

**UNIVERSIDADE DE FRANCA - UNIFRAN  
MESTRADO EM CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE LESÕES  
DERMOEPIDÉRMICAS EM RATOS: ESTUDOS  
MORFOLÓGICO E HISTOLÓGICO**

*Thiago Dellamanha Moisés*

**2010**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**THIAGO DELLAMANHA MOISÉS**

**AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE LESÕES  
DERMOEPIDÉRMICAS EM RATOS: ESTUDOS MORFOLÓGICO E  
HISTOLÓGICO**

Dissertação apresentada à Universidade de Franca, como exigência parcial para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia e Anestesiologia Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi

**FRANCA  
2010**

THIAGO DELLAMANHA MOISÉS

AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE LESÕES DERMOEPIDÉRMICAS  
EM RATOS: ESTUDOS MORFOLÓGICO E HISTOLÓGICO

COMISSÃO JULGADORA DO PROGRAMA DE MESTRADO EM CIRURGIA E  
ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA

---

Presidente: Prof. Dr. Andriago Barboza de Nardi  
Universidade de Franca

---

Titular 1: Prof. Dr. Carlos Roberto Daleck  
Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal

---

Titular 2: Prof. Dr. Daniel Paulino Junior  
Universidade de Franca

Franca, 15/06/2010

O verdadeiro homem mede a sua força,  
quando se defronta com o obstáculo.

Antoine de Saint-Exupéry

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a DEUS e a toda minha família pelos ensinamentos e apoio no decorrer de toda minha vida e principalmente no incentivo para a realização deste curso.

Ao Professor Doutor Andriago Barboza De Nardi pelos importantes ensinamentos e pela grande amizade que proporcionou durante todo o curso de mestrado.

Aos amigos em destaque que ajudaram na realização deste trabalho, Marcelo Erik Lopes, Profa. Cláudia Momo, José Luis de Souza, Mônica Horr, Maria Augusta Adami Pereira dos Santos, Talita Mariana Morata Raposo e João Paulo Menegoti.

A todos meus grandes amigos veterinários e de outras atividades que sejam por palavras me ajudaram durante minha vida até o ponto de concluir mais este objetivo.

Agradeço especialmente aos animais, meu sonho desde a infância.

## RESUMO

MOISÉS, Thiago Dellamanha. **Avaliação da cicatrização de lesões dermoepidérmicas em ratos: estudos morfológico e histológico.** 2010. 43f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Anestesiologia Veterinária) – Universidade de Franca, Franca.

A cicatrização das feridas é um processo complexo composto de várias fases. Inúmeras substâncias têm sido testadas para estimulá-la. Com este propósito, o presente estudo teve como objetivo avaliar a cicatrização de feridas dermoepidérmicas, em ratos, tratadas com uso tópico de duas novas formulações na forma de pasta, mediante análise macro e microscópica do processo cicatricial até o 14º dia de pós-operatório. Foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, machos, adultos, com peso médio de 312,37g. Com o objetivo de realizar uma ferida dermoepidérmica e demarcar o segmento de pele a ser retirado utilizou-se um molde plástico, especialmente confeccionado para esta finalidade, com 1cm de comprimento e 1cm de largura. Os animais foram distribuídos em três grupos de 20 ratos, no grupo 1 as lesões dermoepidérmicas foram tratadas com uma pasta contendo neomicina, bacitracina, óxido de zinco, talco farmacêutico, carbonato de cálcio, glicerina e água deionizada, no grupo 2 as lesões de pele foram tratadas com uma pasta a base de neomicina, bacitracina, óleo de amêndoas, óxido de zinco, lanolina anidra, palmitato de retinol, colecalciferol, acetato de racealfatocoferol, cianocobalamina e água deionizada e no grupo controle as feridas de pele foram tratadas com solução fisiológica (NaCl 0,9%). Os grupos foram subdivididos, aleatoriamente, em dois subgrupos de acordo com o dia da eutanásia (7º ou 14º dia de pós-operatório), com 10 animais em cada. Em relação à avaliação macroscópica da cicatrização a pasta 1 apresentou halos significativamente maiores que os controles e a pasta 2, ao terceiro, quinto e sexto dia de avaliação ( $p < 0,05$ ). O grupo controle apresentou menor número de polimorfonucleares, comparativamente a ambos os grupos tratados, aos 7 ( $p < 0,01$ ) e aos 14 dias ( $p < 0,001$ ) de pós-operatório. Quanto ao contingente mononuclear, observou-se diferença significativa, nos animais do grupo controle, relativamente aos demais grupos, apenas no 14º dia de pós-operatório ( $p < 0,05$ ). Comparativamente aos animais tratados com as pastas 1 e 2, os ratos do grupo controle, não apresentaram áreas de necrose em qualquer período avaliado ( $p < 0,0001$ ). Porém, este evento foi significativamente mais intenso nos ratos tratados com a pasta 1, que naqueles tratados com a pasta 2 ( $p = 0,04$ ). Os eventos, proliferação vascular e fibroplasia, não diferiram significativamente entre os grupos, em nenhum período estudado ( $p > 0,05$ ). No evento fibroplasia, os animais do grupo controle atingiram índices 20,7% e 34,5% maiores, comparativamente aos ratos tratados com a pasta 1 e a pasta 2, respectivamente ( $p > 0,05$ ). Novos estudos devem ser realizados para aprimorar a formulação das duas pastas visando a redução no tempo da cicatrização.

**Palavras-chave:** feridas dermoepidérmicas; cicatrização; ratos.

## ABSTRACT

MOISÉS, Thiago Dellamanha. **Evaluation of dermal-epidermal wound healing in rats: Morphological and histological analysis**. 2010. 43f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Anestesiologia Veterinária) – Universidade de Franca, Franca.

Healing of wounds is a complex process composed of several phases. Numerous substances have been tested to stimulate it. For this purpose, this study aimed to evaluate the dermal-epidermal wound healing in rats treated with topical use of two new formulations in paste form, through macro and microscopic analysis of healing process until 14 days of postoperative. It was used a total of 60 rats (*Rattus norvegicus albinus*) Wistar lineage, male, adult, average weight 312.37 g. Aiming to achieve a wound dermal-epidermal and to demarcate the segment of skin to be removed, it was used a plastic mold, designed specifically for this purpose, with 1cm long and 1cm wide. The animals were divided into three groups of 20 rats. In the group 1, the dermal-epidermal lesions were treated with a paste containing neomycin, bacitracin, zinc oxide, pharmaceutical talc, calcium carbonate, glycerin and deionized water. In the group 2, the skin lesions were treated with a paste based on neomycin, bacitracin, almond oil, zinc oxide, anhydrous lanolin, retinol palmitate, cholecalciferol, racealfatocoferol acetate, cyanocobalamin and deionized water. In the control group, the skin wounds were treated with saline (NaCl 0,9%). The groups were divided randomly into two subgroups according to the day of euthanasia (7 or 14 days of postoperative), with 10 animals each subgroup. Regarding the macroscopic evaluation of healing, the paste 1 showed a significantly larger halos than the controls and the paste 2, at the third, fifth and sixth days of evaluation ( $p < 0.05$ ). The control group showed fewer polymorphonuclear, compared to both treated groups, at 7 ( $p < 0.01$ ) and at the 14 days ( $p < 0.001$ ) of postoperative. According to the mononuclear contingent, it was observed significant difference in the control group in relation to other groups, only at the 14 days of postoperative ( $p < 0.05$ ). Compared to animals treated with the pastes 1 and 2, the rats in the control group showed no areas of necrosis in any evaluated period ( $p < 0.0001$ ). However, this event was significantly more intense in rats treated with the paste 1 than those treated with paste 2 ( $p = 0.04$ ). The events, vascular proliferation and fibroplasia, did not differ significantly between groups at none studied period ( $p > 0.05$ ). In the fibroplasia event, the animals in the control group reached levels 20.7% and 34.5% higher, compared to rats treated with paste 1 and paste 2, respectively ( $p > 0.05$ ). New studies must be carried through to improve the formularization of the two paste to reduce the time of the wound healing.

**Key-words:** dermal-epidermal wounds; healing; rats

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Administração de cetamina 10% (40mg/kg), xilazina 2% (5mg/kg) e morfina 10mg/ml (2,5mg/kg), por via intraperitoneal, como protocolo anestésico, administrado na porção caudal esquerda do abdome 19
- Figura 2-** Aplicação da pasta 1 sobre a lesão dermoepidérmica realizada em rato, seguida da cobertura com gaze para a devida proteção da ferida 21
- Figura 3-** Mensuração das lesões dermoepidérmicas em ratos com paquímetro no 1º dia de pós-operatório 23
- Figura 4-** Características das lesões de pele no 1º, 3º, 5º, 7º, 10º e 14º dia de pós-operatório do animal nº11 tratado com a Pasta 1 28
- Figura 5-** Características das lesões de pele no 1º, 3º, 5º, 7º, 10º e 14º dia de pós-operatório do animal nº51 tratado com a Pasta 2 29
- Figura 6-** Características das lesões de pele no 1º, 3º, 5º, 7º, 10º e 14º dia de pós-operatório do animal nº12 tratado com Solução Fisiológica (NaCl 0,9%) – Grupo Controle 29
- Figura 7-** Média ( $\pm$ EPM)\* dos grupos, controle (círculo fechado), pasta 1 (quadrado aberto) e pasta 2 (círculo aberto), dos valores relativos ao percentual da área cutânea ulcerada, em ratos, adultos, do primeiro ao 14º dia de avaliação. \*Significativo ao Teste Bonferroni, em relação à pasta 2 e ao controle. #Significativo ao Teste Bonferroni, em relação à pasta 2 30
- Figura 8-** Índice quali-quantitativo, quanto ao contingente de polimorfonucleares e de monucleares (média $\pm$ EPM)<sup>a</sup>, decorridos 7 e 14 dias de pós operatório. <sup>a</sup>Teste Bonferroni 31
- Figura 9-** Índice quali-quantitativo (média $\pm$ EPM)<sup>a</sup>, quanto aos eventos proliferação vascular, fibroplasia, remodelação do colágeno e reepitelização cutânea, decorridos 7 e 14 dias de pós operatório. <sup>a</sup>Teste Bonferroni 32
- Figura 10-** Fotomicrografia de preparação histológica onde se observa a presença de reepitelização completa (seta) no local da lesão dermoepidérmica de um rato do grupo controle. Aumento: 40 vezes. Coloração: Hematoxilina e Eosina 33
- Figura 11-** Número de animais tratados com a pasta 1 e com a pasta 2, que apresentaram o evento necrose, no período pós-operatório. <sup>a</sup>Teste exato de Fisher (p=0,04) 34

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>1 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	12
1.1 PELE E SUAS ESTRUTURAS.....	12
1.2 FERIDAS .....	13
1.3 PROCESSO CICATRICAL .....	14
1.4 CURATIVO COM SOLUÇÃO FISIOLÓGICA .....	16
1.5 CURATIVO COM A UTILIZAÇÃO DE PASTAS .....	16
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	17
2.1 OBJETIVO GERAL .....	17
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	17
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	18
3.1 ASPECTOS ÉTICOS .....	18
3.2 ANIMAIS .....	18
3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	19
3.3.1 Anestesia e procedimento cirúrgico.....	19
3.3.2 Grupos experimentais.....	21
3.3.3 Pós-operatório .....	22
3.3.4 Curativos e observações macroscópicas.....	22
3.3.5 Eutanásia e colheita de material .....	24
3.3.6 Observações microscópicas.....	24
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
<b>4 RESULTADOS</b> .....	27
4.1 EVOLUÇÃO MACROSCÓPICA DA CICATRIZAÇÃO TECIDUAL .....	27
4.2 EVOLUÇÃO MICROSCÓPICA DA CICATRIZAÇÃO TECIDUAL.....	30
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	35
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	39
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	40

## INTRODUÇÃO

A pele é o maior e um dos mais complexos órgãos do organismo, constituindo-se uma adequada superfície de contato com o meio ambiente (PAVLETIC, 1993; RODRIGUES et al., 2001; CÂNDIDO, 2007).

Representando a principal camada do organismo (PAVLETIC, 1993; RODRIGUES et al., 2001; PEREIRA e ARIAS, 2002) a pele desempenha a função de proteção contra agentes externos e nocivos ao organismo.

Por ser uma superfície extremamente ampla, a pele torna-se o tecido mais exposto às diversas agressões. Por outro lado, o organismo apresenta grande habilidade de reparação tecidual, pois esse processo é essencial à sobrevivência dos animais (FOWLER, 1993; YOUNG; MATHES, 1996; RODRIGUES et al., 2001).

Conforme Cohen; Diegelmann; Crossland (1996); Rodrigues et al. (2001); Pereira e Arias (2002), o conhecimento dos mecanismos biológicos da reparação tecidual é definido em termos anatômicos, bioquímicos e moleculares. Este fato aliado ao advento de novos agentes farmacológicos graças às inovações na biologia molecular levou ao aprimoramento na cicatrização não só das feridas agudas como crônicas. No entanto, é necessário que o Médico Veterinário procure novas opções mais eficazes para conduzir a cicatrização em cães. Com este propósito, o presente estudo teve como objetivo avaliar a cicatrização de feridas dermoepidérmicas em ratos tratados com uso tópico de duas novas formulações na forma de pasta contendo neomicina, bacitracina, óxido de zinco, talco farmacêutico, carbonato de cálcio, glicerina e água deionizada ou óleo de amêndoas, óxido de zinco, lanolina anidra, palmitato de retinol, colecalciferol, acetato de racealfatocoferol, cianocobalamina e água deionizada, mediante análise macro e microscópica do processo cicatricial até o 14<sup>o</sup> dia de pós-operatório.

## 1 REVISÃO DA LITERATURA

### 1.1 PELE E SUAS ESTRUTURAS

A pele apesar de ser um órgão de proteção e eliminação é também um órgão sensorial, que recebe e conduz estímulos (CHARLET, 1996). Apresenta múltiplas funções, entre as quais, protege o organismo contra a perda de água por evaporação (dessecação) e contra o atrito (STEVENS; LOWE, 2001). Atua promovendo a manutenção da temperatura corporal, pois pelas suas terminações nervosas, está em comunicação constante com o ambiente. Possui a capacidade de impedir invasão de microorganismos, regular a pressão sanguínea e proteger contra raios ultravioletas (SAMPAIO; RIVITTI, 2001). Suas glândulas sudoríparas participam da termorregulação e da excreção de várias substâncias (IRION, 2005).

Anatomicamente, a pele pode ser descrita como um órgão estratificado com duas camadas de tecido, a epiderme e a derme (STEVENS; LOWE, 2001). A epiderme é a camada mais externa da pele, que abrange as células epiteliais escamosas estratificadas (STEVENS; LOWE, 2001; REMINGTON, 2004), sendo estas o estrato córneo, basal, camada espinhosa e a camada granulosa (IRION, 2005).

A derme apresenta função protetora e de sustentação, sendo o local onde se localizam as glândulas sebáceas e folículos pilosos. Apresenta ainda fibras colágenas, elásticas e reticulíneas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). A derme tem a importante função de nutrir a epiderme, pois esta exige uma constante reposição de nutrientes necessários para manter a atividade mitótica (IRION, 2005). A derme é composta de duas camadas, de limites pouco distintos, que são a: papilar, superficial, e a reticular, mais profunda (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O tecido subcutâneo serve como amortecedor para a derme e a epiderme. Nesta camada se encontram fibras colágenas provenientes da derme que se cruzam entre as células gordurosas acumuladas, fornecendo uma conexão entre as camadas superficiais da pele e o tecido subcutâneo (SAMPAIO; RIVITTI, 2001; STEVENS; LOWE, 2001; REMINGTON, 2004). A pele, por estar localizada na parte

externa do corpo, também está sujeita a uma série de agressões (tanto biológicas como físicas), podendo assim apresentar certas lesões como, por exemplo, as feridas (CANDIDO, 2007).

## 1.2 FERIDAS

Ferida é a ruptura da integridade de um tecido ou órgão corpóreo. Independente do tecido ou órgão envolvido, a quebra da sua estrutura anatômica ou fisiológica causa um ferimento. As feridas podem apresentar diferentes profundidades, ou seja, podem atingir a epiderme, ou então a derme, podendo alcançar o tecido celular subcutâneo, os músculos, assim como os órgãos mais profundos (BATES, 1986).

As feridas podem ser abertas ou fechadas. A ferida aberta é aquela na qual existe uma perda de continuidade da superfície cutânea. Na fechada, a lesão do tecido mole ocorre abaixo da pele, porém não existe perda da continuidade na superfície (MODOLIM; BEVILACQUA, 1985).

A reparação de feridas corresponde ao processo de cicatrização que pode ocorrer por primeira intenção, quando há união imediata das bordas ou por segunda intenção, quando as bordas ficam separadas e há necessidade de formação de um tecido chamado cicatricial (HOWEL; MAQUART, 1991).

Em feridas limpas, ou seja, aquelas isentas de contaminação, a reparação pode ocorrer dentro de 15 dias, dependendo da extensão do traumatismo, higidez orgânica, adoção ou não de medidas terapêuticas que acelerem o processo. Nas feridas contaminadas, o período requerido para a cicatrização é maior e a instituição do tratamento adequado é indispensável (RICHARDSON et al., 1988).

### 1.3 PROCESSO CICATRICIAL

Conforme Bosqueiro et al. (1999) e Rodrigues et al. (2001) compreender o processo cicatricial é de grande importância para a avaliação evolutiva da ferida, pois os procedimentos e escolha de curativos e fármacos para o tratamento de uma lesão podem variar de acordo com a fase de reparação.

Em condições normais o processo cicatricial segue um padrão previsível, podendo ser dividido em três períodos específicos. Apesar das fases de cicatrização serem descritas de forma seqüencial, na realidade os eventos consistem de interações complexas superpostas, não existindo um período latente no processo cicatricial (FOWLER, 1993; FOSSUM et al., 1997; RODRIGUES et al., 2001; CÂNDIDO, 2007).

A cicatrização de feridas consiste em eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a reepitelização e a reconstituição do tecido. Este evento é um processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos que se comportam harmoniosamente garantindo a restauração tissular (MANDELBAUM et al., 2003; COTRAN et al., 2000).

A lesão tissular estimula uma série de eventos metabólicos visando a reparação dos tecidos através de regeneração e/ou cicatrização. O processo ocorre em três etapas diferenciadas que se sobrepõem, ou seja, fase exsudativa (ou inflamatória), a proliferativa e a de maturação (COHEN et al., 1996; YOUNG; MATHES, 1996; BOSQUEIRO et al., 1999; CÂNDIDO, 2007).

Na fase exsudativa predominam eventos relacionados com a coagulação sangüínea (etapa trombocítica) e o processo inflamatório. A vasoconstrição, a agregação plaquetária e a ativação dos sistemas de coagulação caracterizam a etapa trombocítica. As plaquetas também são importantes por serem as primeiras células a produzirem citocinas essenciais à modulação da maioria dos eventos de cicatrização subseqüentes. Além da hemostasia, nesta etapa ainda constata-se os eventos inflamatórios, predominando a fagocitose através de células granulocíticas (polimorfonucleares) e macrófagos, caracterizando-se assim as fases granulocítica e macrofágica, respectivamente. Os macrófagos além da fagocitose também iniciam a

reparação através da secreção de proteases, citocinas e substâncias vasoativas que dão continuidade às fases cicatriciais subseqüentes.

Os processos de granulação, epitelização e contração caracterizam a fase proliferativa. A granulação é a formação de um tecido composto de capilares, colágeno e proteoglicanos. A formação neocapilar nesta fase resulta da liberação de fatores angiogênicos secretados pelos macrófagos que estimulam a proliferação de células endoteliais dos vasos sangüíneos. Nessa etapa também ocorre à produção de colágeno pelos fibroblastos. Aliada à granulação, manifesta-se a reepitelização pela migração e divisão das células basais nas bordas da ferida. O terceiro evento dessa etapa da cicatrização é a contração, processo pelo qual ocorre o fechamento espontâneo das feridas cutâneas, pela ação especializada dos miofibroblastos (YOUNG; MATHES, 1996; BOSQUEIRO et al., 1999; RODRIQUES et al., 2001; CÂNDIDO, 2007).

Na fase de maturação ou de remodelação, as células inflamatórias agudas e crônicas diminuem gradualmente e cessam a angiogênese e a fibroplasia. É também neste período que se constata o equilíbrio entre a síntese e a degradação de colágeno (FOWLER, 1993; PAVLETIC, 1993; DECLAIR, 1994; YOUNG; MATHES, 1996; BOSQUEIRO et al., 1999; RODRIGUES et al., 2001).

Conforme Bosqueiro et al. (1999); Rodrigues et al. (2001); Pereira e Arias (2002); Cândido (2007) o tratamento da ferida é um processo complexo e dinâmico, pois requer avaliações tópicas e sistêmicas, para indicar os curativos apropriados para cada fase do processo cicatricial.

Diversas pesquisas sobre o tratamento de feridas têm contestado o meio tradicional de cuidados destas, que consiste na manutenção da lesão seca (ANDRADE et al., 1992; BORISKIN, 1994; CÂNDIDO, 2007). A proposta atual é a oclusão e manutenção do meio úmido para cicatrização de feridas abertas (EHRENKRANZ e MEAKINS, 1992; HULTEN, 1994; DECLAIR, 1994; RODRIGUES et al., 2001; PEREIRA; ARIAS, 2002; CÂNDIDO, 2007).

#### 1.4 CURATIVO COM SOLUÇÃO FISIOLÓGICA

Uma opção para condução da cicatrização secundária é o curativo com solução fisiológica, a qual pode ser utilizada tanto na limpeza como no tratamento de ferida. Durante a lavagem da ferida com solução fisiológica deve evitar atritos excessivos, prevenindo-se assim lesões adicionais ao tecido de granulação. Também é aconselhado empregar a solução fisiológica aquecida à temperatura corpórea para evitar choque térmico e vasoconstricção dos capilares (BOSQUEIRO et al., 1999; RODRIGUES et al., 2001; CÂNDIDO, 2007).

Segundo Rodrigues et al. (2001); Pereira e Arias (2002) a aplicação de gazes umedecidas em solução fisiológica sobre a ferida favorece o processo de autólise, isto é a degradação natural de tecido desvitalizado pela ação de enzimas autolíticas como a hidrolase ácida. Além do debridamento autolítico, a solução fisiológica também favorece a formação de tecido de granulação.

#### 1.5 CURATIVO COM A UTILIZAÇÃO DE PASTAS

As pastas, como as pomadas, destinam-se à aplicação externa na pele. Diferem das pomadas principalmente porque contém maior porcentagem de material sólido e, conseqüentemente, são mais firmes e espessas. Devido à alta porcentagem de sólidos, são mais absorventes e menos gordurosas que as pomadas preparadas com os mesmos componentes (ANSEL, 2000).

Devido as suas qualidades de firmeza e absorção, a pasta permanece no local após a aplicação, com pouca tendência de amolecer ou escorrer e, portanto, é eficaz para absorver secreções serosas no local da aplicação (ANSEL, 2000).

A pasta é preferível às pomadas no caso de lesões agudas que tendem a formar crostas, vesículas ou exsudação. Além disto, devido à rigidez, impermeabilidade e quando associadas a determinados antibióticos observa-se aumento na eficácia das pastas, diminuindo ou eliminando as chances de agravamento da lesão por microrganismos (ANSEL, 2000).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar cicatrização de feridas dermoepidérmicas em ratos tratados com uso tópico de duas novas formulações, sendo a pasta 1 composta de neomicina, bacitracina, óxido de zinco, talco farmacêutico, carbonato de cálcio, glicerina e água deionizada e a pasta 2 composta de neomicina, bacitracina, óleo de amêndoas, óxido de zinco, lanolina anidra, palmitato de retinol, colecalciferol, acetato de racealfatocoferol, cianocobalamina e água deionizada.

### **2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO**

Determinar a evolução macro e microscópica do processo cicatricial até o 14<sup>o</sup> dia após a realização da lesão, com a utilização das pastas 1 e 2 em formulações farmacêuticas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa foi realizada obedecendo-se os princípios éticos em experimentação animal preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) sob a anuência e vigilância do Comitê de Ética no Uso em Animais (CEUA) da Universidade de Franca, projeto nº 035/09, de 11 de fevereiro de 2010.

#### 3.2 ANIMAIS

Foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, machos, adultos, com peso médio de 312,37g, procedentes do Biotério Central da Universidade de Franca (UNIFRAN).

Este estudo foi realizado no Laboratório de Pesquisa do Curso de Mestrado em Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da UNIFRAN. Os animais permaneceram acondicionados em gaiolas de plástico individuais, forradas com serragem de pinho, em condições de temperatura e umidade ambientais, com livre acesso a água potável e ração industrial<sup>1</sup> própria para ratos.

---

<sup>1</sup> Purina®, São Paulo - SP.

### 3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.3.1 Anestesia e procedimento cirúrgico

Para a realização do procedimento anestésico, os animais receberam na mesma seringa, cetamina<sup>2</sup> 10% (40mg/kg), xilazina<sup>3</sup> 2% (5mg/kg) e morfina<sup>4</sup> 10mg/ml (2,5mg/kg), pela via intraperitoneal (na porção caudal esquerda do abdome) (Figura 1).



**FIGURA 1** – Administração de cetamina 10% (40mg/kg), xilazina 2% (5mg/kg) e morfina 10mg/ml (2,5mg/kg), por via intraperitoneal, como protocolo anestésico, na porção caudal esquerda do abdome.

Após a indução anestésica, os animais foram posicionados em decúbito lateral direito para ampla tricotomia da porção lateral esquerda do abdome. Ato

---

<sup>2</sup> Cetamin – Syntec – Hortolândia/SP;

<sup>3</sup> Sedomin – König SA – Avellaneda/Argentina;

<sup>4</sup> Dimorf – Cristália – Itapira/SP.

contínuo, com os animais neste mesmo decúbito foi realizado a antissepsia da região tricotomizada com solução de clorexidina a 2%<sup>5</sup>.

Para a realização da ferida dermoepidérmica e demarcação do segmento de pele a ser retirado utilizou-se um molde plástico, especialmente confeccionado para esta finalidade, com 1cm de comprimento e 1cm de largura. Com o auxílio de uma lâmina de bisturi nº 15<sup>6</sup> foi excisado um fragmento cutâneo de 1cm<sup>2</sup>, no centro da área depilada, até a exposição da fáscia muscular. A hemostasia foi realizada por compressão digital, utilizando-se gaze esterilizada.

Logo após a realização da lesão dermoepidérmica foram realizados os curativos com os componentes propostos (pasta 1 = neomicina, bacitracina, óxido de zinco, talco farmacêutico, carbonato de cálcio, glicerina e água deionizada / pasta 2 = neomicina, bacitracina, óleo de amêndoas, óxido de zinco, lanolina anidra, palmitato de retinol, colecalciferol, acetato de racealfatocoferol, cianocobalamina e água deionizada e Controle solução fisiológica – NaCl 0,9%<sup>7</sup>), seguido da cobertura com gaze e fixação com micropore<sup>8</sup> (FIGURA 2).

---

<sup>5</sup> Riohex 2% - Rioquímica – São José do Rio Preto/SP.

<sup>6</sup> Free-Bac – Wuxi Xinda Medical Device Company LTDA – Xishan City/China.

<sup>7</sup> Fisiológico – Segmenta – Ribeirão Preto/SP

<sup>8</sup> Fita Micropore – 3M do Brasil Ltda – Sumaré/SP



**FIGURA 2** – Aplicação da pasta 1 sobre a lesão dermoepidérmica realizada em rato, seguida da cobertura com gaze para a devida proteção da ferida.

### 3.3.2 Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos em três grupos de 20 animais. No grupo 1 as lesões dermoepidérmicas foram tratadas com uma pasta contendo neomicina, bacitracina, óxido de zinco, talco farmacêutico, carbonato de cálcio, glicerina e água deionizada. No grupo 2 as lesões de pele foram tratadas com uma pasta a base de neomicina, bacitracina, óleo de amêndoas, óxido de zinco, lanolina anidra, palmitato de retinol, colecalciferol, acetato de racealfatocoferol, cianocobalamina e água deionizada.

Já no Grupo Controle as feridas de pele foram tratadas com solução fisiológica (NaCl 0,9%). Os grupos foram por sua vez divididos aleatoriamente em dois subgrupos de acordo com o dia da eutanásia (7º ou 14º dia de pós-operatório), com 10 animais em cada subgrupo.

### 3.3.3 Pós-operatório

Os animais foram realocados nas suas respectivas gaiolas para observação da recuperação anestésica até a completa normalização da frequência respiratória e início da movimentação ativa e busca por alimentos e água. Além disto, foram identificados com o dia do procedimento operatório e o tipo do tratamento que receberam (pasta 1, pasta 2 e controle).

Como protocolo de analgesia os animais receberam morfina, por via intraperitoneal, na dose de 2,5 mg/kg, com intervalos de 12 horas, durante 24 horas.

### 3.3.4 Curativos e observações macroscópicas

Nos animais do grupo 1 e 2 os curativos foram realizados diariamente, até a data da eutanásia, sendo conduzidos da seguinte maneira:

- 1 - Limpeza da ferida com solução fisiológica (NaCl 0,9%);
- 2 - Remoção de exsudato quando necessário;
- 3 - Aplicação de uma das pastas;
- 4 - Cobertura com gaze;
- 5 - Fixação da gaze com fita micropore.

Nos animais do grupo do grupo controle os curativos foram realizados diariamente, até a data da eutanásia, sendo conduzidos da seguinte maneira:

- 1 - Limpeza da ferida com solução fisiológica (NaCl 0,9%);
- 2 - Remoção de exsudato quando necessário;

- 3 - Cobertura com gaze embebida em solução fisiológica (NaCl 0,9%);
- 4 - Fixação da gaze com fita micropore.

Todos os ratos foram examinados, diariamente, quanto às características macroscópicas da ferida, observando-se a presença ou ausência de exsudato, tecido de granulação e necrose. Os dados foram anotados em ficha própria, individual para cada rato.

Além disso, as feridas foram mensuradas com paquímetro (Figura 3) no 1º dia de pós-operatório, tanto em relação ao comprimento (sentido crânio-caudal) como em relação a largura (sentido dorso-ventral) possibilitando desta forma o cálculo da superfície de cada lesão, dada em milímetros quadrados ( $\text{mm}^2$ ). Estas medidas permitiram avaliar a evolução da cicatrização das lesões, além do grau de contração das mesmas.



**FIGURA 3** – Mensuração das lesões dermoepidérmicas em ratos com paquímetro no 1º dia de pós-operatório

### 3.3.5 Eutanásia e colheita de material

No 7º e 14º dia de pós-operatório, 10 ratos de cada grupo foram eutanasiados para colheita de material para avaliação microscópica. Antes da realização deste procedimento os animais foram pesados e as lesões mensuradas.

A eutanásia foi realizada com tiopental sódico, na dose de 25mg/kg, administrado por via intraperitoneal, seguido da infusão de cloreto de potássio, obedecendo-se os princípios éticos em experimentação animal preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Em seguida, cada uma das feridas foi excisada com margem de 1cm de pele íntegra em torno da lesão, em profundidade até a fáscia muscular. Cada peça foi identificada individualmente, fixada em papelão e colocada em solução de formalina a 10% para em seguida ser encaminhada ao Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Franca (UNIFRAN), onde foram confeccionadas as lâminas para a avaliação histológica.

### 3.3.6 Observações microscópicas

Os fragmentos foram fixados em formol tamponado a 10% por 48 horas e processados conforme a rotina convencional de processamento histológico, com desidratação em diluições crescentes de álcoois e diafanização em xilol, para inclusão em blocos de parafina histológica. Estes foram cortados em micrótomo, com espessura de 4 µm e corados pelo método histoquímico de rotina, pela hematoxilina e eosina, para análise em microscopia óptica.

A análise dos cortes histológicos foi realizada pelo mesmo patologista sem o conhecimento prévio da identificação dos grupos. Os dados obtidos foram classificados de acordo com a intensidade em que foram encontrados e transformados em variáveis quantitativas mediante atribuição de índice para o achado histológico, conforme demonstrados no Quadro 1 e preconizado por

GARROS et al. (2006). A intensidade dos achados histológicos foi analisada segundo os seguintes critérios:

Proliferação Vascular – foi considerada ausente, quando não se evidenciavam vasos no corte histológico; discreta, quando eram visibilizados poucos vasos esparsamente situados, de forma isolada no contexto; moderada, quando apareciam com maior frequência e dispersos no campo óptico e acentuada, quando evidenciados com grande frequência, dispostos em todo o contexto.

Células mononucleares – foram classificadas em ausente, quando estas células não eram visibilizadas no campo óptico; discreta, quando evidenciadas de forma isolada, possibilitando distinguir áreas livres de infiltrado; moderada quando apareciam com maior frequência, constituindo agregados densos, mas possibilitando visibilizar áreas livres de infiltrado; e acentuada, quando as células foram evidenciadas com grande frequência, constituindo agregados densos e justapostos, sem áreas livres de infiltrados.

Células polimorfonucleares – foram classificadas em ausentes, quando ainda não eram visibilizadas no campo óptico; discretas, quando eram visibilizadas esparsamente, de forma isolada, com muitas áreas livres de infiltrados; moderada, quando já eram visibilizadas formando agregados, porém com áreas adjacentes livres de infiltrados; acentuada, quando estas células apareciam com grande frequência, formando agregados densos, sem áreas livres de infiltrados.

Proliferação fibroblástica – foi classificada em ausente, quando não se evidenciava proliferação de fibroblastos; discreta, quando haviam esparsos fibroblastos proliferados em meio ao tecido conjuntivo frouxo; moderada, quando havia moderada quantidade de fibroblastos proliferados, constituindo pequenos feixes celulares multi-direcionalmente; e intensa, quando havia grande quantidade de fibroblastos proliferados constituindo agregados compactos de células arranjadas multi-direcionalmente.

Colagenização – classificou-se como ausente, quando não havia fibras colágenas depositadas; discreta, quando a deposição de fibras colágenas era em pequena quantidade, caracterizadas por fibras depositadas em meio aos fibroblastos proliferados; moderada quando a deposição de colágeno formava feixes de fibras eosinofílicas, espessas, intercaladas com áreas de tecido conjuntivo frouxo e fibroblastos proliferados; e intensa, quando havia grande deposição de fibras

colágenas, constituindo feixes de fibras eosinofílicas espessas, compactamente arranjadas em meio a fibroblastos proliferados e sem áreas de tecido conjuntivo frouxo.

Reepitelização – classificou-se como ausente, quando não havia epitélio visibilizado no campo óptico; discreta quando o epitélio começava a recobrir a área da ferida; moderada, quando aparecia de forma parcial sobre a área acometida; acentuada, quando visibilizado de forma total ou completa sobre o tecido conjuntivo.

Hemorragia – foi considerada ausente, quando não se evidenciavam hemácias fora dos vasos sanguíneos; discreta, quando eram visibilizadas poucas hemácias ao redor de até dois vasos sanguíneos; moderada, quando eram observadas hemácias em maior quantidade ao redor de pelo menos dois vasos sanguíneos; acentuada, quando era observada grande quantidade de hemácias ao redor de diversos vasos sanguíneos.

Os dados coletados foram registrados em fichas individuais para cada animal.

<b>Quadro 1 -</b> Classificação e atribuição de índices aos achados histológicos nos cortes corados pelo método HE (Hematoxilina e Eosina)				
Achados HE	Intensidade dos achados			
	Ausente	Discreto	Moderado	Acentuado
Proliferação vascular	0	1	2	3
Células mononucleares	0	1	2	3
Células polimorfonucleares	0	1	2	3
Proliferação fibroblástica	0	1	2	3
Colagenização	0	1	2	3
Reepitelização	0	1	2	3
Hemorragia	0	1	2	3

**Fonte:** GARROS et al. (2006).

### 3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram avaliados quanto à sua normalidade ao teste de Kolmogorov-Smirnov. Empregou-se Análise de Variância para Medidas Repetidas, com posterior

avaliação pelo teste Bonferroni, nas avaliações entre períodos, considerando-se o nível mínimo de significância  $p \leq 0,05$ . Para avaliar a área de necrose entre os grupos estudados foi utilizado o teste de Fischer com nível de significância de  $p \leq 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

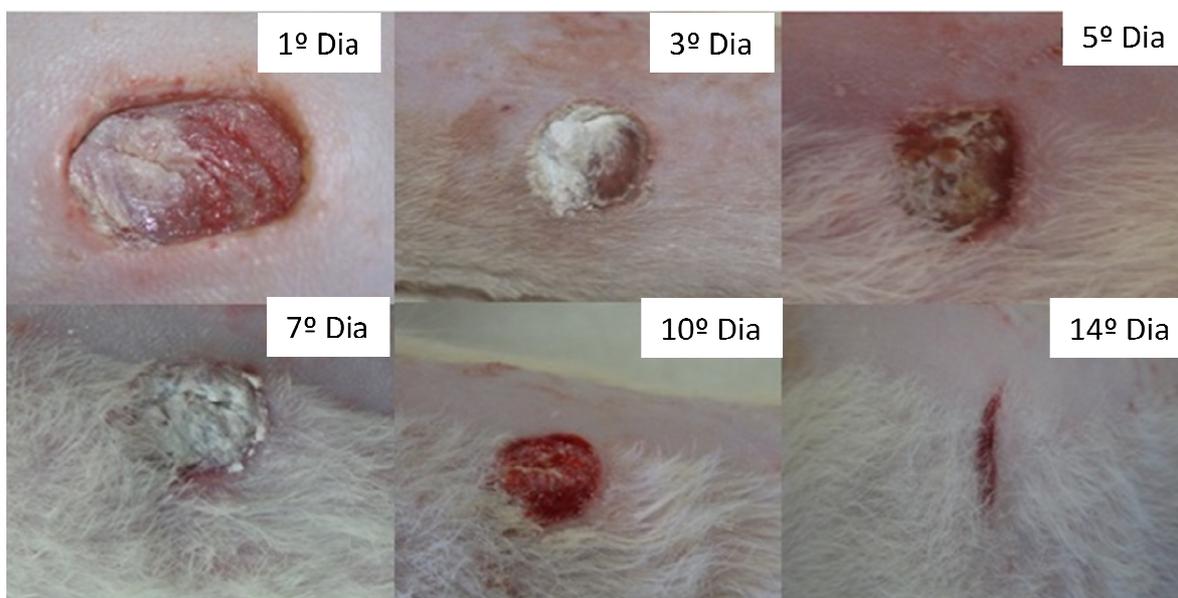
O trans-operatório de todos os animais transcorreu sem complicações. Não houveram óbitos e todos os ratos se recuperaram da anestesia. As avaliações clínicas diárias mostraram adequada recuperação, com manutenção do estado geral, presença de atividade física e disposição para alimentar-se nos grupos pasta 1, pasta 2 e controle. A manipulação dos animais foi a mesma em todos os grupos, e não produziu estresse de modo a interferir no processo de cicatrização.

### 4.1 EVOLUÇÃO MACROSCÓPICA DA CICATRIZAÇÃO TECIDUAL

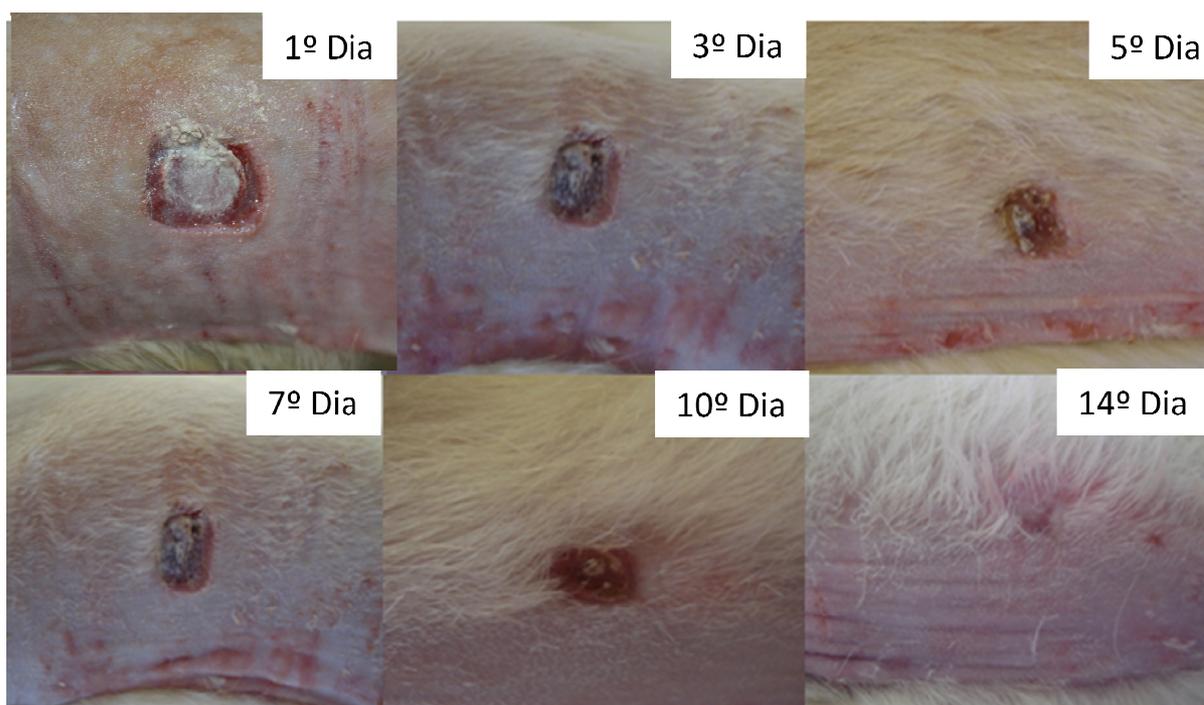
A área da ferida diminuiu gradativamente com a evolução da cicatrização nos três grupos (pasta 1, pasta 2 e controle). A evolução da ferida cutânea nos ratos do grupo controle e no grupo pasta 1 apresentou exsudação e formação de crostas delicadas até o 7º dia de pós-operatório. Nenhum animal do grupo Pasta 2 apresentou secreção purulenta macroscopicamente identificada até 7º dia de pós-operatório.

Observou-se pela análise macroscópica que o tamanho das feridas eram menores nos grupos pasta 2 e controle quando comparados com o grupo Pasta 1, no sétimo dia de pós-operatório. Além disto, as feridas de seis animais do grupo controle e cinco animais do grupo pasta 2 encontravam-se totalmente cicatrizadas no 14º. dia de pós-operatório, enquanto que em nenhum rato do grupo pasta 1 foi observado o mesmo resultado (Figuras 4, 5 e 6). Outro fato que chamou à atenção

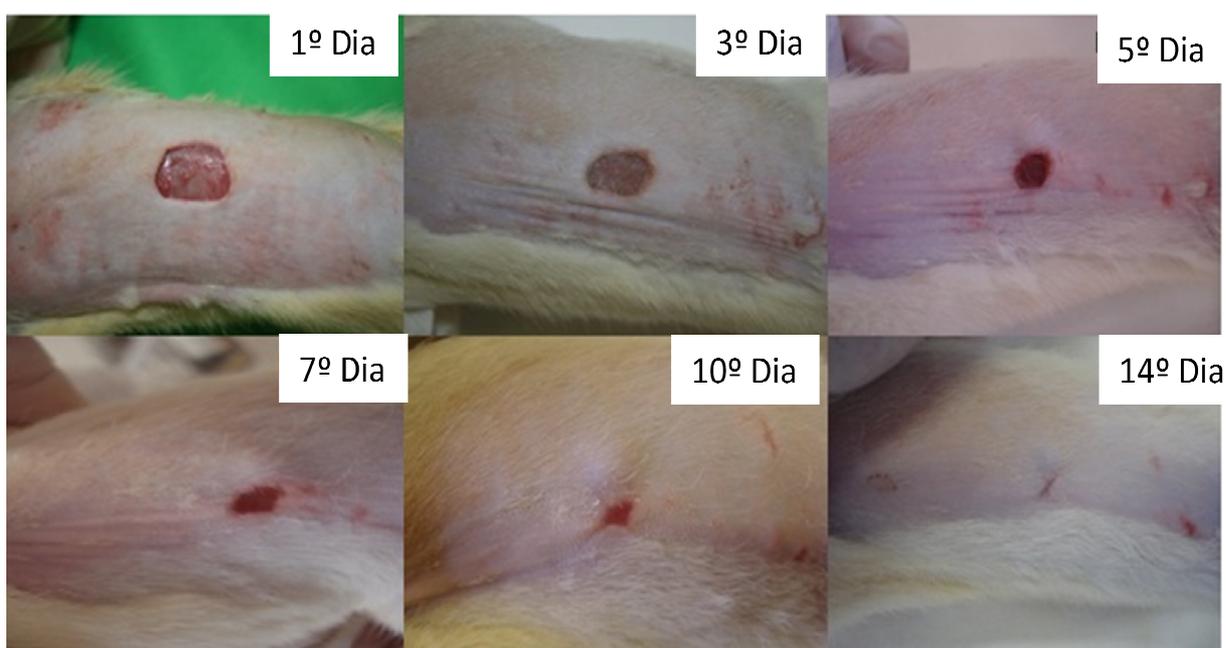
durante a realização do experimento foi que nos animais do grupo pasta 1 foi observado o crescimento de pêlos após 3º dias de pós operatório diferentemente do que foi observado nos ratos dos outros grupos.



**FIGURA 4** – Características das lesões de pele no 1º, 3º, 5º, 7º, 10º e 14º dia de pós-operatório do animal n°11 tratado com a pasta 1.

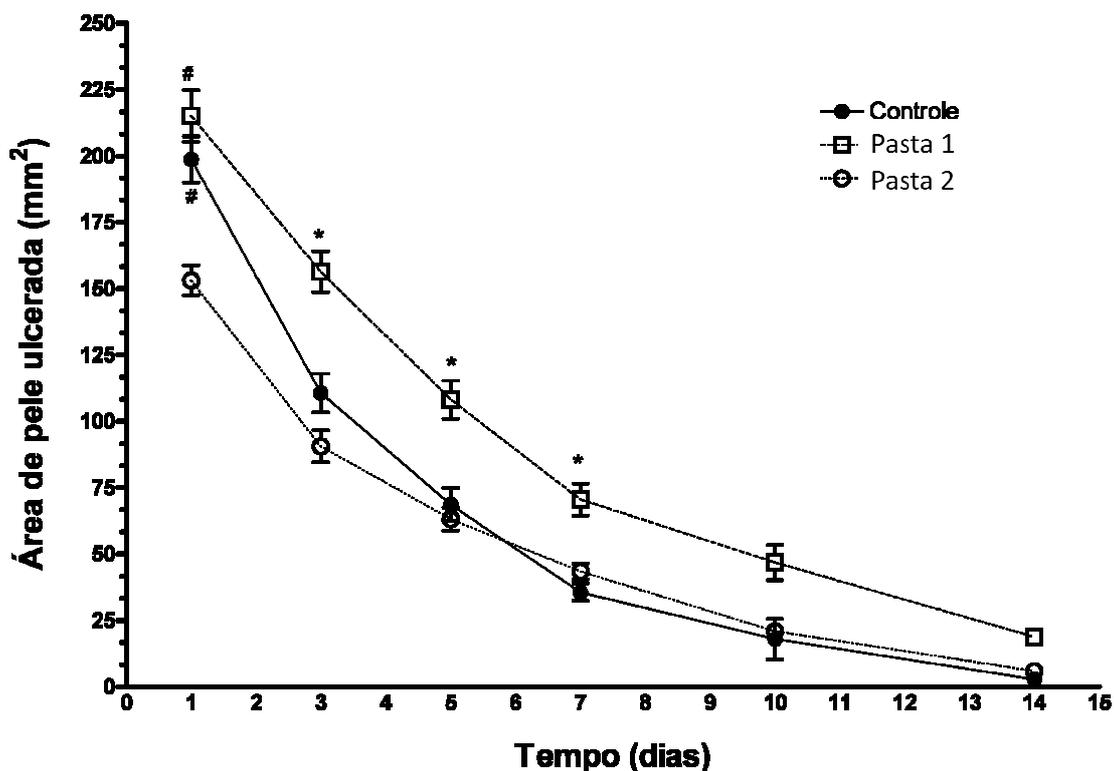


**FIGURA 5** – Características das lesões de pele no 1º, 3º, 5º, 7º, 10º e 14º dia de pós-operatório do animal n°51 tratado com a pasta 2.



**FIGURA 6** – Características das lesões de pele no 1º, 3º, 5º, 7º, 10º e 14º dia de pós-operatório do animal n°12 tratado com Solução Fisiológica (NaCl 0,9%) – Grupo controle.

Os resultados encontram-se expressos em média e erro padrão da média ( $\pm$ EPM). Embora em todos os grupos estudados as lesões cutâneas tenham evoluído favoravelmente, a pasta 1 apresentou halos significativamente maiores que os controles e a pasta 2, ao terceiro, quinto e sétimo dia de avaliação ( $p < 0,05$ ). Os diâmetros das áreas ulceradas, assim como o tempo de cicatrização, entre a pasta 2 e o grupo controle, não diferiram significativamente, do terceiro ao 14º dia de avaliação ( $p = 1,00$ ). Todavia, a média da área ulcerada dos animais tratados com a pasta 2, foi significativamente menor que os animais do grupo controle e da pasta 1 no primeiro dia de avaliação ( $p < 0,001$ ), além disto, diferiu dos animais dos animais tratados com a pasta 1, ao terceiro, quinto e sétimo dia de tratamento. ( $p < 0,001$ ) (Figura 7).



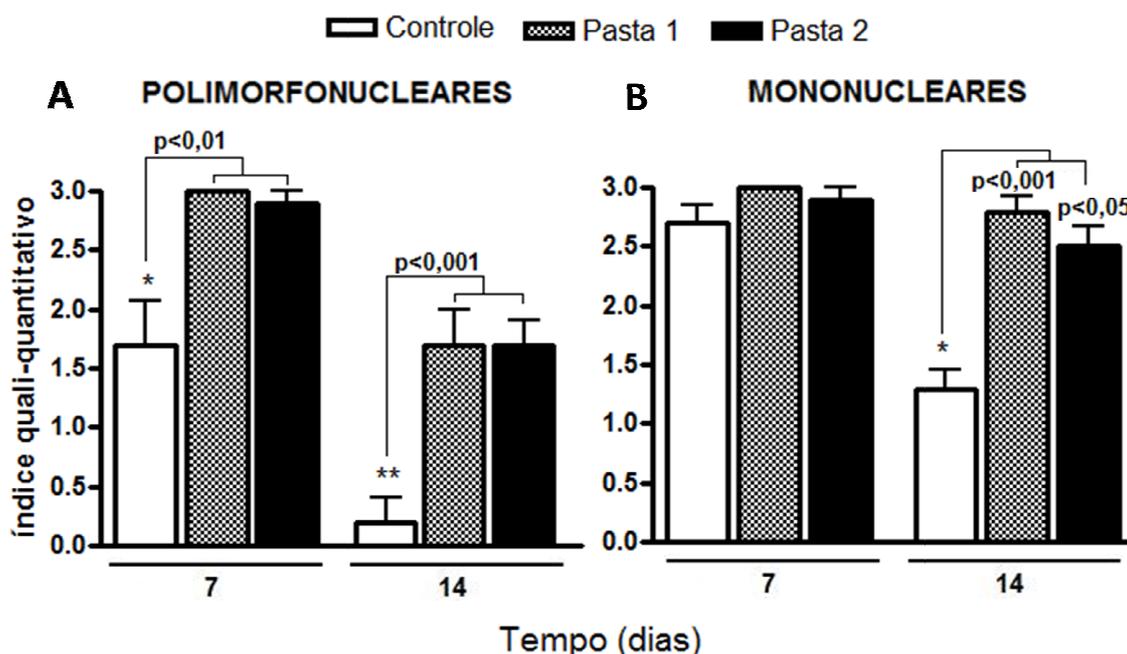
**FIGURA 7** - Média ( $\pm$ EPM)\* dos grupos, controle, pasta 1 e pasta 2, dos valores relativos ao percentual da área cutânea ulcerada, em ratos, adultos, do primeiro ao 14º dia de avaliação.

\*Significativo ao Teste Bonferroni, em relação à pasta 2 e ao controle

#Significativo ao Teste Bonferroni, em relação à pasta 2

#### 4.2 EVOLUÇÃO MICROSCÓPICA DA CICATRIZAÇÃO TECIDUAL

O grupo controle apresentou menor número de polimorfonucleares, comparativamente a ambos os grupos tratados, aos 7 ( $p < 0,01$ ) e aos 14 dias ( $p < 0,001$ ) de pós-operatório. Entre os grupos tratados com a pasta 1 e a pasta 2, não se constatou significância estatística, quanto ao número de polimorfonucleares, em qualquer período estudado ( $p > 0,05$ ). Quanto ao contingente mononuclear, observou-se diferença significativa, nos animais do grupo controle, relativamente aos demais grupos, apenas no 14º dia de pós-operatório ( $p < 0,05$ ) (Figura 8).

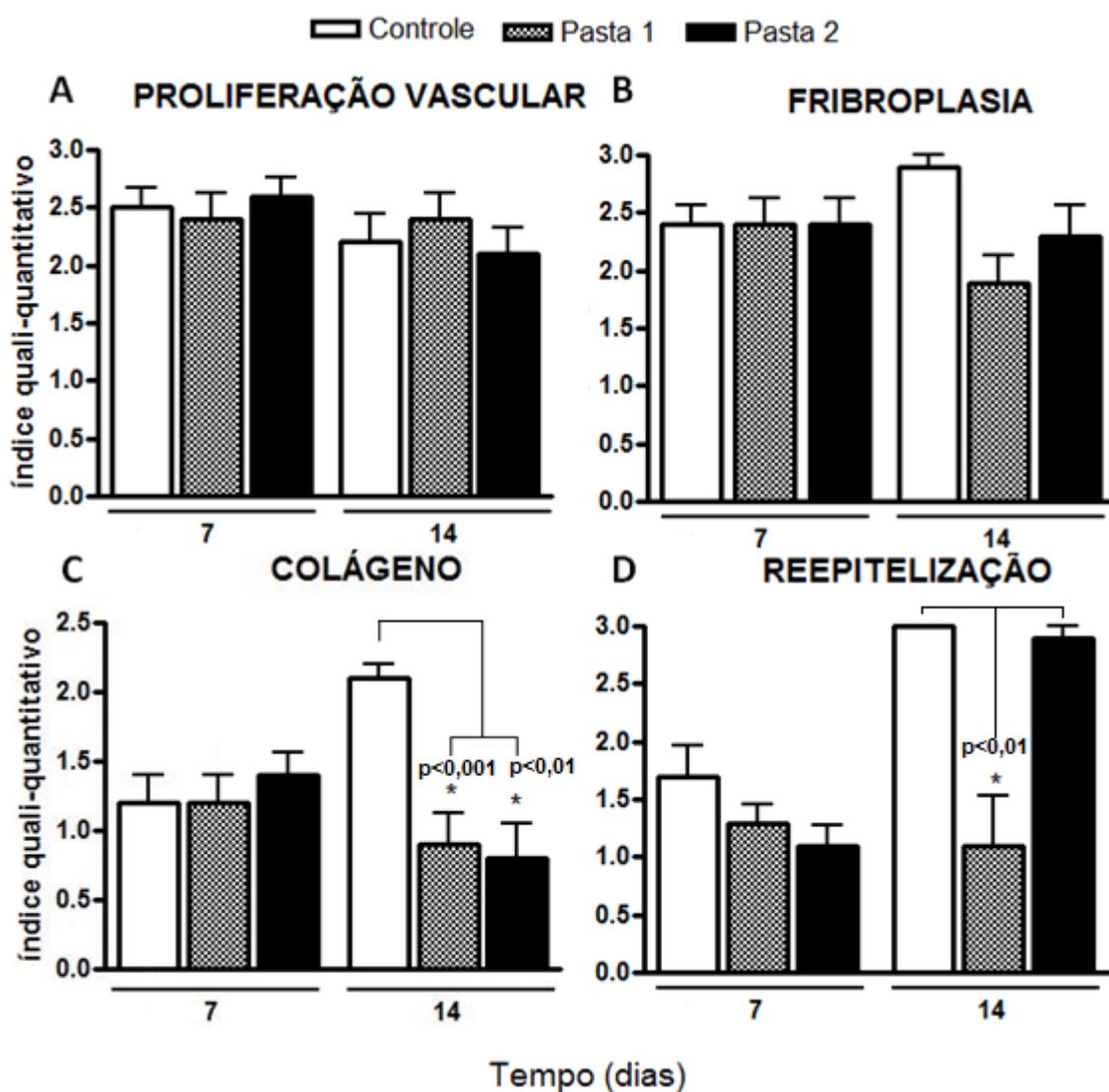


**FIGURA 8** - Índice quali-quantitativo, quanto ao contingente de polimorfonucleares e de mononucleares (média±EPM)<sup>a</sup>, decorridos 7 e 14 dias de pós-operatório.

<sup>a</sup>Teste Bonferroni

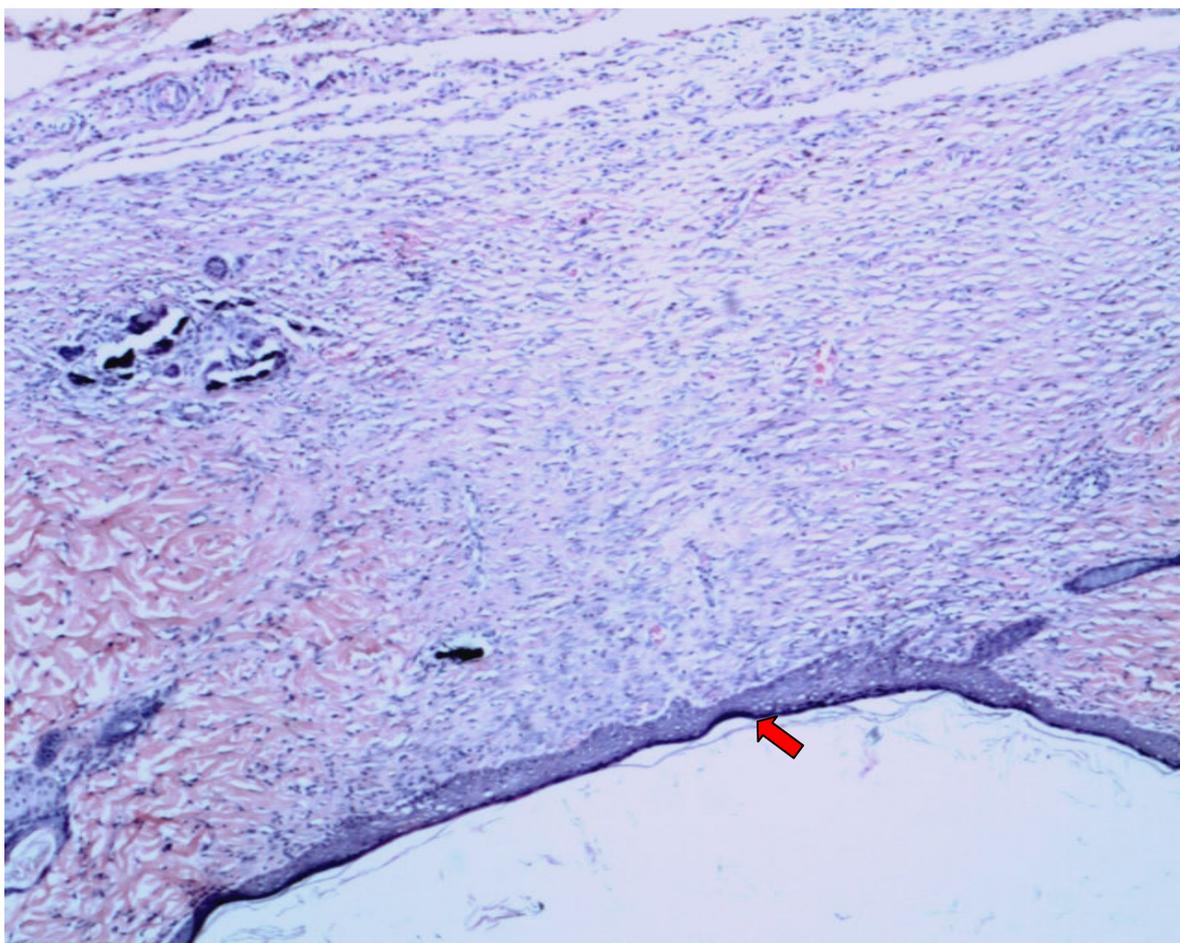
O número de células gigantes não variou entre os grupos, em qualquer período estudado ( $p>0,05$ ). Os eventos, proliferação vascular e fibroplasia, não diferiram significativamente entre os grupos, em nenhum período estudado ( $p>0,05$ ). Entretanto, no evento fibroplasia, os animais do grupo controle atingiram índices 34,5% e 20,7% maiores, comparativamente aos ratos tratados com a pasta 1 e a pasta 2, respectivamente ( $p>0,05$ ) (Figura 11) (Tabela 1).

Ao 14º dia de pós-operatório, constatou-se maior remodelação do colágeno nos animais do grupo controle, comparativamente aos animais tratados com a pasta 1 ( $p<0,001$ ) e a pasta 2 ( $p<0,01$ ) (Figura 11). No mesmo período, índices relativos à taxa de reepitelização, foram observados em menor quantidade, nos animais tratados com a pasta 1 ( $p<0,001$ ), comparativamente aos animais do grupo controle (Figura 12) e naqueles tratados com a pasta 2 (Figura 11) (Tabela 1).



**FIGURA 9** - Índice quali-quantitativo (média±EPM)<sup>a</sup>, quanto aos eventos proliferação vascular, fibroplasia, remodelação do colágeno e reepitelização cutânea, decorridos 7 e 14 dias de pós operatório.

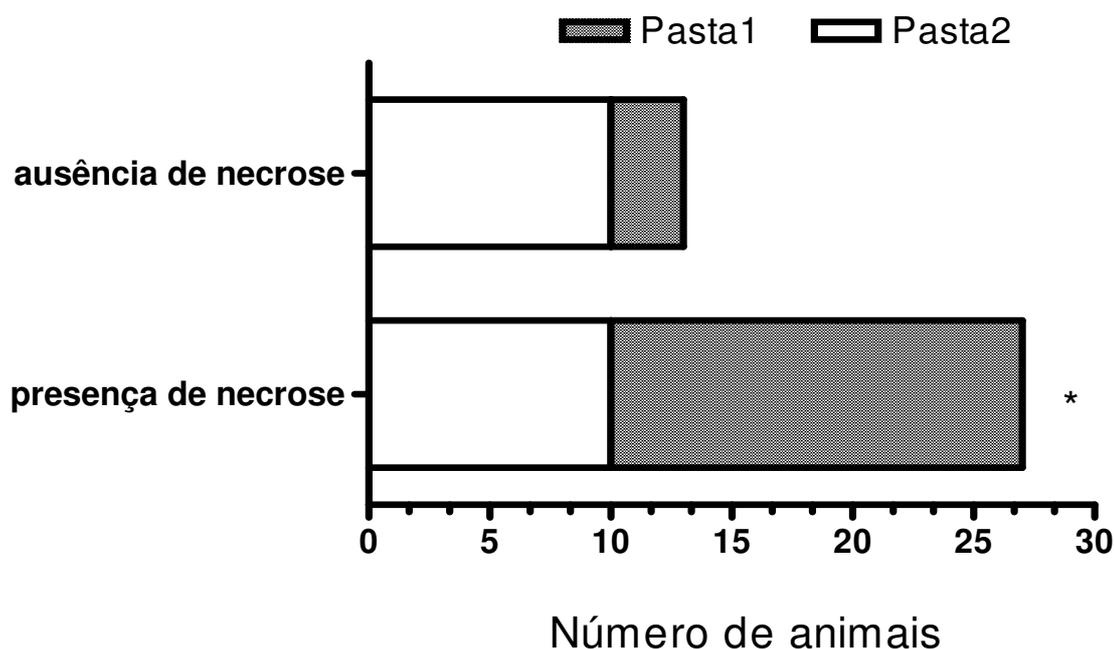
<sup>a</sup>Teste Bonferroni



**FIGURA 10** – Fotomicrografia de preparação histológica onde se observa a presença de reepitelização completa (seta) no local da lesão dermoepidérmica de um rato do grupo controle. Aumento: 40 vezes. Coloração: Hematoxilina e Eosina.

No tocante a hemorragia, não se notou diferença significativa entre os grupos, em qualquer período avaliado. Não obstante, nos animais tratados com a pasta 1, observou-se ao 14<sup>o</sup> dia de avaliação, incremento de, 85,7%, relativamente aos demais grupos ( $p=0,06$ ).

Comparativamente aos animais tratados com as pastas 1 e 2, os ratos do grupo controle, não apresentaram áreas de necrose em qualquer período avaliado ( $p<0,0001$ ). Porém, este evento foi significativamente mais intenso nos ratos tratados com a pasta 1 em relação ao tratados com a pasta 2 ( $p=0,04$ ) (Figura 11).



**FIGURA 11** - Número de animais tratados com a pasta 1 e com a pasta 2, que apresentaram o evento necrose, no período pós-operatório.

<sup>a</sup>Teste exato de Fisher ( $p=0,04$ )

**TABELA. 1** - Estatística descritiva, quanto aos índices qualiquantitativos observados à histologia, ao 7<sup>o</sup> e ao 14<sup>o</sup> dia de pós-operatório.

	<b>Controle</b> Média±EPM (CV)	<b>Pasta 2</b> Média±EPM (CV)	<b>Pasta 1</b> Média±EPM (CV)
<b>Proliferação vascular</b>			
7 <sup>o</sup> dia	2,50±0,16 (21,08%)	2,40±0,22 (29,13%)	2,60±0,16 (19,86%)
14 <sup>o</sup> dia	2,20±0,24 (35,86%)	2,40±0,22 (29,13%)	2,10±0,23 (35,14%)
<b>Fibroplasia</b>			
7 <sup>o</sup> dia	2,40±0,16 (21,52%)	2,40±0,22 (29,13%)	2,40±0,22 (29,13%)
14 <sup>o</sup> dia	2,90±0,10 (10,90%)	1,90±0,23 (38,83%)	2,30±0,26 (35,79%)
<b>Colágeno</b>			
7 <sup>o</sup> dia	1,20±0,20 (52,70%)	1,20±0,20 (52,70%)	1,40±0,16 (36,89%)
14 <sup>o</sup> dia	2,10±0,10 (15,06%)	0,90±0,23 (81,98%)	0,80±0,24 (98,60%)
<b>Reepitelização</b>			
7 <sup>o</sup> dia	1,70±0,26 48,43%	1,30±0,15 (37,16%)	1,10±0,17 (51,60%)
14 <sup>o</sup> dia	3,00 (0,00%)	1,10±0,43(124,57%)	2,90±0,10 (10,90%)
<b>Polimorfonucleares</b>			
7 <sup>o</sup> dia	1,70±0,36 (68,21%)	3,00 (0,00%)	2,90±0,10 (10,90%)
14 <sup>o</sup> dia	0,20±0,20 (316,23)	1,70±0,30 (55,80%)	1,70±0,13 (39,70%)
<b>Mononucleares</b>			
7 <sup>o</sup> dia	2,70±0,15 (17,89%)	3,00 (0,00%)	2,90±0,10 (10,90%)
14 <sup>o</sup> dia	1,30±0,15 (37,16%)	2,80±0,13 (15,06%)	2,50±0,16 (21,08%)

## 5. DISCUSSÃO

Os fatores como a superfície extremamente ampla e a importância da pele como barreira de proteção contra agentes nocivos (AL-BAGDADI, 1993; FOWLER, 1993; PAVLETIC, 1993; YOUNG; MATHES, 1996; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; RODRIGUES et al., 2001; PEREIRA; ARIAS, 2002) aliados às freqüentes complicações das feridas na rotina da Clínica de Animais de Companhia motivaram a realização deste experimento.

Além disto, os constantes avanços científicos levando a mudanças nos vários conceitos e hábitos tradicionais do tratamento de feridas (FOWLER, 1993; COHEN et al.; 1996; PEREIRA; ARIAS, 2002; CANDIDO, 2007) reforçaram a necessidade de estudos nesta área. A opção por testar duas novas formulações farmacêuticas na forma de pasta contendo neomicina, bacitracina, óxido de zinco, talco farmacêutico, carbonato de cálcio, glicerina e água deionizada ou neomicina, bacitracina, óleo de amêndoas, óxido de zinco, lanolina anidra, palmitato de retinol, colecalciferol, acetato de racealfatocoferol, cianocobalamina e água deionizada baseou-se na eficácia destes agentes como acelerador cicatricial em pacientes da espécie humana, conforme relatado por Candido (2007).

Foi escolhido ratos da linhagem Wistar como animal de experimentação, devido à facilidade de aquisição, manuseio, acomodação, resistência à agressão cirúrgica e a baixa mortalidade apresentada nos processos infecciosos de acordo com Marchini, 1994; Simões et al., 1985, e também o uso de machos adultos, para evitar a interferência das variações hormonais do ciclo estral de fêmeas que poderiam interferir no mecanismo de reparação tecidual como citado por Harris, Stopak, Wild (1981) e Belivacqua, Modolin, Almeida (1981).

No decorrer do experimento através das avaliações macro e microscópicas, caracterizaram-se as fases inflamatória, proliferativa e de remodelação da reparação tecidual, apesar de constatar-se, histologicamente, interações entre os três eventos conforme citaram Fowler (1993), Pavletic (1993), Cohen et al., (1996), Young, Mathes (1996), Fossum et al., (1997), Bosqueiro et al., (1999), Rodrigues et al., (2001), Pereira, Arias (2002), Candido (2007).

A retirada de um fragmento de pele induziu a formação de fibrina, coágulo e exsudado inflamatório, formando a crosta que recobre a ferida (BELIVACQUA; MODOLIN; ALMEIDA, 1981). Considerando-se que as citocinas são importantes mediadores dos eventos de neoangiogênese, fibroplasia e maturação, e são liberadas por células como plaquetas, neutrófilos, macrófagos, linfócitos, mastócitos, fibroblastos e outras (ROBSON; PHILIPS, 1992; SHAH; FERGUSON, 1992; RODRIGUES et al., 2001; CANDIDO, 2007) facilmente entende-se a importância das propriedades quimiotáticas de formulações contendo palmitato de retinol, colecalciferol, acetato de racealfatocoferol e cianocobalamina na cicatrização.

A maior infiltração de células polimorfonucleares e macrófagos durante os sete primeiros dias, que correspondem a fase exsudativa ou inflamatória (CANDIDO, 2001 e RODRIGUES et al., 2001) nas feridas tratadas com a pasta 1 e a pasta 2 em relação ao grupo controle ( $p < 0,01$ ) provavelmente seja decorrente da utilização de óxido de zinco, talco farmacêutico, carbonato de cálcio, glicerina, óleo de amêndoas, lanolina anidra, palmitato de retinol, colecalciferol, acetato de racealfatocoferol e cianocobalamina, fato que pode ser atribuído às propriedades de quimiotaxia para células poli e monomorfonucleares destas substâncias, conforme citaram MOCH et al., (1990) e DECLAIR (1994).

Na epiderme após as avaliações microscópicas das lesões no 7º e 14º dias de pós-operatório verificou-se uma melhor reepitelização dos grupos controle e pasta 2 em relação ao grupo pasta 1, visto que todas as camadas estavam completas indicando uma eficiente cicatrização. Conforme Kowalczyk (2006), a organização eficiente e gradual das camadas epidérmicas revela a evolução na reparação tecidual.

Maior velocidade de cicatrização dos tecidos tratados com a pasta 2 quando comparada com a pasta 1 observada neste experimento pode estar relacionada com a presença de vitamina A, pois de acordo com Probst (1993), ela atua na estimulação dos fibroblastos, acelerando assim a deposição de colágeno e formação de tecido conjuntivo. As alterações associadas à hipovitaminose A, como aumento na taxa de infecção e diminuição de linfócitos (KEUSCH, 1990 e RADMATHULLAH et al., 1990), demonstram indiretamente a importância desta vitamina na reparação tecidual.

Conforme os resultados observados, os animais tratados com a pasta 2 apresentaram evolução considerável do dia 0 até o 3º dia onde houve uma diminuição de 50mm<sup>2</sup> na ferida se comparado com o controle e 70mm<sup>2</sup> quando comparado a pasta 1, sendo importante ressaltar que as feridas neste período estão mais vulneráveis que nos demais dias conforme preconizado por Candido (2007).

Os sinais discretos compatíveis com inflamação como edema, hiperemia e exsudação observados nos animais tratados com a pasta 2 podem estar ligados à ação antioxidante da vitamina E, minimizando as lesões de reperfusão conseqüentes à liberação de radicais livres tóxicos, conforme descreveram Probst (1993), Declair (1994) e Candido (2007).

A hidratação dos tecidos com lanolina anidra, óleo de amêndoas e água deionizada (DECLAIR et al., 1998 e CANDIDO, 2007), além dos curativos úmidos com solução fisiológica 0,9% (DECLAIR et al., 1998; RODRIGUES et al., 2001; CANDIDO, 2007) pode ter sido um fator favorável à rápida reparação das lesões, pois a umidade favorece a autólise dos tecidos desvitalizados e contribui com a cicatrização, conforme afirmaram Declair et al., (1998) e Candido (2007), apesar de Hutchinson e McGuckin (1990), Andrade et al. (1992) e Boriskin (1994) preconizarem o uso de curativos secos.

O processo de debridamento autolítico decorrente da ação de enzimas como a hidrolase ácida presente na solução fisiológica 0,9% (DECLAIR et al., 1998; CANDIDO, 2007) evitou a necessidade de debridamento cirúrgico nos animais avaliados.

Segundo Martins (2005) a lanolina usada em pastas e pomadas como veículo até a concentração de 2% não afeta o processo de cicatrização em ratos, nem apresenta efeitos tóxicos sobre monócitos que desempenham papel importante na cicatrização.

Trabalho semelhante realizado na Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), um dos pioneiros nas pesquisas com o zinco no Brasil, preconiza que o zinco é necessário para produção de mais de 300 enzimas, incluindo as fosfatases, metaloproteínases, oxidoredutases e transferases, envolvidas no metabolismo de ácidos nucleicos e na função imunológica. Ele também desempenha um importante papel na transcrição gênica. Numerosos fatores da transcrição contém um elemento

funcional chamado de “Zinc-Finger”, composto de aproximadamente 30 aminoácidos ao redor do íon zinco (SALGUEIRO et al., 2000).

De acordo com Gil et al. (2005) o carbonato de cálcio utilizado em formulações atua localmente, diminuindo ou eliminando determinadas bactérias como *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*, conferindo desta forma grande importância desta substância no processo de cicatrização.

Novos estudos devem ser realizados para aprimorar a formulação das duas pastas propostas visando a redução no tempo da cicatrização, contribuindo desta forma para a descoberta de novas formulações que possam ser empregadas no tratamento de feridas de cães e gatos.

## 6. CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos durante o período de investigação, pode-se concluir:

- O uso de duas novas formulações farmacêuticas na forma de pasta e com coadjuvantes técnicos diferentes, porém com os mesmos antibióticos apresentaram influência e diferença significativa no processo cicatricial, uma vez que a velocidade de cicatrização no período considerado como fase crítica que é até o 3º dia após a ferida, a pasta 2 foi mais eficaz, devido a presença de vitaminas e óleo de amêndoas, já na pasta 1 a maior quantidade de óxido de zinco combinada com carbonato de cálcio retardou o crescimento de tecido de granulação.

- A hidratação tecidual, pelo uso de curativos úmidos com solução fisiológica 0,9%, não oferece prejuízos à cicatrização, podendo ser empregada em ratos com feridas abertas.

- O grupo controle apresentou menor número de polimorfonucleares, comparativamente a ambos os grupos tratados, aos 7 e aos 14 dias de pós-operatório.

- Ao 14º dia de pós-operatório constatou-se maior remodelação de colágeno nos animais do grupo controle, comparativamente aos animais tratados com a pasta 1 e a pasta 2.

- Novos estudos devem ser realizados para aprimorar a formulação das duas pastas visando a redução no tempo da cicatrização.

## REFERÊNCIAS\*

AL-BAGDADI, F. The tegument. In: EVANS, H.E. *Anatomy of the dog*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993. p.98-121.

ANDRADE, M. N. B.; STEWARD, R.; MELO, J. R. C. Curativos. *Revista Medica de Minas Gerais*, Belo Horizonte, v. 4, p. 228-236, 1992.

ANSEL, H. C. *Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. 6. ed. Lippincott, 2000.

BATES, M. D. B. *Propedêutica médica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1986, p. 39-46.

BELIVACQUA, R. G. et al. Cicatrização. In: GOLDENBERG, S.; BEVILACQUA, R. G. *Manual de cirurgia*. 2. ed. São Paulo: EPU/Springer, 1981.

BORISKIN, M. I. Primary care management of wounds. *Nurse Practice*, [S.l.], v. 19, n. 11, p. 38-54, 1994.

BOSQUEIRO, C. M.; GUIMARÃES, C.; FERRAZ, C. R. C.; BAJAY, H. M. *Manual de tratamento de feridas*. Campinas: Hospital das Clínicas - UNICAMP. Campinas, 1999.

CONTRAN, R. S., KUMAR, V.&, COLLINS, T. *Patologia estrutural e funcional*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

CÂNDIDO, L. C. *Nova abordagem no tratamento de feridas*. São Paulo: Editora SENAC, 2007.

CHARLET, E. *Cosmética para farmacêuticos*. Royo: Editorial Acribia, 1996, p. 5-12.

---

Elaborado de acordo com o Manual de normas para elaboração e apresentação de trabalhos acadêmicos da Universidade de Franca.

([http://www.unifran.br/site/canais/pesquisa/iniciacao/documentacao/normasTCC\\_2009.pdf](http://www.unifran.br/site/canais/pesquisa/iniciacao/documentacao/normasTCC_2009.pdf))

COHEN, I. R.; DIEGELMANN, R. F.; CROSSLAND, M. C. Os cuidados com a cicatrização das feridas. In: SCHWARTZ, S. I.; SHIRES, G. T.; SPENCER, F. C. *Princípios de cirurgia*. México: Mc Graw-Hill / Interamericana, 1996. p. 251-273.

DECLAIR, V. Uso de triglicérides de cadeia média na prevenção de úlceras de decúbito. *Revista Brasileira de Enfermagem*, [S.l.], v. 47, n. 1, p. 127-130, 1994.

DECLAIR, V.; CARMONA, M.P.; CRUZ, J.A. Ácidos graxos essenciais (AGES). Protetores celulares dos mecanismos agressivos da lesão hipóxica. *Dermatologia Atual*, v.4, n.1, p.2-7, 1998.

EHRENKRANZ, N. J.; MEAKINS, J. L. Surgical Infections. In: BENNET, J. V.; BRACHMAN, P. S. *Hospital Infections*. Boston: Little /Browm and Company, 1992. p. 685-710.

FOSSUM, T. W.; HEDLUND, C. S.; HULSE, D. A.; JOHNSON, A. L.; SEIM, H. B.; WILLARD, M. D.; CARROLL, G. L. *Small animal surgery*. Saint Louis: Mosby, 1997. p. 91-100.

FOWLER, D. Principles of wound healing. In: HARRARI, J. *Surgical complications and wound healing in the small animal practice*, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993. p. 1-31.

GIL, F. B. D. et al. Efeito da clorexidina com carbonato de cálcio no tratamento da mucosite em crianças com neoplasias malignas. *Pediatria*, v. 2, n. 27, p. 78-86, 2005.

HARRIS, A. K.; STOPAK, D.; WILD, P. Fibroblast traction as a mechanism for collagen morphogenesis. *Nature*, n. 290, p. 249-251, 1981.

HOWEL, J. P.; MAQUART, F. X. La cicatrisation. *La Reserch*, v.22, n. 236, p.1174-1178, 1991.

HULTÉN, L. Dressing for wounds. *American Journal of Surgery*, New York, v. 167, n. 1, p. 445-455, 1994.

HUTCHINSON, J.J.; MCGUCKIN, M. Occlusive dressing. A microbiologic and a clinical review. *American Journal of Infection Control*, v.18, n.3, p.257-268, 1990.

IRION, G. L. *Feridas: novas abordagens, manejo clínico e atlas em cores*: Tradução de João Clemente Dantas do Rego Barros. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, 390 p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO J. *Histologia básica*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 427 p.

KEUSCH, G.T. Vitamin A supplements – Too good not to be true. *The New England Journal of Medicine*, v.323, p.985-986, 1990.

KOWALCZYK, E. C. et al, Efeitos do Extrato de *Ilex paraguariensis* (Erva-Mate) no Reparo Tecidual de Feridas em Ratos. 2006. 47f. *Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Farmácia*, URI, Erechim, 2006.

MANDELBAUM S.H., DI SANTIS E.P. & MANDELBAUM M.H, Cicatrização: *conceitos atuais e recursos auxiliares – parte 1*. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 78, p. 393-410, 2003.

MARTINS, E. F. et al. Influência da lanolina na cicatrização. *Revista da Saúde*, v. 6, p. 69, 2005.

MOCH, D.; SHEVA, T.; HEIHN, H.; SCHMIDT, D.; BUNTROC, P. The linoleic acid metabolite 2 Ds-hidroxi-10, 12 (E, Z) – octadecadienoic acid is a strong, proinflammatory mediator in a experimental wound healing model of the rat. *Biomedicine & Biochemical Acta*, v.49, p.201-207, 1990.

MODOLIN, M.; BEVILACQUA, R. G. Cicatrização das feridas. Síntese das aquisições recentes. *Revista Brasileira de Clínica Terapêutica*, v. 14, n. 3, p. 208-213, 1985.

PAVLETIC, M. M. The integument. In: SLATTER, D. *Textbook of small animal Surgery*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1993. p. 260-280.

PEREIRA, A. M.; ARIAS, M. V. B. Manejo de feridas em cães e gatos – Revisão. *Clínica Veterinária*, São Paulo, v. 7, n. 38, p. 33-42, 2002.

PROBST, C.W. Wound Healing and Specific Tissue Regeneration. In: SLATTER, D. *Textbook of Small Animal Surgery*, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993. p.53-63.

RADMATHULLAH, L.; UNDERWOOD, B.A.; THULASIRAJ, R.D. Reduced mortality among children in southern India receiving a small weekly dose of vitamin A. *New England Journal of Medicine*, v.323, p.929-935,1990.

REMYINGTON, J. P. Medicação tópica. In: \_\_\_\_\_. *A ciência e a prática da farmácia*. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 862-884.

Richardson DC, Swain SF, Wilhalf D. Tratamento da ferida contaminada. In: Betts, CW, Crane SW. *Manual de terapêutica cirúrgica dos pequenos animais*. São Paulo: Manole; p.173-200, 1988.

ROBSON, M.C.P.L.G.; PHILIPS, L.G. Platelet derived growth factor B for the treatment of chronic pressure ulcers. *The Lancet*, v.339, n.23, p.8-12, 1992.

RODRIGUES, F. R.; CÂNDIDO, L. C.; ASSAD, L. G.; COSTA, M. C. A.; COUTINHO, V. L. Curativos em cirurgia. In: MARQUES, R. G. *Cirurgia – instrumental e fundamentos técnicos*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2001. p. 359-374.

SALGUEIRO MJ, ZUBILLAGA MB, LYSIONEK AE, et al. Bioavailability, biodistribution, and toxicity of biozn-aas: A new zinc source. *Comparative studies in rats*. *Nutrition* 16:762-766, 2000.

SAMPAIO, S. A. P.; RIVITTI, E. A. *Dermatologia*. 2. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2001, p. 3-43.

SHAH, M.F.; FERGUNSON, M.W.J. Control of scarring in adults wounds by neutralising antibodies to transforming growth factor beta (TGF $\beta$ ). *The Lancet*, v.339, n.23, p.14-19,1992.

STEVENS; A.; LOWE, J. *Histologia humana*. 2. ed. São Paulo: Manole, 2001. 416 p.

YOUNG, D. M.; MATHES, S. J. Pele e tecido subcutâneo. In: SCHWARTZ, S. I.; SHIRES, G. T.; SPENCER, F. C. *Princípios de cirurgia*. México: McGraw-Hill: Interamericana, 1996. p. 463-477.

# 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](#)