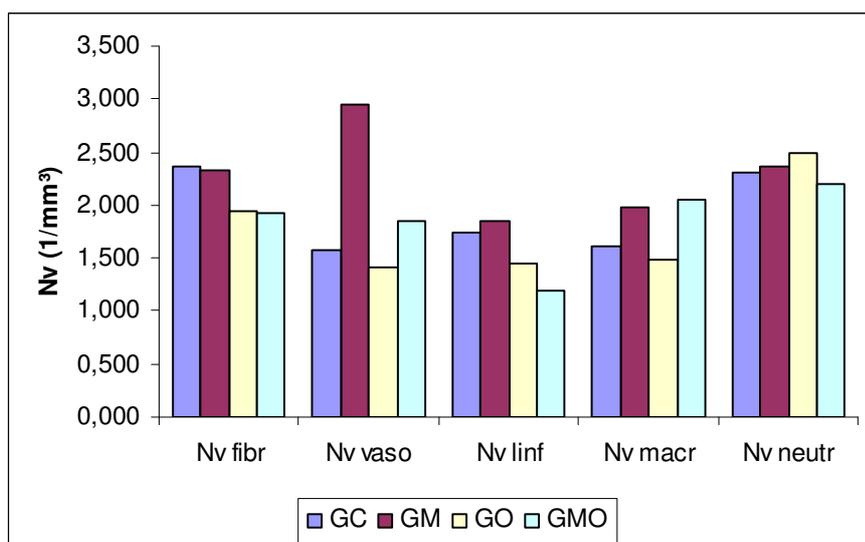


Figura 39: Gráfico representativo dos valores médios da densidade numérica (Nv) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, dos grupos Controle (GC), Membrana (GM), Óleo (GO) e Membrana e Óleo (GMO).

TABELA 5: Registros referentes à média, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação da densidade numérica (Nv), de todos os grupos, dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilos. Jaboticabal, 2008.

Nv (1/mm ³)	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Coeficiente de variação (%)
Fibroblastos				
GC	2,367 a	0,449	1,005	42,4
GM	2,333 a	0,389	0,870	37,3
GO	1,917 a	0,292	0,653	33,5
GMO	1,950 a	0,285	0,637	33,2
Vasos				
GC	1,583 b	0,201	0,449	28,4
GM	2,950 a	0,489	1,094	37,1
GO	1,417 b	0,243	0,543	38,3
GMO	1,850 ab	0,221	0,494	26,7
Linfócitos				
GC	1,750 a	0,242	0,540	30,9
GM	1,850 a	0,357	0,798	43,1
GO	1,450 a	0,208	0,466	32,1
GMO	1,183 a	0,169	0,379	32,0
Macrófagos				
GC	1,617 a	0,404	0,903	55,8
GM	1,983 a	0,611	1,366	68,9
GO	1,483 a	0,436	0,974	65,7
GMO	2,050 a	0,698	1,562	76,2
Neutrófilos				
GC	2,317 a	0,740	1,654	71,4
GM	2,367 a	1,103	2,466	104,2
GO	2,500 a	1,440	3,219	128,8
GMO	2,200 a	0,633	1,416	64,4

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Avaliando estatisticamente os valores médios de densidade numérica (Nv) de cada um dos grupos avaliados, verificou-se que a densidade numérica de vasos foi significativamente maior principalmente no grupo membrana (GM) e, em parte, no grupo membrana e óleo (GMO).

Os valores obtidos mediante cálculo: $Vv \text{ (p.c.)} = \frac{P \text{ (p.c.)}}{Pt}$, referentes à densidade de volume (Vv) dos diferentes tipos celulares e vasos sanguíneos, presentes nos dias três, cinco, sete, 14 e 21 de pós-operatório estão registrados nas tabelas 6, 7, 8 e 9 assim como as análises estatísticas desses dados, na tabela 10 e na figura 40.

TABELA 6: Registros referentes à densidade de volume (Vv) do Grupo Controle (GC) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Vv %	Vv %	Vv %	Vv %	Vv %
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	0,012	0,042	0,030	0,024	0,131
5	0,095	0,060	0,065	0,054	0,095
7	0,077	0,071	0,030	0,048	0,065
14	0,095	0,036	0,060	0,024	0,030
21	0,071	0,024	0,030	0,018	0,012

TABELA 7: Registros referentes à densidade de volume (Vv) do Grupo Membrana de Látex (GM) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Vv %	Vv %	Vv %	Vv %	Vv %
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	0,036	0,089	0,024	0,030	0,113
5	0,060	0,125	0,054	0,071	0,065
7	0,101	0,131	0,042	0,060	0,048
14	0,071	0,113	0,048	0,042	0,018
21	0,083	0,065	0,018	0,012	0,006

TABELA 8: Registros referentes à densidade de volume (Vv) do Grupo Óleo de Rã (GO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos e Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Vv %	Vv %	Vv %	Vv %	Vv %
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	0,024	0,048	0,030	0,018	0,125
5	0,083	0,071	0,048	0,054	0,083
7	0,071	0,048	0,048	0,036	0,012
14	0,054	0,024	0,018	0,030	0,006
21	0,095	0,012	0,030	0,006	0,006

TABELA 9: Registros referentes à densidade de volume (Vv) do Grupo Membrana de Látex e Óleo de Rã (GMO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Vv %	Vv %	Vv %	Vv %	Vv %
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	0,024	0,060	0,030	0,095	0,101
5	0,054	0,113	0,060	0,048	0,077
7	0,077	0,060	0,030	0,071	0,089
14	0,065	0,048	0,024	0,030	0,018
21	0,101	0,077	0,030	0,018	0,012

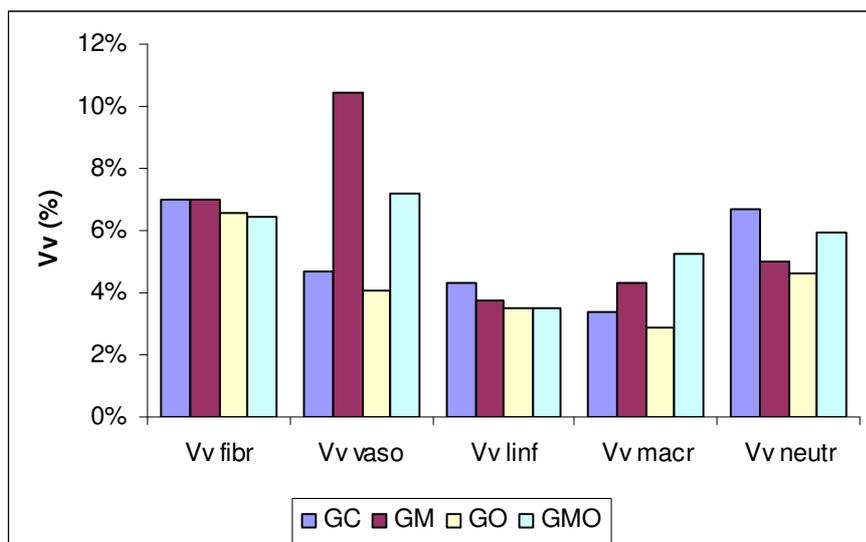


Figura 40: Gráfico representativo dos valores médios da densidade de volume (Vv) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, dos grupos Controle (GC), Membrana (GM), Óleo (GO) e Membrana e Óleo (GMO).

TABELA 10: Registros referentes à média, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação da densidade volume (Vv), de todos os grupos, dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilos. Jaboticabal, 2008.

Vv (%)	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Coeficiente de variação (%)
Fibroblastos				
GC	0,070 a	0,015	0,034	48,8
GM	0,070 a	0,011	0,024	34,8
GO	0,065 a	0,012	0,028	42,3
GMO	0,064 a	0,013	0,028	44,3
Vasos				
GC	0,047 b	0,008	0,019	40,4
GM	0,105 a	0,012	0,027	26,2
GO	0,041 b	0,010	0,023	56,8
GMO	0,072 ab	0,011	0,025	35,4
Linfócitos				
GC	0,043 a	0,008	0,018	41,6
GM	0,037 a	0,007	0,016	41,7
GO	0,035 a	0,006	0,013	37,4
GMO	0,035 a	0,006	0,014	41,2
Macrófagos				
GC	0,034 a	0,007	0,016	48,2
GM	0,043 a	0,010	0,023	54,6
GO	0,029 a	0,008	0,018	63,2
GMO	0,052 a	0,014	0,031	59,3
Neutrófilos				
GC	0,067 a	0,022	0,048	72,3
GM	0,050 a	0,019	0,042	84,6
GO	0,046 a	0,024	0,055	117,9
GMO	0,059 a	0,019	0,041	69,8

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Avaliando estatisticamente os valores médios da densidade de volume (Vv) de cada um dos grupos avaliados, verificou-se que a densidade de volume de vasos foi significativamente maior principalmente no grupo membrana (GM) e, em parte, no grupo membrana e óleo (GMO).

Os valores obtidos mediante cálculo: $V(p.c.) = \frac{Vv(p.c.)}{Nv(p.c.)}$, referentes ao

volume celular médio (Vol.) dos diferentes tipos celulares e vasos sanguíneos, presentes nos dias três, cinco, sete, 14 e 21 de pós-operatório estão registrados nas tabelas 11, 12, 13 e 14 assim como as análises estatísticas desses dados, na tabela 15 e na figura 41.

TABELA 11: Registros referentes ao volume celular médio (Vol) do Grupo Controle (GC) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Vol um ³				
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	0,016	0,023	0,027	0,024	0,030
5	0,036	0,032	0,025	0,018	0,027
7	0,030	0,037	0,019	0,022	0,033
14	0,027	0,024	0,034	0,019	0,027
21	0,031	0,029	0,017	0,024	0,024

TABELA 12: Registros referentes ao volume celular médio (Vol) do Grupo Membrana de Látex (GM) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Vol um ³				
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	0,025	0,037	0,016	0,017	0,017
5	0,030	0,044	0,017	0,017	0,025
7	0,030	0,029	0,024	0,026	0,030
14	0,023	0,033	0,024	0,031	0,019
21	0,048	0,041	0,019	0,029	0,024

TABELA 13: Registros referentes ao volume celular médio (Vol) do Grupo Óleo de Rã (GO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Vol um ³				
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	0,022	0,030	0,022	0,015	0,016
5	0,031	0,033	0,023	0,017	0,026
7	0,034	0,034	0,027	0,023	0,016
14	0,036	0,019	0,019	0,027	0,018
21	0,039	0,018	0,026	0,012	0,018

TABELA 14: Registros referentes ao volume celular médio (Vol) do Grupo Membrana de Látex e Óleo de Rã (GMO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	Vol um ³				
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	0,026	0,042	0,026	0,022	0,029
5	0,028	0,044	0,032	0,017	0,027
7	0,042	0,034	0,032	0,041	0,027
14	0,028	0,034	0,022	0,040	0,031
21	0,039	0,037	0,032	0,031	0,016

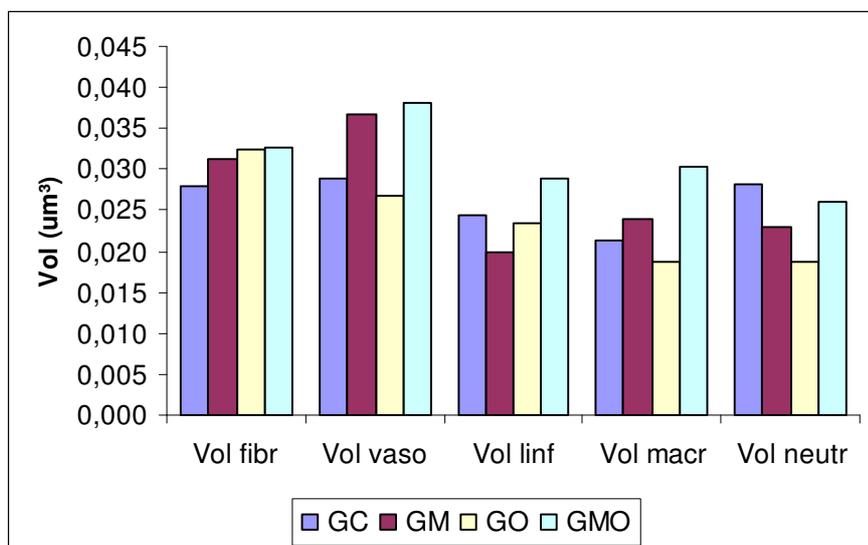


Figura 41: Gráfico representativo dos valores médios do volume celular médio (Vol.) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, dos grupos Controle (GC), Membrana (GM), Óleo (GO) e Membrana e Óleo (GMO).

TABELA 15: Registros referentes à média, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação do volume celular médio (Vol), de todos os grupos, dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilos. Jaboticabal, 2008.

Vol (μm^3)	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Coeficiente de variação (%)
Fibroblastos				
GC	0,028 a	0,003	0,007	26,6
GM	0,031 a	0,004	0,010	31,7
GO	0,032 a	0,003	0,007	20,1
GMO	0,033 a	0,003	0,007	22,5
Vasos				
GC	0,029 ab	0,003	0,006	20,0
GM	0,037 ab	0,003	0,006	16,3
GO	0,027 b	0,003	0,008	28,8
GMO	0,038 a	0,002	0,005	12,1
Linfócitos				
GC	0,024 ab	0,003	0,007	27,7
GM	0,020 b	0,002	0,004	19,0
GO	0,023 ab	0,001	0,003	13,7
GMO	0,029 a	0,002	0,005	16,0
Macrófagos				
GC	0,021 a	0,001	0,003	13,1
GM	0,024 a	0,003	0,007	27,6
GO	0,019 a	0,003	0,006	32,4
GMO	0,030 a	0,005	0,011	35,3
Neutrófilos				
GC	0,028 a	0,002	0,003	12,1
GM	0,023 ab	0,002	0,005	22,4
GO	0,019 b	0,002	0,004	22,1
GMO	0,026 ab	0,003	0,006	22,4

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Avaliando estatisticamente os valores médios do volume celular médio (Vol) de cada um dos grupos avaliados, verificou-se que o volume de vasos foi significativamente maior principalmente no grupo membrana e óleo (GMO) e, em parte, no grupo membrana (GM) e grupo controle (GC). Quanto ao volume de linfócitos esses foram significativamente maior no grupo membrana e óleo (GMO) e em parte nos grupos controle (GC) e óleo (GO). Em relação ao volume de neutrófilos, esses foram significativamente maior no grupo controle (GC) e em parte nos grupos membrana e óleo (GMO) e membrana (GM).

Os valores obtidos mediante o cálculo $N = N_v \times Vol$, referentes ao número total de partículas (N) dos diferentes tipos celulares e vasos sanguíneos presentes nos dias três, cinco, sete, 14 e 21 de pós-operatório estão registrados nas tabelas 16, 17, 18 e 19 assim como as análises estatísticas desses dados, na tabela 20 e na figura 42.

TABELA 16: Registros referentes ao número total (N) do Grupo Controle (GC) dos: fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	N	N	N	N	N
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	3,008	7,352	4,344	4,010	17,711
5	10,693	7,352	10,359	11,696	14,369
7	10,359	7,686	6,349	8,688	8,020
14	14,035	6,015	7,018	5,013	4,344
21	9,357	3,342	7,018	3,008	2,005

TABELA 17: Registros referentes ao número total (N) do Grupo Membrana de Látex (GM) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	N	N	N	N	N
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	5,681	9,691	6,015	7,018	26,065
5	8,020	11,362	12,364	16,374	10,359
7	13,701	18,045	7,018	9,357	6,349
14	12,364	13,701	8,020	5,347	3,676
21	7,018	6,349	3,676	1,671	1,003

TABELA 18: Registros referentes ao número total (N) do Grupo Óleo de Rã (GO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	N	N	N	N	N
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	4,344	6,349	5,347	4,678	31,412
5	10,693	8,688	8,354	12,364	13,033
7	8,354	5,681	7,018	6,349	3,008
14	6,015	5,013	3,676	4,344	1,337
21	9,691	2,673	4,678	2,005	1,337

TABELA 19: Registros referentes ao número total (N) do Grupo Membrana de Látex e Óleo de Rã (GMO) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócitos, Macrófagos, Neutrófilo, observados nos dias: três, cinco, sete, 14, e 21 de pós-operatório. Jaboticabal, 2008.

Dias	N	N	N	N	N
	(Fibroblasto)	(Vaso)	(Linfócito)	(Macrófago)	(Neutrófilo)
3	3,676	5,681	4,678	17,377	14,035
5	7,686	10,359	7,352	11,362	11,696
7	7,352	7,018	3,676	7,018	13,033
14	9,357	5,681	4,344	3,008	2,339
21	10,359	8,354	3,676	2,339	3,008

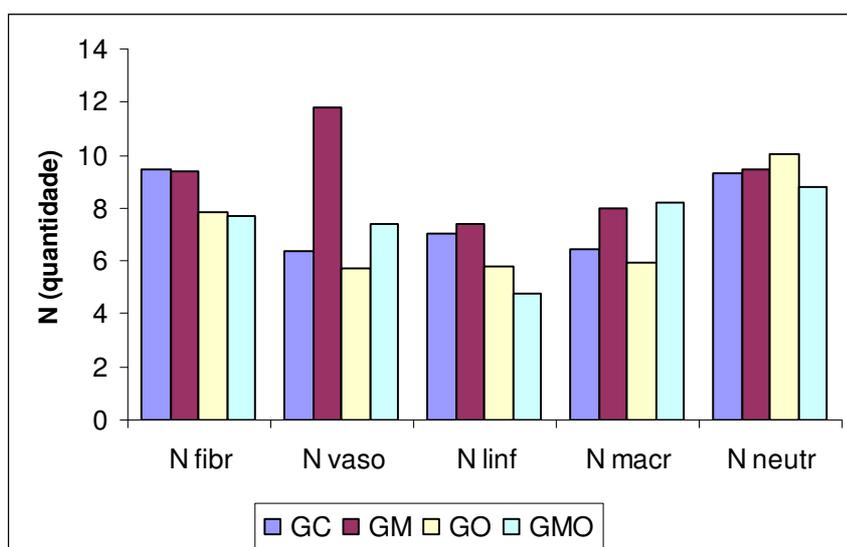


Figura 42: Gráfico representativo dos valores médios do número total de partículas (N) dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilo, dos grupos Controle (GC), Membrana (GM), Óleo (GO) e Membrana e Óleo (GMO).

TABELA 20: Registros referentes à média, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação do número total (N), de todos os grupos, dos: Fibroblasto, Vaso, Linfócito, Macrófagos e Neutrófilos. Jaboticabal, 2008.

N	Média	Erro padrão	Desvio padrão	Coeficiente de variação (%)
Fibroblastos				
GC	9,490 a	1,801	4,028	42,4
GM	9,357 a	1,560	3,489	37,3
GO	7,819 a	1,170	2,616	33,5
GMO	7,686 a	1,143	2,556	33,3
Vasos				
GC	6,349 b	0,805	1,800	28,3
GM	11,830 a	1,962	4,386	37,1
GO	5,681 b	0,974	2,178	38,3
GMO	7,419 ab	0,887	1,982	26,7
Linfócitos				
GC	7,018 a	0,969	2,166	30,9
GM	7,419 a	1,431	3,200	43,1
GO	5,815 a	0,836	1,870	32,2
GMO	4,745 a	0,680	1,520	32,0
Macrófagos				
GC	6,483 a	1,618	3,619	55,8
GM	7,953 a	2,450	5,478	68,9
GO	5,948 a	1,747	3,907	65,7
GMO	8,221 a	2,801	6,263	76,2
Neutrófilos				
GC	9,290 a	2,965	6,631	71,4
GM	9,490 a	4,423	9,889	104,2
GO	10,025 a	5,773	12,910	128,8
GMO	8,822 a	2,540	5,679	64,4

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Avaliando estatisticamente os valores médios do número total (N) de cada um dos grupos avaliados, verificou-se que o número de vasos foi significativamente maior principalmente no grupo membrana (GM) e, em parte, no grupo membrana e óleo (GMO).

V. DISCUSSÃO

A recuperação satisfatória dos animais deste experimento, verificadas à análise das observações referentes aos parâmetros clínicos pós-operatório, provavelmente, ocorreu em razão de que, rotineiramente utiliza-se o rato como modelo experimental do estudo da cicatrização e teste de drogas na pele, uma vez que o emprego destes roedores já tenha sido padronizado em muitas pesquisas dessa natureza (ÁLVARES, 1972; MASINI & CALAMO, 1986; MARCHINI, 1994).

Vários materiais biológicos têm sido empregados como curativo oclusivo, por possuírem propriedades antibacterianas e analgésicas, além de acelerar a formação de tecido de granulação e epitelização, (PREVEL et al., 1995). Os tecidos de origem biológica, obtidos a partir de animais da mesma espécie ou de espécies diferentes comportam-se, do ponto de vista imunológico, respectivamente, como materiais alogênicos e xenogênicos, podendo induzir rejeição, constituindo assim, fator que restringe a eficácia e o tempo de uso como curativo ou enxerto (CHEM et al., 1992; JIA et al. 1995; SANTILLAN-DOHERTY et al., 1996; ESCUDERO et al., 1997; RICHTERS et al. 1997; SCHORLEMMER & KURRLE, 1997; SCHORLEMMER & KURRLE, 1998), embora neste estudo não se verificou sinal marcante desse tipo de ocorrência frente aos tratamentos utilizados.

Durante o uso de pele de *Rana catesbeiana* como cobertura temporária de feridas produzidas por queimadura grave em humanos, conservada por

congelamento, sem a preocupação de manter a viabilidade desse tecido, não foram relatados fenômenos de rejeição (GOMES, 1995) embora se deva considerar que a depressão imunológica encontrada em pacientes portadores de queimaduras extensas poderia concorrer para o aumento de tolerância aos enxertos (KOLENIK et al., 1995;).

Quanto à avaliação macroscópica da região da ferida cirúrgica, ora analisada, não foi verificada a ocorrência de rejeição, da mesma forma que GOMES et al., 1995 também não a observaram ao utilizarem a pele de *Rana catesbeiana* como cobertura temporária de feridas produzidas por queimadura grave em humanos. Por outro lado, FALCÃO et al. (2002) ao investigarem o efeito da pele de rã *Rana catesbeiana* aplicadas como curativo oclusivo em feridas cutâneas de cães, constataram que este material não foi efetivo neste tratamento, havendo ocorrência de rejeição, as quais sugeriram como um fator causal, ressaltando a necessidade do desenvolvimento de outros projetos com o propósito de estabelecer o modo mais eficaz de utilizar este material.

Ainda sobre a análise macroscópica, verificou-se nos dias 3, 5, 7, 14 e 21 de pós-operatório, principalmente nos animais do grupo controle (GC) e grupo óleo (GO), a presença de crosta formada por fibrinas e exsudato, coincidindo com as observações feitas por (COTRAN et al., 2000). Porém, nas feridas dos animais do grupo membrana a cicatrização ocorreu mais cedo, aos 21 dias o sinal de lesão era mínimo, fato que também sucedeu nos grupos controle e membrana mais óleo, embora em menor intensidade. Já, no grupo óleo, a presença de crosta ainda era evidente. Provavelmente a membrana e a associação membrana mais óleo evitaram a ocorrência de exudato intenso nas feridas, favorecendo a cicatrização, pois a membrana de látex apresenta fatores de crescimento, tais como vascular endotelial “growth factor (VEGF)” e “transforming growth factor β 1 (TGF β 1)” em sua composição, os quais, possivelmente, sejam responsáveis pela indução da cicatrização mais eficiente (FRADE et al., 2004).

Ao se analisar as preparações microscópicas referentes aos grupos e dias de avaliação propostos neste experimento, constatou-se, de forma geral, em todos os eventos, mediante a verificação de características bem semelhantes às relatadas

por COTRAN et al, (2000), o desenvolvimento de um processo de cicatrização por segunda intenção.

Genericamente, ao se comparar os eventos ocorridos entre os grupos estudados nesta oportunidade é clara a constatação da regeneração tecidual, com melhor eficiência, no grupo membrana (GM) o qual, apresentou cicatrização acelerada, verificando-se ao vigésimo primeiro dia a regeneração completa das lesões, corroborando as descrições de BATISTA et al. (1996); MRUE (1996); THOMAZINI et al. (1997); LACHAT et al. (1997); POTÉRIO-FILHO et al. (1999); OLIVEIRA et al. (1999); MRUÉ (2000); MENTE & CENEVIVA (2001); FRADE et al. (2003); MRUÉ et al. (2004); PAULO et al. (2005); SOUSA et al. (2007).

Em seqüência, o grupo experimental que apresentou melhores resultados foi o grupo membrana mais óleo de rã (GMO), que embora não tenha demonstrado cicatrização completa aos 21 dias, neste período já havia evidente reorganização da epiderme, situação provavelmente explicada pelo fato de que a maioria das espécies de anfíbios apresenta grande variedade de substâncias químicas no muco secretado pelas glândulas epidérmicas, as quais vêm sendo estudadas pela indústria farmacêutica para a fabricação de antibióticos e outros medicamentos, constituindo-se em um novo campo de estudo da farmacologia (CLARK *et al.*, 1994; MOR *et al.* 1994; FEIO, 1997) e também, em razão das observações de interessantes diferenças no colágeno da pele da rã, quando comparado ao colágeno de outros vertebrados (SAI & BABU, 2001).

No grupo onde se utilizou apenas o óleo de rã, assim como no grupo controle, a reparação foi mais retardada quando comparada aos tratamentos anteriores, tanto, que no caso do óleo de rã deve-se considerar as colocações de FALCÃO et al. (2002), que ressaltaram a necessidade do desenvolvimento de outros projetos com o propósito de estabelecer o modo mais eficaz de utilizar a pele de *Rana catesbeiana*, como curativo biológico oclusivo, em feridas cutâneas excisionais.

Mediante análise das amostras histológicas dos diferentes grupos estudados, constatou-se a ocorrência de evidente processo de neovascularização nas amostras do grupo membrana, provavelmente em decorrência da potente ação

angiogênica desse produto, fato que leva à aceleração da cicatrização (POTÉRIO-FILHO et al., 1999; SADER et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2003; FRADE et al., 2004 e PINHO et al., 2004), situação também observada neste grupo, nesta oportunidade.

As avaliações estereológicas e estatísticas foram fundamentais nas análises comparativas entre os resultados observados em cada grupo estudado, possibilitando quantificar as alterações verificadas (NIELSEN et al., 1986; PEREIRA & MANDARIM-DE-LACERDA, 2001), propiciando dessa forma constatar que o número de vasos foi significativamente maior no grupo membrana (GM), fato que explica a cicatrização acelerada que ocorreu nos animais deste grupo, já que a potente ação angiogênica é fundamental no processo de reparação tecidual (BATISTA et al., 1996; MRUE, 1996; THOMAZINI et al., 1997; LACHAT et al., 1997; POTÉRIO-FILHO et al., 1999; OLIVEIRA et al., 1999. MRUÉ, 2000; MENTE & CENEVIVA, 2001; FRADE et al., 2003; MRUÉ et al., 2004; PAULO et al., 2005 e SOUSA et al., 2007).

Quanto ao fato dos valores médios do volume de grupos celulares como o de linfócitos e neutrófilos terem sido significativamente maiores nos grupos membrana e óleo e grupo óleo, provavelmente esta situação está relacionada ao processo normal de reparação, pois isto também ocorreu no grupo controle (COTRAN et al. 2000).

VI. CONCLUSÃO

Mediante os resultados obtidos, acredita-se poder concluir que tanto a utilização da membrana de látex natural, quanto da combinação da membrana e do óleo de rã, como apenas do óleo de rã, permitiram a ocorrência do processo de reparação cutânea em feridas cirúrgicas de ratos. Associado a isso, os tratamentos foram biocompatíveis, uma vez que não induziram à reação imunológica de rejeição.

O grupo GM promoveu intensa neoangiogênese e reparação tecidual mais acelerada, quando comparada aos outros grupos.

VII. REFERÊNCIAS

ÁGUILA, M.B; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A.; APFEL, M.I. R. Estereologia do Miocárdio de Ratos Jovens e Idosos. **Arq Bras Cardiol**, Rio de Janeiro, v. 70, n. 2, p. 105-109, 1998.

AHERNE, W.A.; DUNNIL, M.S. **Morphometry**. London: Ed. Edward Arnold, p.205, 1982.

ALVARES S. Contribuição para o estudo histométrico e histoquímico do processo de reparação de lesões obtidas experimentalmente na pele de ratos albinos. **[Tese-Doutorado]**. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 1972.

BATISTA, L.C.; DALECK, C.R.; SHIMANO, A.C; ALESSI, A.C.; ABRAHÃO, M.S. Estudo comparativo da resistência à tração do peritônio (bovino, eqüino, suíno e canino) a fresco e conservado em glicerina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 33, p. 305-312, 1996. Suplemento.

CANDIDO LC: **Nova abordagem no tratamento de feridas**. São Paulo: Editora SENAC-SP, 2001.

CHANDA J, RAO SB, MOHANTY M, MURALEEDHARAN CV, ARTHUR VL, BHUVANESHWAR GS, VALIATHAN MS. Use of glutaraldehyde-gentamicin-treated bovine pericardium as a wound dressing. **Biomaterials** 1994;15:68-70.

CHEM WYJ, ROGERS AA, LYDON MJ. Characterization of biologic properties of wound fluid collected during early stages of wound healing. **J Invest Dermatol** 1992;99:559-64.

CLARK, D.P.; DURELL, S.; MALOY, W.L.; ZASLOFF, M. Ranalexin, a novel antimicrobial peptide from bullfrog (*Rana catesbeiana*) skin, structurally related to the bacterial antibiotic, polymyxin. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 14, p. 10849-10855, 1994.

COTRAN R.S.; KUMAR V.; COLLINS T. **Patologia Estrutural e Funcional**. Guanabara Koogan, 6° ed. P. 79 – 100, 2000.

ESCUADERO MD, OTERO J, GAGO E. EL DONANTE DE TEJIDOS. IN: NAVIDADE-LÓPEZ A, KULISEVSKY J, CABALLERO F. **El donante de órganos y tejidos: evaluación y manejo**. Barcelona: Springer; 1997. p. 508-20.

FALCAO, S C, LOPES, S L, COELHO, A R B *et al*. Pele de Rana Catesbeiana como curativo biológico oclusivo no tratamento de feridas cutâneas produzidas em cães: Alterações macroscópicas e microscópicas resultantes da interação desses tecidos. Estudo preliminar. **Acta Cir. Bras.**, 2002, vol.17, no.3, p.151-159.

FEIO, R.N. Diversidade de anfíbios no Brasil. In: Encontro Nacional de Ranicultura, International Meeting on Frog Research and Technology, 2., Santos, 1997. **Anais** p.67-74.

FRADE, M. ; CURSI, I. B.; ANDRADE, F. F.; NETTO, J. C.; FOSS, N. T. Induction of the leg wound healing by natural latex biomembrane (NLB). In: WORLD CONGRESS OF DERMATOLOGY, 20, 2002, Paris. **Proceedings...** Paris: Masson, 2002. Disponível em: <www.e2med.com/ad> Acesso em: 26 abr. 2003.

FRADE, M. A. C.; CUNHA, F. Q.; COUTINHO-NETTO, J.; FOSS, N. T. Úlcera de perna: caracterização clínica e perfil imunohistopatológico da cicatrização na presença de biomembrana de látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis*. In: REUNION ANUAL DE DERMATOLOGUS LATINOAMERICANOS DEL CONO SUR, 23., 2004, Lima. **Anais...** Lima, 2004.

GOMES, D.R., SERRA, M.C., PELLON, M.A. **Queimaduras**. Rio de Janeiro, 1995. Reinventer, 305p.

GONÇALVES, G. PARIZOTTO, N. A. Fisiologia da Reparação Cutânea: Atuação da Fisioterapia. **Rev. Bras.Fisiot.**, Campinas -SP, v. 3, n.1,p.5-13,,jun. 1998.

GUNDERSEN, H.J.G JENSEN, F.B KIEU,K. NIELSEN, J. The efficiency of systematic sampling in stereology-reconsidered. **Journal of Microscopy**. Mar;193((Pt 3)):199-211 1999.

GUNDERSEN, H.J.G The nucleator. **Journal of Microscopy**. 151:3-21 1988.

HEINEMANN, J. A., ANKENBAU-ER, R. G. e AMÁBILE-CUEVAS, C. F.,(2000). **DDT** 5(5):195-205.

HOWARD, C.V.; REED, M.G. Unbiased stereology. Three-dimensional measurement in microscopy. **Bios Scientific Publishers**, Oxford, 2004.

JIA X, ZHU Z, KONG Q. Storage temperature and skin xenograft survival. **Chung Hua Wai Ko Tsa Chih** 1995; 33:184-5.

KOLENIK SA, LEFFELL DJ. The use of cryopreserved human skin allografts in wound healing following mohs surgery. **Dermatol Surg** 1995;21:615-20.

LACHAT, J. J.; MRUE, F.; THOMAZINI, J. A.; ZABOROWSKI, A. C.; CENEVIVA, R.; COUTINHO-NETTO, J. Morphological and biochemical studies of biocompatibility of a membrane manufactured from the natural latex of *Hevea brasiliensis*. **Acta Microscópica**, v. 6, p. 758-759, 1997.

LOPES, P.F. Alterações estruturais na mucosa do cólon derivado - Estudo estereológico experimental em ratos. **Rev. bras Coloproct**, v. 22, n. 3, p. 164-169, 2002

MARCHINI FB. Estudo Morfológico e morfonético da Cicatrização de Feridas cutâneas abertas em ratos albinos com e sem tratamento com óleo de Rosa Mosqueta. **[Dissertação – Mestrado]**. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina; 1994.

MASINI E, CALAMO MA. Uma forma de tratamento de lesões cutâneas com papaína e sacarose. **Rev Bras Clin Terap.** 1986;(15): 245-8.

MAYHEW T.M.; GUNDERSEN, H.J.G. 'If you assume, you can make an ass out of u and me': a decade of the dissector for stereological counting of particles in 3D space. **Journal of Anatomy.**, v. 188, p. 1-15, 1996.

MENTE E.D.; CENEVIVA R. – Transplante de ilhotas pancreáticas em dispositivo de imunoisolamento celular. **Acta Cir. Bras.**, vol 16 suppl.1 São Paulo, 2001.

MOR, A.; KHALED, H.; NICOLAS, P. The vertebrate peptide antibiotics dermaseptins have overlapping structural features but target specific microorganisms. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 50, p. 31635-31641, 1994.

MORAES, J.H.C. **RANICULTURA (Informações Básicas para a Criação)**. 1ª Edição. 2004.

MRUÉ, F. Neoformação tecidual induzida por biomembrana de látex natural com polilisina. Aplicabilidade na neoformação esofágica e da parede abdominal - estudo experimental em cães. 2000. 112f. **Tese** (Doutorado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2000.

MRUÉ, F. Substituição do esôfago cervical por prótese biossintética de látex – estudo experimental em cães. 1996. 109f. **Dissertação** (Mestrado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1996.

MRUÉ, F.; COUTINH-NETTO, J.; CENEVIVA, R.; LACHAT, J. J.; THOMAZINI, J. A.; TAMBELINI, H. Evaluation of the biocompatibility of a new biomembrane. **Materials Research**, São Carlos, v. 7, n. 2, p. 277-283, 2004.

MRUE, F.; COUTINHO-NETTO, J.; CENEVIVA, R.; ZUCOLOTTO, S.; LACHAT, J. J.; ZABOROWSKI, A. C. Esophageal replacement by a new kind of esophageal prothesis. **In: World Congress of the International College of Surgeons**, 30. 1996, Bolonha: Monduzzi Editore, 1996. p. 247-252.

NIELSEN, K.; COLSTRUP, H.; NILSSON, T.; GUNDERSEN, H.J.G. Stereological estimates of nuclear volume correlated with histopathological grading and prognosis of bladder tumor. **Virchows archiv - B - Cell pathology including molecular pathology**, v. 52, p. 41–54, 1986.

NIELSEN, K.K. Changes in morphology, function and blood flow in mini-pig urinary bladder after chronic outflow obstruction and recovery from obstruction. **Scandinavian Journal of Urology and Nephrology – Supplement**, Copenhagen, v. 195, p. 1–39, 1997.

OLIVEIRA, J. A. A.; HYPOLITO, M. A.; COUTINHO-NETTO, J. La régénération du tympan avec l'utilisation de matériel biosynthétique nouveau. In: Congrès Français D'oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie de La Face et du Cou, 106., 1999, Paris. **Anais...** Paris, 1999. p. 273.

OLIVEIRA, J. A. A.; HYPOLITO, M. A.; COUTINHO-NETTO, J.; MRUÉ, F. Miringoplastia com a utilização de um novo material biossintético. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 5, p. 649-655, 2003.

PAKKENBERG, B., GUNDERSEN, H.J.G New stereological method for obtaining unbiased and efficient estimates of total nerve cell number in human brain areas. Exemplified by the mediodorsal thalamic nucleus in schizophrenics **APMIS**. Aug; 97(8):677-81, 1989.

PAKKENBERG, B., GUNDERSEN, H.J.G. Total number of neurons and glial cells in human brain nuclei estimated by the dissector and fractionator. **Journal of Microscopy**., n.150, p. 1-20, 1988.

PAULO N.M.; LIMA F.G.L.; JÚNIOR J.T.S.; FLEURY L.F.F.; SANT'ANA F.J.F.; BORGES A.C.; TELLES T.C. – Membrana de látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), com e sem polilisina a 0,1% e tela de márlex na reconstrução de defeitos iatrogênicos da parede abdominal de ratos. **Acta Cir. Bras.**, vol 20 (4), 2005.

PEREIRA LM, MANDARIM-DE-LACERDA CA. Stereology of cardiac hypertrophy induced by NO blockade in rats treated with enalapril and verapamil. **Anal Quantitat Cytol Histol**. 2001; 23: 330-8.

PINHO, E. C. C. M.; SOUZA, S. J. F.; SCHAUD, F.; LACHAT, J. J.; NETTO, J. C. Uso experimental da biomembrana de látex na reconstrução conjuntival. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, São Paulo, v. 67, p. 27-32, 2004.

POTÉRIO-FILHO, J.; SILVEIRA, S. A. F.; POTÉRIO, G. M. B.; MRUÉ, F.; COUTINHO-NETTO, J. O uso do látex natural com polilisina 0,1% na cicatrização de úlceras isquêmicas. In: Congresso Brasileiro de Angiologia e Cirurgia Vasculuar, 33, 1999, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vasculuar, 1999. p.156.

POVER, C.M.; COGGESHALL, R.E. Verification of the dissector method for counting neurons, whit comments on the empirical method. **Anatomical Record**., n. 231, p. 573-578, 1991.

PRATES & BLOCK JR. Peptídios Antimicrobianos. Uma Alternativa no controle de microorganismos resistentes. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, p 30-36, 2004.

PREVEL, C.D.; EPPLEY, B.L.; SUMMERLIN, D.J.; JACKSON, J.R.; MCCARTY, M.; BADYLAK, S.F. Small intestinal submucosa: utilization for repair of rodent abdominal wall defects. **Annals of Plastic Surgery**, v.35, p. 374-380, 1995.

RICHTERS CD, HOEKSTRA MJ, VAN BAARE J, DU PONT JS, KAMPERDIJK EW. Immunogenicity of glycerol-preserved human cadaver skin in vitro. **J Burn Care_Rehabil** 1997;18:228-33.

ROBBINS, S. L., et al. – **Patologia estrutural e funcional** 3ª ed. Rio de Janeiro, Editora ELSEVIER, 2005, 1422 p.

SÁ, M. S. Avaliação inicial de atividades imunomoduladoras de extratos de peles e glândulas paratóides de Anuros do semi-árido Brasileiro. **Dissertação (mestrado)** Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.

SADER, S. L.; COUTINHO-NETTO, J.; BARBIERI NETO, J.; MAZZETTO, S. A.; ALVES JR, P.; VANNI, J. C.; SADER, A. A. Substituição parcial do pericárdio de cães por membrana de látex natural. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São Paulo, v. 15, n. 4, 338-344, 2000.

SAI, K. S.; BABU, M. Studies on *Rana tigerina* skin collagen Comparative Biochemistry and Physiology Part B: **Biochemistry and Molecular Biology** v. 128, n.1 , p. 81-90, 2001.

SANTILLAN-DOHERTY P, JASSO-VICTORIA R, SOTRES-VEJA A, OLMOS R, ARREOLA JL, GARCIA D, VANDA B, GAXIOLA M, SANTIBA A, MARTIN S, CABELLO R. Thoracoabdominal wall repair with glutaraldehyde-preserved bovine pericardium. **J Invest Surg** 1996;9:45-55.

SASAHARA, T.H.C. et al. Partial urethral obstruction of rabbit urinary bladder: stereological evidence that the increase in muscle content is mostly driven by changes in number, rather than size, of smooth muscle cells. **Journal of Anatomy**, v.210, n. 4, p. 449–459, 2007.

SCHORLEMMER HV, KURRLE R. The new immunosuppressive malononitrilamide MNA 279 prolongs skin xenografts survival in a mouse-to-rat model. **Transplant Proc** 1997;29:3497-500.

SCHORLEMMER HV, KURRLE RS. Malononitrilamides reduce IgM e IgG xenoantibodies and prolong skin xenografts survival in a mouse-to-rat model. **Transplant Proc** 1998; 30:976-9.

SEBBEN, A., SCHWARTZ, C. A. e CRUZ, J. S. (1993) **Ciência Hoje**, 15(87): 25-33.

SOUSA L.C.A.; PIZA M.R.T.; NETTO J.C.; RUIZ B.; SCHMIDT V.B. – Biomembrana de látex: novo método para o revestimento da cavidade aberta nas timpanomastoidectomia. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.** Vol. 73 no. 3 São Paulo, 2007.

SOUZA, A.E. O efeito de diferentes agentes sobre a cicatrização de feridas cutâneas por segunda intenção no cavalo: estudo bacteriológico, histológico, histoquímico e morfométrico. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1989.

STERIO, D.C. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the dissector. **Journal of Microscopy**, n. 134, p. 127-136, 1984.

THOMAZINI, J. A.; MRUE, F.; LACHAT, J. J.; ZABOROWSKI, A. C.; DURAN, J. H. R.; CENEVIVA, R.; COUTINHO-NETTO, J. Morphological and biochemical characterization of a prosthesis manufactured from natural latex of *Hevea brasiliensis* for medical utilization. **Acta Microscópica**, v. 6, p. 798-799, 1997.

ZIMMERMANN M.; RAISER A.G.; BARBOSA A.L.T.; NOVOSAD D.; STEFFEN P.B.; STEFFEN R.P.B.; LUKARSEWSK R.; SOARES M.; LINDINGER R.; JÚNIOR F.P. – Teste de biocompatibilidade e resistência de membranas de látex em cães. **Cienc. Rural** vol.37 no. 6, 2007.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)