

ROBERTO RÔMULO FERREIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS ABERTAS
TRATADAS COM HIPOCLORITO DE SÓDIO 0,5%, EM RATOS
WISTAR (*Rattus norvegicus albinus*)**

RECIFE

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

ROBERTO RÔMULO FERREIRA DA SILVA

AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS ABERTAS
TRATADAS COM HIPOCLORITO DE SÓDIO 0,5%, EM RATOS
WISTAR (*Rattus norvegicus albinus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador:

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

RECIFE

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINARIA

AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS ABERTAS
TRATADAS COM HIPOCLORITO DE SÓDIO 0,5%, EM RATOS
WISTAR (*Rattus norvegicus albinus*)

Dissertação de Mestrado elaborada por
ROBERTO RÔMULO FERREIRA DA SILVA

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. JOAQUIM EVÊNCIO NETO
Orientador – Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

Prof. Dr. FERNANDO CORLETO MAIORINO
Faculdade de Medicina Veterinária – FCBS - CESMAC- FEJAL

Prof. Dr. SILVIO ROMERO DE OLIVEIRA ABREU
Faculdade de Medicina Veterinária – FCBS - CESMAC- FEJAL

Prof. Dr. EDIVALDO LOPES DE ALMEIDA
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que me ajudaram e incentivaram na realização deste trabalho, incluindo os colegas de trabalho e os amigos do Centro de Estudos Superiores de Maceió - CESMAC.

Ao meu orientador Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto, por me ajudar nesta importante fase da vida, sempre me respeitando e colaborando, pacientemente, nos momentos de dificuldades.

Ao Prof. Dr. Marcos Antonio Lemos de Oliveira, pelos conhecimentos que adquiri em sua disciplina e pela consideração que sempre demonstrou.

Ao Prof. Dr. Haldson Coelho Tabosa, diretor da Clínica-Escola do CESMAC, por sua compreensão e apoio desde o primeiro momento do Mestrado.

À Profa. Francette Moura, secretária da Clínica-Escola do CESMAC, pelo constante incentivo.

Ao amigo Prof. Jairo de Macedo Lins e Silva Neto, pela colaboração durante todo o experimento.

À amiga Profa. Dra. Ana Lydia Vasco de Albuquerque Peixoto, pela constante atenção e preocupação durante a execução desta dissertação.

Ao Prof. Dr. Sílvio Romero de Abreu, por seu incansável incentivo a ingressar no Mestrado e, especialmente, por suas importantes palavras, sempre transmitidas nas horas mais certas.

Ao amigo Prof. Dr. Diogo Ribeiro Câmara, por seu apoio, viabilizando fases importantes deste trabalho.

Ao Prof. Dr. André Martins, pela contribuição na realização da análise estatística.

Ao Prof. Dr. Fernando Corleto Maiorino, por sua compreensão e grande dedicação na realização deste trabalho, estando sempre presente em todos os momentos necessários.

À minha querida família, por sua existência e pelo profundo carinho e amor que sempre recebi, mesmo nos momentos que fui obrigado a não estar tão presente no dia a dia de nosso lar.

À Força Divina que tudo dirige e está sempre presente no coração de cada um de nós. A Ele pedimos que sempre nos guie com sua eterna sabedoria, em nossas mais profundas decisões.

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar os efeitos do hipoclorito de sódio (NaClO) 0,5% na cicatrização de feridas cutâneas abertas, induzidas experimentalmente em 24 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), com 4 meses de idade, machos, pesando aproximadamente 250g. Foram realizadas cirurgicamente duas feridas nas faces laterais direita e esquerda do tórax, sendo que na ferida do antímero direito foi utilizado borrifamento com solução de hipoclorito de sódio 0,5% e na ferida contralateral, empregou-se solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,9%. Realizaram-se avaliações morfométricas para avaliar a contração das feridas no início do experimento (tempo zero) e nos tempos experimentais 3, 7 e 14 dias pós-operatório (PO), sendo submetidas à análise estatística pelo teste de Homogeneidade K-S, e em seguida os grupos foram comparados através dos testes ANOVA e pós-teste de TUKEY. Fragmentos das lesões nos tempos experimentais 3, 7, 14 e 21 dias pós-operatórios foram submetidos a exames histopatológicos. A análise da evolução das feridas considerando-se cada tratamento isoladamente, demonstrou que as feridas tratadas com NaClO 0,5% apresentaram maior contração com 14 dias PO quando comparadas àquelas tratadas com NaCl 0,9%. A histopatologia demonstrou expressiva regressão da neovascularização aos 14 dias PO e maior tendência à organização do tecido fibroso aos 21 dias, nas lesões tratadas com NaClO 0,5%. Entretanto, não se observou diferença estatística significativa para $p \leq 0,05$ quando se comparou os dois tratamentos, a cada tempo experimental. Apesar disso, observou-se que o NaClO 0,5% provocou maior redução nas feridas tratadas e portanto sugere-se que este antisséptico possa ser utilizado como tratamento alternativo de feridas abertas em Medicina Veterinária.

Palavras-chave: cicatrização, hipoclorito de sódio, ferida aberta.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of 0.5% sodium hypochlorite (NaClO) in the healing of open wounds in the skin, induced experimentally in 24 rats (*Rattus norvegicus albinus*), 4 months of age, male, weighing approximately 250g. Two surgically injuries were performed in the right and left lateral sides of the chest. The wound located into the right antimere was treated with 0.5% NaClO and the contralateral wound received 0.9 % sodium chloride (NaCl) solution. To measure the wounds contraction, morphometric analysis were accomplished at the beginning of the experiment (time zero) and post-surgery at times 3, 7 and 14 days. The data were statistically analyzed by the Uniformity KS test, and the groups were compared by ANOVA and TUKEY tests. The histopathological analysis of the post-surgical injuries' fragment showed that the wounds treated with 0.5% NaClO presented greater contraction at day 14 compared to those treated with 0.9% NaCl. In addition an expressive decrease in the neovascularization at day 14 and a greater tendency to the organization of fibrous tissue at day 21 were observed in the lesions treated with 0.5 % NaClO. However, no statistical difference ($p \leq 0.05$) was observed for each time trial in both treatments. Nevertheless, it was observed that 0.5% NaClO caused greater reduction in the treated wounds and therefore this antiseptic could be suggested as an alternate treatment for open wounds in the Veterinary Medicine.

Keywords: healing, sodium hypochlorite, open wound.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1. Pesagem dos animais.....	27
Figura 2. A) Material para anestesia; B) Anestesia intraperitoneal; C) Demarcação do local da incisão; D) Incisão e retirada da pele; E) Feridas contralaterais simétricas; F) Medição com paquímetro.....	28
Figura 3. Colheita de material para histopatológico.....	30
Figura 4. Cicatrização, 3 dias PO. Observar crosta fibrinosa (*), espessamento epidérmico (ep), infiltrado neutrofilico (n), edema dérmico (ed) e congestão vascular (c). HE, objetiva 10. A) Ferida tratada com NaClO. B) Ferida tratada com salina.....	32
Figura 5. Cicatrização, 7 dias PO. Observar crosta fibrinosa (*), proliferação epidérmica (ep), tecido de granulação (tg), vasos neoformados () e congestão vascular (c). HE, objetiva 10. A) Ferida tratada com NaClO. B) Ferida tratada com salina.....	34
Figura 6. Cicatrização, 14 dias PO. Observar reepitelização (re), proliferação de fibroblastos e fibrócitos (fs). Comparar a quantidade de vasos neoformados entre a ferida tratada com NaClO e a contralateral tratada com salina. A) Ferida tratada com NaClO. HE, objetiva 4. B) Ferida tratada com salina. HE, objetiva 4. C) Ferida tratada com NaClO. HE, objetiva 40. D) Ferida tratada com salina. HE, objetiva 40.....	35
Figura 7. Cicatrização, 21 dias PO. Observar cicatriz fibrosa preenchendo a área das lesões. HE, objetiva 10. A) Ferida tratada com NaClO. B) Ferida tratada com salina.....	36

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. MEDIDAS DOS EIXOS VERTICAL E HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM NaClO 0,5% NOS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO.....	37
Tabela 2. MEDIDAS DOS EIXOS VERTICAL E HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM SOLUÇÃO SALINA 0,9% NOS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO.....	39

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM NaClO 0,5% ENTRE OS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO.....	38
Gráfico 2. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO VERTICAL DAS FERIDAS TRATADAS COM NaClO 0,5% ENTRE OS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO.....	38
Gráfico 3. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM NaClO 0,5% ENTRE O TEMPO “0” E 14 DIAS PO.....	39
Gráfico 4. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM SALINA 0,5% ENTRE OS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO.....	40
Gráfico 5. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO VERTICAL DAS FERIDAS TRATADAS COM SALINA 0,9% ENTRE OS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO.....	40

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Aspectos anatômicos, histológicos e fisiológicos da pele.....	13
2.2 Feridas.....	15
2.2.1 Definição.....	15
2.2.2 Classificação e etiologia.....	15
2.3 Cicatrização.....	16
2.3.1 Fases da cicatrização.....	16
2.3.1.1 Fase inflamatória (exsudativa).....	16
2.3.1.2 Fase proliferativa (fibroplasia).....	17
2.3.1.3 Fase de maturação.....	17
2.3.2 Modulação celular e química da cicatrização.....	18
2.3.3 Fatores que interferem na cicatrização.....	21
2.4 Tratamento de feridas.....	21
2.4.1 Aspectos históricos.....	21
2.4.2 Avanços no tratamento de feridas.....	17
2.6 Hipoclorito de sódio.....	24
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1 Local do experimento.....	26
3.2 Animais.....	26
3.3 Delineamento experimental.....	27
3.3.1 Grupos experimentais.....	27
3.3.2 Procedimento cirúrgico.....	27
3.3.4 Tratamento das feridas.....	29
3.3.5 Avaliação clínica das feridas.....	29
3.3.5 Avaliação da contração das feridas / Análise estatística.....	29
3.3.6 Avaliação microscópica.....	29
4 RESULTADOS.....	31
4.1 Avaliação clínica das feridas cutâneas.....	31
4.2 Avaliação histopatológica das feridas cutâneas.....	31

4.2.1 Terceiro dia do PO.....	31
4.2.2 Sétimo dia do PO.....	33
4.2.3 Décimo-quarto dia do PO.....	35
4.2.4 Vigésimo-primeiro dia do PO.....	36
4.3 Avaliação da contração das feridas / Análise estatística.....	37
5 DISCUSSÃO.....	41
6 CONCLUSÃO.....	45
7 REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

As tentativas do homem de intervir no processo de cicatrização de feridas remontam à antiguidade, quando foi reconhecida a importância de protegê-las a fim de evitar complicações ao paciente. Apesar dos grandes avanços na compreensão das diversas fases da reparação tissular cutânea, com o objetivo de auxiliar na cicatrização das feridas prevenindo complicações, a incidência e prevalência de úlceras crônicas são extremamente altas (BLANES, 2004).

Nos animais domésticos, os ferimentos cutâneos ocorrem com grande frequência, sendo causados, geralmente, pela ação violenta de agentes físicos e mecânicos, evoluindo muitas vezes, para uma cicatrização por segunda intenção. O processo de cicatrização pode ser influenciado por fatores como a presença ou não de infecções, a interferência e/ou colaboração do proprietário, disponibilidade do veterinário e hábitos inerentes ao animal (COELHO, 1998). Desta forma, a intervenção médica assume papel fundamental na promoção de fatores que favoreçam a reparação tecidual (MONTEIRO *et al.*, 2003).

Com a oferta crescente e diversificada de novos recursos e tecnologias, aliada a um estratégia publicitária intensiva junto aos profissionais, o processo de tomada de decisão pode ficar comprometido se nele prevalecerem fatores como a pressão da mídia ou apenas os custos dos produtos. Toda e qualquer proposta de intervenção deve levar em conta não só a lesão a ser tratada, mas o portador da mesma, com suas características e necessidades (MANDELBAUM *et al.*, 2003).

O Hipoclorito de Sódio (NaClO) diluído a 0,5% constitui o clássico Líquido de Dakin, que atua pela liberação de cloro e tem espectro de ação bactericida, viricida e desodorizante. Estas soluções podem ser antissépticas, desinfetantes ou esterilizantes dependendo da concentração e do tempo de contato (SLATTER, 1998; HIDALGO *et al.*, 2001; ANDRADE, 2002; ZEHNDER *et al.*, 2002; VU *et al.*, 2002; LINDFORS, 2004; VAHID *et al.*, 2004;) e têm sido muito utilizadas em Medicina Veterinária para irrigação de abscessos ou feridas, com a finalidade de promover sua limpeza, auxiliando na retirada de debris necróticos e para antisepsia, tendo como grande vantagem sua fácil aplicação e baixo custo (SPINOSA *et al.*, 2002).

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar aspectos clínicos, morfométricos e histopatológicos da cicatrização de feridas cutâneas abertas induzidas experimentalmente e tratadas topicamente com hipoclorito de sódio a 0,5% em ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos anatômicos, histológicos e fisiológicos da pele

A pele é o maior órgão do corpo e pode atingir, tanto em humanos quanto em animais, 16% do peso corporal. Ela recobre a superfície corpórea e apresenta-se constituída por uma porção epitelial de origem ectodérmica - a epiderme - e uma porção conjuntiva de origem mesodérmica - a derme. Abaixo e em continuidade com a derme encontra-se a hipoderme ou tecido celular subcutâneo, que não faz parte da pele, apenas lhe serve de união com os órgãos subjacentes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A *epiderme* forma a camada mais externa da pele, possuindo três tipos celulares: os melanócitos, as células de Langerhans e os queratinócitos. Os melanócitos são responsáveis pela produção de um pigmento, a melanina, que tem a função de filtro endógeno contra raios ultravioletas. As células de Langerhans são células dendríticas e captam e processam antígenos (DÂNGELO; FATTINI, 1998). Os queratinócitos são as células mais numerosas e constituem o epitélio cutâneo e, na pele típica, formam diversas camadas ou estratos havendo modificação em sua morfologia, variando de cúbicas a prismáticas, na camada mais interna, até poliédricas e pavimentosas nas camadas mais superficiais (BANKS *et al.*, 1992).

A camada mais basal da epiderme é denominada *estrato basal*, apresentando células que variam de cúbicas a prismáticas. Em seqüência à camada basal, situa-se o *estrato espinhoso*, caracterizado pelas pontes intercelulares *aparentes*. As células desta camada mudam gradualmente de poliédricas a pavimentosas. O pigmento, quando presente, penetra nesta zona até a região de transição da próxima camada. O *estrato granuloso* é formado por células achatadas rombóides ou pavimentosas que possuem grânulos de querato-hialina. Nas

regiões epidérmicas muito espessas, como coxín plantar e focinho, evidencia-se mais uma camada o estrato lúcido, formado por várias camadas de células pavimentosas homogêneas e translúcidas que se coram apenas levemente. O estrato córneo superficial é formado por várias camadas de células cornificadas (queratinizadas). As células mortas descamam na porção periférica desta zona, sendo a queratina, o produto da transformação da diferenciação das células basais. Este processo requer um constante fornecimento de células fontes (BANKS *et al.*, 1992). O processo de queratinização garante uma substituição contínua da epiderme com células derivadas de um “pool” de divisão existente na camada basal, transcorrendo, normalmente, cerca de vinte e um dias em animais (RADOSTITS, 2002).

A derme é uma camada espessa constituída de tecido conjuntivo que se estende desde a epiderme até o tecido subcutâneo. Os anexos da pele, muitos vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos situam-se nesta camada, a qual pode ser dividida em camada papilar (mais externa) e camada reticular. Vários tipos de células são encontradas na derme, incluindo fibroblastos e fibrócitos, macrófagos, mastócitos e leucócitos, particularmente neutrófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos. As fibras colágenas são responsáveis pela grande força de tensão e as fibras elásticas proporcionam flexibilidade à pele. Os plexos vasculares fornecem sangue para a epiderme, sem penetrá-la (ARNOLD JUNIOR *et al.*, 1994)

Os mastócitos são células que ocorrem de forma variável no tecido conjuntivo e frequentemente se dispõem ao longo do caminho dos pequenos vasos. Os grânulos de mastócitos contém heparina, histamina e, em algumas espécies como nos roedores, serotonina. Estas células também liberam muitas substâncias que estão envolvidas nas respostas alérgicas, como histamina, serotonina, fatores quimiotáticos eosinofílicos da anafilaxia (FQE-A), fator ativador das plaquetas (FAP), prostaglandinas, leucotrienos e bradicinina. São ovóides, contém um pequeno núcleo claro e ovóide localizado no centro e têm como principal característica a presença de grânulos basofílicos no citoplasma. Os mastócitos se rompem facilmente durante as técnicas de preparação histológica. Já os plasmócitos são células transitórias que podem ser consideradas residentes em alguns locais do tecido conjuntivo, apresentando importante função na proteção imediata e prolongada do organismo contra antígenos, por sintetizar e secretar anticorpos humorais. Esta célula pode ser considerada residente nos tecidos conjuntivos associados aos órgãos gastrintestinais, urogenitais e respiratórios, sendo facilmente demonstrado pelas técnicas de rotina (BANKS *et al.*, 1992).

Múltiplas funções são exercidas pela pele, tais como proteção do organismo contra a perda de água; armazenamento de gorduras, carboidratos e proteínas; proteção contra atritos; termo-regulação corporal; formação de vitamina D₃; respostas imunitárias do organismo aos alérgenos; recepção sensorial e circulação sanguínea (JOHNSTON, 1990; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

2.2 Feridas

2.2.1 Definição

Qualquer lesão que leve a uma perda da continuidade da pele pode ser chamada de ferida (PERUZZO *et al.*, 2005).

2.2.2 Classificação e etiologia

As feridas podem ser classificadas em abertas ou fechadas e em limpas ou sujas. As feridas fechadas são geralmente cirúrgicas (pós-operatórias) ou ferimentos agudos ocasionadas por traumas que são suturados. As feridas abertas são geralmente feridas causadas por pressão, isquemia ou traumas que não tiveram condições ou indicação de serem suturadas, portanto, mantêm uma perda de continuidade da pele e ou tecidos (PERUZZO *et al.*, 2005).

Feridas limpas são aquelas criadas cirurgicamente, sob condições assépticas. Quando uma ferida limpa se contamina, este processo ocorre entre zero e seis horas e apresenta pouca contaminação. A ferida é considerada contaminada quando ocorre maior tempo de exposição a agentes bacterianos (seis a doze horas), apresentando debris celulares, porém sem exsudato, e geralmente nos cães decorre de mordeduras e atropelamentos. Já as feridas sujas e infectadas são caracterizadas por processo infeccioso com presença de exsudato, tecidos desvitalizados, corpos estranhos, e têm mais de doze horas de duração (RUND, 1996; DAVIDSON, 1998). A sutura realizada nessas condições ocasiona perda adicional de tecido, devido às toxinas bacterianas e à necrose por pressão. Desta forma, se o clínico tiver qualquer dúvida sobre a contaminação do tecido, não deve suturar a ferida, podendo deixar que estas cicatrizem por segunda intenção. Neste caso, embora o tempo de cicatrização seja prolongado e os resultados estéticos e funcionais possam não ser ideais, frequentemente as feridas são tratadas por esse processo com resultados favoráveis. A cicatrização por segunda intenção depende da formação de tecido de granulação, contração da ferida, e da epitelização para que ocorra a oclusão (HEDLUND, 1997; SLATTER, 1998).

2.3 Cicatrização

2.3.1 Fases da cicatrização

Tradicionalmente a cicatrização é dividida em três fases. A primeira fase é dita inflamatória ou exsudativa, seguida pela fase proliferativa ou fibroblástica e finalmente a fase de maturação (JURKOVICH; CARRICO, 1993; SZPADERSKA *et al.* 2003).

A cicatrização por si só é um processo biológico complexo, bem caracterizado do ponto de vista macroscópico e microscópico, mas desconhecido ainda do ponto de vista molecular (GOFFI, 2000). Células epiteliais, endoteliais e inflamatórias, plaquetas e fibroblastos deixam seu território para interagirem e participarem na restauração do tecido lesado e ao terminarem, reassumem suas funções habituais (MARQUEZ, 2003).

2.3.1.1 Fase inflamatória (exsudativa)

Esta fase se caracteriza por vasodilatação local com aumento da permeabilidade vascular, liberação de fatores químicos, quimiotaxia e ativação das células migrantes. Inicialmente as plaquetas se agregam, dando início à cascata de coagulação que levará a formação de coágulo de fibrina, favorecendo a hemostasia e aporte de leucócitos, fibroblastos e células endoteliais (SZPADERSKA, 2003; BROUGHTON *et al.*, 2006). Os neutrófilos infiltrados tentam limpar essa área de partículas estranhas, especialmente bactérias. Os monócitos do sangue periférico são progressivamente atraídos, ativados, tornando-se macrófagos e auxiliando na fagocitose de bactérias e restos celulares. Estes últimos, como as plaquetas, produzem fatores de crescimento críticos para o início da formação do tecido de granulação (BROUGHTON *et al.*, 2006). Mediadores celulares como histamina, prostaglandinas, tromboxanos, bradicidina, serotonina, linfocinas e interleucina 1 e 2 são liberados após o trauma, estimulando a elaboração de substâncias que induzem o fenômeno inflamatório (GUYTON, 1989).

Os mecanismos desfazem-se dos microrganismos, material estranho e tecido desvitalizado e determinam o estágio para reparação da ferida (GEORGE BROUGHT *et al.*, 2006; MULLER; KIRK, 1996).

2.3.1.2 Fase proliferativa (fibroplasia)

À medida que as células inflamatórias começam a diminuir na ferida, os fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos continuam a sintetizar os fatores de crescimento Beta-FGF, PDGH e o Alfa fator de crescimento para queratinócitos, cuja ação consiste em estimular a mitose das células epiteliais e dos fibroblastos. Fibroblastos são células fusiformes, apresenta núcleo oval e constituem a maior fonte de matriz protéica usada na restauração dos tecidos lesados (GOFFI, 2000; BROUGHTON *et al.*, 2006).

A fase proliferativa, inicia-se cerca de 48 horas após o trauma e caracteriza-se pela proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno, granulação e finalmente contração da ferida. Nesta fase ocorre a reparação do tecido conjuntivo e do epitélio. O fibrinogênio do exsudato inflamatório é transformado em fibrina, formando uma rede, na qual os fibroblastos depositam-se, multiplicam-se e secretam os componentes protéicos do tecido de cicatrização. Durante esta fase também ocorre acentuada proliferação vascular. Este tecido formado por vasos sanguíneos, fibroblastos e substâncias por eles produzidas, denomina-se tecido de granulação, apresentando-se, clinicamente, com aspecto granuloso e avermelhado. O miofibroblasto presente no tecido de granulação, devido a sua capacidade contrátil, reduz a área cruenta e facilita a epitelização, sendo responsável pela contração da ferida (ABLA, 1995; MULLER; KIRK, 1996).

2.3.1.3 Fase de maturação

A partir do 15º dia o fibroblasto reduz sua atividade mitótica e passa a secretar proteínas componentes da substância fundamental e do colágeno, no tecido de granulação. A substância fundamental assemelha-se a um gel e distribui-se entre fibras do tecido conjuntivo, sendo constituído por água, eletrólitos e glicosaminoglicanos (ABLA, 1995). Ao mesmo tempo em que é formado, o colágeno é destruído e removido. Os macrófagos e granulócitos secretam substâncias proteolíticas que degradam a matriz protéica velha e nova. Acredita-se que 30% a 50% do colágeno podem ser destruídos e, se a síntese não se der de maneira adequada, a proteólise digerirá o tecido recém formado, ocorrendo deiscência da ferida (JURKOVICH; CARRICO, 1993).

O estágio de remodelação da matriz é um período de consolidação, reforço e remodelação da ferida. Numa ferida recente, há pouco ganho em reforço. O reforço inicial acontece devido ao coágulo de fibrina, forças adesivas de epitelização, coagulação de proteína

na ferida e recrescimento dos capilares, fibroblastos e fibrilas colágenas (MULLER; KIRK, 1996). Porém, o processo de remodelação do colágeno tem início durante a formação do tecido de granulação e se mantém por meses após a reepitelização. Colagenases e outras proteases produzidas por macrófagos e células epidérmicas são responsáveis pelo correto direcionamento das fibras colágenas difusas. Nesta fase, há uma diminuição dos fibroblastos e de todos os elementos celulares, além da progressiva diminuição de vasos neoformados e a conseqüente regressão endotelial. Como resultado, a coloração passa de rosada para esbranquiçada e a cicatriz torna-se mais espessa (GUYTON, 1989). Outros componentes importantes do tecido cicatricial são os glicosaminoglicanos, responsáveis pelo direcionamento, organização e deposição das fibras colágenas que, mais maduras e organizadas que na fase proliferativa, conferem à ferida uma maior resistência. Acredita-se que uma ferida organizada tenha 80% de resistência normal da pele íntegra antes do traumatismo (LAMMERS, 1988).

Atualmente, o entendimento da cicatrização de feridas, envolve muito mais que o simples fato de haver três fases: inflamação, proliferação e maturação. Cicatrização de feridas é uma complexa série de reações e interações entre células e “mediadores” (BROUGHTON *et al.*, 2006).

2.3.2 Modulação celular e química da cicatrização

A cascata de mediação química do processo cicatricial inicia-se imediatamente após a injúria quando as plaquetas aderem-se ao colágeno subendotelial. Estas tornam-se ativadas e induzem a agregação de outras plaquetas e início da cascata de coagulação resultando na formação de coágulo fibrinoso que passa a ocupar a região lesada como parte dos mecanismos da hemostasia primária. Este coágulo, além de conter a perda sangüínea e de eletrólitos, atua como matriz para os eventos subseqüentes da cicatrização. As plaquetas ativadas liberam sinais químicos, conhecidos como citocinas ou fatores de crescimento, dentre os quais destacam-se o *fator de crescimento derivado de plaquetas* (PDGF) e *fator de crescimento transformador beta* (TGF- β) (KUMAR *et al.*, 2005).

O PDGF possui efeito quimiotático para neutrófilos, macrófagos, células musculares lisas e fibroblastos e estimulam a mitose destes dois últimos tipos celulares (DIEGELMANN; EVANS, 2004; KUMAR *et al.*, 2005; BROUGHTON *et al.*, 2006).

O TGF- β possui importante papel na iniciação dos eventos de cura devido à sua capacidade de atração de macrófagos, bem como por induzir estas células a liberarem outras citocinas incluindo *fator de crescimento fibroblástico* (FGF), PDGF, *fator de necrose tumoral alfa* (TNF- α) e *interleucina-1* (IL-1). Este mediador potencializa a quimiotaxia para fibroblastos e células musculares lisas e modula a expressão de colágeno e de colagenases, amplificando a cascata de eventos da cicatrização resultando em rápida deposição de tecido conjuntivo na área da injúria durante a fase proliferativa que se segue à fase inflamatória (DIEGELMANN; EVANS, 2004; KUMAR *et al.*, 2005; BROUGHTON *et al.*, 2006).

Com 24 horas após a lesão, os neutrófilos são as células predominantes e têm como principal papel a remoção de material estranho, bactérias, células e componentes da matriz degenerados. As bactérias sintetizam um tri-peptídeo denominado f-Met-Leu-Phe que é quimiotático para os neutrófilos e estes as removem por fagocitose (DIEGELMANN; EVANS, 2004; KUMAR *et al.*, 2005; BROUGHTON *et al.*, 2006).

Os mastócitos também participam do processo de cicatrização; possuem em seu citoplasma grânulos contendo enzimas, histamina e outras aminas ativas e estes mediadores são responsáveis pelo desenvolvimento de sinais característicos da inflamação: hiperemia, aumento de temperatura local, edema e dor (DIEGELMANN; EVANS, 2004; KUMAR *et al.*, 2005; BROUGHTON *et al.*, 2006).

Após 48 horas, as células predominantes são os macrófagos, derivados de monócitos da circulação, e são fundamentais no processo de cura. Os macrófagos ativados secretam PDGF e TGF- β atraindo mais fibroblastos e células musculares lisas para o local afetado. Essas células atuam removendo células comprometidas do hospedeiro, neutrófilos que fagocitaram bactérias, matriz extracelular degenerada, debris necróticos e bactérias remanescentes que não foram retiradas pelos neutrófilos. A presença dos macrófagos caracteriza o final da fase inflamatória e início da fase proliferativa. Embora possam ser encontrados linfócitos em fases mais tardias, estas células não são consideradas fundamentais e seu papel no processo de reparo ainda necessita de maiores esclarecimentos (DIEGELMANN; EVANS, 2004; KUMAR *et al.*, 2005; BROUGHTON *et al.*, 2006).

Com o progresso da fase proliferativa, o TGF- β secretado por plaquetas, macrófagos e linfócitos torna-se um sinal crítico. Considera-se que este seja o principal mediador na regulação da atividade fibroblástica e possui três papéis importantes neste processo: induz maior taxa de transcrição de genes para a produção de colágeno, fibronectina e proteoglicanas, bem como aumenta a produção de proteínas da matriz extracelular; ao mesmo

tempo, reduz a secreção de proteases responsáveis pela destruição da matriz e, ainda, estimula a síntese de um inibidor de metalo-proteases (TIMP) (DIEGELMANN; EVANS, 2004; KUMAR *et al.*, 2005; BROUGHTON *et al.*, 2006).

Na evolução do processo de cura, a reepitelização é estimulada pela presença de *fator de crescimento epidérmico* (EGF) e *fator de crescimento transformador alfa* (TGF- α) que são produzidos por macrófagos ativados, plaquetas e queratinócitos. Após a regeneração da epiderme, enzimas são liberadas superficialmente, dissolvendo a base da crosta fibrinosa e resultando no seu desprendimento (DIEGELMANN; EVANS, 2004; KUMAR *et al.*, 2005; BROUGHTON *et al.*, 2006).

Devido à intensa atividade metabólica no local em que está ocorrendo a cicatrização, maior requerimento de oxigênio e nutrientes se faz necessário. Fatores locais no microambiente da lesão como baixo pH, redução na tensão de oxigênio e aumento de lactato iniciam o processo que induz o crescimento de novos vasos, também denominado neovascularização ou angiogênese. Mediadores químicos como o *fator de crescimento endotelial vascular* (VEGF) e o *fator de crescimento fibroblástico básico* (bFGF) são sintetizados por células epidérmicas, fibroblastos, macrófagos e células endoteliais. Uma via interessante de sinalização envolve a baixa tensão de oxigênio que estimula a expressão de um fator nuclear de transcrição denominado “fator hipóxia-induzível” (HIF) nas células endoteliais. Este fator liga-se a seqüências específicas do DNA que regulam a expressão de VEGF estimulando a angiogênese. Quando a área afetada é invadida por vasos neoformados, a tensão de oxigênio volta ao nível normal, o oxigênio liga-se ao HIF e bloqueia sua atividade, resultando em redução da liberação de VEGF (DIEGELMANN; EVANS, 2004; BROUGHTON *et al.*, 2006).

Na fase proliferativa, a célula predominante é o fibroblasto. Estas células ligam-se à matriz fibrinosa e iniciam a produção de colágeno e, embora vários tipos de colágeno possam ser produzidos, o colágeno tipo I é o principal componente da matriz cicatricial. Sua produção inicia-se com a transcrição nuclear de seqüências específicas e no interior do fibroblasto é sintetizado como pró-colágeno, polimerizando-se no meio extracelular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). O colágeno formado na cicatriz é muito menor e mais desorganizado que o colágeno da derme normal e a área afetada sempre destaca-se da área circunjacente. Por fim, ocorre o remodelamento do colágeno pela ação de collagenases específicas produzidas por fibroblastos, neutrófilos e macrófagos que quebram a molécula em sítios específicos. Os

fragmentos, então, são desnaturados e digeridos por outras proteases (DIEGELMANN; EVANS, 2004; KUMAR *et al.*, 2005; BROUGHTON *et al.*, 2006).

A tensão da pele na área da cicatriz nunca volta à mesma intensidade de antes atingindo a tensão máxima de aproximadamente 80% (DIEGELMANN; EVANS, 2004).

2.3.3 Fatores que interferem na cicatrização

O fator infecção/contaminação é decisivo no processo cicatricial dos traumas de tecidos moles. A ferida infectada apresenta sinais de inflamação aguda resultante da contaminação bacteriana. O reconhecimento clínico de infecção baseia-se nos sinais cardeais da inflamação: dor, calor, eritema, edema e limitação funcional (GOFFI, 2000).

Quando as feridas fechadas apresentam contaminação, tecido necrótico, estando sob tensão excessiva e/ou com espaço morto, são fortes candidatas à deiscência. Suturar a ferida nestas condições, ocasiona perda adicional de tecido, devido às toxinas bacterianas e à necrose por pressão (HEDLUND, 1997).

Toda ferida traumática, por definição, tem certo grau de contaminação e, para seu tratamento, é preciso considerar fatores locais e gerais que possam interferir no processo de cura (SOUZA, 1987). Os fatores locais da ferida que afetam a resistência à infecção são corpos estranhos, tecido necrosado ou isquêmico, oclusão da ferida sob tensão, irradiação, formação de hematoma, espaço morto na ferida e procedimentos cirúrgicos inadequados (SLATTER, 1998; JURKOVICH; CARRICO, 1993). Os fatores sistêmicos como idade avançada, diabetes, obesidade, desnutrição, terapia esteróide, choque, infecção à distância, deficiências imunológicas, neoplasia, hipoproteinemia, anemia, tecido desvitalizado, assim como deficiências nutricionais (especialmente de vitaminas A, K, E e C de complexo B e de zinco) também podem interferir no índice de infecção e de complicação dos ferimentos (MULLER; KIRK, 1996).

2.4 Tratamento de feridas

2.4.1 Aspectos históricos

Os registros mais antigos, citados por Zimmerman e Veith (1961) falam sobre manuscritos egípcios que datam de 3000-2500 a.C, e neles são mencionados curativos à base de mel, graxa, fios de linho e diversos tipos de excrementos, que faziam parte dos princípios

da farmacopéia egípcia. Hipócrates, que lançou as bases da medicina científica, recomendava que as feridas fossem mantidas limpas e secas, e preconizava sua limpeza com água morna, vinho e vinagre.

Entre o final de 1840 e a Segunda Guerra Mundial, o foco para o tratamento de feridas e cicatrização foi a utilização de antissépticos e agentes tópicos com ação antimicrobiana e a proteção com coberturas secas, como consequência às descobertas de Pasteur sobre a "Teoria dos Germes". Nessa fase, deu-se o período áureo de utilização de antissépticos como o líquido de Dakin, Eusol, derivados de iodo, mercúrio e alumínio (SINCLAIR; RYAN, 1993).

Até o final da Segunda Guerra Mundial os recursos utilizados para a proteção das lesões baseavam-se na premissa de que o ambiente seco proporcionava melhores condições de cicatrização, sendo largamente desenvolvidos e utilizados agentes tópicos que provocavam o dessecamento do leito da ferida, e as coberturas consistiam basicamente de gaze seca, fixada com espessa camada de fitas adesivas (GOFFI, 2000).

Em 1945, relata-se pela primeira vez a utilização de um filme transparente, permeável ao vapor, obtendo-se efeito benéfico no processo de cicatrização. Posteriormente, em 1950, foram apresentados novos estudos com a utilização desse tipo de filme, envolto em moldura adesiva de polivinil, que veio trazer as bases para o desenvolvimento dos futuros recursos, como referido por Dantas (2003).

Embora já se aceitasse o pressuposto de que a criação de um ambiente úmido na ferida trazia efeitos benéficos para o processo cicatricial, bem como reduzia a dor, devido à proteção das terminações nervosas contra o dessecamento, até início da década de 1960 esses recursos ainda não estavam sendo desenvolvidos pela indústria. Só a partir de 1962, quando ficou demonstrado que a taxa de epitelização era 50% mais rápida em um ambiente úmido e que a formação de crostas era minimizada, houve grande interesse pelo desenvolvimento de pesquisas, produção e comercialização desse tipo de recurso (SINCLAIR; RYAN, 1993).

2.4.2 Avanços no tratamento de feridas

A limpeza da ferida é realizada com a utilização de fluidos (por irrigação), visando remover bactérias, fragmentos, exsudato, corpos estranhos e resíduos de agentes tópicos. Já o debridamento, consiste na remoção de tecidos necrosados ou de corpos estranhos aderidos no leito da ferida, deixando condições adequadas para a cicatrização (YAMANDA, 1999). À medida que a ferida vai se tornando crônica, a eficácia da irrigação pode decrescer, já que as

bactérias aprofundam-se e fixam-se nos tecidos, sendo necessário utilizar medidas mais agressivas, como debridamento e antibioticoterapia. Além da limpeza e debridamento, outro princípio importante da terapia tópica de feridas é a oclusão com coberturas. As coberturas também são chamadas de curativos, apesar desse termo não ser mais adequado, pois engloba a técnica de curar, ou seja, todos os procedimentos que vão da remoção da cobertura anterior, limpeza, debridamento e colocação da nova cobertura (SANTOS, 2000).

Segundo Dealey (2001), as qualidades de um produto eficaz para o tratamento de feridas devem incluir, facilidade de remoção; conforto; não-exigência de trocas frequentes; boa relação custo-benefício; manter o leito da ferida com umidade ideal e as áreas periféricas secas e protegidas; facilidade de aplicação; e adaptabilidade (conformação às diversas partes do corpo).

Existem recentes pesquisas que têm melhorado as perspectivas de desenvolvimento de novas tecnologias, visando não apenas acelerar o processo de cicatrização como também de reduzir as complicações. Entre estes recursos, pode-se citar aqueles destinados à proteção da pele contra agressões mecânicas ou químicas e prevenção de infecções; produtos para higienização e antissepsia; produtos para debridamento químico, enzimático, autolítico ou mecânico; coberturas primárias (em contato direto com o leito da ferida) ou secundárias (fixam as coberturas primárias); produtos para fixação de coberturas e complementos (faixas, ataduras); agentes tópicos (HAYWARD; MORRISON, 1996; AGREN, 1997; MANDELBAUM *et al.*, 2003a e b); aplicação de laser de baixa potência (VIEIRA, 2006).

Várias substâncias naturais, atualmente, estão sendo pesquisadas no tratamento de feridas abertas. Entre elas pode-se citar polissacarídeo do cajueiro (MONTEIRO *et al.*, 2003); solução de barbatimão (EURIDES *et al.*, 1995); polissacarídeo da goma do *Anacardium occidentale* (MONTEIRO, 2003); Aloe vera (SEGUNDO *et al.*, 2007; DORNELES *et al.*, 2003); confrei (OLIVEIRA *et al.*, 2000); lanolina (MARTINS *et al.*, 2005); lecitinas (ALBUQUERQUE *et al.*, 2003); ácidos graxos (DE NARDI *et al.*, 2004); *Triticum vulgare* (HETTE *et al.*, 2003); própolis (SEGUNDO, 2007); papaína (ROCHA *et al.*, 2005).

No mercado brasileiro, vários recursos industrializados já estão disponíveis, como os filmes semi-permeáveis, hidrocolóides, hidrogel, carvão ativado e prata, alginato de cálcio, ácidos graxos essenciais e bandagens para compressão. Outros recursos e tecnologias também estão em fase de pesquisa, como aplicações de laser de baixa potência e a utilização de albumina e ácido hialurônico. Apesar dos grandes avanços verificados nas últimas décadas não só na compreensão acerca dos diversos fatores e fenômenos envolvidos com o processo

de reparação tissular, mas também com a crescente pesquisa e descoberta de novas tecnologias para nele intervir, muito há que ser descoberto, em especial nos países subdesenvolvidos, em que ainda são elevadas a incidência e a prevalência de lesões cutâneas crônica (MANDELBAUM *et al.*, 2003a).

2.6 Hipoclorito de sódio

Várias substâncias com propriedades antissépticas podem ser utilizadas em dermatologia (SAMPAIO; RIVITTI, 2000). O termo antisséptico, no seu sentido estrito, define apenas substâncias que inibem o crescimento bacteriano, sem necessariamente destruir as bactérias, mas impedindo a putrefação, porém, o que habitualmente se designa por antisséptico, compreende também substâncias germicidas em geral, bactericidas e treponemicidas (RIBEIRO, 2003).

Solução de hipoclorito de sódio (NaClO) pode apresentar ação antisséptica, desinfetante ou esterilizante dependendo da concentração e do tempo de contato (SLATTER, 1998).

A solução de NaClO diluída é usada para limpeza de ferimentos, como desinfetante em mistura de diálise peritoneal ou de instrumentos cirúrgicos, desinfecção de alimentos, ou de áreas e materiais sujeitos a contaminação por certos tipos de vírus (como o da parvovirose canina), uma vez que o cloro é capaz de destruir vírus com ou sem envelope lipídico (SPINOSA *et al.*, 2000). O NaClO atua pela liberação de cloro e tem espectro de ação bactericida, viricida e desodorizante. Preparações comerciais domissanitárias contêm por volta de 2,5% de cloro ativo (ANDRADE, 2002).

As soluções de hipoclorito de sódio comerciais variam de 1 a 15% e liberam entre 1 e 5% de cloro livre. Solução de NaClO 0,5% (hipoclorito de sódio diluído) e tamponado em pH 9.0 pela adição de bicarbonato de sódio (líquido de Dakin ou solução de Dakin) são muito usadas em Medicina Veterinária para irrigação de abscessos ou feridas, com a finalidade de promover a sua limpeza e antisepsia. Esta solução tem poder bactericida e liquefaz o tecido necrótico das feridas (ação debridante), tendo como principais vantagens o fato de serem soluções pouco tóxicas, pouco irritantes e de baixo custo (SPINOSA *et al.*, 2000).

Vu *et al.* (2002) testaram a suscetibilidade de bactérias isoladas de queimaduras tratadas com diversos agentes de uso tópico incluindo mupirocina, acetato de mefenida 8,5%, nitrofuracin, nitrato de prata 0,5% em solução aquosa estéril para irrigação, hipoclorito de

sódio 0,25% em solução salina para irrigação, sulfadiazina prata 1%, polimixina B/bacitracina e nistatina 1:1 e polimixina B/bacitracina. Embora melhor efeito tenha sido observado contra gram-positivos utilizando-se sulfadiazina prata, foi verificado efeito bactericida contra gram-positivos e gram-negativos nos testes com hipoclorito de sódio 0,25% em 24 e 48 horas pós-aplicação. Estes autores também calcularam o custo do tratamento com os diferentes agentes obtendo valor de U\$72,48 para sulfadiazina prata com duas aplicações diárias e U\$120.64 para o tratamento com hipoclorito de sódio com quatro aplicações diárias.

Estudo comparativo da atividade de clorhexidine 0,2% e hipoclorito de sódio 0,5% foi desenvolvido *in vivo*, em pacientes odontológicos com doenças pulpoapicais. As soluções foram utilizadas para irrigação dos canais e o efeito bactericida foi avaliado pela obtenção de amostras cultivada em Ágar Mitis Salivarius, observando-se como porcentagens de eliminação de *Streptococcus mutans* e bactérias anaeróbicas, 99.9 e 99.02 para clorhexidine e hipoclorito, respectivamente. Concluiu-se não haver diferença estatística significativa entre as duas soluções, quando avaliadas por método não paramétrico, pelo teste de Mann-Whitney (VAHID *et al.*, 2004).

Como desvantagem, as soluções de hipoclorito de sódio são parcialmente inativados na presença de matéria orgânica e afirma-se que o hipoclorito pode prejudicar o processo de reparação dos tecidos por seu efeito citotóxico alterando as funções de neutrófilos, fibroblatos e células endoteliais, retardando a epitelização e cicatrização tecidual (LARSON *et al.*, 2002; SPINOSA *et al.*, 2002).

Hidalgo *et al.*, 2001 estudaram o mecanismo de citotoxicidade e efeito bactericida do hipoclorito de sódio em cultura de fibroblastos humanos, em concentrações variando de 0,0005 a 1% verificando que o efeito bactericida total mostrou-se na concentração de 0,5%, sendo parcial em concentrações no intervalo de 0,25 a 0,5%.

Experimentos *in vitro* foram realizados, avaliando o efeito do NaClO sobre a polpa dentária de bovinos, em quatro concentrações (0,5; 1,0; 2,5 e 5,0%), concluindo que maiores concentrações resultam em efeito residual com dano tecidual (SPANÓ, 2001).

Mehdipour *et al.* (2007), revisaram e compararam artigos na literatura que relataram acidentes com a utilização de NaClO e concluíram que a maioria das complicações que ocorreram durante a irrigação de canais dentários, aconteceram devido à incorreta determinação da extensão endodôntica a ser manipulada, por alargamento iatrogênico do

forame apical, perfuração lateral ou quando a agulha de irrigação fica presa no canal.

Lindfors (2004), comparou a utilização de hipoclorito de sódio 0,057% e solução salina 0,9% para redução de sobrecarga bacteriana em feridas de humanos e seus efeitos sobre o tecido, concluindo que pesquisas fazem-se necessárias para avaliar a segurança e efetividade na utilização de agentes antimicrobianos tópicos a fim de se estabelecer uma relação entre níveis de contaminação/infecção e cura das feridas.

Soluções de hipoclorito de sódio não-tamponadas a 0,25 e 0,5% foram comparadas com soluções tamponadas em pH 9,0 e 12,0 (líquido de Dakin) nas mesmas diluições, experimentalmente, quanto ao efeito antibacteriano e capacidade de dissolução de tecidos a partir de amostras de pálato de suínos frescas e necrosadas. As soluções mostraram-se igualmente efetivas em relação às propriedades antibacterianas e na dissolução de tecidos, e a diluição a 0,25% revelou melhor efeito na dissolução de tecidos. Concluiu-se que soluções menos citotóxicas podem ser obtidas por simples diluição do NaClO em água (ZEHNDER *et al.*, 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento

A pesquisa foi executada nas instalações do biotério da Faculdade de Ciências Biológicas e de Saúde - FCBS, situada na cidade de Maceió (AL), tendo sido previamente autorizada pela comissão de ética em Pesquisa com Animais desta mesma instituição, conforme protocolo nº 052A/07.

3.2 Animais

Para o experimento, foram selecionados 24 ratos machos, adultos, da linhagem Wistar (*Ratus norvegicus albinus*), pesando entre 200 e 300g (Figura 1), provenientes do biotério da FCBS. Todos os animais foram considerados clinicamente sadios e nutridos.



Figura 1. Pesagem dos animais.

Os animais foram alimentados com a ração comercial (Labina®, Purina – Brasil) e água *ad libitum*, sendo acomodados em gaiolas individuais de polipropileno forradas com serragem. Foram mantidos com ciclo de 12 horas dia e 12 horas noite com temperatura controlada de 22°C.

3.3 Delineamento experimental

3.3.1 Grupos experimentais

Após a seleção dos animais, estes foram divididos em quatro grupos, utilizando amostragem não probabilística por conveniência: A (n=6); B (n=6); C (n=6); e D (n=6), correspondendo aos tempos experimentais de 3, 7, 14 e 21 dias.

3.2.2 Procedimento cirúrgico

Inicialmente, os animais foram submetidos à anestesia geral, administrada por via intraperitoneal (Figura 2-B), utilizando-se associação de ketamina (Dopalen®, Vetbrands – Brasil) e xilazina (Anasedan®, Vetbrands – Brasil) (Figura 2-A), sendo 10mg/kg de xilazina e 60mg/Kg de ketamina, como descrito por Paiva *et al.* (2005).

Após a realização da tricotomia no campo, fez-se a antissepsia da pele, com iodopovidona 1% e, em seguida, foram confeccionadas duas feridas circulares contralaterais e simétricas, na região torácica, lateralmente à linha média dorsal de cada animal. A fim de facilitar a demarcação do local da incisão, pressionou-se sobre a pele, a capa plástica que recobre a borracha de lápis grafite (0,5 mm) marca Maripel®, cujo diâmetro mede 8 mm,

exercendo firme movimento giratório (Figura 2-C). Imediatamente após a demarcação, foi realizada a incisão com auxílio de lâmina de bisturi nº 15. A lesão incluiu a epiderme, derme e subcútis (Figura 2-D). Todos os procedimentos foram realizados pelo mesmo cirurgião, utilizando-se técnica asséptica, ao longo de todo o experimento. Após o procedimento cirúrgico as feridas foram mensuradas com paquímetro Vernier Caliper 200 x 0,05mm/8 x1/128 in, nº 7062865, França (Figura 2-F).



Figura 2. A) Anestésicos; B) Anestesia intraperitoneal; C) Demarcação do local da incisão; D) Incisão e retirada da pele; E) Feridas contralaterais simétricas; F) Medição com paquímetro.

3.3.3 Tratamento das feridas

O borrifamento das feridas com as soluções teste, foi iniciado 24 horas após a produção cirúrgica das feridas e as aplicações posteriores, foram efetuadas com intervalos de 12 horas. Na ferida do antímero direito utilizou-se solução de hipoclorito de sódio 0,5 % (manipulado em farmácia de manipulação). O mesmo procedimento foi feito na lesão contralateral, substituindo a solução de hipoclorito de sódio 0,5% por solução salina 0,9%.

Nos dias 5 e 10 do pós-operatório (PO), as crostas foram suavemente removidas com auxílio de gaze embebida na solução correspondente à área lesionada. Estas soluções foram acondicionadas em um frasco borrifador, objetivando facilitar a aplicação e, durante todo o experimento, não foi aplicado bandagem sobre a ferida.

3.3.4 Avaliação clínica das feridas

As avaliações clínicas foram efetuadas visualmente pelo mesmo indivíduo a cada 72 horas, observando-se a presença de hiperemia, edema, dor, secreção, prurido, crosta, contração, tecido de granulação e tecido cicatricial.

3.3.5 Avaliação da contração das feridas / Análise estatística

Nos dias 0, 3, 7 e 14 do pós-operatório, todas as feridas foram mensuradas com auxílio de paquímetro, observando-se o maior e o menor diâmetro da ferida.

As feridas foram separadas em dois grupos (salina e hipoclorito) e os dados foram submetidos ao teste de Homogeneidade K-S, em seguida os grupos foram comparados através do Teste ANOVA e pós-teste de TUKEY. Foram consideradas significantes, diferenças estatísticas quando $p \leq 0,05$.

3.3.6 Avaliação microscópica

As avaliações microscópicas foram efetuadas no final do período experimental de cada Grupo, sendo animais do Grupo A – D21; B – D14; C – D7; e Grupo D – D3. Ao final desse período os animais foram submetidos à eutanásia, por administração da associação de 30mg/kg de xilazina (Anasedan®, Vetbrands) e 225mg/Kg de ketamina (Dopalen®, Vetbrands), utilizando três vezes a dose máxima anestésica (por via IP), como descrito por Paiva *et al.* (2005). Em seguida, executou-se a colheita do material para análise

histopatológica, com remoção de tecido quadrangular medindo cerca de 1,5 X 1,5 cm, de forma a englobar todo o diâmetro da ferida, além de tecido adjacente à lesão (Figura 3). O material colhido foi fixado em formol a 10% por 24 horas, sendo submetido ao processamento histológico de rotina, incluído em parafina e, em seguida, cortado em micrótomo ajustado para 6 μ m. Os cortes obtidos foram então corados pela hematoxilina e eosina (HE) e, em seguida, foram analisados em microscópio de luz. A análise microscópica da cicatrização de cada uma das feridas foi qualitativa descritiva, avaliando a morfologia do processo inflamatório, tecido de granulação, celularidade, neovascularização e fibroplasia, bem como a evolução do processo cicatricial ao longo dos tempos experimentais.



Figura 3. Colheita de material para histopatológico.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação clínica das feridas cutâneas

Durante as avaliações que ocorreram desde o procedimento cirúrgico (tempo “0” PO) até a completa epitelização (tempo 14 dias PO) observou-se que a evolução da cicatrização foi considerada clinicamente normal. Nos três primeiros dias foi observado discreto edema nos dois ferimentos de cada animal, sem secreção ou prurido. Em ambas as feridas, houve formação de crosta recobrimdo todo o leito, a partir do 2º dia do PO. A partir do 17º dia PO observou-se completa cicatrização das feridas em ambos os tratamentos.

4.2 Avaliação histopatológica das feridas cutâneas

4.2.1 Terceiro dia do PO

Visualizou-se, recobrimdo a lesão cutânea, crosta fibrinosa contendo debris necróticos e grande quantidade de células polimorfonucleares degeneradas. Aglomerados basofílicos de aspecto finamente granular foram observados entremeando o quadro fibrinoso e estendendo-se para a superfície da lesão, sugerindo colônias bacterianas. Nos bordos da ferida constatou-se espessamento da epiderme e queratinócitos degenerados. Na derme superficial, intenso infiltrado inflamatório neutrofílico estendeu-se por toda a lesão. Ainda, edema dérmico e congestão difusa foram constatados, assim como proliferação de fibroblastos e a presença de células mononucleares difusamente, característicos da fase inflamatória do processo de cicatrização (Figura 4). No terceiro dia do PO não foram observadas diferenças morfológicas significativas entre as feridas tratadas com NaClO 0,5% e solução salina.

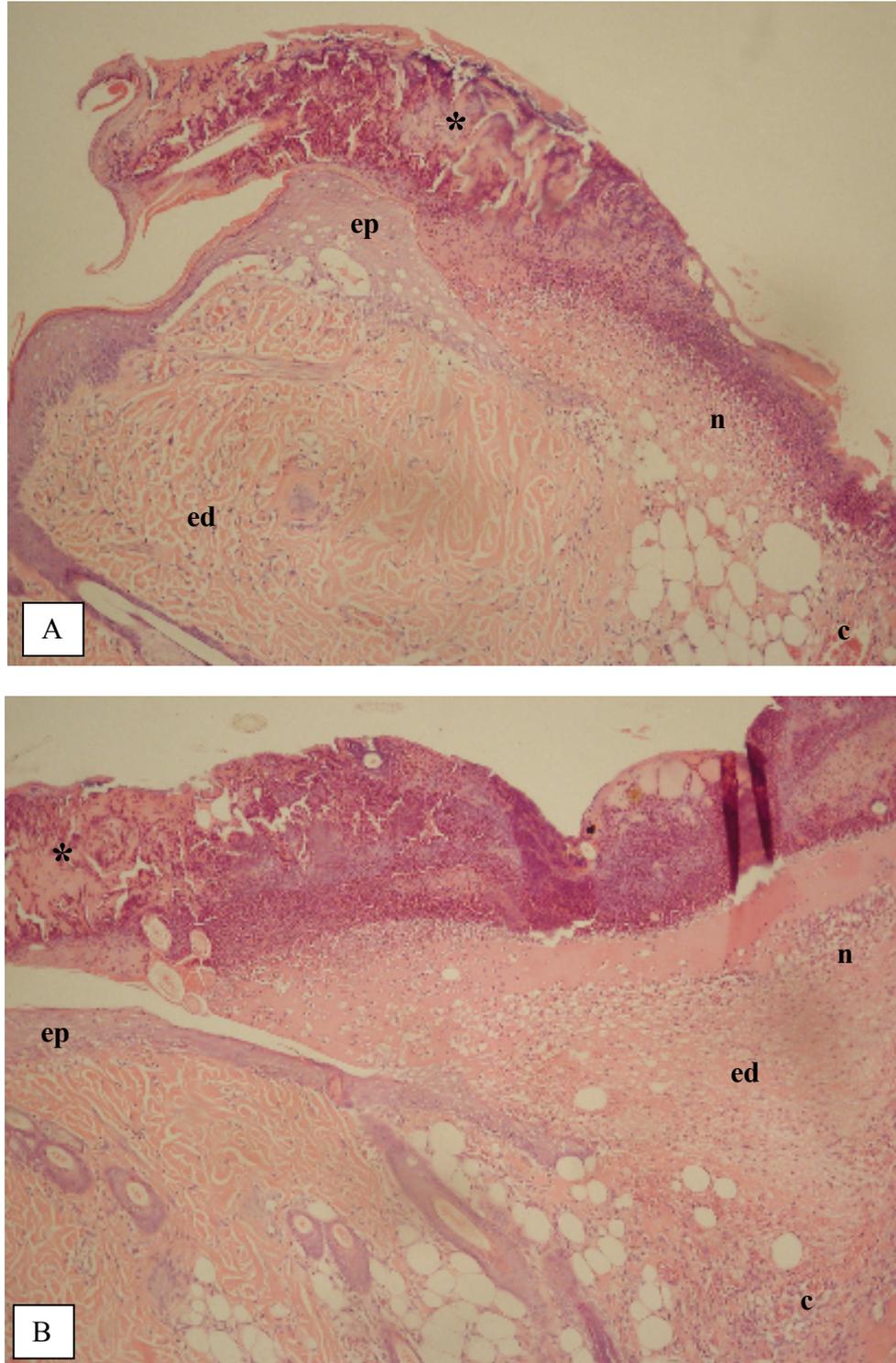


Figura 4. Cicatrização, 3 dias PO. Observar crosta fibrinosa (*), espessamento epidérmico (ep), infiltrado neutrofilico (n), edema dérmico (ed) e congestão vascular (c). HE, objetiva 10. A) Ferida tratada com NaClO. B) Ferida tratada com salina.

4.2.2 Sétimo dia do PO

Em ambos os tratamentos, as feridas apresentaram-se recobertas por crostas fibrinosas e pôde-se notar proliferação da epiderme, em ambas as bordas, orientando-se para o centro da lesão. A área do ferimento cirúrgico mostrou-se preenchida totalmente por tecido de granulação característico, com grande quantidade de fibroblastos e vasos neoformados orientados perpendicularmente à superfície da lesão, além de evidente deposição de colágeno. O edema dérmico mostrou-se reduzido e os vasos sangüíneos revelaram intensa congestão com marginação leucocitária. Discreto infiltrado inflamatório polimorfonuclear e hemorragia puderam ser observados somente na superfície da lesão. Ainda, intensa deposição de fibras colágenas, orientadas paralelamente à lesão, preencheram toda a área afetada (Figura 5).

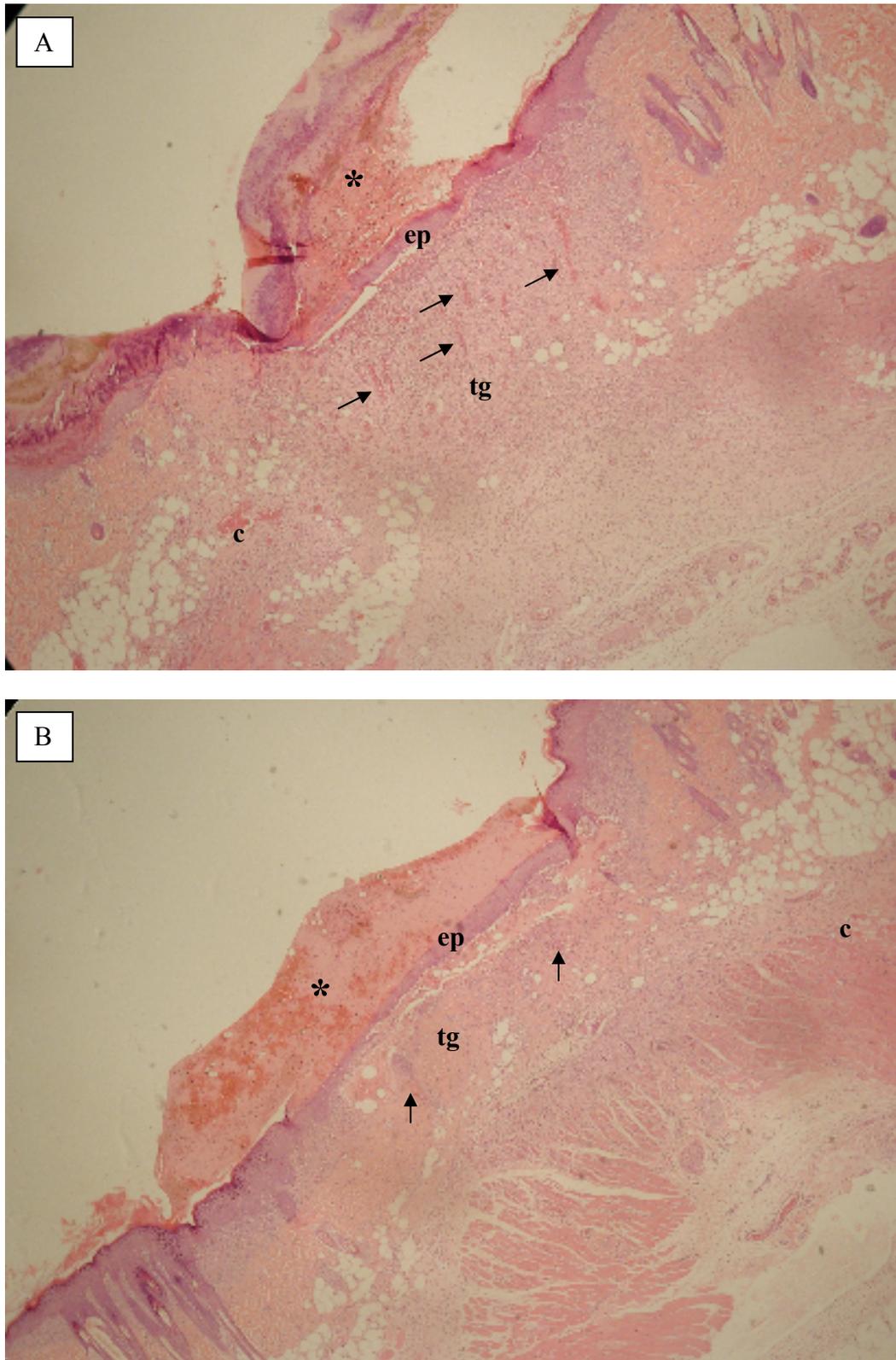


Figura 5. Cicatrização, 7 dias PO. Observar crosta fibrinosa (*), proliferação epidérmica (ep), tecido de granulação (tg), vasos neoformados (↑) e congestão vascular (c). HE, objetiva 10. A) Ferida tratada com NaClO. B) Ferida tratada com salina.

4.2.3 Décimo-quarto dia do PO

Nas feridas tratadas com NaClO 0,5%, observou-se superfície reepitelizada e queratinizada e epiderme com espessura normal. Em região de derme constatou-se evidente regressão dos vasos neoformados, ausência de edema e reduzido infiltrado inflamatório mononuclear. Ainda, grande quantidade de fibrócitos e fibroblastos ocuparam a área afetada evidenciando-se intensa deposição de fibras colágenas não modeladas (Figura 6).

Nas feridas tratadas com salina, constatou-se também reepitelização com epiderme atingindo espessura normal, porém na derme, ainda observou-se expressiva presença de vasos neoformados em todo o tecido de granulação (Figura 3D) quando comparadas com as tratadas com NaClO (Figura 3C). Houve redução na quantidade de células inflamatórias mononucleares, sendo mais expressiva a proliferação de fibroblastos, e deposição intensa de colágeno não modelado.

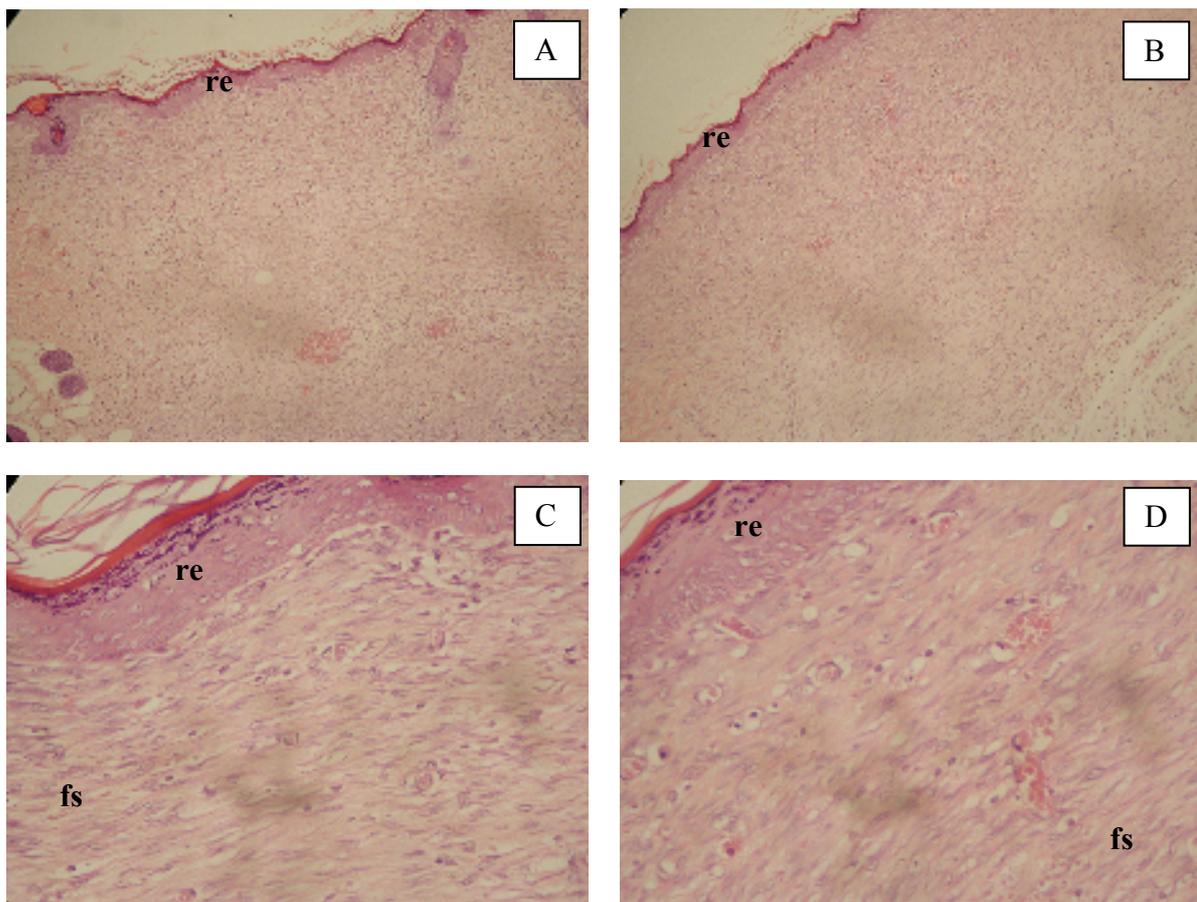


Figura 6. Cicatrização, 14 dias PO. Observar reepitelização (re), proliferação de fibroblastos e fibrócitos (fs). Comparar a quantidade de vasos neoformados entre a ferida tratada com NaClO e a contralateral tratada com salina. A) Ferida tratada com NaClO. HE, objetiva 4. B) Ferida tratada com salina. HE, objetiva 4. C) Ferida tratada com NaClO. HE, objetiva 40. D) Ferida tratada com salina. HE, objetiva 40.

4.2.4 Vigésimo-primeiro dia do PO

Em ambas as lesões, observou-se cicatrização plena com ausência de edema e infiltrado inflamatório, restando apenas raros vasos neoformados. Ainda, a cicatriz fibrosa revelou maior organização dos feixes de fibras colágenas, sendo mais evidente nas feridas tratadas com NaClO 0,5%

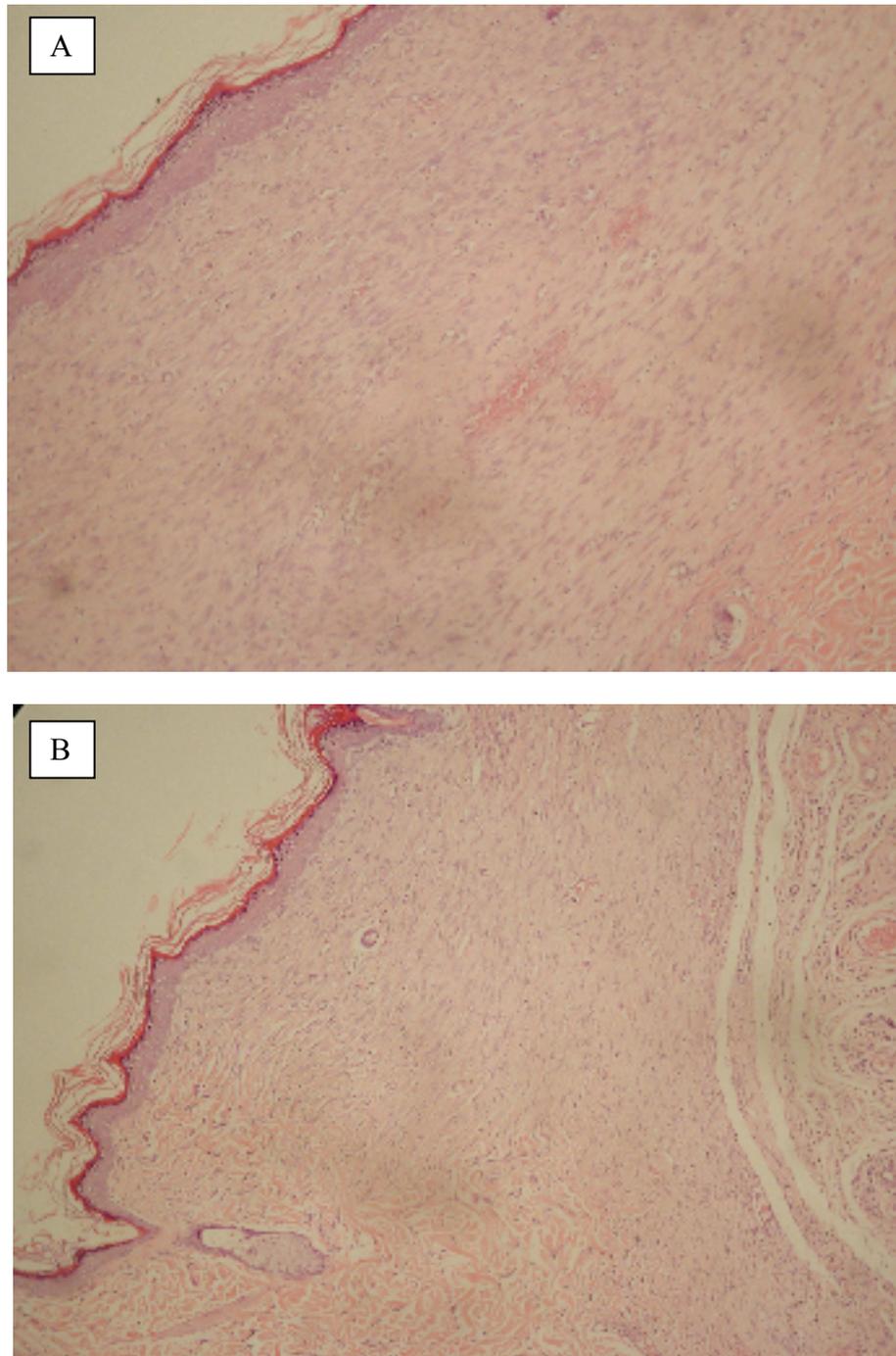


Figura 7. Cicatrização, 21 dias PO. Observar cicatriz fibrosa preenchendo a área das lesões. HE, objetiva 10. A) Ferida tratada com NaClO. B) Ferida tratada com salina.

4.3 Avaliação da contração das feridas / Análise estatística

Logo após o procedimento cirúrgico as feridas foram mensuradas, ocorrendo considerável aumento nas suas dimensões em relação ao molde original. As medidas obtidas pelas medições das lesões nos diferentes tempos experimentais foram submetidas à análise estatística considerando-se a média e o desvio padrão (tabelas 1 e 2).

As feridas tratadas com NaClO revelaram diferença significativa intragrupo comparando 3º e 14º dia PO, com $p < 0,001$; 7º e 14º dia PO, com $p < 0,01$ (gráficos 1 e 2) e 1º e 14º dia PO, com $p < 0,0001$ (gráfico 3).

A análise das feridas tratadas com solução salina 0,9% revelaram diferença significativa intragrupo comparando 3º e 14º dia PO, com $p < 0,01$ (gráficos 4 e 5) e 1º e 14º dia PO, com $p < 0,0001$ (gráfico 6).

A análise intergrupo, comparando os dois tratamentos diferentes – NaClO e Salina – não demonstrou significado estatístico.

Tabela 1. MEDIDAS DOS EIXOS VERTICAL E HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM NaClO 0,5% NOS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO

	T3 H	T3 V	T7 H	T7 V	T14 H	T14 V
	0,8	0,9	0,4	0,4	0,2	0,2
	0,5	0,6	0,2	0,3	0,2	0,2
	0,6	0,6	0,5	0,4	0,2	0,2
	0,6	0,8	0,6	0,5	0,2	0,2
	0,7	0,7	0,4	0,4	0,2	0,2
	0,6	0,9	0,7	0,5	0,2	0,2
Média	0,63	0,75	0,46	0,41	0,2	0,2
DP	0,1	0,13	0,17	0,075		

Gráfico 1. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM NaClO 0,5% ENTRE OS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO

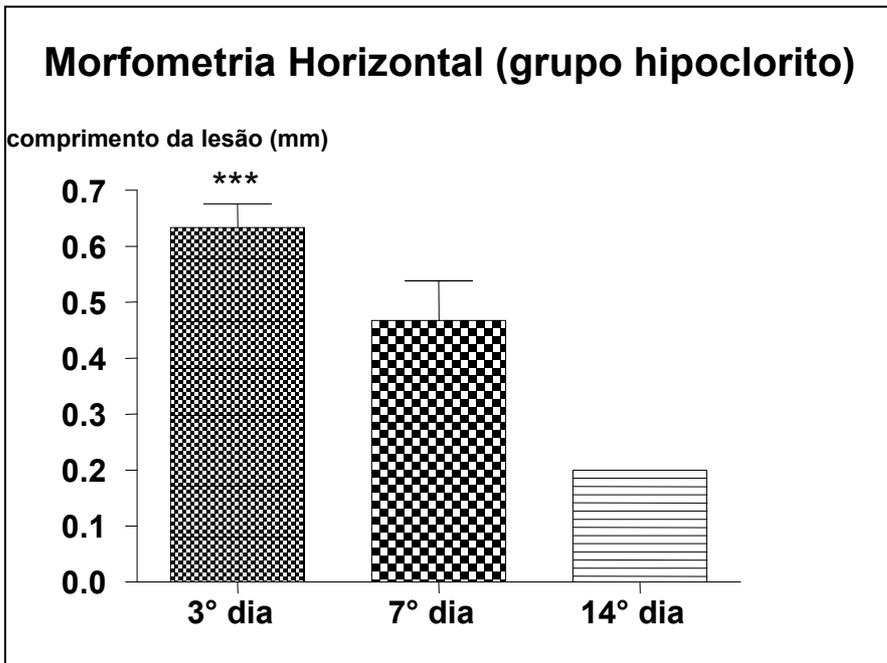


Gráfico 2. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO VERTICAL DAS FERIDAS TRATADAS COM NaClO 0,5% ENTRE OS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO

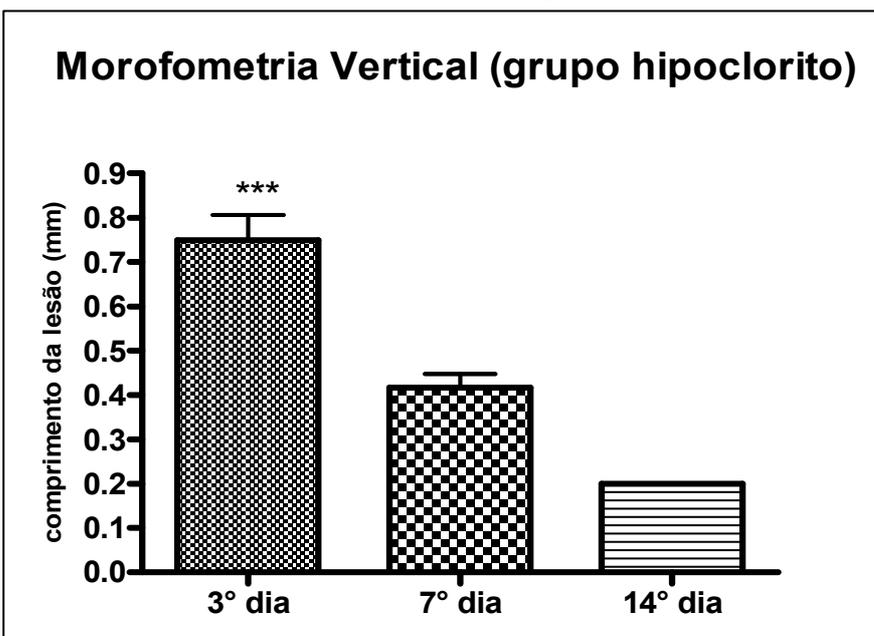


Gráfico 3. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM NaClO 0,5% ENTRE O TEMPO “0” E 14 DIAS PO

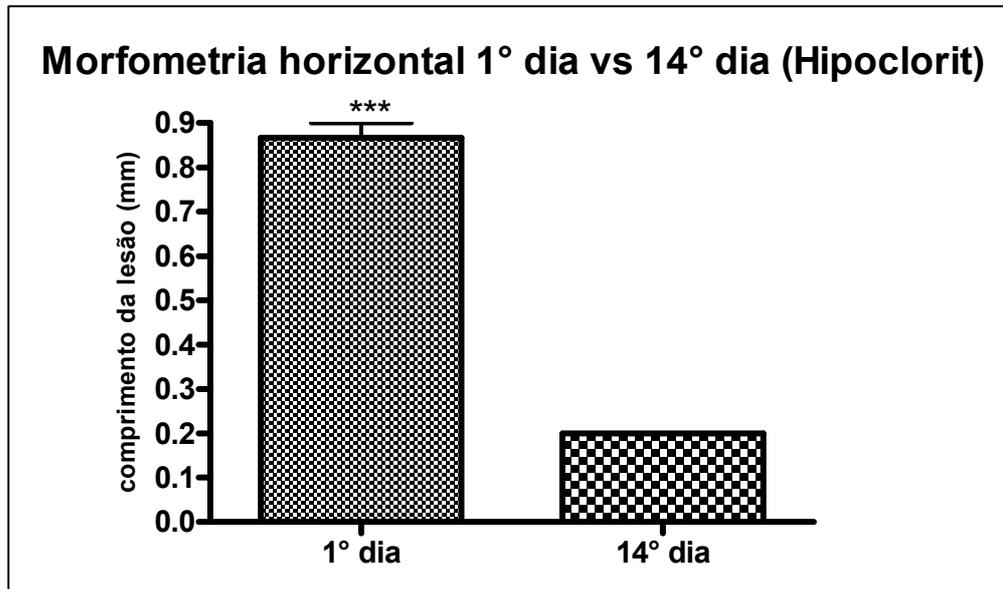


Tabela 2. MEDIDAS DOS EIXOS VERTICAL E HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM SOLUÇÃO SALINA 0,9% NOS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO

	T3 H	T3 V	T7 H	T7 V	T14 H	T14 V
	0,6	0,6	0,4	0,4	0,3	0,3
	0,6	0,7	0,3	0,4	0,5	0,4
	0,5	0,6	0,5	0,4	0,5	0,3
	0,6	0,7	0,5	0,4	0,5	0,2
	0,6	0,6	0,5	0,3	0,4	0,2
	0,8	0,7	0,5	0,5	0,4	0,5
Média	0,61	0,65	0,45	0,4	0,43	0,31
DP	0,098	0,054	0,083	0,063	0,081	0,1

Gráfico 4. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM SALINA 0,5% ENTRE OS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO

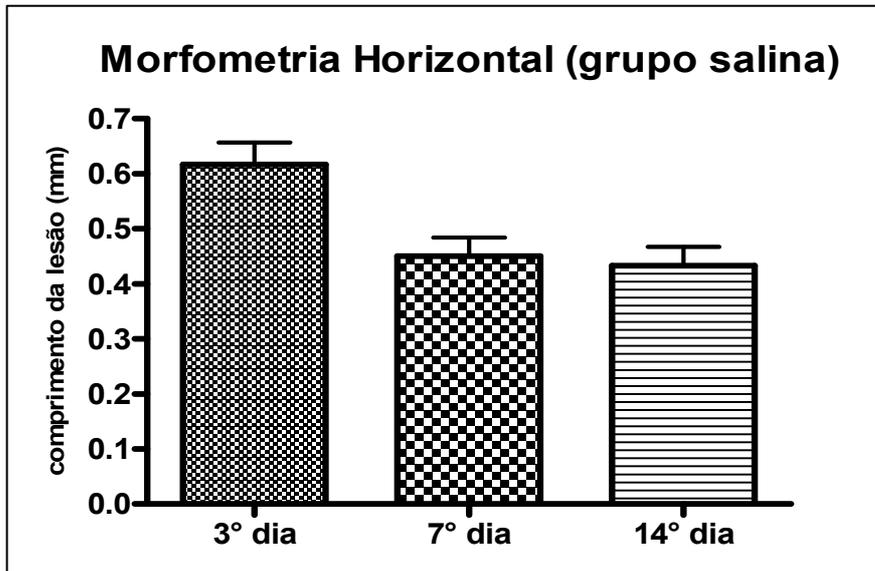


Gráfico 5. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO VERTICAL DAS FERIDAS TRATADAS COM SALINA 0,9% ENTRE OS TEMPOS EXPERIMENTAIS DE 3, 7 E 14 DIAS PO

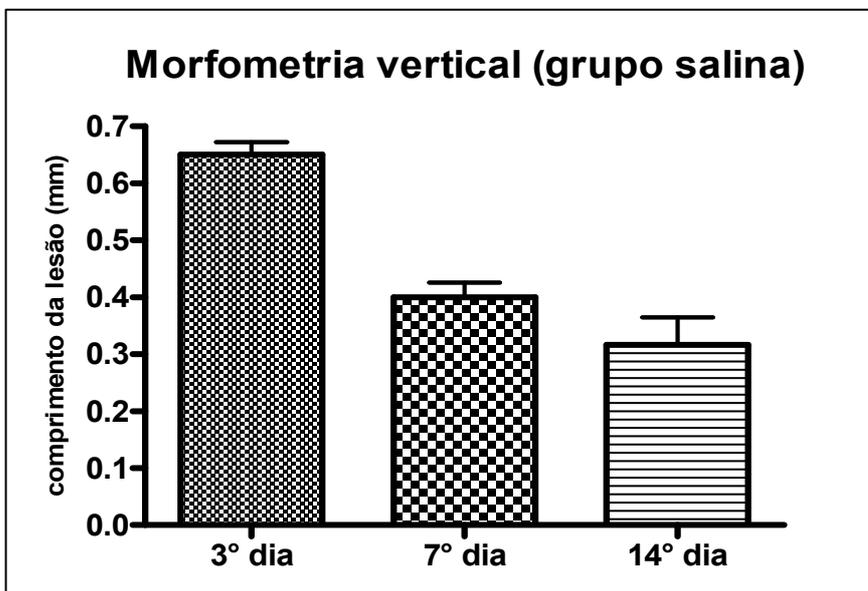
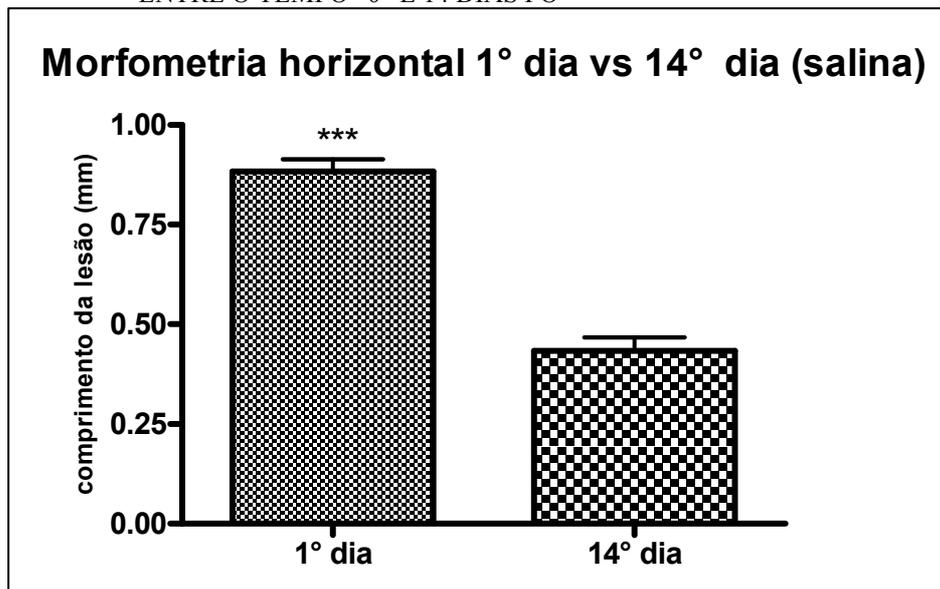


Gráfico 6. COMPARAÇÃO DOS VALORES MORFOMÉTRICOS DO EIXO HORIZONTAL DAS FERIDAS TRATADAS COM SALINA 0,9% ENTRE O TEMPO “0” E 14 DIAS PO



5 DISCUSSÃO

A escolha de ratos (*Rattus norvegicus albinus*) para este trabalho deveu-se a sua freqüente utilização em experimentos de cicatrização, como também pela disponibilidade e o fácil manejo (CROSS *et al.*, 1995; PRATA *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2000/01; SILVA, 2005; SEGUNDO *et al.*, 2007; PAIVA *et al.*, 2007). A associação de ketamina e xilazina por via intraperitoneal, foi escolhida devido à sua praticidade e eficácia em ratos (PAIVA *et al.*, 2005). O temperamento dócil dos animais utilizados, também contribuiu para facilitar o manejo durante a aplicação da anestesia e borrifamento das soluções sobre o leito das feridas e suas mensurações periódicas.

A análise histopatológica das feridas concordou com as características morfológicas descritas pela literatura em relação às fases da cicatrização e à cinética celular no local da injúria (GOFFI, 2000; DIEGELMANN; EVANS, 2004; KUMAR *et al.*, 2005; BROUGHTON *et al.* 2006). Neste trabalho, pôde-se constatar diferença qualitativa na cicatriz no 14º dia PO, quando comparou-se as feridas contralaterais tratadas com NaClO e Salina. Observou-se redução da neovascularização mais evidente naquelas em que se aplicou o NaClO. Aos 21 dias PO, também notou-se maior tendência à organização do tecido fibroso nas feridas tratadas com NaClO.

A análise estatística propôs não haver diferença significativa entre os dois tratamentos, contudo, as comparações intra-grupo revelam que a redução no tamanho da ferida a partir do sétimo dia PO foi mais expressiva para os animais tratados com NaClO e, comparando-se o tempo “0” com o tempo 14 dias PO (gráficos 3 e 8), é bastante evidente que a ferida diminuiu mais nas lesões em que se utilizou o hipoclorito. Resultado semelhante foi obtido por Lindfors, 2004, quando comparou a aplicação de hipoclorito de sódio 0,057% e salina 0,9% em ferimentos de diversas natureza.

Neste experimento utilizou-se solução de NaClO 0,5% buscando-se avaliar seu efeito sobre ferimentos induzidos experimentalmente considerando-se, principalmente, sua ação antisséptica e adstringente (LARSON *et al.*, 2002; SPINOSA *et al.*, 2002). As lesões foram realizadas a partir de moldes com 0,8 mm de diâmetro, sob condições cirúrgicas, não sendo observados sinais de infecção como a formação de exsudato purulento durante o pós-operatório e nos diferentes tempos experimentais. Estas características podem explicar a ausência de diferença estatística quando comparados os dois tratamentos, uma vez que o principal efeito do NaClO no tratamento de feridas refere-se a sua ação bactericida. Hayward e Wayne (1996), propõe que lesões não infectadas têm bons resultados com a utilização de salina mas que, em lesões exsudativas supurativas, o uso de antissépticos deve ser considerado.

A utilização de hipoclorito de sódio assim como de outras soluções antissépticas ainda é motivo de questionamento, principalmente na medicina humana. A análise de trabalhos presentes na literatura revela a existência de uma dicotomia por parte dos pesquisadores em relação à utilização do NaClO como adjuvante no processo de cura de feridas. Diversos autores comprovaram suas propriedades antimicrobianas, quando em solução diluída (SLATTER, 1998; HIDALGO *et al.*, 2001; ANDRADE, 2002; ZEHNDER *et al.*, 2002; VU *et al.*, 2002; LINDFORS, 2004; VAHID *et al.*, 2004), e as maiores limitações para seu uso são propostas em relação a seu efeito irritante e citotóxico (HIDALGO *et al.*, 2001; SPANÓ, 2001).

Estudos têm proposto que soluções de NaClO em maiores diluições podem gerar melhores resultados, principalmente pela redução de seu potencial citotóxico (ZEHNDER *et al.*, 2002), porém, Hidalgo *et al.* (2001), observaram atividade plena antimicrobiana somente na diluição de 0,5%.

Acompanhando a evolução farmacológica, é evidente a variedade de produtos e suas especificidades para o tratamento de feridas, comprovadamente mais eficientes que o

hipoclorito e com menor risco de dano tecidual (HAYWARD; MORRISON, 1996; MANDELBAUM *et al.*, 2003a e b; PERUZZO *et al.*, 2005). Este tem sido o embasamento para a negação de sua utilização na clínica, principalmente quando se considera sua aplicação em humanos, contudo, em medicina veterinária, as características do paciente por vezes direcionam o estabelecimento de uma terapia e o tipo de medicamento a ser usado. Neste contexto, pode-se ressaltar duas importantes limitações: a primeira refere-se ao manejo da ferida; animais irascíveis ou de índole agressiva inviabilizam terapias que necessitem aplicações repetidas a curto e médio intervalo de tempo, desestimulando seus proprietários a darem seqüência ao tratamento. Diferentemente dos processos médicos aplicados para os humanos, a manipulação para troca de bandagens ou aplicação freqüente de medicamentos, muitas vezes tornam-se fatores promotores de estresse para animais, especialmente cães e gatos, os quais podem ficar irritadiços ou relutantes à terapêutica, e é tarefa do médico veterinário buscar métodos que garantam o bem estar animal. A segunda limitação volta-se para o custo de produtos disponíveis, representando importante barreira para pessoas com baixo poder aquisitivo ou mesmo que se negam a desviar parte de sua renda para seu animal de estimação. Neste experimento, a principal vantagem observada na utilização do NaClO, foi a praticidade de aplicação, consistindo apenas em borrifar a solução sobre o ferimento, a cada doze horas, o suficiente para mantê-lo umedecido e limpo.

Vu *et al.* (2002) trataram feridas de queimaduras com diversos agentes de uso tópico e calcularam o custo do tratamento obtendo valor de U\$72,48 para sulfadiazina prata, cuja eficácia mostrou-se maior, e U\$120.64 para o tratamento com hipoclorito de sódio, porém, embora aparentemente o custo do tratamento com NaClO tenha se mostrado mais alto, a freqüência de aplicação sugerida foi de duas e quatro aplicações diárias para os dois produtos, respectivamente. Se adotarmos, contudo, a mesma freqüência de aplicação, observaremos que o custo da terapia com hipoclorito reduz para U\$ 60.32, mostrando-se ainda uma alternativa mais barata.

O NaClO 0,5% tem se mostrado facilmente utilizável, possuindo bom espectro de ação. Alguns cuidados devem ser atentados como a manutenção em frascos opacos e preparação de novas diluições durante o tratamento a fim de preservar as propriedades do produto conforme sugerido por SPINOSA *et al.* (2002). Neste experimento, a preparação de novas soluções, foi feita a cada cinco dias e o hipoclorito mostrou-se útil na retirada das crostas e de debris necrótico, mantendo assim a ferida limpa e úmida.

Mehdipour *et al.* (2007), revisaram diversos trabalhos presentes na literatura que questionam a utilização do hipoclorito para irrigação endodôntica devido à sua ação citotóxica, podendo provocar hemólise e ulceração na mucosa oral. Estes autores verificaram que a grande maioria dos acidentes estiveram relacionados a causas iatrogênicas devido a procedimentos cirúrgicos incorretos.

O efeito citotóxico, sob certo ponto de vista, pode ser avaliado de forma positiva, auxiliando no debridamento de feridas devido a sua capacidade de dissolver tecidos necróticos, mesmo em baixas concentrações (ZEHNDER *et al.*, 2002).

Cooper (2004), discute a utilização de antibióticos presentes em pomadas, óleos e unguentos para controle bacteriano nas lesões, considerando que a presença crescente de cepas antibiotico-resistentes torna-se um motivo para se repensar o uso de antissépticos como alternativa para debelar a infecção. Segundo esta autora, a presença de bactérias numa lesão é um dos principais fatores que interferem no processo de cicatrização, fato este suportado por Hayward e Wayne (1996), Hidalgo *et al.* (2001); Andrade (2002); Zehnder *et al.* (2002); Vu *et al.* (2002); Lindfors (2004); Vahid *et al.* (2004); Kumar *et al.* (2005); George Brought *et al.* (2006). Estes microrganismos levam à ativação de cascatas de mediadores químicos (DIEGELMANN; EVANS, 2004) induzindo a manutenção do processo inflamatório e sua cronificação (KUMAR *et al.*, 2005). Antissépticos como o NaClO, que possui largo espectro bacteriano e até mesmo viral, devem ser considerados como instrumento possível de ser utilizado. Hayward e Wayne (1996), afirmam que o debate acerca do hipoclorito é um exemplo de como as conclusões provenientes de estudos *in vitro* e em animais de laboratório podem ser equivocadas na sua aplicação em relação à cura de feridas em humanos, sugerindo que diluições mais altas podem reduzir bastante o potencial citotóxico.

Os resultados obtidos neste experimento permitem inferir que o hipoclorito de sódio pode ser aplicável em medicina veterinária devido às suas facilidades, desde que cuidados em relação à concentração, armazenamento, segurança e tempo de contato sejam estabelecidos, sendo o mesmo salientado por Rutala e Weber (1997).

6 CONCLUSÃO

Baseados em nossos resultados podemos concluir que:

1. As feridas tratadas com hipoclorito de sódio 0,5% apresentaram maior contração com 14 dias PO do que aquelas tratadas com solução salina 0,9%;
2. Ambos os tratamentos, para este tipo de lesão induzida experimentalmente, mostraram-se eficientes;
3. A análise histopatológica evidenciou, morfológicamente, evolução mais rápida da cicatriz nas feridas tratadas com hipoclorito de sódio 0,5%, quando comparadas com as tratadas com solução salina 0,9%;
4. O hipoclorito de sódio 0,5% pode ser utilizado para tratamento de feridas abertas em Medicina Veterinária.

7 REFERÊNCIAS

ABLA, L. E. F.; ISHIZUKA, M. M. A. Fisiopatología das feridas. In: FERREIRA, L. M. **Manual de cirurgia plástica**. São Paulo: Atheneu; 1995. p. 5-11.

AGREN, M. S., MERTZ, P. M.; FRANZÈN, L. A comparative study of three occlusive dressing in the treatment of full-thickness wounds in pigs. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 36, n.1, p. 53-58, 1997.

ALBUQUERQUE, E.R.C.; MELO, C.M.L.; SILVA, D.R; ARAÚJO F.F.B.; COELHO, L.C.B.B.; MOTA, R.A.; SILVA, L.B.G.; CORREIA, M.T.S.; CARNEIRO-LEÃO, A.M.A. Avaliação microbiológica de feridas cutâneas tratadas por segunda intenção com a lecitina de *Cratylia mollis* em camundogos. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DA UFRPE, 4., 2003, Recife, **Anais...** Recife: Imprensa Universitária, p?.

ANDRADE, S.F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 2ed. São Paulo: Roca, 2002. 697p.

ARNOLD JUNIOR, H.L.; ODOM L.B.; JAMES W.D. A pele: estrutura básica e função. In: **Doenças básicas da pele de Andrews: Dermatologia clínica**. 8ed. São Paulo: Manole, 1994. p.1-14.

BANKS, W. J. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1992. 629p.

BLANES, L. Tratamento de feridas. Baptista-Silva JCC, editor. **Cirurgia vascular: guia ilustrado**. São Paulo: 2004. Disponível em: ULR: <http://www.bapbaptista.com>. Acesso em: 7 jan. 2008.

BROUGHTON, H.G.; JANIS, J.E.; ATTINGER, C.E. Wound healing: an overview. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v.117, n.78, p. 1e-S – 32eS, 2006.

COELHO, M.C.O.C. **Substitutos temporários de pele no processo cicatricial de falhas cutâneas: estudo experimental em cães (*Canis familiaris*)**.1998. 102 f. Tese (Doutorado) - Escola Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

COOPER, R.A. A review of the evidence for the use of topical antimicrobial agents in wound care. **World Wide Wounds**, 2004. Disponível em: ULR: <http://www.worldwidewounds.com/2004/cooper/topical-Antimicrobial-Agents.html>. Acesso em: 23 fev. 2008.

CROSS, S. E.; NAYLOR, I. L.; COLLEMAN, R. A. An experimental model to investigate the dynamics of wound contraction. **British Journal of Plastic Surgery**. v. 48, n.4, p. 189-197, 1995.

DÂNGELO, J.G.; FATTINI, C.A. Sistema tegumentar. In: _____. **Anatomia humana sistema e segmentar**: para o estudante de medicina. 2. ed. São Paulo: Ateneu, 1998. p.173-175.

DANTAS, S. R. Aspectos históricos do tratamento de feridas. In: JORGE, S.A. **Abordagem Multiprofissional do tratamento de feridas**. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 3-6.

DAVIDSON, E.B. Managing bit wounds in dogs and cats, Part II. **Compendium on Continuing Education for the practicing Veterinarian**, v.7, n.9, p.811-20,1998.

DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; SOUSA R.S.; BAUDI, D.L.K.; CASTRO, J.H.T. Cicatrização secundária em feridas dermoepidérmicas tratadas com ácidos graxos essenciais, vitaminas A e E, lecitina de soja e iodo polivinilpirrolidona em cães. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 1-16, 2004.

DEALEY.C. **Cuidando de feridas: um guia para enfermeiras**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2001. 256p.

DIEGELMANN, R.F.; EVANS, M.C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. **Frontiers in Bioscience**, v.9, p.283-289, 2004.

DORNELES, D.; WOUK, A.F.; PONTAROLO, R.; OLIVEIRA, A.B. Efeito da *Aloe vera* Linné sobre a cicatrização de feridas de pele em coelhos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.4, n.1, p. 39-46, jan.-jun./2003. Disponível em: ULR: <http://calvados.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/academica/article/viewFile/521/434>. Acesso em: 7 jan. 2008.

EURIDES, D.; MAZZANTI, A.; BELLETI, M.E.; SILVA, L.A.F.; FIORAVANTE, M.C.S.; TROCOSO NETO, N.S.; CAMPOS, V.A.; LEMOS, R.C.; SILVESTRINI JUNIOR, P.L. Morfologia e morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratados com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman Martius*). **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia de Uruguaiana**, v.2/3, n.1, p. 35-40, 1995/1996.

GOFFI, F. S. **Bases Anatômicas, Fisiopatológicas e Técnicas de Cirurgia**. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 846p.

GUYTON, A.C. Resistência do organismo à infecção – sistema de macrófagos dos tecidos, leucócitos e inflamação. In: _____. **Tratado de Fisiologia Médica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1989. p.42-48.

HAYWARD, P.G.; MORRISON, W.A. Current concepts in wound dressings. **Aust. Prescr.**, v.19, p. 11-13, 1996.

HEDLUND, C.S. Surgery of tegumentary system. In: FOSSUM, T. W. **Small Animal Surgery**. St Louis: Mosby, 1997. p. 91-152.

HETTE, K.; RAHAL, S.C.; ROCHA, N.S.; CALDERON, C. Comparação entre *Triticum vulgare* e nitrofurazona no tratamento tópico de feridas cutâneas induzidas em gatas. **Revista Nosso Clínico**, v.6, n. 36, p.38-45 , 2003.

HIDALGO, E.; BARTOLOME, R.; DOMINGUEZ, C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultures human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. **Chemico-Biological Interactions**, v.139, n.3, p.265-282, 2002.

JOHNSTON, D.E. Care of accidental wounds. **Veterinary clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 20, n.1, p.27-46,1990.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 359 p.

JURKOVICH, G. J.; CARRICO, C. J. Trauma: Conduta nas Lesões agudas. In: SABISTON, S. **Tratado de Cirurgia**. 14. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 82-87.

KASHYAP, A.; BEEZHOLD, D. WISEMAN, J. Effect of povidine Iodine Dermatologic Oitment on Wound Healing. **American Surgery**, v.61, p.486-491, 1995.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Robbins & Cotran Patologia – bases patológicas das doenças**. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 1592p.

LAMMERS, R.L. Soft Tissue foreign bodies. **Ann. Emerg. Med.**, v.17, p.36-47. New York, 1988.

LARSON, C. E.; FARIAS, M. R.; ANDRADE, S. F.; BRITO, A. F. Terapêutica tópica e sistêmica: pele ouvido e olho. In: ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2002. p.166-7.

LINDFORS, J. A comparison of an antimicrobial wound cleanser to normal saline in reduction of bioburden and its effect on wound healing. **Ostomy/Wound Management**, v.50, n.8, p. 28-41, 2004.

MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, n.4, p.393-410, jul./ago, 2003a.

MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte II. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n.5, p. 525-542, set./out, 2003b.

MARQUEZ, R. R. **Avaliação da ferida - tratamento e cicatrização**. 2. ed.. Rio de Janeiro: Revinter, 2003. 187p.

MARTINS, E.F.; PEREIRA, L.M.; LIMA, T.M.; AGUIAR, G.R.; CHEN, S.C.; FOLADOR, A.; PITHON-CURI, T.C.; CURI, R. Influência da lanolina na cicatrização. **Saúde Rev.**, Piracicaba, 7(16): 19-25, 2005. Disponível em: URL: <http://www.unimep.br/phpg/editora/revistaspdf/saude16art03.pdf>. Acesso em: 7 jan. 2008.

MEHDIPOUR, O.; KLEIER, D.J.; AVERBACH, R.E. Anatomy of sodium hypochlorite accidents. **Compendium** [on line], Colorado, out 2007. Disponível em: URL: http://www.compendiumlive.com/issues/articles/2007-10_07 Acesso em: 31 out. 2007.

MONTEIRO, V.L.C.; CARNEIRO-LEÃO, A.M.A.; COELHO, M.C.O.C.; ANDRADE, L.S.S.; MOURA, R.T.D. Reparação tecidual de feridas cutâneas de caprinos tratadas com polissacarídeo do cajueiro *Anacardium occidentale*: aspectos macroscópicos. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DA UFRPE, 4., 2003, Recife, **Anais...** Recife: Imprensa universitária, 2003. p.?

MULLER, G.H., KIRK, R.W. **Dermatologia de Pequenos Animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996. 1130p.

OLIVEIRA, S. T.; LEME, C. M.; PIPPI, N. L.; RAISER, A. G.; MAFRON, N. P. Formulações de confrei (*Symphytum officinale* L.) na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Revista Faculdade de Zootecnia e Agronomia**, v.7/8, n.1, p. 61-65, 2000/01.

PAIVA, F.P.; MAFFILI, V.V.; SANTOS, A.C.S. Curso de Manipulação de Animais de Laboratório. **Fundação Oswaldo Cruz**. Disponível em: URL: http://www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio/bioterio_apostilha.pdf. Acesso em: 15 abr. 2007

PERUZZO, A. B.; NEGELISKII, C.; ANTUNES, M.C.; COELHO, R.P.; RAMONTINI, S. J. Protocolo de Cuidados a Pacientes com Lesões de Pele. **Mom. & Perspec. Saúde** – Porto Alegre, v. 18, n. 2, p. 26-30, jul/dez, 2005.

PRATA, M.; HADDAD, C.; GOLDEMBERG, S. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea. Estudo experimental em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.3, p.43 – 48, 1998.

RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.; HOUSTON, D.M. **Exame Clínico e Diagnóstico em Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 167 p.

RAMSEY, D. T.; POPE, E. R.; WAGNER-MANN, C. Effects of three occlusive dressing materials on rearing of full-thickness skin wounds in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.56, n.7, p.941- 949, 1995.

RIBEIRO, SMCP. Soluções anti-sépticas em curativos. In: JORGE, S.A. **Abordagem Multiprofissional do Tratamento de Feridas**, São Paulo: Atheneu, 2003. p. 101-109.

ROCHA, R.P.A.; GURJÃO, W.S.; BRITO-JUNIOR, L.C. Avaliação morfológica da cicatrização de lesões ulcerativas assépticas tratadas com soluções de papaína. 2005. Disponível em: <<http://www.conganat.org/7congreso/PDF/494.pdf>>. Acesso em: 8 jan, 2008.

RUND, C.R. Non-conventional topical therapies for wound care. **Ostomy Wound Manage**, v.42, n.5, p.19-26, 1996.

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. **Clinical Microbiology Reviews**, v.10, n.4, p.597-610, 1997.

SAMPAIO, S.P., RIVITTI, E.A. **Dermatologia**. 2. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2000. 1156p.

SANTOS, V.L.C.G. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. In: DUARTE, Y.A.O.; DIOGO, M.J.D. **Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico**. São Paulo: Atheneu, 2000. p.256-306.

SEGUNDO, A.S.; BOSCO, A.F.; MAIA, D.; RIBEIRO, R.V.; AGUIAR, E.B.H.; ROCATTO, G.E.G.D.; CIRILO, D.M.; BUZELLE, S.L.; VEDOVE, T.A.D. Influência do Aloe vera e própolis na contração de feridas em dorso de ratos. **Rev Periodontia**, v.17, n.1, mar 2007. Disponível em: URL: <http://www.revistasobrape.com.br/arquivos/edicao_anterior/ed_mar_07/INFLU%C3%8ANCIA%20DO%20ALOE%20VERA%20...%204%C2%AA%20REV%20-%205BCOR%5D%20-%2022-02-07.pdf>. Acesso em: 9 jan. 2008.

SILVA, A. C. J. **Estudo morfológico e morfométrico da cicatrização de feridas cutâneas em ratos albinos (*Rattus norvegicus albinus*) tratados com extrato aquoso do cogumelo *Pleurotus ostreatus***. 2005. 39 f. Tese (Doutorado) - Escola Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

SINCLAIR, RD, RYAN, TJ. A great war for antiseptics. **Wound Mangement**, v.4, p.16-18, 1993.

SLATTER, Douglas. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. 2 ed. Vol. 1. São Paulo: Manole, 1998. 1368p.

SOUZA, C. **Traumatismos Superficiais e Cirurgia Ambulatorial**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. 289p.

SPANÓ, J.C.E.; BARBIN, E.L.; SANTOS, T.C.; GUIMARÃES, L.F.; PÉCORÁ, J.D. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. **Brazilian Dental Journal**, v.12, n.3, p.154-157, 2001.

SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 752p.

SZPARDERSKA, A. M.; EGOZI, E. I.; GAMELLI, R. L.; *et al.* The effect of thrombocytopenia on dermal wound healing. **Journal of Investigation Dermatology**, v.120, p.70 – 77, 2003.

TEO, T. C.; NAILOR, I. L. Modifications to the rate of wound contraction by allopurinol. **British Journal of Plastic Surgery**, v. 48, n. 4, p. 198-202, 1995.

VAHID, A.; ALIGHOLI, M.; NAMAZI, H.R. An in-vivo study comparing antimicrobial activity of chlorhexidine 0,2% to sodium hypochlorite 0,5% as canal irrigant. **Journal of Dentistry, Theran University of Medical Sciences**, v.1, n.1, p. 43-48, 2004.

VIEIRA, S.A.L. **Efeito do laser de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas experimentais**. 2006. 46 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Franca, Franca, 2006.

VU, H.; McCOY, L.; CARINO, E.; WASHINGTON, J.; DANG, T.; VILARREAL, C.; ROSENBLATT, J.; MANESS, C.; GOODHEART, R.; HEGGERS, J.P. Burn wound infection susceptibilities to topical agents: the Nathan's agar well diffusion technique. **P&T**, v.27, n.8, p.390-396, 2002

YAMANDA,B.F.A. Terapia t3pica de feridas: limpeza e esbridamento. **Ver. Esc. Enf.**, v.33, p.133-40, 1999.

ZEHNDER, M.; KOSICKI, D.; LUDER, H.; SENER, B.; WALTIMO, T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontic**, v.94, n.6, p.756-762, 2002.

ZIMMERMAN, LM, VEITH, I. **Great ideas in the History**. Baltimore: Wilkins & Wilkins Co, 1961. 587p.