

GABRIEL DOMINGOS CARVALHO

**EFEITO DA INGESTÃO DE ÁGUA-DE-COCO E ÁGUA
MAGNETIZADA NA REPARAÇÃO DE FERIDAS
EXPERIMENTAIS EM COELHOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C331e
2012

Carvalho, Gabriel Domingos, 1982-
Efeito da ingestão de água-de-coco e água magnetizada na
reparação de feridas experimentais em coelhos / Gabriel
Domingos Carvalho. – Viçosa, MG, 2012.
x, 79f. : il. (algumas color.) ; 29cm.

Orientador: Marlene Isabel Vargas Viloria
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 62-79

1. Coelho como animal de laboratório. 2. Cicatrização de
feridas. 3. Pele. 4. Pele - Cirurgia. 5. Água. 6. Água no
organismo. 7. Água-de-coco. 8. Indução eletromagnética.
9. Colágeno. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária. II. Título.

CDD 22. ed. 636.089607

GABRIEL DOMINGOS CARVALHO

**EFEITO DA INGESTÃO DE ÁGUA-DE-COCO E ÁGUA MAGNETIZADA
NA REPARAÇÃO DE FERIDAS EXPERIMENTAIS EM COELHOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 14 de Dezembro de 2012.

Prof. DSc Laércio dos Anjos Benjamin
(Coorientador)

Prof^a. DSc Tânia Toledo de Oliveira

DSc Fabrício Luciani Valente

Prof^a. DSc Kelly Cristine de Sousa Pontes

Prof^a. DSc Marlene Isabel Vargas Vilória
Orientadora

*"O principal objetivo da educação é criar
pessoas capazes de fazer coisas novas
e não simplesmente repetir o que as
outras gerações fizeram."
(Jean Piaget)*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por iluminar a minha vida e por abençoar cada dia da minha existência.

À minha mãe querida, que nunca mediu esforços para me dar oportunidades de construir a minha trajetória de vida, estando sempre ao meu lado, me apoiando sempre para seguir em frente.

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Departamento de Veterinária (DVT/UFV), pela oportunidade de cursar o mestrado e o doutorado.

À professora Marlene Isabel Vargas Vilória, pela orientação, e acima de tudo pela sua amizade, confiança e grande carinho maternal.

Ao professor Joaquín Hernán Patarroyo Salcedo, pelos seus ensinamentos, amizade e lições de vida, que muito contribuíram no meu aperfeiçoamento pessoal e profissional.

Ao professor Laércio dos Anjos Benjamin, pelo apoio, incentivo e pela co-orientação no mestrado e doutorado.

À professora Tânia Toledo de Oliveira, que durante o meu mestrado permitiu a utilização do Laboratório de Biofármacos, do Depto de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV, para a fase experimental com os camundongos e no doutorado aceitou fazer parte da banca examinadora.

Aos amigos professores da pós-graduação da UFV.

À Rosi e a Bete, secretárias da Pós-Graduação do DVT, pela dedicação incondicional, estando sempre dispostas a ajudar.

Ao professor Sergio Luis Pinto da Matta do Depto de Biologia Geral da UFV, que gentilmente cedeu o Laboratório de Biologia Estrutural para realização das reações histoquímicas.

Ao professor Maurício Dutra Costa, do Depto de Microbiologia da UFV, por permitir o uso do microscópio de luz polarizada do Laboratório de Associações Micorrízicas (BIOAGRO/UFV).

Ao Fabrício Valente, pelos anos de amizade e companheirismo e, em especial, pela força na estatística desta tese.

À Kelly Pontes, pela companhia e pelos bons momentos vividos ao longo da pós-graduação e no tempo que trabalhamos na UNIVIÇOSA.

Ao Sr. Sylvio Miguel, responsável pelo Setor de Patologia da UNIVIÇOSA, pela amizade e profissionalismo ao longo de cinco anos de convivência, e também ao Vitor Vilela Milagres, seu atual pupilo, pela disponibilidade na confecção das lâminas histológicas

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais (IFNMG - *Campus* Salinas) pela concessão das instalações do Setor de Cunicultura da Unidade Educativa de Produção de Zootecnia I.

Ao CNPq e à FAPEMIG pela concessão das bolsas de Iniciação Científica para os meus orientados neste projeto: Bruna Mendes de Oliveira (PIBIC), Osmara Cristina Melo (PIBIC), Gilmar Breno Oliveira Guimarães (PIBIC-JR) e Jadston Crisóstomo e Guedes (PIBIC-JR).

Ao Sr. José Santos Pinho (“Preto”), farmacêutico responsável pelo Laboratório Pinho (Salinas-MG), que prontamente disponibilizou o seu laboratório para realizar as análises hematológicas e também aos técnicos do Lab. Pinho.

A Zootecnista Noelba de Oliveira e ao acadêmico de Medicina Veterinária e servidor do IFNMG-*Campus* Salinas, Jânio dos Santos pelo acompanhamento e apoio no desenvolvimento deste projeto.

Aos meus coelhos, que por uma convivência de alguns meses, colaboraram de forma essencial para o desenvolvimento desta pesquisa.

A toda minha família que sempre me apoiou e me teve presente junto de suas orações. À Thalia (†), pelos prazerosos 17 anos de companhia, por ter me proporcionado muitos momentos de alegria.

A minha “família viçosense”, Alessandra Sayegh, Cláudio Ibrahim, Luiza, Cida, Zilá, Pri, Tutu (†) e Julieta, por me acolherem nesta jornada.

Aos amigos de toda uma vida que Viçosa me proporcionou. Sejam os da UFV, os da UNIVIÇOSA (companheiros de trabalhos, alunos e orientados), os da academia, os das festas, entre muitos... (seria injusto citar nomes, pois, por descuido, poderia faltar alguém... são muitos e todos moram eternamente no meu coração).

Aos amigos e a minha “nova família” salinense (IFNMG e Casa Espírita André Luiz).

A todos aqueles que me ajudaram, direta ou indiretamente, para a conclusão deste trabalho e que estarão sempre presentes na minha vida.

BIOGRAFIA

GABRIEL DOMINGOS CARVALHO, filho de Maria da Penha Carvalho e Florindo Domingos Polonini, nascido em 02 de julho de 1982, é natural da cidade de Cachoeiro de Itapemirim, Espírito Santo, Brasil.

Graduado em Medicina Veterinária no ano de 2005, pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Kursou sua graduação no Centro de Ciências Agrárias da UFES (CCA-UFES), na cidade de Alegre-ES. Foi bolsista de Iniciação Científica do PIBIC/UFES, bolsista CNPq de Iniciação Tecnológica Industrial (ITI), monitor voluntário de diversas disciplinas, professor voluntário e membro de conselhos dessa instituição.

No ano de 2005 iniciou o mestrado no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (DVT/UFV), integrando-se ao Grupo de Pesquisa “Biologia e controle de hematozoários dos animais domésticos e seus vetores” do Laboratório de Biologia e Controle de Hematozoários e Vetores (LBCHV), lotado no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV). Em fevereiro de 2008 defendeu sua dissertação com o título “Estudo *in vitro* da apoptose induzida em linfócitos de camundongos Balb/c imunizados com o peptídeo sintético anti-carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (SBm7462) por via oral e nasal”, sob orientação da Profª. Marlene Isabel Vargas Vilória. Durante o período de mestrado foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Em 2007 iniciou sua carreira como professor universitário, ingressando na Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde da União de Ensino Superior de Viçosa (FACISA/UNIVIÇOSA). Entre os anos de 2007 e 2010 ministrou as disciplinas “Patologia Geral”, “Parasitologia e Parasitologia Veterinária”, “Anatomia Patológica” e “Deontologia e Ética Profissional” para os cursos de graduação em Enfermagem, Farmácia, Fisioterapia, Nutrição, Medicina Veterinária e Psicologia. Para as pós-graduações *latu senso* em “Urgência e Emergência”, “Saúde Pública com ênfase em PSF” e “Produção e Reprodução de Bovinos”, ministrou as disciplinas de “Bioética” e “Plantas Tóxicas”. Na FACISA/UNIVIÇOSA também foi coordenador do Núcleo de

Pesquisa e Extensão (NUPEX) e membro do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

No primeiro semestre de 2008 iniciou o doutorado na área de Patologia Animal, pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do DVT/UFV.

Em 2009 foi professor assistente na Universidade Iguaçu (UNIG), *Campus V*, Itaperuna-RJ, onde ministrou as disciplinas “Patologia Geral”, “Anatomia Patológica e Histopatologia” e “Patologia Clínica Veterinária”, para o curso de graduação em Medicina Veterinária.

Após aprovação em concurso público, em 2010, assumiu como professor no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais (IFNMG), lotado no *Campus Salinas*, onde atua no curso Técnico em Agropecuária e nas graduações de Licenciatura em Ciências Biológicas e Bacharelado em Medicina Veterinária, além de participar de diversas comissões, conselhos e câmaras do IFNMG. No ano de 2012 foi nomeado Diretor de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação do IFNMG *Campus Salinas*.

SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. Feridas e cicatrização.....	03
2.1.1. Reparação de feridas.....	03
2.1.2. Fatores que influenciam na reparação de feridas.....	11
2.1.3. Tratamento de feridas.....	12
2.2. Água-de-coco.....	15
2.2.1. Utilizações da água-de-coco.....	17
2.3. Água magnetizada.....	19
2.3.1. Utilizações da água magnetizada.....	21
3. OBJETIVOS.....	24
3.1. Objetivo geral.....	24
3.2. Objetivos específicos.....	24
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1. Amostragem.....	25
4.2. Tipos de água.....	26
4.3. Tratamento dos animais.....	27
4.4. Preparo das feridas.....	27
4.5. Avaliação clínica dos animais.....	29
4.6. Avaliação clínica das feridas.....	29
4.7. Avaliação histológica das feridas.....	31
4.7.1. Análise histopatológica das feridas	31
4.7.2. Reação histoquímica para marcação de colágeno.....	32
4.7.3. Reação histoquímica para marcação de fibras elásticas.....	33
4.8. Consumo de água e ração.....	35
4.9. Coleta de sangue e análise hematológica.....	36
4.10. Aspectos éticos da pesquisa.....	37
4.11. Análise dos dados.....	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40

5.1. Avaliação clínica dos animais.....	40
5.2. Avaliação clínica das feridas.....	41
5.3. Avaliação histológica das feridas.....	45
5.3.1. Histopatologia das feridas.....	45
5.3.2. Histoquímica para colágeno.....	47
5.3.3. Histoquímica para fibras elásticas.....	50
5.4. Monitoramento dos consumos de água e ração e ganho de peso....	53
5.5. Parâmetros hematológicos.....	56
6. CONCLUSÕES.....	60
7. PERSPECTIVAS.....	61
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

RESUMO

CARVALHO, Gabriel Domingos, *D.Sc.*, Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2012. **Efeito da ingestão de água-de-coco e água magnetizada na reparação de feridas experimentais em coelhos.** Orientadora: Marlene Isabel Vargas Vilória. Coorientadores: Joaquín Hernán Patarroyo Salcedo e Laércio dos Anjos Benjamin.

O tratamento de feridas evoluiu ao longo da história da medicina, com o intuito de se intervir no processo de cicatrização e propiciar mecanismos de proteção ou reparo da lesão. Este trabalho teve por objetivo avaliar o processo de reparação tecidual em coelhos tratados oralmente com água magnetizada e com água-de-coco, visando entender se esse processo terapêutico influencia a reparação de feridas. Utilizaram-se 30 coelhos da raça Nova Zelândia Branca, divididos em 6 grupos com diferentes tratamentos por via oral (água mineral, água magnetizada e água-de-coco). Três desses grupos receberam pomada antibiótica na ferida experimental. Feridas cirúrgicas foram realizadas no dorso dos animais e foram avaliadas clinicamente quanto: edema, halo eritematoso, tempo de cicatrização e tempo de epitelização, aferiu-se também a temperatura retal dos animais. Biopsias foram realizadas nas bordas das feridas para avaliação histopatológica, observação de fibras colágenas (tipos I e III) e de fibras elásticas. Coletas de sangue foram realizadas para análises hematómicas, leucômicas e plaquetômicas. Monitorou-se consumo de água e de ração dos animais. A temperatura corpórea dos animais se manteve dentro da normalidade (37,1 a 39,4°C), assim como todos os parâmetros hematológicos. Os animais que ingeriram água magnetizada e água-de-coco apresentaram o menor tempo de cicatrização e de epitelização e os que receberam água magnetizada apresentaram os maiores valores de fibras elásticas e um maior consumo de água e de ração. O colágeno tipo I foi predominante em todos os grupos, em todas as coletas. A ingestão de água magnetizada e de água-de-coco influenciou o processo reparação tecidual. Porém, mais estudos são necessários para se elucidar o mecanismo de ação deste processo terapêutico.

ABSTRACT

CARVALHO, Gabriel Domingos, *D.Sc.*, Universidade Federal de Viçosa, December of 2012. **Effect of the ingestion of coconut water and magnetized water in experimental wounds repair in rabbits.** Adviser: Marlene Isabel Vargas Vilória. Co-Advisers: Joaquín Hernán Patarroyo Salcedo and Laércio dos Anjos Benjamin.

The wound care has evolved over the history of medicine, in order to intervene in the healing process, to provide protection mechanisms or injury repair. This study aimed to evaluate the process of tissue repair in rabbits treated orally with magnetic water and coconut water, in order to understand whether this therapeutic process influences the skin wounds repairing. Were used 30 rabbits New Zealand White divided into six groups with different oral treatments (mineral water, magnetized water and coconut water), and these, three groups received antibiotic ointment on the experimental wound. Surgical wounds were made on the backs of the animals, which were clinically evaluated, checking the rectal temperature and the characteristics of the wounds: edema, erythematous halo, healing time and time of epithelialization. Tissue biopsies from the edges of the wounds were taken for histological evaluation, observation of collagen fibers (type I and III) and elastic fibers. Blood samples were taken for analysis of red blood cells, leukocytes and platelets. The consumption of water and animal feed were also monitored. The body temperature of the animals remained within the normal range (37.1 to 39.4°C), as well as all the hematological parameters. The animals that ingested magnetized water and coconut water showed the lowest time of healing and epithelialization and those that received magnetized water showed the highest values of elastic fibers and increased consumption of water and feed. Collagen type I was predominant in all groups, in all collections. The ingestion of the magnetized water and coconut water influenced the tissue repair process, but more studies are needed to elucidate the mechanism of action of this therapeutic process.

1. INTRODUÇÃO

A água contribui em diversos processos vitais do organismo animal, como digestão, absorção e circulação de nutrientes, manutenção da temperatura corporal, funcionamento do sistema nervoso, dentre outros (LLOYD, MCDONALD e CRAMPTON, 1978; NILIPOUR e BUTCHER, 1998). O tecido cutâneo tem o teor de água de cerca de 70% do peso da pele, contendo aproximadamente 20% do conteúdo total de água do organismo (GUIRRO e GUIRRO, 2004).

Em 1993, Benveniste passou a trabalhar com “transferências eletromagnéticas”, partindo do princípio de que todas as interações biológicas ocorrem na água, que as moléculas vibram e emitem frequências específicas (sinal molecular), e que os campos eletromagnéticos (EM) são capazes de transmitir mensagens EM originadas das moléculas (BAROLLO, 2003).

A água magnetizada modifica suas propriedades físico-químicas transcendentais às suas propriedades biológicas e químicas. Ocorre modificação na sua tensão superficial, assim ela assume características que melhoram seu comportamento como solvente, de modo a facilitar o intercâmbio líquido através das membranas do corpo, onde todo o intercâmbio eletrolítico pode ser favorecido (ÁLVAREZ, BLANCO e GARCÍA, 1998). Segundo Lin e Yotvat (1989) *apud* PORTO (1998), resultados favoráveis foram observados em algumas fazendas em Israel, com diversos animais e plantas tratados com água magnética, e que apresentaram um aumento na sua produtividade específica.

A aplicação do magnetismo na água permite que ela se torne um líquido fisicamente modificado, com menor tensão superficial e maior condutividade elétrica, solubilidade, coagulação, cristalização e o que se conhece como memória magnética, tornando-a mais leve e fluida em

comparação com a água em seu estado normal. Estas modificações repercutem positivamente sobre os seres vivos, favorecendo no organismo animal maior irrigação e ativação da corrente sanguínea e, nas plantas, eleva o nível da fotossíntese, o crescimento das sementes e a produtividade das plantações (PETRIANOV, 1980; MEZENTSEV, 1991; PEIRE, 1993; CNEA, 1997). Entretanto, o tratamento magnético da água é um assunto ainda pouco analisado e, de certo modo, contraditório no que tange aos efeitos que o mesmo acarreta na água e como altera a sua estrutura interna (AMIRI e DADKHAH, 2006).

Diversas tentativas são utilizadas no intuito de intervir no processo de cicatrização de feridas, de forma a propiciar mecanismos de proteção ou reparo de lesão. O uso da água-de-coco liofilizada no tratamento tópico de feridas demonstrou influência positiva no processo cicatricial (MAGALHÃES, 2007). A água-de-coco tem como composição mais de 90% de água e o restante contendo os seguintes constituintes: carboidratos, gordura, cálcio, fósforo, ferro, glicose, potássio, fibra, magnésio, zinco, lipídios totais (destacando os ácidos caprótico, caprílico, cáprico, láurico, oléico e linoléico), aminoácidos, vitamina C, vitaminas do complexo B, sais minerais e proteínas (CAMPBELL-FALCK et al., 2000; MAGALHÃES et al., 2005; VIGLIAR et al., 2006).

No intuito de verificar a hipótese de que a ingestão de água magnetizada e de água-de-coco pode influenciar em determinados processos biológicos no organismo animal, este trabalho teve por objetivo avaliar a reparação de feridas em animais tratados oralmente com esses tipos de água.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Feridas e cicatrização

Uma ferida é a interrupção da continuidade de um tecido epitelial, em maior ou menor extensão, podendo atingir tecido subcutâneo e planos mais profundos. Pode ser causada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou por uma afecção clínica que aciona as frentes de defesa orgânica (BORGES, 2001).

A cicatrização é o processo pelo qual o tecido lesado é substituído por um tecido conjuntivo vascularizado. Este processo envolve componentes da matriz extracelular (colágeno, elastina e fibronectinas) e células (fibroblastos, células endoteliais e células nervosas). Há também a participação de células sanguíneas, como os leucócitos (neutrófilos, monócitos/macrófagos e linfócitos), bem como mediadores químicos lipídicos, como prostaglandinas, leucotrienos e fator de agregação plaquetária, e mediadores protéicos como citocinas e fatores de crescimento (CONTRAN, KUMAR e COLLINS, 2001; HATANAKA e CURI, 2007).

2.1.1. Reparação de feridas

O processo de cicatrização consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a reparação do tecido lesionado. Esse é um evento dinâmico, que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos, os quais se comportam de forma harmônica a fim de garantir a restauração tissular (MANDELBAUM, DI SANTIS e MANDELBAUM, 2003).

O processo de reparação tecidual pode ser dividido em três fases: fase de inflamação, fase de formação de tecido de granulação com

deposição de matriz extracelular e fase de remodelação do tecido. Estas fases não são mutuamente excludentes, mas se sobrepõem no tempo (CLARK, 1993). Uma sequência de eventos acontece após o sofrimento da lesão, para tanto, diferentes classificações didáticas são utilizadas para facilitar o entendimento de um processo totalmente dinâmico e com fases tão interdependentes. Alguns autores consideram mais detalhadamente essas três fases, dividindo-as em cinco estádios principais: coagulação, inflamação, proliferação, contração da ferida e remodelação (MANDELBAUM, DI SANTIS e MANDELBAUM, 2003).

O reparo tecidual completo resulta de alternâncias sucessivas de reações anabólicas e catabólicas tendo os leucócitos como principais protagonistas. Estas células têm estimulam atividades catabólicas de degradação de tecidos através da produção de proteases e de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, como também estão envolvidas em reações anabólicas para formação de tecidos através da produção de fatores de crescimento. Estes fatores são responsáveis pela recomposição da celularidade da região ou pelo restabelecimento da homeostasia com formação de cicatriz (RICHERS, 1996).

Os neutrófilos, como células mais abundantes no sangue, migram para a superfície da ferida com a finalidade de formar uma barreira contra a invasão de microorganismos, promovendo o recrutamento dinâmico de mais neutrófilos de vasos adjacentes não lesados (MANDELBAUM, DI SANTIS e MANDELBAUM, 2003; HATANAKA e CURI, 2007). Estas células constituirão 50% das que migraram para o local no final do primeiro dia após a lesão (CARDOSO et al., 2004; MORI et al., 2004).

Após o início do processo inflamatório, ocorre a sinalização de moléculas do microambiente sobre as células do endotélio fazendo com que ela mude a expressão de moléculas da superfície voltadas para o leito vascular, facilitando a adesão de monócitos circulantes em vez dos neutrófilos. Em processo idêntico ao dos neutrófilos, os monócitos

transmigram pelas frestas entre as células do endotélio e são ativados assumindo fenótipo de macrófagos (ASSOIAN et al., 1983).

A migração e a ativação de fibroblastos ficam intensificadas, a partir da presença dos macrófagos no local e da liberação de mediadores químicos produzidos por eles. Os fibroblastos são os principais componentes do tecido de granulação e com a influência dos fatores de crescimento e dos mediadores derivados dos macrófagos são ativados e migram das bordas para o centro da ferida. Pelo aumento de fibroblastos ativados para produzir colágeno no local, a matriz extracelular passa a ser substituída por um tecido conjuntivo mais denso e elástico. Esta fase, denominada de fibroplasia, necessita que ocorra paralelamente a neovascularização da região. A indução de angiogênese, além da ação direta de fatores de crescimento sobre as células vasculares é, de certa forma, estimulada também pela baixa tensão de oxigênio que ocorre no centro da ferida (MORI et al., 2004).

A cicatrização de feridas segue uma sequência de eventos, como representado na figura 1. De acordo com Peerscheke et al. (2008), cada fase do processo de reparo segue uma sequência de eventos, que pode ser considerada da seguinte forma;

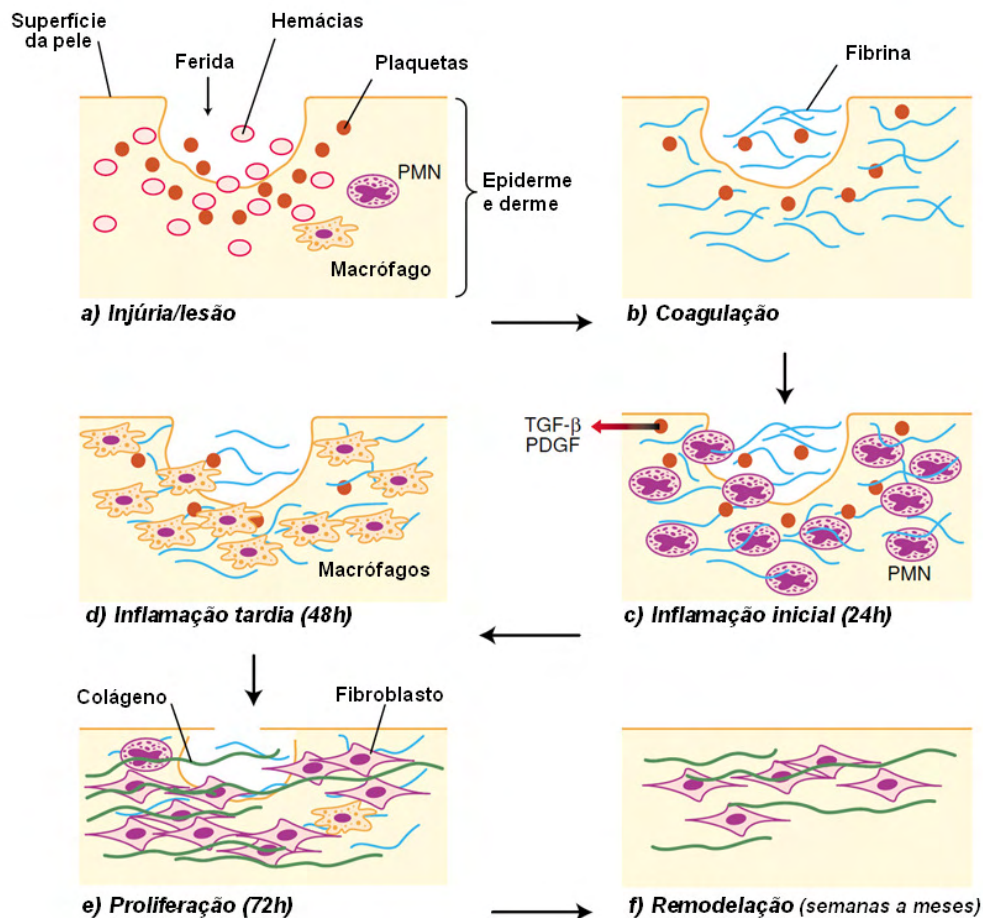


Figura 1. Fases de cicatrização de feridas. (a) lesão inicial, com extravasamento dos vasos sanguíneos danificados na derme, presença de neutrófilos (PMN), plaquetas e alguns macrófagos; (b) coágulo depositado na ferida, agregação de plaquetas pela fibrina; (c) liberação de fatores plaquetários (fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento transformador β (TGF- β)) que atraem PMNs para a ferida, início da inflamação (primeiras 24h); (d) Depois de 48 h, os macrófagos substituem os PMNs como célula inflamatória principal; (e) fase de proliferação, inicia-se em cerca de 72h, com fibroblastos recrutados pelas células inflamatórias e início da síntese de colágeno; (f) fase de remodelação, onde a reticulação e reorganização do colágeno podem ocorrer por semanas ou meses após a lesão. (Traduzido de Expert Reviews in Molecular Medicine[®] 2003, Cambridge University Press)

a) *Fase inflamatória:* imediatamente após a lesão cutânea ocorre o extravasamento de conteúdo dos vasos sanguíneos danificados localizados na derme, ocorrendo a exposição de elementos do sangue

(Figura 1.a) e aminas vasoativas. Ocorre a deposição de plaquetas, ativação destas e recrutamento de novas plaquetas, resultando na formação do trombo que tampona a lesão endotelial (MANDELBAUM, DI SANTIS e MANDELBAUM, 2003) A agregação das plaquetas no trombo se dá por meio da fibrina, que é depositada na ferida após a sua conversão a partir do fibrinogênio oriundo do plasma sanguíneo que extravasou (PEERSCHEKE et al., 2008) (Figura 1.b). Os macrófagos e granulócitos chegando ao local afetado, liberam enzimas proteolíticas (colagenases, elastases e hidrolases ácidas) que, juntamente com a grande concentração de polimorfonucleares, lisam os coágulos e promovem a decomposição do tecido necrosado e a limpeza local da lesão. As proteases atuam no remodelamento da matriz extracelular. A histamina, liberada inicialmente, e as prostaglandinas, mais tardiamente, aumentam a sensação dolorosa e promovem vasodilatação, com extravasamento de plasma. Substâncias vasoativas e fatores de crescimento liberados atuarão nas fases subsequentes, desde o desbridamento da ferida, a angiogênese, a proliferação e a diferenciação de células epiteliais até a migração celular. Essa fase tem duração de 48 a 72 horas (PEERSCHEKE et al., 2008). A permeabilidade vascular é temporariamente aumentada para permitir que os neutrófilos (polimorfonucleares - PMN), as plaquetas e as proteínas do plasma passem a se infiltrar na ferida. Posteriormente, há vasoconstrição em resposta aos fatores liberados por estas células (PEERSCHEKE et al., 2008). As plaquetas ativadas liberam mediadores como fator de crescimento transformador β (TGF- β), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), tromboxanos e fator de ativação plaquetário (PAF), que são difundidos através da matriz provisória, resultando em um gradiente quimiotático que orienta a migração das células existentes na circulação e regiões adjacentes envolvidas na resposta inflamatória (BALBINO, PEREIRA e CURI, 2005; HATANAKA e CURI, 2007). A ocorrência dos sinais clínicos da inflamação aguda (dor, calor, rubor e

edema) sinalizam o início da inflamação (primeiras 24 horas após lesão inicial) (PEERSCHEKE et al., 2008) (Figura 1.c). Depois de 48 horas, os macrófagos substituem os PMNs como células inflamatórias principais. Juntos, PMNs e macrófagos removem os detritos da ferida, liberam fatores de crescimento, e começam a reorganizar a matriz extracelular (Figura 1.d) (PEERSCHEKE et al., 2008).

b) *Fase proliferativa ou de epitelização*: a fase de proliferação, começa em cerca de 72 horas, com fibroblastos recrutados à ferida pelos fatores de crescimento liberados pelas células inflamatórias. Esses fibroblastos começam a sintetizar colágeno (BEANES et al., 2003) (Figura 1.e). Esta fase pode durar até duas semanas após a lesão. O desenvolvimento do tecido de granulação e a reconstituição da matriz extracelular ocorrem devido à predominância de fibroblastos, com deposição de colágeno, fibronectina e outros componentes protéicos, formando uma intensa rede vascular e migração de queratinócitos, visando à promoção da contração tecidual e da epitelização (PEERSCHEKE et al., 2008). A fibroplasia é extremamente importante para a formação de tecido de granulação, que ocorre em torno do quarto dia. O tecido de granulação é constituído por macrófagos, fibroblastos, células inflamatórias e componentes neovasculares, que estão amparados por uma matriz frouxa de fibronectina, ácido hialurônico, glicosaminoglicanos e colágeno. A formação do tecido de granulação depende do fibroblasto, célula crítica na formação da matriz extracelular. Com a conclusão desta etapa, o leito da ferida apresenta-se completamente preenchido pelo tecido de granulação, a neovascularização restabelece a circulação e a rede linfática passa por regeneração. O tecido de granulação lentamente torna-se enriquecido por mais fibras colágenas, dando à região da lesão a aparência de cicatriz pelo acúmulo de massa fibrosa (MANDELBAUM, DI SANTIS e MANDELBAUM, 2003).

c) *Fase de maturação ou remodelação*: tem início após aproximadamente 14 dias e pode durar por meses. Ocorre diminuição progressiva da vascularização e dos fibroblastos, aumento da força tênsil e reorganização das fibras de colágeno pela collagenase (PEERSCHEKE et al., 2008). Embora a taxa de síntese de colágeno diminua após cerca de três semanas, a reticulação e reorganização do colágeno podem ocorrer por semanas ou meses após a lesão na fase de remodelação de reparação (Figura 1.f) (BEANES et al., 2003).

Após o fechamento da ferida e eliminação dos microorganismos, os linfócitos passam a constituir o infiltrado inflamatório mais abundante em feridas humanas (MANDELBAUM, DI SANTIS e MANDELBAUM, 2003; CARDOSO et al., 2004). Estas células são efetores imunes como também produtoras de fatores de crescimento. Ainda nesta etapa, os linfócitos são atraídos para a ferida em igual número que os monócitos, mas são os macrófagos que predominam na região a partir do décimo quarto dia (CARDOSO et al., 2004; HATANAKA; CURI, 2007).

A maturação e a remodelação da matriz extracelular constituem a fase final da cura de uma ferida, em que a cicatriz adquire a máxima resistência tênsil. Esta fase de reparo tem como característica marcante a deposição acelerada de colágeno na região da ferida (GAHARY et al., 1995). O sistema elástico é constituído por três tipos de fibras (elásticas, elaunínicas e oxitalânicas) compostas por duas proteínas, a fibrilina e a elastina.

No processo de reparação tecidual de feridas, o colágeno desempenha um papel importante, pois além de participar da cicatrização, oferece resistência à tração. Quando a tensão mecânica é aplicada, a pele parece ser capaz de esticar. Esta propriedade propicia o fechamento das feridas (HIRSHOWITZ, LINDENBAUM e HAR-SHAI, 1993).

O colágeno é a proteína mais abundante nos animais e as fibras colágenas são as proteínas predominantes na constituição da matriz

extracelular. O sistema colágeno é formado por tipos de colágeno distintos geneticamente e que ocorrem em diferentes tecidos conjuntivos (VON DER MARK; VON DER MARK e GAY, 1976; MICHELACCI, 2003). Existem cerca de 30 tipos diferentes de colágeno, codificados por 41 genes dispersos em 14 cromossomos (MYLLYHARJU e KIVIRIKKO, 2001).

As fibras colágenas são flexíveis e possuem grande força tênsil. Ao microscópio de luz elas têm aparência típica de estruturas onduladas, de largura variável e comprimento indeterminado (ROSS et al., 1993). As fibras colágenas mais estudadas (tipos I, II e III) apresentam diferentes interferências de coloração e intensidade de birrefringência, devido aos seus diferentes padrões de agregação física. O colágeno tipo I é o mais comum dos colágenos, está presente em tecido conjuntivo propriamente dito, pele, tendão, osso, dentina e cimento. O tipo II está presente quase que exclusivamente nas matrizes de cartilagem hialina e elástica. O colágeno tipo III está frequentemente associado ao colágeno tipo I (MONTES, 1996).

A molécula de colágeno é constituída de três cadeias polipeptídicas, chamadas cadeias alfa, dispostas em tríplice hélice. Essas cadeias não são totalmente idênticas e, de acordo com suas diferenças, são descritos os tipos de colágeno. O colágeno mais abundante na matriz extracelular é o tipo I, juntamente com o tipo III. O colágeno tipo I possui moléculas organizadas em duas cadeias alfa 1 e uma cadeia alfa 2, e propicia resistência à tensão, força e estiramento. O tipo III possui as moléculas organizadas em três cadeias alfa 1 idênticas e propicia sustentação e atua como barreira de filtração (ROSS et al., 1993).

O colágeno tipo I apresenta fibras espessas e intensa birrefringência com coloração variando do amarelo ao vermelho. Já o colágeno tipo III apresenta fibras delgadas, com fraca birrefringência e coloração em verde (MONTES, 1996).

2.1.2. Fatores que influenciam na reparação de feridas

A reparação de uma ferida pode ser influenciada por fatores gerais/sistêmicos e locais. Nos fatores gerais podem-se incluir a idade, o estado nutricional, a existência de doenças (diabetes, alterações cardiocirculatórias e de coagulação, disfunção renal, quadros infecciosos sistêmicos) e o uso de medicamentos sistêmicos (MANDELBAUM, DI SANTIS e MANDELBAUM, 2003). Fatores locais também podem influenciar na reparação de feridas, como o próprio tamanho da ferida, a presença de infecção local, de coágulos, os movimentos bruscos ou ainda a presença de corpos estranhos (MYLLYHARJU e KIVIRIKKO, 2001; MANDELBAUM, DI SANTIS e MANDELBAUM, 2003), além do ressecamento da ferida e o uso de agentes tópicos (MANDELBAUM, DI SANTIS e MANDELBAUM, 2003).

Fatores nutricionais, como a deficiência protéica ou vitamínica, inibem a síntese de colágeno e retardam o reparo. Doenças como diabetes, varizes e arteriosclerose retardam a drenagem venosa, dificultando também no processo (PEERSCHKE, 2008).

Hormônios como os glicocorticóides, que tem ação anti-inflamatória, alteram vários componentes do processo inflamatório, podem agir na inibição da síntese de colágeno (MYLLYHARJU e KIVIRIKKO, 2001).

A formação excessiva de componentes do processo de reparação pode não ser favorável. O excesso de colágeno pode gerar uma cicatrização hipertrófica ou uma deposição heterotópica do mesmo, caracterizando-se o quelóide (TOMASEK et al., 2002).

2.1.3. Tratamento de feridas

O tratamento das feridas vem evoluindo ao longo da história. Com o passar do tempo, este tem se modificado de acordo com os conhecimentos adquiridos em cada época (NOVATO e CARVALHO, 2000).

A partir da década de 1990 os profissionais de saúde começaram a se preocupar com o impacto social e econômico, além dos aspectos de reparo ou cronificação das feridas e possíveis consequências, considerando o aparecimento de infecção local ou sistêmica, utilização de antissépticos e de vários tipos de agentes antimicrobianos (RIBEIRO, 2003).

Existe uma abundância de produtos para uso no tratamento de feridas, e estes são destinados a auxiliar o processo de cicatrização, desempenhando papel ativo em algumas das fases de cicatrização da ferida (KRAHWINKEL e BOOTHE, 2006).

Os medicamentos utilizados para melhorar a função de cicatrização da ferida utilizam uma variedade de mecanismos diferentes. Estes incluem a manutenção de ambiente úmido (hidrogéis, hidrocolóides, alginatos); o fornecimento de fonte de energia local (maltodextrina, mel, açúcar); a redução do edema da ferida por ação hidrófílica (alginatos, acemanano, mel, açúcar); o aumento do nível de fatores de crescimento (acemanano, complexo tripeptídeo-cobre); o fornecimento de fonte de substância ativa (colágeno, membranas biológicas); o aumento da resposta inflamatória (maltodextrina); o controle da infecção (agentes antimicrobianos); o auxílio no desbridamento (enzimas tópicas); o aumento do teor de oxigênio (oxigênio hiperbárico); e, o aumento do fluxo de sangue (laser, radiação ultravioleta, estimulação elétrica) (KRAHWINKEL e BOOTHE, 2006).

Pereira e Bachion (2005) realizaram uma revisão sistematizada com o objetivo de analisar a produção científica acerca da utilização de

produtos no tratamento de feridas entre os anos de 1970 e 2003. Esses autores identificaram que os produtos mais estudados foram papaína, própolis, açúcar, bota de Unna, carvão ativado, membrana amniótica, clara de ovo, colagenase, hidrocolóide, alginato de cálcio, pomadas antimicrobianas, ácidos graxos essenciais, fibras de viscose e poliéster. Os resultados encontrados denotaram efeitos positivos na utilização de todos os produtos (PEREIRA e BACHION, 2005).

Para Oliveira et al. (2000), apesar das recentes descobertas de novos fármacos, tanto pela química sintética como pela biotecnologia, os produtos naturais, como plantas e minerais, continuam sendo uma grande fonte na obtenção de medicamentos para os fins mais diversos, e ressaltam ainda que alguns agentes medicinais comumente usados para o tratamento de várias condições patológicas têm sua origem na medicina popular. Como exemplo disso tem-se os estudos de Prata et al. (1988) que objetivaram avaliar o efeito do açúcar aplicado topicamente em feridas e concluíram que o açúcar foi capaz de estimular o processo de reparação cicatricial em ratos.

Cardoso et al. (2004) estudaram a cicatrização de ferida com a administração tópica de ácidos graxos essenciais (ácidos linolênico e linoléico) e não essenciais (ácido oléico), e mostraram que o ácido araquidônico e o ácido linoléico induzem menor produção de colágeno e altos níveis de prostagladina, e consideraram que estes possuem relevante papel na cicatrização de feridas, podendo ser incluídos na formulação de compostos para cicatrização.

Moura (2004) testou a eficácia da aplicação tópica de diferentes extratos da própolis verde em feridas em coelhos; porém, esse tratamento não alterou o processo de cicatrização. Argôlo Neto (2005) realizou tratamentos de feridas em coelhos utilizando própolis, mel e alantoína, e também observou que esse tipo de tratamento não alterou o tempo de cicatrização das feridas. Castro, Argôlo Neto e Viana (2009) avaliaram o uso tópico do mel de abelha, oxitetraciclina e hidrocortisona,

na reparação de feridas, por segunda intenção, em coelhos, e não observaram contribuição terapêutica quanto à aceleração da redução do tamanho das feridas entre os tratamentos.

Formulações de fitoterápicos (assa-peixe, bálsamo-do-Peru, cânfora, marcela, tanchagem) de uso tópico foram testadas, sugerindo o seu efeito terapêutico no processo de cicatrização de feridas em coelhos (ARAUJO, 2010). Outros extratos naturais também já foram testados experimentalmente em feridas, como aroeira (BRANCO NETO *et al.*, 2006), babaçu (MARTINS *et al.*, 2006), barbatimão, calêndula (MARTINS, 2003), confrei (OLIVEIRA, 2000; MARTINS, 2003), maracujá amarelo (GARROS *et al.*, 2006) e óleo de semente de girassol (RODRIGUES *et al.*, 2004).

Magalhães (2007) utilizou topicamente água-de-coco liofilizada associada com produto a base de triglicerídeos de cadeia média (ácido caprílico, ácido cáprico, ácido capróico e ácido láurico) e ácido linoléico (ácido graxo essencial), lecitina de soja e vitaminas A e E, os quais aumentaram significativamente a deposição de colágeno na cicatrização por segunda intenção em ratos da linhagem Wistar.

Na utilização de radiação com laserterapia de baixa potência em feridas experimentais em ratos Wistar, não se observaram alterações microscópicas significativas, mas macroscopicamente houve uma melhora clínica das feridas (BEHEREGARAY *et al.*, 2010; ALMEIDA, 2006; VIEIRA, 2006). Rocha Júnior *et al.* (2006), entretanto, sugerem que a terapia a laser de baixa intensidade é um método eficaz no processo de modulação da reparação tecidual, contribuindo significativamente para a cicatrização tecidual mais rápida e organizada.

Há também pesquisas realizadas com o uso de células tronco para cicatrização de feridas (CHA e FALANGA, 2007; ARGOLO NETO, 2009; LU, ZHANG e JIN, 2009) e estudos sobre terapia gênica na cicatrização de feridas (EMING, KRIEG e DAVIDSON, 2007).

Existem vários recursos para o tratamento de feridas; porém, o conhecimento dos medicamentos e suas ações podem ajudar o clínico a escolher o tratamento correto para cada tipo de ferida. Nenhuma medicação é essencial ou melhor para tratar feridas, vai depender das indicações individuais, incluindo o tipo (etiologia) e condição (infectados ou limpo) e tempo (agudo ou crônico) do ferimento (KRAHWINKEL e BOOTHE, 2006).

2.2. Água-de-coco

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é um vegetal que oferece uma variedade de formas para sua utilização. Todas as suas partes como raiz, caule, folha, inflorescência e fruto são empregados para fins artesanais, alimentícios, nutricionais, agroindustriais, medicinais, biotecnológicos, entre outros. Uma das suas principais utilidades atuais no Brasil, com grande perspectiva de uso internacional, é o aproveitamento da água-de-coco (ARAGÃO et al., 2001).

A água-de-coco possui um vasto potencial comercial por seu valor nutritivo, por ser estéril, por ser uma bebida natural contendo boa quantidade de minerais, com aroma e sabor suaves, e consumida por todas as idades (NADANASABAPATHY e KUMAR, 1999).

O consumo da água-de-coco verde no Brasil é crescente e significativo. A grande demanda é suprida, principalmente, pela extração da água do fruto *in natura*. No ano de 2000 já havia no país cerca de 80 indústrias de pequeno e três de grande porte envasando a água-de-coco, que concorre diretamente com o mercado de refrigerantes (CARRIJO, 2002). As formas de comercialização da água-de-coco, relacionadas à industrialização, e equilibram a oferta do produto ao longo do ano (CARVALHO et al., 2006). Apesar da praticidade de aquisição e

conservação da água-de-coco processada, a forma *in natura* tem maior aceitação pelos consumidores (NOGUEIRA et al., 2004).

A água-de-coco corresponde a aproximadamente 25% do peso do fruto. Sua composição básica apresenta mais de 90% de água, 5% de açúcares, além de proteínas, vitaminas e sais minerais, sendo uma bebida pouco calórica, contendo em média 20 calorias/100mL (ARAGÃO et al., 2001). A água-de-coco possui um conteúdo de sais minerais e açúcares que a torna uma bebida isotônica natural. No quadro 1 estão apresentados os dados de análise físico-química da água-de-coco verde, *in natura*, aos 7 meses de idade (ROSA e ABREU, 2000).

Quadro 1. Caracterização físico-química da água-de-coco verde com 7 meses de idade.

Constituinte	Valor
Sacarose (mg/100mL)	280
Glicose (mg/100mL)	2378
Frutose (mg/100mL)	2400
Fósforo – P (mg/100g)	7,40
Cálcio – Ca (mg/100g)	17,10
Sódio - Na (mg/100g)	7,05
Magnésio - Mg (mg/100g)	4,77
Manganês - Mn (mg/100g)	0,52
Ferro - Fe (mg/100g)	0,04
Potássio - K (mg/100g)	156,86
Acidez (%v/p)	1,11
pH	4,91
Sólidos totais (g/100g)	5,84
Brix	5,00
Vitamina C (mg/100mL)	1,2
Glicídeos totais (g/100g)	3,46
Proteína (mg/100g)	370
Valor calórico (Cal/100g)	27,51

FONTE: ROSA e ABREU, 2000.

A interação da variedade e os estádios de maturação têm um efeito significativo na composição da água-de-coco (JACKSON et al., 2004). Para Khan, Muti-ur-Rehman e Khan (2003) a grande variabilidade

na composição da água-de-coco é influenciada não só pela maturação do fruto, mas também pela composição do solo onde a planta é cultivada. O perfil bioquímico da água de coco varia durante a maturação do fruto, ocorrendo redução da concentração de potássio, de cálcio, de magnésio, de cloro e da osmolaridade, e aumento da concentração de frutose e de glicose, bem como redução da concentração de sacarose (VIGLIAR, SDEPANIAN e FAGUNDES-NETO, 2006).

2.2.1. Utilizações da água-de-coco

A água-de-coco possui diversas propriedades funcionais, como solução de hidratação oral, suplemento protéico onde o déficit nutricional é alto (CAMPBELL-FALCK et al., 2000). Ela ainda se destaca por sua capacidade diurética, poder antioxidante e ação protetora em relação ao aparecimento de tumores malignos (LIM-SYLIANCO et al., 1992). Considerando também a elevada concentração de potássio, a água-de-coco poderia ser utilizada na reposição desse eletrólito. A ingestão diária de água-de-coco poderia prevenir deficiências nutricionais de cálcio e magnésio (VIGLIAR, SDEPANIAN e FAGUNDES-NETO, 2006).

Na cultura popular, a água-de-coco é utilizada como substituto da água e para repor eletrólitos nos casos de desidratação. Eletrólitos, tais como sódio e potássio, são mais rapidamente absorvidos pelo organismo, quando em soluções isotônicas, como a água-de-coco, restabelecendo prontamente as perdas destes nutrientes (ARAGÃO et al., 2001).

Saat et al. (2002) afirmaram que a ingestão de água-de-coco pode ser utilizada para reidratação após o exercício físico. Segundo esses autores, a água-de-coco, além de ser reidratante, apresenta algumas vantagens em relação às bebidas a base de carboidratos e eletrólitos. Ela é naturalmente adocicada, não causa náusea, não apresenta

sensação de abundância ou desordem no estômago, além de ser facilmente consumida em grande quantidade.

A água-de-coco foi incluída em um protocolo de nutrição para pacientes de cirurgia bariátrica, sugerindo a ingestão em pequenos goles, de um volume de 500mL, durante todo o dia, o que garante que o consumo energético mínimo do paciente seja de 240 kcal/dia (CRUZ e MORIMOTO, 2004).

A densidade da água-de-coco é semelhante à do plasma sanguíneo. Ela é isenta de pirogênicos e não causadora de hemólise tanto *in vivo* quanto *in vitro*, podendo ser usada como infusão intravenosa em quadros que necessitem de reposição de açúcar, pois possui composição química próxima à do soro glicosado isotônico (ARAGÃO, 2000; WOSIACKI et al., 1996). Portanto, a água-de-coco verde pode ser utilizada em situações emergenciais, onde não há possibilidade de atendimento hospitalar, como fluido de hidratação intravenosa (CAMPBELL-FALCK et al., 2000; PETROIANU et al., 2004).

Por possuir as características bioquímicas necessárias a um diluente seminal, a água-de-coco tem sido usada para este finalidade em programas de inseminação artificial em espécies animais de interesse econômico (BARROS e TONIOLLI, 2011). Na área de biotecnologia da reprodução, ela vem sendo empregada como diluente e conservante de sêmen de caninos (UCHOA et al., 2002; CARDOSO et al., 2003; CARDOSO et al., 2005), felinos (SILVA et al., 2007), suínos (KOTZIASBANDEIRA et al., 1999; AIRES e TONIOLLI, 2005), caprinos (AZEVEDO e TONIOLLI, 1999; NUNES e SALGUEIRO, 1999), ovinos (BRAZ et al., 2003), bovinos (ALBERTI, 2004), macacos (ARAÚJO et al., 2007) e humanos (NUNES, 1998), assim como no desenvolvimento de embriões das espécies bovina (BLUME et al., 1998) e murina (BLUME e MARQUES JR., 1994), além de oócitos caninos (PINA et al., 2007).

2.3. Água magnetizada

Em 1885, o físico escocês James Clerk Maxwell publicou uma teoria unificada, rigorosa e coerente, que explicava a íntima relação entre os fenômenos elétricos e magnéticos, revelando a possibilidade da existência das ondas eletromagnéticas. O magnetismo é um fenômeno físico extremamente ligado à eletricidade e cuja complexidade reflete em efeitos sobre os seres vivos (BERTEAUD et al., 1975; PEIRE, 1993).

A ação da força magnética pode desencadear processos que exigem a transformação de uma forma de energia em outra. Sabe-se que todos os corpos (sólidos, líquidos ou gasosos) são susceptíveis de se magnetizarem (PETRIANOV, 1980; MEZENTSEV, 1991).

Segundo a eletrodinâmica quântica, a matéria não representa um aglomerado inerte de moléculas e sim um meio dinâmico, capaz de selecionar e catalisar as reações moleculares de acordo com os diversos campos eletromagnéticos que ocorrem no seu interior. Através de modelos matemáticos, os autores especulam que o campo eletromagnético de uma substância em solução pode gerar certos “domínios de coerência” específicos e estáveis no solvente, como uma “assinatura eletromagnética da substância na água” (“teoria da memória da água”). Desta forma, a organização da água seria um processo dinâmico e coerente, associado a interações eletromagnéticas (TEIXEIRA, 2006).

Resultados experimentais demonstram que o campo eletromagnético do soluto induz à formação de regiões de coerência estável no solvente, com estrutura e vibração específica, produzindo aglomerados de moléculas de água, de tamanho e geometria próprios. Cada conformação espacial desses aglomerados corresponderia a um campo eletromagnético específico, influenciando as propriedades físico-químicas da solução em questão (pH, densidade, capacidade calorífica, viscosidade, acidez, constante dielétrica etc.). Os aglomerados de

moléculas de água também se estruturam a partir de substâncias não-iônicas (proteínas, moléculas orgânicas etc.) (LO, LI e HUANG, 2000).

As propriedades magnéticas das substâncias se caracterizam pela sua permeabilidade frente ao campo magnético. A intensidade, o gradiente, o vetor, a frequência e a forma do impulso, além do tempo de exposição frente ao campo magnético são as características físicas pelas quais o campo magnético agirá nos mecanismos biológicos (ALFONSO INSUA et al., 2009).

A água, quando em contato com um campo magnético, com uma densidade de fluido e velocidade determinadas, sofre mudança de diferentes parâmetros que, do ponto de vista biológico são importantes, como pH, tensão superficial (diminuída), solubilidade (aumentada), densidade óptica, condutibilidade elétrica, coagulação de partículas (sistemas coloidais), concentração de oxigênio e hidratação de íons, que influenciam nas propriedades das soluções e na cinética das moléculas; além da memória magnética. Uma das peculiaridades do tratamento magnético nos sistemas aquosos são as mudanças reversíveis que se produzem na molécula da água ao passar pelos campos magnéticos. O tempo durante o qual se mantem as variações ocorridas, com respeito às propriedades originais, se denomina de memória magnética (MEZENTSEV, 1991; PEIRE, 1993; CNEA, 1997).

Embora o magnetismo seja amplamente utilizado nos campos da física, da indústria e do comércio, seus efeitos sobre os organismos vivos não foram completamente estudados, elucidados e difundidos. Na década de 1940 se iniciaram os estudos sobre os efeitos biológicos dos campos magnéticos e eletromagnéticos; porém, muitas investigações eram de caráter militar e os resultados se mantiveram em sigilo (CNEA, 1997).

Alterações de propriedades biológicas e físico-químicas da água induzidas por campos magnéticos vêm sendo estudas nos últimos anos (PORTO, 1998; PORTO, 2004), gerando patentes (INPI, 2000; INPI,

2001; INPI, 2003a; INPI, 2003b; INPI, 2003c) e abrindo novos horizontes de produtividade (LOPES et al., 2007).

2.3.1. Utilizações da água magnetizada

Nos setores industriais, a água magnetizada é usada para se evitar a incrustação e a formação de concreções, pois tem sua solubilidade aumentada, principalmente para o carbonato de cálcio. Por suas características, é indicada para uso em piscinas, clínicas, lavanderias, vestiários, sistemas de refrigeração, caldeiras e todo tipo de maquinário industrial, uma vez que reduz a corrosão e necessita de menos energia para o seu aquecimento (PÉREZ, CHACÓN e OSELIS 1996).

Santos (2006) demonstrou que o tratamento magnético influencia favoravelmente a produção do concreto para construção civil, pois seus resultados mostram que a água tratada magneticamente melhora a trabalhabilidade e as propriedades mecânicas, como ganho de resistência e também do módulo de elasticidade do concreto. Outros estudos confirmaram que a água tratada magneticamente pode aumentar a resistência do concreto à compressão (SU, WU e MAR, 2000), e com isso obter economia na dosagem do cimento, reduzindo sua fluidez e ainda assim aumentando a resistência (SU e WU, 2003).

Na agricultura há relatos de que o uso de água tratada com magnetismo age sobre as sementes, fazendo com que elas germinem mais rapidamente, além de melhorar o desenvolvimento dos brotos. Seu uso também permite a diminuição da quantidade de nitrogênio necessária na fertilização e leva ao aumento no tamanho das plantas devido a maior quantidade de potássio na matéria seca das mesmas. O solo tratado com este tipo de água se torna de mais fácil hidrolização e aumenta a permeabilidade e a assimilação dos nutrientes por parte dos

vegetais. Há também redução significativa do processo de evapotranspiração, o que implica em menor consumo hídrico, com redução de custos. Há também influência sobre o tamanho dos frutos, dos tubérculos, dos rizomas e dos sistemas radiculares, além da tendência a adiantar o florescimento e formação dos frutos. Além disso, algumas plantas se comportaram mais tolerantes a determinadas pragas (NOGGLE e FRITZ, 1983; VIGNON, 1990).

LOPES et al. (2007) demonstraram o efeito do campo magnético no desenvolvimento de culturas perene e ciclo curto na mensuração das seguintes variáveis dependentes: altura de planta, fitomassa fresca e seca da parte aérea e do sistema radicular. Há trabalhos que reportam que a irrigação de espécies vegetais com água magnetizada aumenta a sua quantidade de pigmentos fotossintéticos (clorofila A, B e carotenóides) e de elementos minerais essenciais (cálcio, magnésio, fósforo e potássio) (AL-KHAZAN, ABDULLATIF e AL-ASSAF, 2011).

No organismo animal, alguns dos benefícios relacionados ao uso da água magnética estão diretamente relacionados ao aumento da sua capacidade de absorção pelo epitélio intestinal. Dessa forma, os nutrientes como glicose, cálcio e outros minerais tem sua absorção intestinal facilitada (ALFONSO et al., 2000).

Alfonso Insua et al. (2009) apontam os benefícios do uso da água magnetizada nos animais de produção, como no gado bovino (novilhos, vacas de leite e touros) com vistas ao melhor aproveitamento zootécnico dos animais de produção. Os animais apresentam aumento de cálcio sérico, aumento da bioatividade ruminal e melhor conversão alimentar, com aumento do peso vivo e produção leiteira (ALFONSO et al., 1997; ALFONSO et al., 1999; ALFONSO et al., 2000). Touros zebus tratados com água magnetizada apresentaram diferenças em indicadores reprodutivos de qualidade do sêmen como volume, motilidade espermática e densidade (ALFONSO INSUA et al., 2006).

Porto (2004), com a otimização das propriedades dos aglomerados de moléculas de água, desenvolveu um hidratante para pele, somente com água tratada magneticamente, sem o uso de formulações gordurosas. Este hidratante promoveu aumento real na quantidade de água capaz de permear o extrato córneo, hidratando-o em até 28%.

A aplicação do magnetismo como ferramenta terapêutica, tanto em medicina humana como veterinária, apresenta resultados diferentes, sendo em alguns casos positivos. Na aplicação terapêutica cirúrgica tentou-se melhorar o processo de cicatrização e a formação de calos ósseos por meio do estímulo a fixação de cálcio (CHERNOSHCHEKOV, 1989; CHACÓN e RODRÍGUEZ, 1997). Outras aplicações na área biomédica também são interessantes, como a estimulação à regeneração de fibras nervosas, a alteração de analgesia e a estimulação de síntese de proteínas *in vivo*. A variedade de aplicações descritas na literatura para água que recebe tratamento magnético é tão vasta que, para um observador desatento, pode parecer uma espécie de panacéia. Entretanto, cada experimento é realizado em uma condição diferente e, os resultados apresentados não necessariamente se aplicam a todas as outras áreas (PORTO, 2004). Os trabalhos sugerem que o mecanismo de tratamento magnético seja estudado mais profundamente (DUAN, GUO e YANG, 2012).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar experimentalmente o processo de reparação cicatricial em coelhos tratados por via oral com água magnetizada e água-de-coco, visando entender se esse procedimento terapêutico influencia no processo de reparação tecidual de feridas.

3.2. Objetivos específicos

- 1) Avaliar o tempo de cicatrização e o tempo de epitelização das feridas experimentais nos animais tratados com água-de-coco, água magnetizada e água mineral.
- 2) Comparar o processo de cicatrização de feridas nos animais tratados ou não com pomada;
- 3) Acompanhar o processo de regressão da área das feridas após a aplicação dos tratamentos;
- 4) Analisar histologicamente o processo de reparação cicatricial nos diferentes grupos tratados;
- 5) Monitorar o consumo de água e de ração e o ganho de peso dos animais nos diferentes tipos de tratamentos;
- 6) Analisar os parâmetros hematológicos dos animais nos diferentes grupos experimentais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Amostragem

Foram utilizados 30 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia Branca, machos, com idade entre dois e três meses, com peso médio de três quilos. Os animais foram obtidos do Setor de Cunicultura da Unidade Educativa de Produção de Zootecnia I do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais (UEP ZOO I - IFNMG - *Campus* Salinas).

Os animais foram divididos, aleatoriamente, em seis grupos experimentais com cinco animais cada. Eles ficaram alojados em gaiolas individuais, com comedouros e bebedouros individualizados (Figura 2).



Figura 2. Instalações do experimento.

O período de experimentação foi de oito semanas. Os animais foram submetidos a um período de adaptação ao local e à ingestão das águas, por quatro semanas. Durante todo o experimento os coelhos receberam água *ad libitum* e 200 gramas diários de ração comercial com formulação nutricional¹ adequada para esta espécie. A temperatura do galpão foi aferida diariamente durante todo o período experimental.

4.2. Tipos de água

Foram utilizados para tratamento oral dos animais três tipos de água: água mineral², água magnetizada e água-de-coco *in natura*. A água-de-coco foi obtida de cocos frescos advindos de propriedades rurais de Salinas-MG e região, os quais foram abertos no momento da troca de água nos bebedouros, o que ocorreu diariamente.

Para indução magnética da água, utilizou-se o Canhão Magnético MultiPolar InduMag® (MagnetiCoCo Empreendimentos Tecnológicos Ltda-ME, Viçosa-MG), que promove a indução magnética pela ação do trabalho magnético, no qual as linhas de força geradas pelos magnetos atingem as moléculas da água magnetizando-as. O canhão magnético foi colocado no reservatório de água mineral, deixando-o em contato com a água por um período mínimo de 24 horas, após o qual a água já está magnetizada e pronta para uso, conforme recomendação do fabricante. As águas magnetizadas dos bebedouros dos animais foram trocadas diariamente.

¹Valores em %: Proteína bruta (Mín.) 14-15; Umidade (Máx.) 12-13; Extrato etéreo (Mín.) 1,5-2,5; Matéria mineral (Máx.) 12,5-13,7; Fibra bruta (Máx.) 12-16; FDA (Máx.) 7,2; Cálcio (Mín./Máx.) 2-3; Fósforo (Mín.) 0,5; Ácido fólico (Mín.) 0,05; Niacina (Mín.) 1,5; Selênio (Mín.) 0,00015; Zinco (Mín.) 0,008; Ácido pantotênico (Mín.) 0,005; Cobre (Mín.) 0,004; Ferro (Mín.) 0,02; Iodo (Mín.) 0,0004; Lisina (Mín.) 4; Manganês (Mín.) 0,004; Metionina (Mín.) 1,2; Cobalto (Mín.) 0,0002; Vitamina B2 (Mín.) 0,002; Vit. B1 (Mín.) 0,0008 e Vit. A (Mín.) 3×10^6 UI; Vit. D3 (Mín.) 500×10^3 UI; Vit.E (Mín.) 20×10^3 UI.

²Composição Química (mg/L): Bicarbonato: 41-52; Cálcio: 6-7; Sódio: 2,5; Magnésio: 4; Fluoreto: 0,03; Potássio: 0,85-0,95; Nitrato: 0,2-0,3; Sulfato: 0,4-0,8; Estrôncio: 0,03-0,04; Silício: 7,5; Lítio: 0,003; Cloreto: 0,5-0,7; Bário 0,007; Fosfato 0,12. Características físico-químicas: pH a 25°C: 6,32; Temperatura da água na fonte: 24,1°C; Condutividade elétrica a 25°C: 53,7uS/cm; Resíduo de evaporação a 180°C, calculado: 44,27mg/L

4.3. Tratamento dos animais

O tratamento dos animais seguiu a seguinte distribuição:

- Grupo 1: animais que receberam água mineral e tiveram as feridas tratadas com pomada;
- Grupo 2: animais que receberam água magnetizada e tiveram as feridas tratadas com pomada;
- Grupo 3: animais que receberam água-de-coco e tiveram as feridas tratadas com pomada;
- Grupo 4: animais que receberam somente água mineral;
- Grupo 5: animais que receberam somente água magnetizada;
- Grupo 6: animais que receberam somente água-de-coco.

Os animais de todos os grupos receberam o seu respectivo tipo de água durante todo o período de experimentação, inclusive no período de adaptação que precedeu à realização das feridas.

Diariamente, os animais dos grupos 1, 2 e 3 tiveram suas feridas tratadas topicamente com pomada antibiótica a base de sulfato de neomicina (2,5mg), gramicidina (0,25mg), nistatina (100.000UI) e triancinolona acetonida (1mg). As feridas foram mantidas abertas, sem nenhum tipo de bandagem ou manipulação do local, sendo feita somente a aplicação tópica da pomada, sem a retirada da pomada que permaneceu do dia anterior.

4.4. Preparo das feridas

Os animais foram previamente sedados com administração intramuscular de acepromazina 1% (0,1mg/kg) e tricotomizados na região torácica dorsal (Figura 3.A), na qual foi aplicada solução alcoólica de clorexidina (0,5%) para assepsia tópica. No tecido subcutâneo dos

locais a serem incisados, foi realizada anestesia local (Figura 3.B) com administração de 0,1mL de lidocaína 1% (1mg/kg) sem vasoconstritor. Com auxílio de um bisturi circular de 6mm de diâmetro foram realizadas quatro feridas cirúrgicas (Figura 3.C e D), por meio da remoção da pele da região (Figura 3.E), com dois centímetros de distância entre elas (Figura 3.F) (Adaptado de MOURA, 2004).

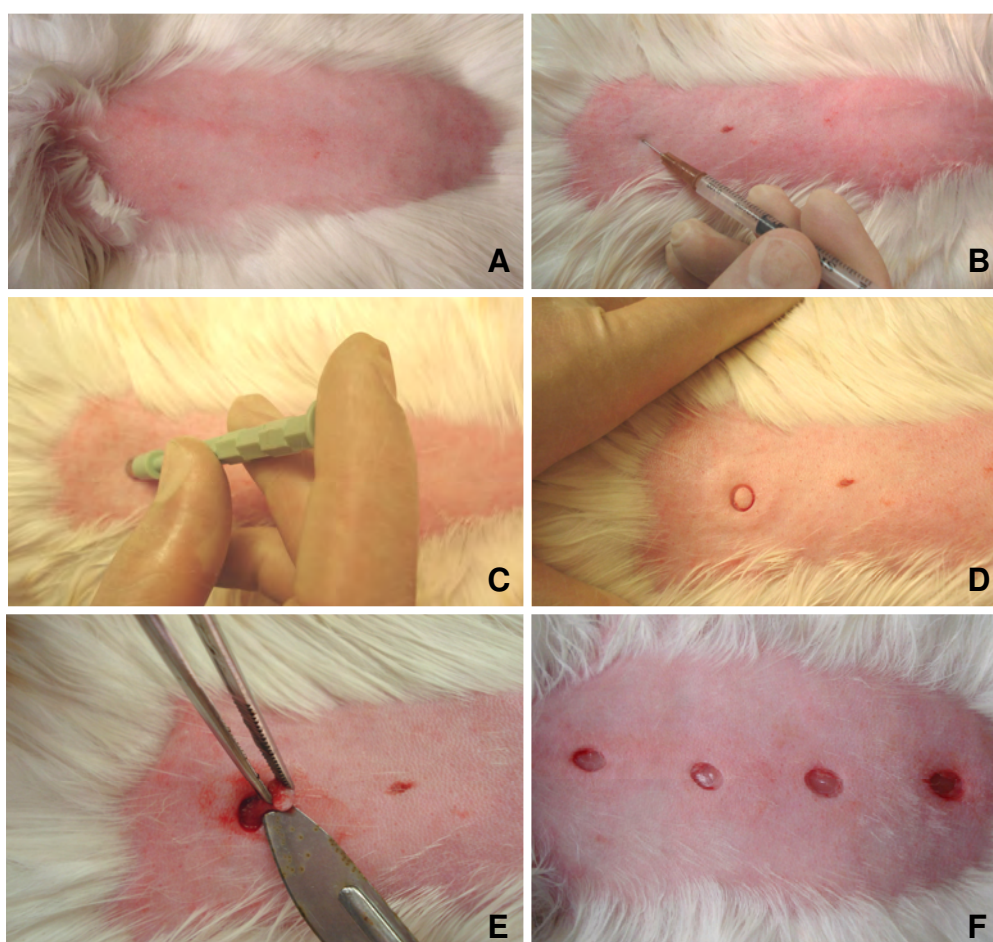


Figura 3. Fotografias do procedimento cirúrgico para realização das feridas. A) Região torácica dorsal após tricotomia e assepsia do local; B) Anestesia local na região a ser incisada; C) Incisão da pele com bisturi circular; D) Incisão com o bisturi circular; E) Retirada da pele da região incisada; F) Feridas cirúrgicas.

4.5. Avaliação clínica dos animais

Os animais foram pesados no início (no dia 0, antes de receber as feridas) e no fim do experimento, e diariamente foram submetidos à avaliação clínica e fez-se aferição da temperatura retal com o auxílio de termômetro digital.

Com a diferença entre os valores do peso inicial e do peso final foi calculado o ganho de peso de cada indivíduo.

4.6. Avaliação clínica das feridas

A avaliação clínica das feridas foi realizada nos momentos 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas após a realização das feridas. Diariamente, durante a avaliação clínica dos animais, realizou-se também a inspeção visual das feridas, as quais foram fotografadas com câmera digital (6.0M.).

Foram avaliadas as seguintes variáveis clínicas: edema, halo eritematoso (se presentes, classificados em graus), tempo de cicatrização e tempo de epitelização. As medições das feridas foram realizadas com o auxílio de um paquímetro digital. Para avaliação das feridas, mensuração das mesmas e obtenção das fotografias, os animais foram posicionados sempre da mesma maneira, evitando-se sua movimentação e retração ou distensão da pele (Figura 4).

A variável tempo de cicatrização foi determinada no momento em que toda área lesionada foi substituída por tecido cicatricial (cicatrização por segunda intenção), e o tempo de epitelização quando todo o tecido já havia sido regenerado (adaptado de CASTRO, ARGÔLO NETO e VIANA, 2009).

Foram feitas medições nas quatro feridas de cada animal, até o dia que ocorresse o evento da cicatrização. Sendo assim, foram

registrados os valores das medidas para os dias 0 (0h, 6h e 12h), 1 (24h), 2 (48h), 3 (72h), 4 (96h), 5 (120h), 6 (144h) e 7 (168h) após a realização das feridas.

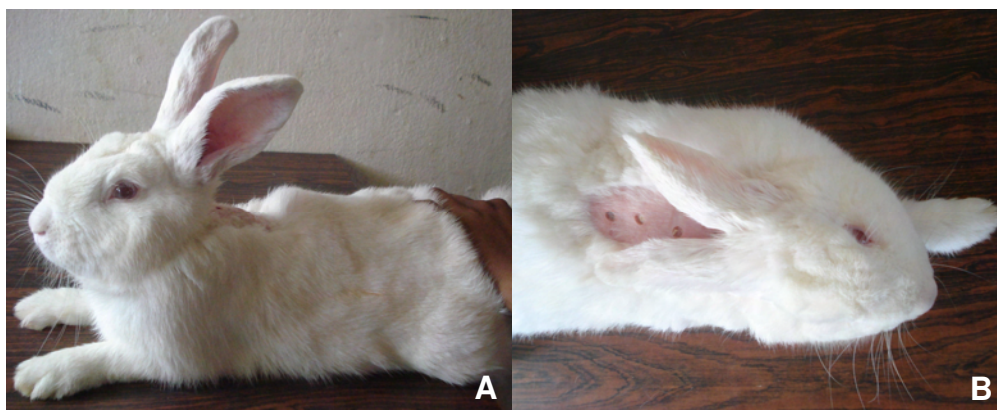


Figura 4. Fotografia do posicionamento dos coelhos para avaliação das feridas. A) Vista lateral do animal; B) Vista dorsal do animal.

Para a análise de redução da ferida, utilizou-se paquímetro digital e adotou-se metodologia adaptada de Almeida (2006) e Castro, Argôlo Neto e Viana (2009), usando-se duas medidas perpendiculares (a) (b) (figura 5) da lesão para posterior cálculo da área, em mm^2 , a qual foi calculada pela seguinte fórmula $A = \pi ab$, onde $\pi = 3,1415$.

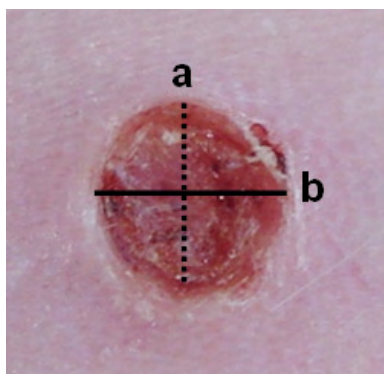


Figura 5. Medidas mensuradas para o cálculo da área da ferida

4.7. Avaliação histológica das feridas

Foram realizadas biopsias nas bordas das feridas aos 7, 14, 21 e 30 dias após a indução das mesmas. Cada biopsia foi realizada em uma ferida distinta, obedecendo-se a sequência craniocaudal. As biopsias foram realizadas com o auxílio de um bisturi circular de 6mm de diâmetro, realizando-se anestesia local conforme procedimento anterior para realização das feridas. A pele retirada no momento da realização das feridas também submetida ao processamento histológico, sendo admitida como amostra controle (pele normal).

Os tecidos coletados nas biopsias continham áreas da borda da ferida parte do conteúdo do centro da lesão. Estes fragmentos foram fixados em solução de formalina (10%) e encaminhados para o processamento histológico de rotina, com inclusão em parafina e confecção das secções histológicas com 4µm de espessura, para posterior avaliação histopatológica, utilizando coloração de rotina pela hematoxilina e eosina (HE) e observação de fibras colágeno (tipos I e III) pela coloração de picrosirius, e das fibras elásticas, pela coloração de Verhoeff.

4.7.1. Análise histopatológica das feridas

Para a análise histopatológica das lesões, os cortes histológicos foram desparafinizados, hidratados e submetidos a coloração de rotina pela hematoxilina e eosina (HE), sendo montados em lâminas de vidro e cobertos com lamínula para posterior observação microscópica.

As lâminas histológicas coradas por HE foram analisadas com auxílio de microscópio de luz, sendo avaliados quanto a presença/ausência de tecido de granulação, hemorragia e infiltrado

inflamatório, bem como a intensidade desses processos: 0 (ausente), 1 (discreto), 2 (moderado) e 3 (intenso).

4.7.2. Reação histoquímica para marcação de colágeno

Para observação de fibras colágenas tipo I e tipo III, os cortes histológicos foram submetidos à coloração de picosirius (JUNQUEIRA et al., 1979) e posterior observação em microscópio de luz polarizada para a diferenciação dos tipos de colágeno através da diferença de cor e intensidade de birrefringência.

Os cortes histológicos foram desparafinizados, hidratados e corados com solução picosirius 0,1% (0,1g de Sirius Red em 100mL de solução saturada de ácido pícrico) por 60 minutos, depois lavados em água destilada e contra-corados com hematoxilina de Harris por seis minutos, sendo então lavados em água corrente e, posteriormente, desidratados em soluções de concentração crescente de álcool etílico, diafanizados em xilol e montados com lamínula de vidro.

As lâminas montadas foram observadas em microscópio de luz polarizada e fotografadas com câmera digital (5.0M) no aumento de 200x e analisadas em programa computacional (Micrometrics SE Premium Ver. 2.8) após captura da imagem. Foram fotografadas três regiões de cada lâmina de cada grupo experimental. As fotomicrografias foram utilizadas para o cálculo do percentual de colágeno pelo método de planimetria por contagem de pontos. Sobre cada imagem foi sobreposta uma grade, onde os pontos de interseção coincidentes com as fibras de colágeno (tipos I e III) (Figura 6) foram contados e os percentuais de colágeno foram calculados pela fórmula a seguir:

$$\text{Colágeno tipo I ou tipo III (\%)} = \frac{\text{nº de pontos (tipo I ou tipo III)}}{\text{nº total de pontos contados}} \times 100$$

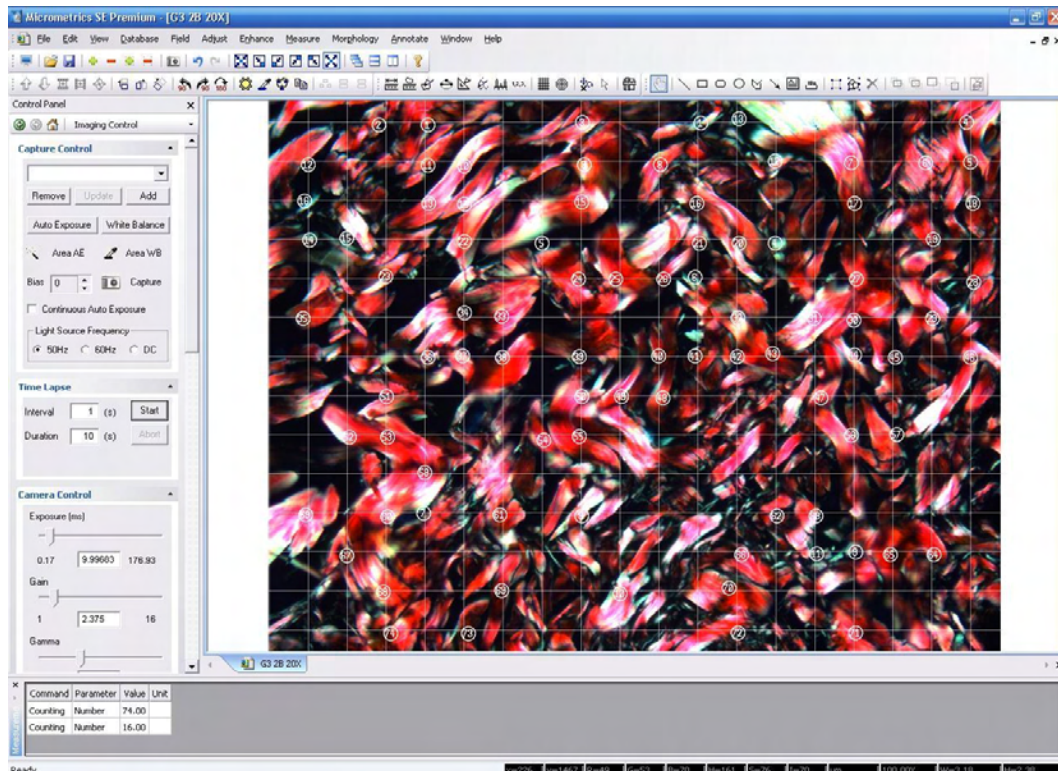


Figura 6. Imagem computacional de secção histológica corada por picrosirius, observada em microscópio de luz polarizada (200x) e analisada pelo programa Micrometrics SE Premium Ver.2.8. Utilização do método de planimetria com contagem dos pontos de interseção coincidentes com as fibras de colágeno (tipos I e III).

4.7.3. Reação histoquímica para marcação de fibras elásticas

Para observação das fibras elásticas, os cortes histológicos foram desparafinizados, hidratados e submetidos à coloração de Verhoeff (PROPHET et al., 1992), pela qual as fibras elásticas são observadas na coloração negra e os demais tecidos em cinza, por meio de reação com sais férricos.

Os cortes foram colocados em solução de Bouin por 30 minutos, que atua como mordente, aumentando o contraste das fibras elásticas após a diferenciação. Posteriormente os cortes foram corados por 15 minutos em solução corante (20mL de hematoxilina 5%, 8mL de cloreto férrico 10% e 8mL de solução de lugol (iodo 1% e iodeto de potássio 2%)), lavados em água corrente e diferenciados por alguns segundos em solução de Cloreto férrico a 2%, controlando ao microscópio até que estivessem coradas as fibras elásticas. Feito isto, as lâminas foram lavadas em água corrente, desidratadas em soluções de concentração crescente de álcool etílico, diafanizadas em xilol e montadas com lamínula de vidro.

As lâminas montadas foram observadas em microscópio de luz e fotografadas com câmera digital (5.0M) no aumento de 200x e analisadas em programa computacional (Micrometrics SE Premium Ver. 2.8) após captura das imagens. Foram fotografadas três regiões de cada lâmina de cada grupo experimental. As fotomicrografias foram analisadas pelo método de planimetria por contagem de pontos. Com o auxílio do programa computacional, contaram-se todas as fibras elásticas presente nos campos observados e calculou-se a área de observação, descartando-se as regiões de anexos cutâneos (folículos pilosos e glândulas), superfície epidérmica e vasos sanguíneos (Figura 7). Posteriormente, foi calculada a relação de fibras elásticas por μm^2 , para cada grupo, de acordo com a fórmula a seguir:

$$\text{Relação de fibras elásticas (FE}/\mu\text{m}^2) = \frac{\text{n}^\circ \text{ de fibras elásticas contadas}}{\text{área analisada } (\mu\text{m}^2)}$$

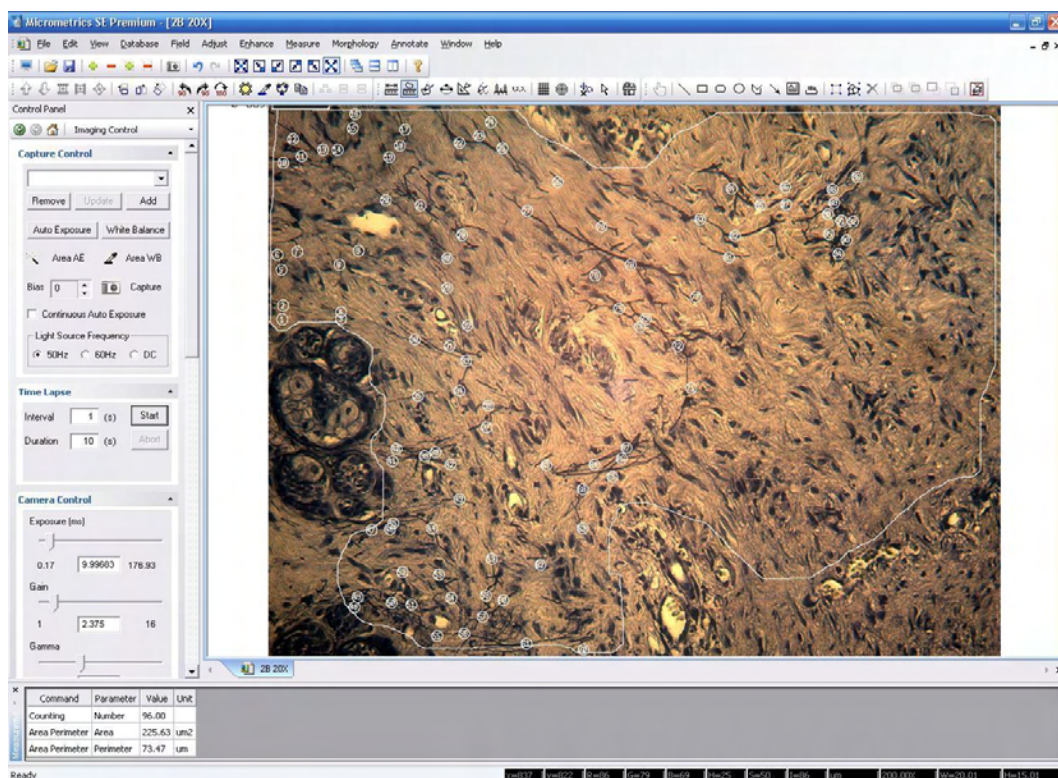


Figura 7. Imagem computacional de secção histológica submetida à coloração de Verhoeff, observada em microscópio de luz (200x) e analisada pelo programa Micrometrics SE Premium Ver.2.8. Utilização do método de planimetria com a contagem das fibras elásticas presentes nos campos observados.

4.8. Consumo de água e ração

O monitoramento do consumo de água e ração ocorreu por meio de aferições diárias, com registros em fichas de desempenho por animal. O consumo da ração foi calculado diariamente, considerando-se a ração fornecida, os desperdícios e as sobras das rações nos comedouros. Utilizaram-se comedouros individuais e ração peletizada, que era pesada em balança digital. O mesmo tipo de monitoramento foi feito para o registro do consumo diário de água, utilizando-se bebedouros individuais e provetas graduadas, sendo descartadas as águas do dia anterior (Figura 8).



Figura 8. Animal em experimentação, mantido em gaiola individual com bebedouro e comedouro individualizados.

4.9. Coleta de sangue e análise hematológica

Os animais de todos os grupos tiveram amostras de sangue coletadas 24 horas antes de ser realizada a indução das feridas e 24, 48, 72 e 96 horas após a realização das feridas e início dos tratamentos. Coletas de sangue também foram realizadas nas quatro datas de biopsias (dias 7, 14, 21 e 30).

As amostras de sangue foram coletadas pelo plexo retro-orbital, utilizando-se tubos de vidro de microhematócrito heparinizados, alternando-se entre os lados direito e esquerdo do animal em cada coleta de sangue (Figura 9). Cada amostra de sangue foi coletada em tubos plásticos de polipropileno com anticoagulante EDTA sódico, mantida sob refrigeração e encaminhada ao laboratório de análises clínicas para avaliação em analisador hematológico automático.

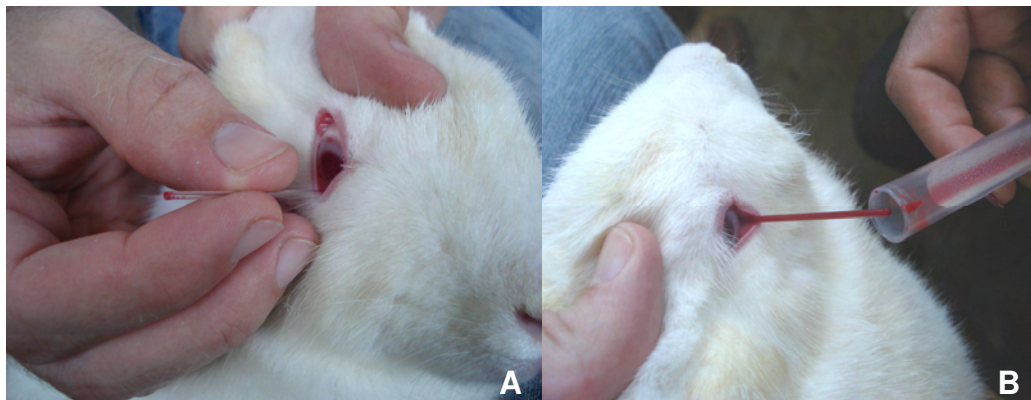


Figura 9. Procedimento de coleta de sangue. A) Punção no plexo retro-orbital, com tubo de vidro de microhematócrito heparinizado; B) Coleta do sangue em tubo com anticoagulante EDTA sódico.

Foram analisados os seguintes parâmetros hematológicos: eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, plaquetas e leucócitos totais, linfócitos, granulócitos e monócitos.

4.10. Aspectos éticos da pesquisa

Todos os procedimentos invasivos foram realizados por Médico Veterinário (CRMV-MG 9393), seguindo as resoluções do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) e do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sendo o experimento aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA-UFV), processo N° 65/2010.

4.11. Análise dos dados

Para a variável tempo de cicatrização foi realizada análise de variância (ANOVA), seguida do teste Holm-Sidak, e para a variável tempo de epitelização foram realizados os testes Kruskal-Wallis e SNK.

Para cada animal, a área das quatro feridas foi convertida para um modelo de regressão linear, onde a inclinação da reta representa a velocidade de regressão da ferida. Estes dados foram analisados por ANOVA *Two-Way*, considerando o tipo de água ingerida e o uso ou não de pomada como variáveis independentes. A diferença específica entre os grupos, segundo essas variáveis ou sua interação, foi investigada pelo teste de Holm-Sidak.

Todas as variáveis obtidas na análise histopatológica das lâminas coradas por HE foram submetidas ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo SNK. Os dados obtidos nas análises das fibras elásticas e colágenas foram avaliados por ANOVA, considerando duas variáveis independentes (tratamento x momento da biopsia), seguida pelo teste de Holm-Sidak.

Foram calculadas as médias de consumo de água e de ração para cada animal no período de adaptação e após a indução das feridas, sendo os grupos comparados entre si por ANOVA *One-Way* ou pelo teste de Kruskal-Wallis e dependendo do tipo de distribuição dos dados, usou-se ANOVA ou Kruskal-Wallis. As análises foram seguidas pelo teste SNK.

O peso corporal dos animais no início e no final do experimento e o seu ganho de peso foram analisados da mesma forma que o consumo de água e de ração.

Os valores hematológicos foram submetidos à análise de medidas repetidas para cada grupo, sendo o dia de coleta considerado a variável independente. O teste de Tukey foi utilizado como teste *post-hoc*,

optando-se pelo teste de Friedman caso as variáveis não apresentassem distribuição normal ou homogeneidade de variância.

Para todas as análises foi considerado nível de significância de 5%, utilizando-se o software SigmaPlot versão 11 (2008).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação clínica dos animais

Os valores médios de temperatura corpórea dos animais dos seis grupos (Tabela 1) se mantiveram dentro dos padrões de normalidade para coelhos que pode variar de 38°C (TABORDA et al. 2004) a 39,7°C (BARBOSA et al., 1992; PAIVA et al., 2005). Isto indica que eles não cursaram com episódio de hipertermia e os mesmos não apresentaram sinais clínicos de infecção das feridas.

Tabela 1. Temperaturas (°C) médias dos animais nos momentos das avaliações clínicas (0, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas).

	<i>0h</i>		<i>6h</i>		<i>12h</i>		<i>24h</i>		<i>48h</i>		<i>72h</i>		<i>96h</i>	
G1	37,4*	±0,37**	36,2	±0,42	37,9	±0,34	38,7	±0,07	37,9	±0,25	38,7	±0,16	38,2	±0,19
G2	39,0	±0,10	37,2	±0,23	37,3	±0,23	38,3	±0,20	37,9	±0,24	37,7	±0,22	37,7	±0,13
G3	39,0	±0,15	37,4	±0,40	37,2	±0,26	38,7	±0,09	38,0	±0,33	38,2	±0,15	38,2	±0,13
G4	37,8	±0,15	36,3	±0,41	37,1	±0,70	38,1	±0,19	37,9	±0,21	38,2	±0,27	38,3	±0,13
G5	38,1	±0,22	37,6	±0,16	38,2	±0,19	37,5	±0,20	37,5	±0,17	38,6	±0,22	38,2	±0,24
G6	38,3	±0,21	37,5	±0,13	37,7	±0,12	38,0	±0,10	38,1	±0,14	38,4	±0,09	38,5	±0,26

* Valor médio do grupo; ANOVA e teste *t* (5%). ** EPM - Erro Padrão da Média.

As temperaturas médias, mínima e máxima, do galpão onde os coelhos foram alojados durante todo o período experimental foram 26°C (±0,33) e 27,4°C (±0,36), respectivamente. Estes valores encontram-se dentro da faixa de temperatura recomendada para coelhos, que variam de 14 a 30°C (MEZZETTI, 1977) e de 15 a 21°C (TABORDA et al., 2004; PAIVA et al., 2005). Dessa forma, estes animais encontravam-se em zona de conforto térmico, sendo que a temperatura ambiente não interferiu diretamente na temperatura corpórea destes.

5.2. Avaliação clínica das feridas

Em todos os grupos experimentais, as feridas não apresentaram edema, halo eritematoso ou sinal de infecção. Isto indica que as fases iniciais do processo inflamatório foram brandas e de curso rápido. Dessa forma, as feridas já possuíam condições adequadas para o desenvolvimento subsequente do processo de cicatrização (MOURA, 2004).

Na Tabela 2 encontram-se os valores médios do tempo de cicatrização e epitelização das feridas, os quais demonstram que a resposta aos tratamentos é consistente. Na figura 10, podem ser observadas as feridas dos animais no décimo quinto dia após a indução das mesmas.

Somente os Grupos 5 e 6 não apresentaram diferença significativa para a variável tempo de cicatrização. Todos os demais grupos se diferenciaram quando comparados entre si. Isso demonstra que os animais tratados com água magnetizada e água-de-coco tiveram suas feridas cicatrizadas em menor tempo, tanto nos grupos tratados com pomadas como naqueles que não receberam pomada.

Tabela 2. Tempo médio de cicatrização e de epitelização das feridas dos animais.

	Tempo de Cicatrização (dias)¹	EPM³	Tempo de Epitelização (dias)²	EPM
Grupo 1	20	±0,51	29	±0,45
Grupo 2	13	±0,40	17*	±0,20
Grupo 3	15	±0,71	17*	±0,24
Grupo 4	7	±0,45	13*	±0,37
Grupo 5	4 [†]	±0,24	10	±0,24
Grupo 6	5 [†]	±0,32	12*	±0,20

† Grupos que não apresentaram diferença estatística entre si ($p > 0,05\%$). ¹ANOVA, teste Holm-Sidak. ²Testes Kruskal-Wallis e SNK. ³EPM - Erro Padrão da Média.

Para a variável tempo de epitelização, não houve diferença significativa entre os Grupos 2 e 3, e nem entre os Grupos 4 e 6, havendo diferença entre os demais. Os animais tratados com água magnetizada e água-de-coco, com o uso de pomada, apresentaram o mesmo tempo de epitelização. Os animais que receberam água mineral e água-de-coco, sem o uso de pomada, apresentaram estatisticamente o mesmo tempo de epitelização. O Grupo 5, que recebeu somente água magnetizada, sem pomada, foi o que apresentou, em número de dias, o menor tempo de cicatrização e de epitelização (4 e 10 dias, respectivamente).

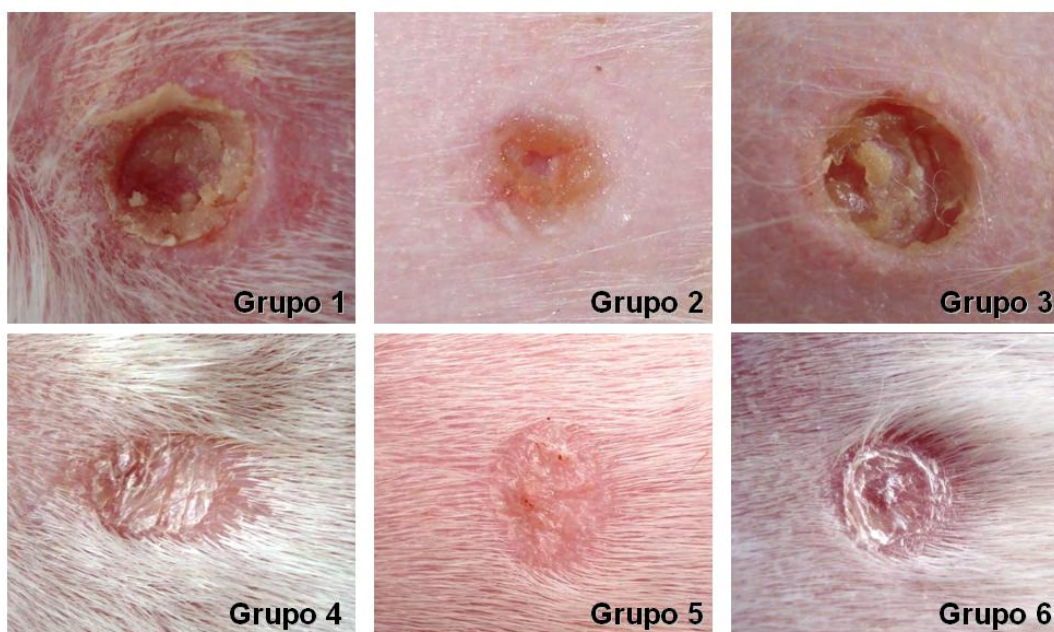


Figura 10. Feridas aos 15 dias de experimentação. Grupo 1: ferida aberta; Grupo 2: ferida cicatrizada; Grupo 3: ferida em fase de cicatrização; Grupos 4, 5 e 6: feridas epitelizadas.

Os valores das médias das áreas (mm^2) das feridas dos animais, ao longo do período experimental, nas horas 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 após a realização das feridas, estão representados na tabela 3.

Tabela 3. Valores das médias da área (mm²) das feridas ao longo das horas, do momento 0h a 168h.

<i>Tempo (horas)</i>	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
0 h	37,7	37,7	37,7	37,7	37,7	37,7
6 h	46,4	40,2	38,5	41,5	39,9	40,6
12 h	45,5	40,0	40,2	40,1	37,5	39,6
24 h	44,1	42,1	42,5	37,8	37,0	38,5
48 h	42,2	42,7	42,7	37,1	33,1	36,5
72 h	39,7	42,5	42,9	36,4	31,5	35,9
96 h	40,1	43,4	43,3	34,5	31,5	33,7
120 h	37,7	42,4	42,0	31,1	*	33,7
144 h	32,8	36,7	35,1	29,5	*	*
168 h	30,5	33,9	34,7	24,9	*	*

*Feridas já cicatrizadas.

Após análise estatística do valor das áreas das feridas, utilizando-se um modelo de regressão linear, no qual a inclinação da reta representa a velocidade de regressão da ferida (Figura 11), pode-se observar que o tipo de água ingerida influencia na velocidade de regressão das feridas. O efeito do tipo de água com relação à velocidade de regressão da ferida é influenciada pelo uso ou não de pomada. O tipo de água, individualmente, tem efeito sobre a regressão da ferida. O uso ou não de pomada tem efeito independente do tipo de água.

Com relação ao efeito do tipo de água e velocidade de regressão da ferida, as águas de coco e magnetizada diferenciaram ($p < 0,001$) da água mineral; porém, não diferenciaram entre si. Os grupos tratados com água-de-coco (Grupos 3 e 6) e água magnetizada (Grupos 2 e 5) apresentaram uma maior velocidade de regressão das feridas, assim como os menores tempos de cicatrização e epiteliação.

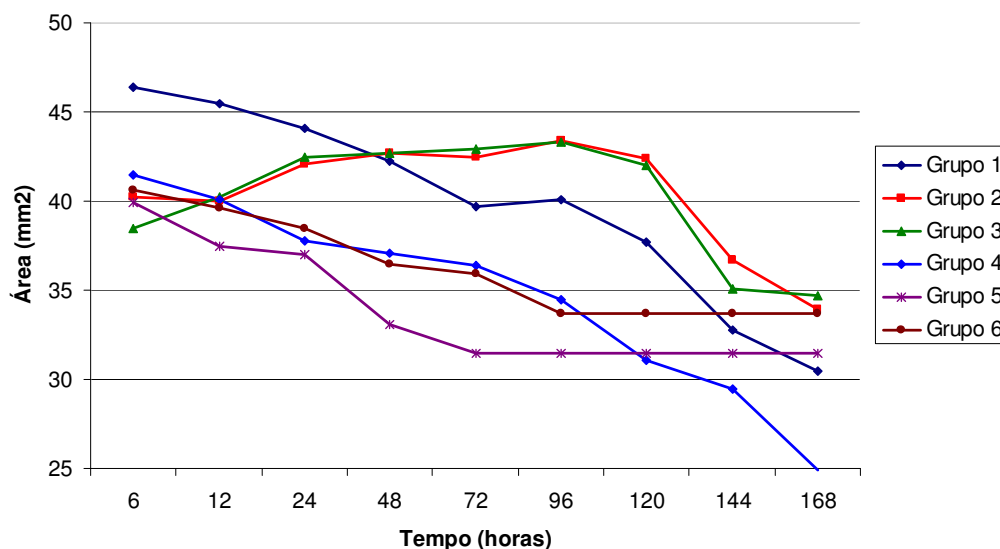


Figura 11. Regressão das feridas ao longo do tempo, do momento 0 a 168 horas, nos seis grupos experimentais.

A regressão das feridas nos grupos tratados com pomada (Grupos 1, 2 e 3) diferenciou ($p < 0,001$) dos grupos que não receberam pomada topicamente (Grupos 4, 5 e 6). Isso também pôde ser observado tanto para a variável tempo de cicatrização quanto para tempo de epiteliação, que nos grupos sem pomada chegaram a ser quase um terço do tempo dos grupos tratados com pomada. O fato dos grupos que não receberam pomada terem suas feridas reparadas em menor tempo pode ser pelo fato da pomada possuir um corticosteróide sintético (triancinolona) que possui ação antiinflamatória, antipruriginosa e que pode ter influenciado no processo inicial da cicatrização e na fase de recrutamento de células inflamatórias para o sítio da lesão.

Quando se comparou o tipo de água ingerida e o uso ou não de pomada observou-se que os grupos que ingeriram água mineral, com ou sem uso de pomada não se diferenciaram; porém, os grupos que receberam água-de-coco ou água magnetizada, com ou sem uso de

pomada, diferenciaram estatisticamente entre si ($p < 0,005$), com relação a velocidade de regressão das feridas.

Com relação a pomada, se comparados os grupos que a receberam topicamente (Grupos 1, 2 e 3), os que receberam água-de-coco e água magnetizada não diferenciaram entre si; porém, eles se diferenciaram ($p < 0,001$) do que recebeu água mineral. Os grupos que não receberam pomada (Grupos 4, 5 e 6) não apresentaram diferença estatística entre si nesta análise. A velocidade de regressão das feridas nestes grupos foi a mesma (Figura 11); porém, no grupo que recebeu água mineral (Grupo 4) a ferida ficou aberta por mais tempo (7 dias) do que nos Grupos 5 e 6, água magnetizada e água-de-coco, respectivamente.

Os animais que ingeriram água magnetizada e água-de-coco apresentaram o menor tempo de cicatrização e de epitelização, o que demonstra a influência positiva dessas águas no processo de reparação tecidual. O consumo de água magnetizada favorece os mecanismos de defesa da saúde, fazendo com que o organismo se comporte biologicamente de maneira mais eficiente (PEIRE, 1993; ALFONSO INSUA et al., 2009). Magalhães (2007) utilizou água-de-coco liofilizada no tratamento tópico de feridas e observou influência positiva no processo cicatricial; porém, não há estudos sobre o uso da água-de-coco por via oral, sendo este o primeiro.

5.3. Avaliação histológica das feridas

5.3.1. Histopatologia das feridas

Todas as variáveis (tecido de granulação, hemorragia e infiltrado inflamatório) obtidas na análise histopatológica das lâminas coradas por HE foram submetidas ao teste estatístico Kruskal-Wallis, no qual o valor

de p foi menor que 0,001; entretanto, o teste *post-hoc* não foi capaz de identificar entre quais pares de grupos encontrava-se diferença estatística. A tabela 4 apresenta a distribuição das medianas dos valores observados por grupo, para a visualização do comportamento geral dessas variáveis.

Tabela 4. Resultados da análise histopatológica das amostras teciduais coletadas nas biópsias aos 7, 14, 21 e 30 dias, após a realização das feridas.

	Biopsia	Tec. granulação	Hemorragia	Infiltrado inflamatório
Grupo 1	7 dias	0	2	2
	14 dias	0	1	2
	21 dias	1	1	1
	30 dias	1	1	1
Grupo 2	7 dias	0	1	1
	14 dias	1	1	1
	21 dias	1	1	1
	30 dias	1	1	1
Grupo 3	7 dias	0	1	2
	14 dias	1	2	2
	21 dias	1	1	1
	30 dias	1	1	1
Grupo 4	7 dias	0	2	2
	14 dias	1	1	1
	21 dias	1	1	1
	30 dias	1	0	1
Grupo 5	7 dias	1	1	1
	14 dias	1	0	0
	21 dias	1	0	0
	30 dias	1	0	0
Grupo 6	7 dias	1	1	2
	14 dias	1	0	0
	21 dias	1	0	1
	30 dias	1	0	0

*Valores das medianas dos grupos; 0 (ausente); 1 (presente/discreto); 2 (moderado); 3 (intenso).
Teste Kruskal-Wallis, seguido de SNK ($p < 0,001$).

Os grupos que não receberam pomada e receberam água magnetizada (Grupo 5) e água-de-coco (Grupo 6) apresentaram o tecido de granulação na 1ª biópsia, aos 7 dias. Nos demais grupos que receberam pomada (Grupos 1, 2 e 3) e no grupo de somente água mineral (Grupo 4), o tecido de granulação somente foi observado após a 2ª biópsia.

A hemorragia tecidual manteve-se presente (discreta ou moderada) nas feridas em todos os grupos, pelo menos no momento da 1ª biopsia, sendo que nos grupos que receberam água mineral (Grupos 1 e 4) esteve presente em intensidade moderada. Nos grupos que não receberam pomada e receberam água magnetizada (Grupo 5) e água-de-coco (Grupo 6) a hemorragia tecidual esteve presente somente no momento da 1ª biopsia.

Os grupos que apresentaram uma descrição de menor intensidade de infiltrado inflamatório foram aqueles em que os animais receberam água magnetizada (Grupos 2 e 5). Os grupos que não receberam pomada foram descritos com menor frequência e intensidade de infiltrados inflamatórios, provavelmente pelo fato de que nesses grupos o processo de reparação tecidual aconteceu mais rapidamente (em menos de sete dias), quando comparados com os outros grupos que receberam pomada.

O infiltrado inflamatório presente foi predominantemente mononuclear, devido aos tempos de coleta coincidirem com a fase tardia da reparação (BEANES et al., 2003). O infiltrado inflamatório polimorfonuclear tem vida útil curta (máximo de três a quatro dias) (DEALEY, 1992).

5.3.2. Histoquímica para colágeno

Os valores percentuais das fibras de colágeno tipo I ou tipo III, obtidos pela análise das fotomicrografias dos cortes histológicos corados com solução de picrosirius estão apresentados na tabela 5.

A análise estatística, que considerou como variáveis independentes os tipos de tratamento e o momento da biopsia, revelou que houve diferença significativa ($p < 0,001$) entre todos os grupos e a

pele normal, não havendo diferença entre os grupos, o que indica que a presença da ferida interferiu na expressão das fibras de colágeno.

Tabela 5. Percentuais de fibras colágenas, tipo I e III, nas amostras teciduais coletadas nas diferentes biópsias (7, 14, 21 e 30 dias).

	Biópsia	Colágeno Tipo I (%)	Colágeno Tipo III (%)
Grupo 1	7 dias	96,2	3,8
	14 dias	79,9	20,1
	21 dias	67,2	32,8
	30 dias	84,4	15,6
Grupo 2	7 dias	64,9	35,1
	14 dias	58,5	41,5
	21 dias	76,1	23,9
	30 dias	66,3	33,7
Grupo 3	7 dias	71,0	29,0
	14 dias	80,2	19,8
	21 dias	66,6	33,4
	30 dias	72,5	27,5
Grupo 4	7 dias	70,0	30,0
	14 dias	62,8	37,2
	21 dias	79,8	20,2
	30 dias	69,0	31,0
Grupo 5	7 dias	88,0	12,0
	14 dias	81,2	18,8
	21 dias	79,5	20,5
	30 dias	73,2	26,8
Grupo 6	7 dias	84,8	15,2
	14 dias	87,3	12,7
	21 dias	80,6	19,4
	30 dias	83,2	16,8
Pele Normal (Controle)		50	50

Todos os grupos apresentaram diferença estatística ($p < 0,001$) quando comparados com a pele normal. ANOVA e Holm-Sidak.

Com relação ao momento da biópsia, os valores de fibras de colágeno não apresentaram diferença significativa, o que significa que o tempo da coleta não interferiu, sendo que a relação do percentual de fibras tipo I ou III não se alterou ao longo do tempo, dentro dos grupos (Figura 12). Na figura 13 se observam as fibras de colágeno, nos seis grupos experimentais, no momento da primeira biópsia (7 dias).

O tipo de colágeno predominante, em todas as coletas, em todos os grupos foi o colágeno tipo I. Montes (1996) cita que o tipo de colágeno padrão predominante na pele sem alteração é o tipo I.

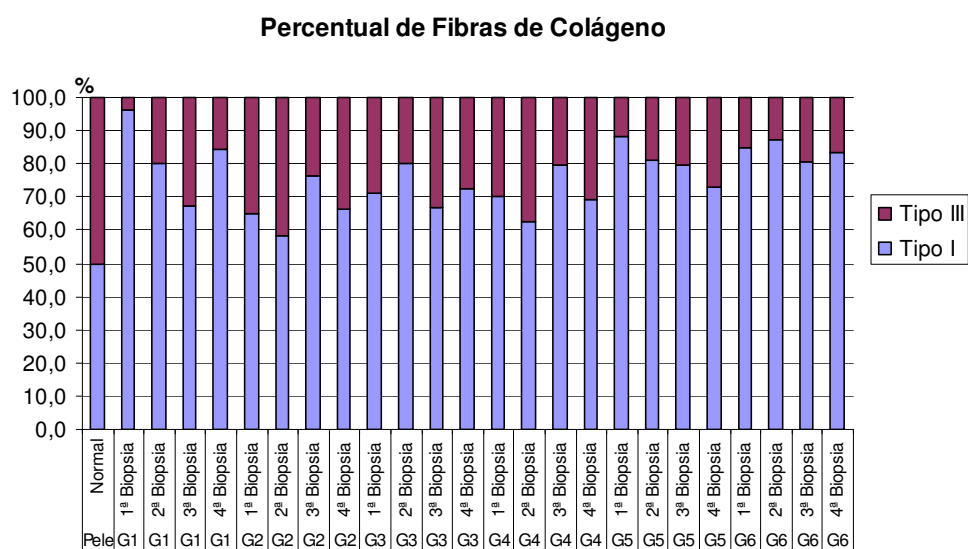


Figura 12. Percentual de fibras colágenas (tipo I e III) nos diferentes grupos, nos quatro momentos de biópsia.

Apesar dos dados aqui obtidos não possuírem um padrão mais aprofundado para comparação (influência do tipo de água ingerida sob o tipo de colágeno predominante na pele), alguns autores ressaltam a importância da análise morfométrica do colágeno dérmico pode fornecer subsídio quantitativo para pesquisas futuras em dermatologia (NOORLANDER et al., 2002; MIOT e BRIANEZI, 2010).

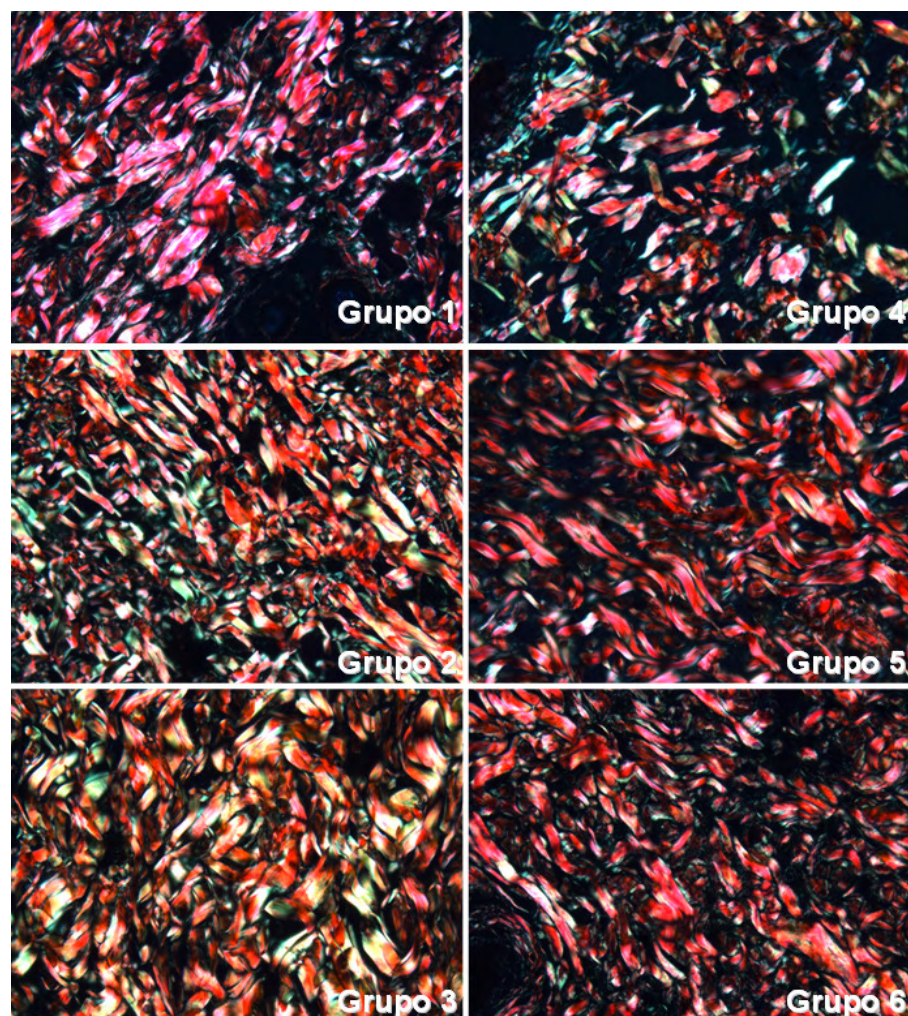


Figura 13. Fotomicrografia das fibras de colágeno tipo I (vermelho) e tipo III (verde), em cortes histológicos dos grupos experimentais, no momento da 1ª biópsia (7 dias), submetidos a coloração com picrosirius, observados em microscópio de luz polarizada (200x).

5.3.3. Histoquímica para fibras elásticas

Os valores da relação de fibras elásticas com a área de tecido analisado ($FE/\mu m^2$), por meio das fotomicrografias dos cortes histológicos corados pelo método Verhoeff estão representados na figura 14. Na figura 15 se observam as fibras elásticas, nos grupos experimentais, no momento da primeira biópsia (7 dias).

A análise estatística que considerou como variáveis independentes os tipos de tratamento e o momento da biopsia, revelou que houve diferença significativa ($p < 0,001$) entre os Grupos 1, 2, 3 e 4, e a pele normal. Porém, o Grupo 4 se diferenciou de todos os demais grupos. Isto indica que o tipo de tratamento recebido interferiu na expressão das fibras elásticas. Os Grupos 5 e 6 apresentaram os maiores valores de $FE/\mu m^2$, estando mais próximos dos valores da pele normal, o que não aconteceu com os valores do colágeno.

Os Grupos 2 e 5 também se diferenciaram ($p < 0,001$), sendo que ambos receberam água magnetizada, porém, o grupo que não recebeu pomada (Grupo 5) apresentou valores maiores de $FE/\mu m^2$.

A relação $FE/\mu m^2$ e o momento da biopsia não apresentou diferença significativa, o que significa que o tempo da coleta não interferiu na expressão de fibras elásticas, sendo que a relação $FE/\mu m^2$ não se alterou ao longo do tempo, dentro dos grupos.

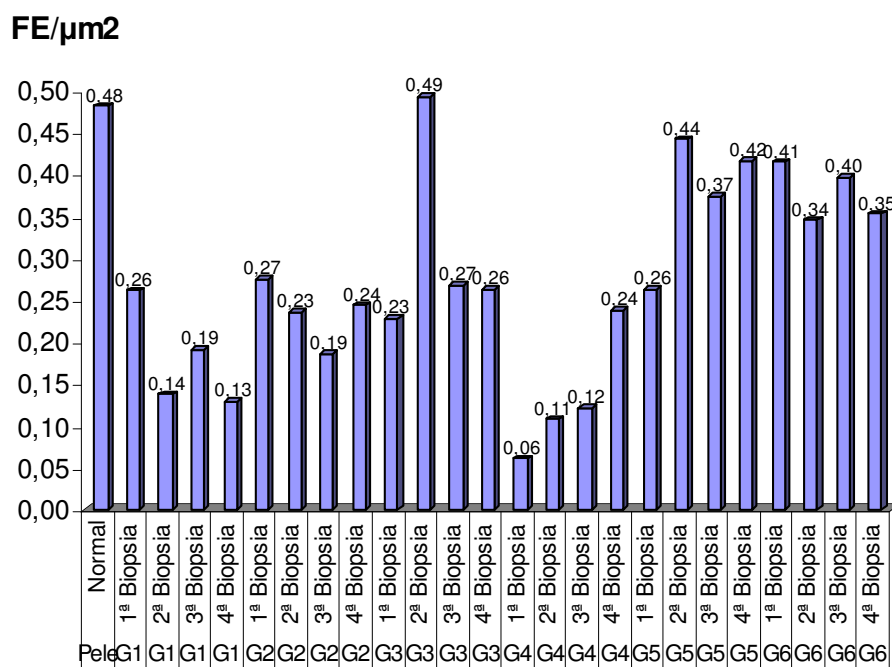


Figura 14. Relação de fibras elásticas por área de tecido analisado ($FE/\mu m^2$) nos diferentes grupos, nos quatro momentos de biopsia.

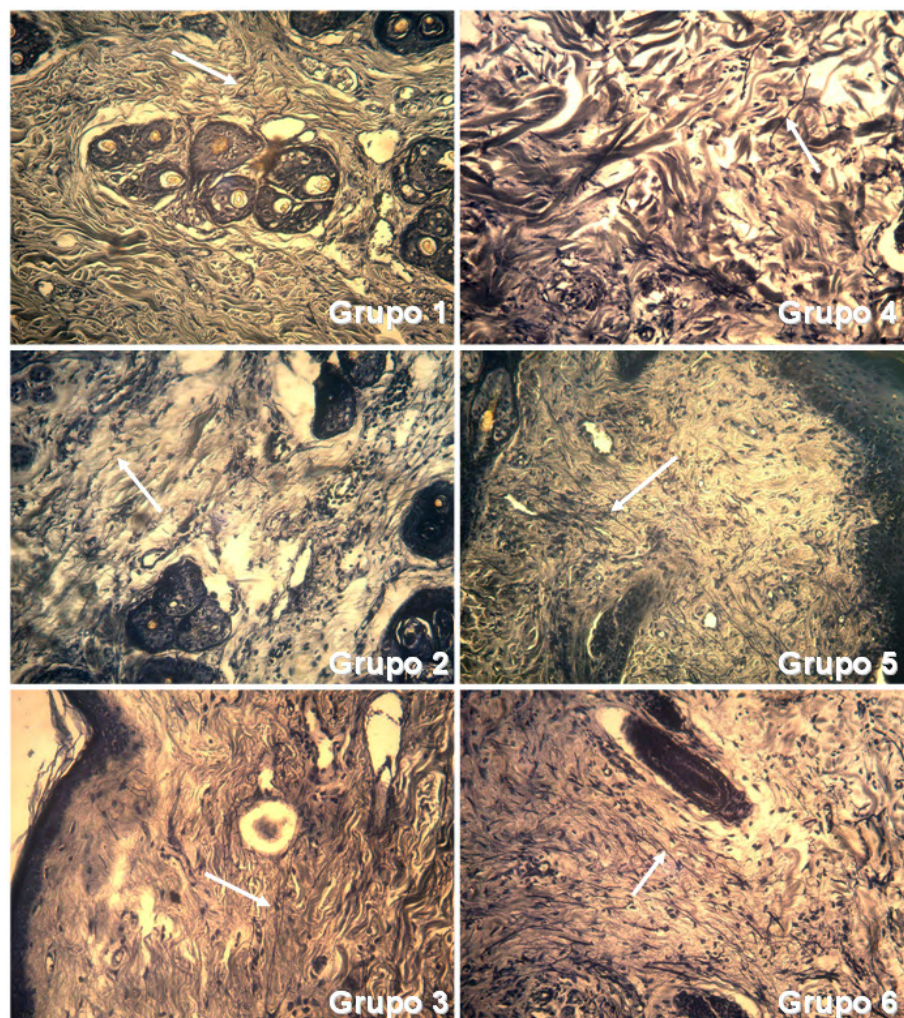


Figura 15. Fibras elásticas (setas) em cortes histológicos da 1ª biópsia, dos seis grupos, submetidos a coloração de Verhoeff. Observação em microscópio de luz (200x).

Os Grupos 5 e 6, com relação aos valores de fibras elásticas e colágeno tipo I, apresentaram os maiores valores numéricos desses e não diferenciaram entre si, mas diferenciaram dos demais ($p < 0,001$), em ambos os casos. Já foi descrito que em alguns tecidos como a pele, a distribuição das fibras elásticas coincide com a segregação dos tipos estruturais de colágeno (COTTA-PEREIRA et al., 1976).

5.4. Monitoramento dos consumos de água e ração e ganho de peso

Os valores das médias de consumo de água e de ração, assim como o peso corporal dos animais, antes e durante o experimento, estão representados nas tabelas 6, 7 e 8.

Tabela 6. Comparação do consumo diário de água (mL) e de ração (gramas), e peso corporal (kg) dos animais durante o período de adaptação que antecedeu a realização das feridas.

	Grupos Água Mineral	Grupos Água Magnetizada	Grupos Água De Coco
Consumo de Água (mL/animal/dia)¹	180,20 ^A	244,90 ^B	209,40 ^A
Consumo de Ração (g/animal/dia)²	79,10 ^A	121,30 ^B	89,30 ^A
Peso Corporal (kg) Inicial³	3,10 ^A	2,90 ^A	3,30 ^A
Peso Corporal (kg) Final³	3,20 ^A	3,10 ^A	3,30 ^A

Médias seguidas da mesma letra não diferenciam estatisticamente entre si. ¹Kruskal-Wallis e SNK; ²ANOVA e SNK; ³ANOVA.

Durante o período de adaptação, antes da realização das feridas, o consumo de água não diferenciou entre os animais que ingeriram água-de-coco e água mineral; porém, o consumo de água dos animais que ingeriram água magnetizada foi maior ($p < 0,005$). O consumo de ração neste mesmo período ocorreu da mesma forma que o consumo de água, diferenciando-se somente os animais que ingeriram água magnetizada ($p < 0,005$) dos demais, apresentando um maior consumo tanto de água quanto de ração. Os animais tratados com água magnetizada aumentam o consumo de água e de ração (ALFONSO INSUA et al. 2009). O ganho de peso dos animais não diferenciou entre os grupos.

Comparando-se, dentro de cada grupo, o consumo de água e de ração e o peso corporal, antes e após a realização das feridas, os grupos que receberam tratamento com pomada comportaram-se da seguinte forma: no Grupo 1 não houve diferença para consumo de água ($p=0,538$) e de ração ($p=0,360$), nem para peso corporal ($p=0,182$); no Grupo 2, o consumo de água e de ração diminuiu ($p=0,003$ e $p=0,047$, respectivamente); mas o peso corporal aumentou ($p=0,040$); no Grupo 3, o consumo de água e de ração diminuiu ($p=0,003$ e $p=0,014$, respectivamente), mas o peso corporal manteve-se constante ($p=0,602$).

Tabela 7. Comparação do consumo diário de água (mL) e de ração (gramas) e peso corporal (kg), antes e durante o tratamento das feridas, nos grupos tratados com pomada.

<i>Parâmetro</i>	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	<i>Antes</i>	<i>Durante</i>	<i>Antes</i>	<i>Durante</i>	<i>Antes</i>	<i>Durante</i>
Consumo de Água (mL/animal/dia)¹	140,8	224,3	249,8	183,7	211,9	179,2
Consumo de Ração (g/animal/dia)²	68,7	79,2	108,0	80,3	89,0	70,6
Peso Corporal (kg)³	3,1	3,2	2,9	2,9	3,3	3,3

Valor médio por grupo. ¹Kruskal-Wallis e SNK; ²ANOVA e SNK; ³ANOVA.

Para os grupos que não receberam pomada, quando comparados em cada grupo separadamente, o consumo de água e de ração e o peso corporal, antes e após a realização das feridas, tem-se que no Grupo 4, o consumo de água aumentou ($p=0,028$) e o de ração diminuiu ($p<0,001$), mas o peso corporal manteve-se ($p=0,567$); no Grupo 5, o consumo de água e de ração aumentou, assim como o peso corporal ($p=0,020$; $p=0,002$ e $p=0,045$, respectivamente); e no Grupo 6, o consumo de água e de ração e o peso corporal mantiveram-se constantes ($p=0,737$; $p=0,625$ e $p=0,50$ respectivamente).

Tabela 8. Comparação do consumo diário de água (mL) e de ração (gramas) e peso corporal (kg), antes e durante o tratamento das feridas, nos grupos não tratados com pomada.

<i>Parâmetro</i>	Grupo 4		Grupo 5		Grupo 6	
	<i>Antes</i>	<i>Durante</i>	<i>Antes</i>	<i>Durante</i>	<i>Antes</i>	<i>Durante</i>
Consumo de Água (mL/animal/dia)¹	88,7	177,8	173,4	240,0	211,1	206,8
Consumo de Ração (g/animal/dia)²	103,1	84,3	122,2	134,6	89,3	89,6
Peso Corporal (kg)³	3,1	3,2	3,0	3,3	3,3	3,4

Valor médio por grupo. ¹Kruskal-Wallis e SNK; ²ANOVA e SNK; ³ANOVA.

Quando comparados os grupos entre si, pode-se observar que o consumo de água dos animais após a realização das feridas não apresentou diferença estatística ($p=0,146$). Da mesma forma, o ganho de peso dos animais ao longo do experimento não apresentou diferença significativa ($p=0,128$).

Com relação ao consumo de ração, quando comparados os grupos entre si, houve diferença ($p<0,05$) entre o Grupo 5 e os demais, sendo que este consumiu uma quantidade maior de ração. Os animais tratados com água magnetizada aumentaram o consumo de ração (ALFONSO INSUA et al. 2009). O Grupo 6 diferenciou estatisticamente ($p<0,05$) somente do Grupo 3, sendo que esses dois grupos ingeriram água-de-coco. Porém, o Grupo 6 apresentou um consumo mais elevado de ração, que pode estar relacionado ao fato do seu tempo de cicatrização ter ocorrido em 1/3 do tempo (5 dias) do Grupo 6. Portanto os animais se recuperaram mais rapidamente, voltando ao consumo de ração próximo do período que antecedeu a realização das feridas (89 g/dia) para ambos.

Sabe-se que o consumo de água está relacionado diretamente ao consumo de alimento. Em virtude da intensa relação entre o consumo de água e o consumo de alimento, fatores que interferem na ingestão de água podem alterar também a ingestão de alimento e vice-versa (SOARES et al., 2007). A indução de feridas não causou prejuízo no desempenho dos animais, uma vez que o peso dos animais se manteve ou aumentou.

5.5. Parâmetros hematológicos

Todos os parâmetros hematológicos dos animais dos seis grupos, em todas as coletas (Tabelas 10 e 11), mantiveram-se dentro dos padrões de normalidade para coelhos (Tabela 9).

Tabela 9. Valores hematológicos de referência para coelhos machos adultos, encontrados na literatura.

Referência	ERT* 10 ⁶ /mm ³	HCT %	HGB g/dL	VCM μm ³	HCM Pg	CHCM g/dL	PLT 10 ³ /mm ³	LEU 10 ³ /mm ³	LINF %	MON %	GRA %
<i>Brito et al. (2004)</i>	5,1 a 7,9	33,0 a 55,0	10,0 a 17,4	57,8 a 70,4	17,1 a 23,5	29,0 a 37,0	250,0 a 650,0	5,2 a 12,5	30,0 a 85,0	1,0 a 4,0	20,0 a 75,0
<i>Campbell (2006)</i>	5,0 a 6,8	36,6 a 47,4	5,2 a 6,8	-	-	-	250,0 a 610,0	6,0 a 10,0	-	-	-
<i>Paiva et al. (2005)</i>	4,5 a 7,0	41,5	13,6	-	-	-	-	9,0	20,0 a 90,0	6,0 a 30,0	30,0 a 50,0
<i>Quesenberry (1994)</i>	6,4	45,5	11,1	70,8	17,3	-	310,0	13,0	53,0	4,8	39,0
<i>Silva et al. (2008)</i>	4,9 a 5,6	39,0 a 41,0	11,4 a 12,5	70,0 a 73,7	-	31,3 a 33,4	-	8,0 a 8,8	36,0 a 41,0	2,0 a 4,0	28,0 a 31,0
<i>Trindade (1954)</i>	5,2	-	-	-	-	-	-	5,9 a 14,5	50,0	6,5	40,0

*Contagem total de eritrócitos (ERT), hematócrito (HCT), hemoglobina (HGB), volume globular médio (VCM), hemoglobina globular média (HCM), concentração hemoglobínica globular média (CHCM), contagem de plaquetas (PLT), contagem total de leucócitos (LEU), linfócitos (LINF), monócitos (MON) e granulócitos (GRA). Teste de Tukey/Teste Friedman (5%).

Os grupos tratados com água magnetizada apresentaram os maiores valores para linfócitos, o que sugere uma ativação da resposta imunológica. Estudos sugerem que o consumo de água com tratamento

magnético pode influenciar os mecanismos de defesa e da saúde do organismo (PEIRE, 1993; CNEA, 1997; ALFONSO INSUA et al. (2009); porém, ainda existem poucos estudos sobre o assunto, no que tange aos efeitos que o mesmo acarreta na água e também na sua interação com os sistemas orgânicos (AMIRI e DADKHAH, 2006).

Tabela 10. Média dos valores hematológicos dos diferentes grupos experimentais no diferentes períodos de coleta.

	ERT* <i>10⁶/mm³</i>	HCT %	HGB <i>g/dL</i>	VCM <i>μm³</i>	HCM <i>Pg</i>	CHCM <i>g/dL</i>	PLT <i>10³/mm³</i>	LEU <i>10³/mm³</i>	LINF %	MON %	GRA %
0h											
G 1	5,9	52,4	17,4	68,0	25,0	37,0	170,0	5,3	66,0	14,0	5,0
G 2	7,0	51,5	19,5	68,0	25,7	37,9	290,4	10,1	51,8	25,7	22,5
G 3	6,6	51,5	18,3	67,8	25,2	37,1	334,4	6,9	59,8	23,2	16,8
G 4	6,5	45,4	16,8	69,8	25,8	36,9	339,6	5,3	86,5	11,1	2,3
G 5	6,9	50,6	18,8	68,2	25,4	37,3	320,2	7,0	82,7	11,4	5,9
G 6	6,8	47,1	18,5	69,2	27,1	39,3	217,2	7,1	61,9	17,8	20,3
24h											
G 1	6,6	44,3	17,5	67,4	26,6	39,6	275,0	6,2	28,1	36,9	35,1
G 2	6,6	44,5	17,3	67,8	26,5	39,1	304,6	7,6	68,3	27,1	4,6
G 3	6,5	45,1	17,6	67,2	26,5	39,1	231,2	7,4	66,2	28,3	5,3
G 4	6,6	49,8	18,5	67,2	25,2	37,4	356,0	8,0	56,2	23,1	20,7
G 5	6,7	46,8	17,5	68,6	25,6	37,3	338,8	8,9	69,1	18,0	12,9
G 6	6,9	47,4	18,4	68,8	26,8	38,9	225,4	6,7	62,1	20,5	17,4
48h											
G 1	6,2	40,9	16,2	66,4	27,1	41,0	250,6	7,2	46,0	29,0	24,9
G 2	6,5	45,9	17,4	69,8	26,6	37,9	337,6	6,7	80,4	15,7	3,9
G 3	6,5	45,9	17,4	69,0	26,8	38,8	330,4	7,9	77,2	16,6	6,2
G 4	6,0	52,2	19,1	67,0	24,6	36,9	315,8	8,2	52,6	22,8	24,6
G 5	6,5	44,4	16,8	68,8	26,0	37,9	371,6	6,2	88,0	9,5	2,5
G 6	6,9	47,2	18,5	68,6	26,9	39,2	357,8	7,3	61,2	17,9	20,9
72h											
G 1	6,8	45,4	17,1	67,0	25,2	37,9	336,2	10,1	46,8	26,9	26,0
G 2	6,6	45,6	17,4	68,8	26,4	38,2	337,2	9,0	81,1	14,3	4,6
G 3	6,3	42,9	16,9	68,4	26,9	39,4	189,2	6,2	78,1	16,9	5,0
G 4	6,5	52,6	19,1	67,0	24,5	36,6	327,0	9,2	55,4	24,9	19,0
G 5	6,9	47,6	18,1	68,8	26,3	38,1	299,4	6,6	86,7	11,0	2,1
G 6	6,4	44,1	17,6	68,8	27,3	39,8	296,2	8,5	62,7	18,2	19,1
96h											
G 1	6,5	43,6	16,9	67,0	26,0	39,2	352,2	8,0	44,9	31,4	23,7
G 2	6,3	43,3	16,7	69,2	26,6	38,5	286,0	7,2	85,9	10,0	4,0
G 3	6,3	42,6	16,9	68,4	27,1	39,8	314,6	6,9	82,2	15,3	2,5
G 4	6,0	48,8	18,1	67,2	25,0	37,2	327,2	10,3	55,9	22,1	22,0
G 5	6,5	48,2	18,3	68,8	26,3	38,2	241,0	6,9	78,3	15,0	6,1
G 6	6,6	45,2	17,8	68,6	27,0	39,4	399,0	7,5	61,8	18,6	19,2

*Contagem total de eritrócitos (ERT), hematócrito (HCT), hemoglobina (HGB), volume globular médio (VCM), hemoglobina globular média (HCM), concentração hemoglobínica globular média (CHCM), contagem de plaquetas (PLT), contagem total de leucócitos (LEU), linfócitos (LINF), monócitos (MON) e granulócitos (GRA). Teste de Tukey/Teste Friedman (5%).

Alguns fatores podem influenciar o perfil hematológico dos animais, como sexo, linhagem, genótipo, idade, dieta, ambiente, entre outros (SANTOS et al., 2010). Para os resultados obtidos neste experimento, os fatores sexo, linhagem, idade, ração e ambiente, não variaram e as diferenças dos valores hematológicos podem ter ocorrido por influência do tipo de água ingerida. O uso de diferentes tipos de água durante o período de adaptação dos animais pode ter contribuído para as diferenças apresentadas entre os grupos.

Tabela 11. Média dos valores hematológicos dos diferentes grupos experimentais, aos 7, 14, 21 e 30 dias após a realização das feridas nos animais.

	ERT** $10^6/mm^3$	HCT %	HGB g/dL	VCM μm^3	HCM Pg	CHCM g/dl	PLT $10^3/mm^3$	LEU $10^3/mm^3$	LINF %	MON %	GRA %
7 d.											
G 1*	6,9	46,4	17,4	67,0	25,2	37,5	331,8	6,9	42,1	31,5	26,5
G 2	6,1	43,3	16,6	71,0	27,5	38,7	173,0	5,2	81,0	13,6	5,2
G 3	6,3	43,0	17,0	68,6	27,1	39,5	228,0	5,9	78,0	19,5	2,5
G 4	6,4	48,6	17,9	66,8	24,6	36,8	339,8	9,2	57,6	21,7	20,7
G 5	6,5	44,2	17,3	67,8	26,6	39,3	206,0	5,9	78,2	15,8	6,0
G 6	6,0	40,9	16,5	68,6	27,7	40,4	284,6	7,4	59,8	21,6	18,5
14 d.											
G 1	6,9	46,9	17,3	68,0	25,0	36,9	336,2	5,2	52,6	26,5	20,9
G 2	6,9	48,6	18,4	70,3	26,7	38,1	284,8	6,7	75,0	21,4	3,6
G 3	6,6	45,3	17,7	69,0	27,0	39,2	329,0	9,1	82,9	13,4	3,4
G 4	6,8	48,8	18,2	66,2	24,7	37,4	330,6	9,4	55,2	22,2	22,6
G 5	6,8	46,8	18,2	68,8	26,9	39,0	297,4	7,3	60,9	21,8	17,3
G 6	6,6	49,5	18,1	69,2	25,4	36,8	319,4	8,5	62,5	19,3	17,7
21 d.											
G 1	7,1	50,5	18,7	69,4	25,8	37,1	280,6	6,1	53,1	23,1	23,8
G 2	6,6	45,4	17,7	70,4	27,0	38,6	262,6	7,4	56,1	19,7	24,0
G 3	6,9	49,0	18,6	70,4	27,0	38,2	308,6	6,9	48,3	26,0	25,3
G 4	7,0	47,7	18,0	66,6	25,2	37,7	283,0	6,7	55,9	22,8	21,4
G 5	6,8	46,3	17,8	68,0	26,2	38,5	410,6	8,2	61,4	20,3	18,3
G 6	6,2	42,2	16,9	68,0	27,2	39,9	240,2	8,6	59,0	20,2	20,9
30 d.											
G 1	7,1	50,5	18,7	69,4	25,8	37,1	280,6	6,1	53,1	23,1	23,8
G 2	6,8	48,9	18,9	68,5	26,6	38,7	219,3	5,5	62,1	21,4	16,6
G 3	6,9	47,3	18,6	68,6	27,2	39,4	223,0	5,9	53,3	25,7	20,5
G 4	7,0	48,9	18,2	67,9	25,3	37,2	302,2	6,7	54,0	23,5	22,5
G 5	7,0	50,3	18,2	67,6	24,5	36,2	289,2	6,8	63,7	25,7	10,7
G 6	5,9	40,2	15,9	67,0	27,8	41,1	241,4	6,5	61,7	20,7	17,6

*Média do Grupo; **Contagem total de eritrócitos (ERT), hematócrito (HCT), hemoglobina (HGB), volume globular médio (VCM), hemoglobina globular média (HCM), concentração hemoglobínica globular média (CHCM), contagem de plaquetas (PLT), contagem total de leucócitos (LEU), linfócitos (LINF), monócitos (MON) e granulócitos (GRA). Teste de Tukey/Teste Friedman (5%).

O tempo de adaptação do experimento, no qual os animais ficaram por quatro semanas ingerindo seu referido tipo de água, também pode ter influenciado nos dados avaliados (parâmetros hematológicos, tempo de cicatrização e epitelização).

6. CONCLUSÕES

- A ingestão de água magnetizada e de água-de-coco influenciou positivamente o processo de reparação tecidual;
- Os animais que ingeriram água magnetizada e água-de-coco apresentaram o menor tempo de cicatrização e de epitelização;
- O efeito do tipo de água com relação à velocidade de regressão da ferida é influenciada pelo uso ou não de pomada.
- O uso de pomada tem efeito independente do tipo de água.
- Em todos os grupos, o tipo de colágeno predominante, em todas as coletas, foi o colágeno tipo I;
- Os animais que ingeriram água magnetizada e água-de-coco, sem o uso de pomada, tiveram os maiores valores de fibras elásticas;
- Os animais que receberam água magnetizada apresentaram maior consumo de água e de ração;

7. PERSPECTIVAS

Este trabalho, por ser pioneiro em tratar oralmente, com diferentes tipos de água de beber, animais com feridas, necessita de mais estudos para se elucidar o mecanismo desse processo terapêutico.

Para um melhor entendimento sobre a interação da água magnetizada e da água-de-coco com o organismo animal e sua influência no estado de saúde do indivíduo, faz-se necessário estudos das propriedades físicas, químicas e bioquímicas dessas águas. Estudos mais aprofundados sobre a tensão superficial, condutividade elétrica, solubilidade, osmolaridade, coagulação e cristalização serão de grande importância para este tipo de entendimento.

Esses dois tipos de água poderiam ser testados em sistemas biológicos como cultivo celular e cultivo microbiano, de forma a observar se a presença da água-de-coco ou da água magnetizada nos meios de cultivo vai estimular a proliferação celular e/ou reduzir a população microbiana. A água magnetizada também poderia ser testada na sua interação com a formação de biofilmes, tanto na indústria de alimentos como na formação de placa bacteriana dentária.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-KHAZAN, M.; ABDULLATIF, B.M.; AL-ASSAF, N. Effects of magnetically treated water on water status, chlorophyll pigments and some elements content of jojoba (*Simmondsia chinensis* L.) at different growth stages. **African J. Env. Science and Techn.** v.5, n.9, p.722-731, 2011.

ALBERTI, K. **Congelação do sêmen bovino: novos enfoques em meios diluentes.** 2004. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

ALFONSO INSUA, D.; CUESTA MAZORRA, M.; QUIÑONES RAMOS, R.; SILVEIRA PRADO, E.A. Calidad del semen en toros que consumen agua con tratamiento magnético. **Rev. Elect. Veterinaria.** v.7, n.11, p.1-5, 2006.

ALFONSO INSUA, D.; PÉREZ GARCÍA, C.; PÉREZ MONTIEL, I.; SILVEIRA PRADO, E.A. Efecto del agua tratada magnéticamente sobre los procesos biológicos. **Rev. Elect. Veterinaria.** v.10, n.4, 2009.

ALFONSO, D.; CUESTA, A.; PÉREZ, I.; JIMÉNEZ, R.; GUTIÉRREZ, M. **Evidencia en la absorción intestinal en ratas Sprague-Dawley que consumen agua con tratamiento magnético.** Informe Final de Investigación. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. Villa Clara, 2000.

ALFONSO, D.; FERRER, A.; PÉREZ, I.; JIMÉNEZ, R.; GUTIÉRREZ, M. **Caracterización de los índices hemáticos y evidencias serológicas en ratas Sprague-Dawley que consumen agua con tratamiento magnético.** Informe Final de Investigación. Facultad de Ciencias

Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. 1999.

ALFONSO, D.; MAKUGU, M.; CUESTA, M. **Evaluación de la producción y salud de sementales bovinos que ingieren agua con tratamiento magnético.** Informe Final de Investigación. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Santa Clara. Villa Clara, 1997.

ALMEIDA, R.M. **Avaliação do processo de cicatrização de lesões, tratadas com laser de baixa intensidade, através de sistema de aquisição e tratamento de imagem,** 2006. 111f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ÁLVAREZ, R.F.E.; BLANCO, J.F.N.; GARCÍA, J.L.M. Un nuevo modelo de tratamiento en las ciencias médicas: el agua magnetizada. **Rev. Cubana Med. Integr.** v.14, n.2, p.171-3, 1998.

AIRES, F.P.; TONIOLLI, R. Congelação/descongelação e conservação de sêmen suíno. In: Reunião Anual da SBPC, 57, 2005, Fortaleza, CE. **Anais...** São Paulo: SBPC/UECE, 2005.

AMIRI, M.C.; DADKHAH, A.A. On reduction in the surface tension of water due to magnetic treatment. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.** v.278, p.252-255, 2006.

ARAGÃO, W.M.; ISBERNER, I.V.; CRUZ, E.M.O. **Água-de-coco.** Aracaju: Embrapa CPATC/ Tabuleiros Costeiros, 2001. (Série Documentos 24)

ARAUJO, G.L. **Estudo de formulações de fitoderivados e flavanoide na inflamação e cicatrização de feridas em coelhos**. 2010. 114f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ARAÚJO, L.L.; OLIVEIRA, K.G.; LIMA, J.S.; PANTOJA, P.S.P.; ARAÚJO, J.B.; DOMINGUES, S.F.S. Preservação de sêmen de *Cebus apella* (macaco-prego) em diluidor à base de água de coco a 37°C. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17, 2007, Curitiba, PR. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 2007.

ARGÔLO NETO, N.M. **Tratamento tópico com mel, própolis em gel e creme a base de alantoína em feridas experimentalmente infectadas em coelhos**. 2005. 23f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ARGÔLO NETO, N.M. **Tratamento de feridas cutâneas experimentais em camindongos diabéticos com células-tronco mesenquimais associadas ou não ao plasma rico em plaquetas**. 2009. 125f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ASSOSIAN, R.K.; KOMORIYA, A.; MEYERS, C.A.; MILLER, D.M.; SPORN, M.B. Transforming growth factor-beta in human platelets: identification of a major storage site, purification, and characterization. **J. Biol. Chem.** v.158, p.7155-7160, 1983.

AZEVEDO, D.M.M.R.; TONIOLLI, R. Água de coco estabilizada suplementada com antibióticos e ácido 3-indol acético na conservação de sêmen de caprinos marota. **Ciênc. Anim.** v.9, p.37-42, 1999.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Braz. J. Pharmac. Sci.** v.41, n.1, p.1-25, 2005.

BARBOSA O.R.; SCAPINELO C.; MARTINS E.N. et al. Desempenho de coelhos da raça nova Zelândia branco, criados em diferentes tipos de instalações durante as estações de verão e inverno: 1. Temperatura corporal, frequência respiratória, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar. **Rev. Bras. de Zootecnia.** v.21, n.5, p.779-786, 1992.

BAROLLO, C.R. Homeopatia e Pesquisa: Uma Medicina Baseada na Investigação **Informativo da Associação Paulista de Homeopatia.** v.15, n.89, 2003.

BARROS, T.B.; TONIOLLI, R. Uso potencial da água de coco na tecnologia de sêmen. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.35, n.4, p.400-407, 2011.

BEANES, S.R.; DANG, C.; SOO, C.; TING, K. The phases of cutaneous wound healing. **Expet. Rev. Mol. Med.** v.5, n.21, 2003.

BEHEREGARAY, W.K.; GIANOTTI, G.C.; LEAL, J.S.; MONTEIRO, F.M.; SIMAS, S.M.; ELIZEIRE, M.; CONTESINO, E.A. Uso do laser ALGaInP na cicatrização de lesões cutâneas experimentais em coelhos. **Acta Scient. Vet.** v.38, n.3, p.237-243, 2010.

BERTEAUD, A.J. ; DARDALHON, M.; REBEYROTTE, N.; AVERBECK, D. Action d'un rayonnement électromagnétique à longueur d'onde millimétrique sur la croissance bactérienne. **CR Acad. Sci. Hebd. Seances Acad. Sci. D.** v.281, n.12, p.843-846, 1975.

BLUME, H. et al. Água-de-coco no cultivo de embriões bovinos. **Arq. Bras. Med. Vet. e Zootecnia**. v.50, n.4, p.395-399, 1998.

BLUME, H.; MARQUES JR, A.P. Avaliação da água-de-coco no cultivo e criopreservação de embriões murídeos. **Rev. Bras. Reprod. Animal**. v.18, n.3, p 97-104, 1994.

BORGES, E.L.; SAAR, S.R.C.; LIMA, V.L.A.N.; GOMES, F.S.L.; MAGALHÃES, M.B.B. **Feridas: como tratar**. Belo Horizonte: Coopmed; 2001. p.97-120.

BRANCO NETO, M.L.C.; RIBAS FILHO, J.M.; MALAFAIA, O.; OLIVEIRA FILHO, M.A.; CZECHKO, N.G.; AOKI, S.; CUNHA, R.; FONSECA, V.R.; TEIXEIRA, H.M.; AGUIAR, L.R.F.. Evaluation of hydroalcoholic extrac of Aroeira (*Shinus Terebinthifolius Rddi*) in the healing process of wound skin in rats. **Acta Cir. Bras**. v.21, p.15-20, 2006. Suplemento 2.

BRAZ, V.B.; ARAÚJO, A.A.; NUNES, J.F.; MACHADO, V.P.; MOURA, A.A.A.; OLIVEIRA, K.P.L. Viabilidade do sêmen ovino diluído em água de coco em pó. **Rev. Bras. Reprod. Anim**. v.27, p.99-107, 2003.

BRITO, M.T.V.; MARQUES, M.C.; CORREIA, J.H.D.; SILVA-CARVALHO, L. Caracterização de um modelo experimental de hipertensão portal. **Rev. Portuguesa de Ciênc. Vet**. v.99, n.552, p.199-205, 2004.

CAMPBELL-FALCK, D.T.; THOMAS, T.; FALCK, T.M. The intravenous use of coconut water. **Amer. J. Emerg. Med**. v. 18, n. 1, p. 108-111, 2000.

CAMPBELL, T.W. **Bioquímica clínica de mamíferos: animais de laboratório e espécies variadas**. In: THRALL, M.A. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca 2006 p.433-447.

CARDOSO, C.R.B.; SOUZA, M.A.; FERRO, E.A.V.; FAVORETO Jr, S.; PENA, J.D.O. Influence of topical administration of n-3 and n-6 essential and n-9 nonessential fatty acids on the healing of cutaneous wounds. **Wound Rep. Reg.** v.12, p.235-243, 2004.

CARDOSO, R.C.S.; SILVA, A.R.; UCHOA, D.C.; SILVA, L.D.M. Cryopreservation of canine semen using a coconut water extender with egg yolk and three different glycerol concentrations. **Theriogenology** v.59, n.3-4, p.743-751, 2003.

CARDOSO, R.C.S.; SILVA, A.R.; SILVA, L.D.M. Use of the powdered coconut water (ACP-106) for cryopreservation of canine spermatozoa. **Anim. Reprod.** v.2, p.257-262, 2005.

CARRIJO, O.A.; LIZ, R.S.; MAKISHIMA, N. Fiber of green coconut shell as an agricultural substrate. **Hortic. Bras.** v.20, n.4, p.533-535, 2002.

CARVALHO, J.M.; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; MAIA, G.A. Água-de-coco: Propriedades nutricionais, funcionais e processamento. **SEMINA: Ciênc. Agrárias**. v.27, n.3, p.437-452, 2006.

CASTRO, A.U.; ARGOLO NETO, N.M.; VIANA, J.A. Uso tópico do mel de abelha, oxitetraciclina e hidrocortisona, na reparação de feridas cutâneas, por segunda intenção, em coelhos. **Rev. Ceres**. v.56, n.1, p.38-44, 2009.

CHA, J.; FALANGA, V. Stem cells in cutaneous wound healing. **Clin. Dermat.** v.25, p.73-78, 2007.

CHACÓN, D.A.; RODRÍGUEZ, O. **Efectos del campo electromagnético de extremada baja frecuencia en la producción de la proteína recombinante GP-41-0 del VIH.** XII Forum de Ciencia y Técnica. Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA). Universidad de Oriente, Cuba. 1997.

CHERNOSHCHIEV, K.A. A method for studying the effect of the geomagnetic field on the vital activities of microorganisms in the enteric family. **Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.** v.9, p.28-34, 1989.

CNEA. Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA). **El tratamiento magnético del agua en sistemas industriales.** Universidad de Oriente. Sede Julio Antonio Mella. Cuba. 1997.

CONTRAN, R.S; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins:** patologia estrutural e funcional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.44-100.

COTTA-PEREIRA, G.; RODRIGO, F.G.; BITTENCOURT-SAMPAIO, S. Oxitalan, elaunin and elastic fibers in the human skin. **J. Invest. Dermatol.** v.295, p.101-107, 1976.

CRUZ, M.R.R.; MORIMOTO, I.M.I. Nutritional intervention in the surgical treatment for morbid obesity: results of a differentiated protocol. **Rev. Nutr.** v.17, n.2, p.263-272, 2004.

DEALEY, C. **Cuidando de feridas:** um guia prático para enfermeiras. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1992. p.96-102.

DUAN, L.; GUO, S.; YANG, J. Study on the Effect of a Magnetic Field on Pb(II) Removal Using Modified Chitosan. **Advances in Chem. Eng. and Science**. v.2, p.101-107, 2012.

EMING, S.A.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J.M. Gene therapy and wound healing. **Clin. Dermat.** v.25, p.79-92, 2007.

GAHARY, A. SHEN, Y. J.; NEDELEC, B.; SCOTT, P. G.; TREDGET, E. E. Enhanced expression of RNAm for insulin like growth factor-1 in post-burn hipertrophic scar tissue and its fibrogenic role by dermal fibroblasts. **Mol. Cell. Biochem.** v.148, p.25-32, 1995.

GARROS, I.C.; CAMPOS, A.C.L.; TÂMBARA, E.M.; TENÓRIO, S.B.; TORRES, O.J.M.; AGULHAM, M.A.; ARAÚJO, A.C.F.; SANTIS-ISOLAN, P.M.B.; OLIVEIRA, R.M.; ARRUDA, E.C.M. Extract from *Passiflora edulis* on the healing of open wounds in rats: morfometric and histological etudy. **Acta Cir. Bras.**, v. 21, p. 55-65, 2006. Supplement 3.

GUIRRO, E; GUIRRO, R. **Fisioterapia dermatofuncional: fundamentos, recursos, patologias**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2004. 584p.

HATANAKA, E.; CURI, R. Fatty acids and wound healing: a review. **Rev. Bras. Farm.** v.88, n.2, p.53-58, 2007.

HIRSHOWITZ, B.; LINDENBAUM, E.; HAR-SHAI, Y. A skin-stretching device for harnessing of the viscoelastic properties of the skin. **Plast. Reconstruct. Surg.** v.92, p.260–270, 1993.

INPI PI0004096-7. Soon Mo Sung Tae (BR/SP). **Dispositivo de aplicação de campo magnético dinâmico**. 31 de agosto de 2000.

INPI PI0104842-2. Sidney Keber (BR/SP). **Dispositivo de condicionamento e ativação de combustíveis por meio de campo magnético.** 17 de agosto de 2001.

INPI PI0302246-3. Sérgio Cintra Cordeiro (BR/SP). **Dispositivo para tratamento magnético de bebidas.** 26 de junho de 2003.a

INPI PI0305527-2. Sidney Keber (BR/SP). **Dispositivo de ativação de água tratada para consumo humano por meio de campo magnético.** 11 de novembro de 2003.b

INPI PI0305528-0. Sidney Keber (BR/SP). **Dispositivo de Ativação de Água Não Tratada Para Utilização Industrial, Por Meio de Campo Magnético.** 11 de novembro de 2003.c

JACKSON, J.C.; GORDON, A.; WIZZARD, G.; McCOOK, K.; ROLLE, R. Changes in chemical composition of coconut (*Cocos nucifera*) water during maturation of the fruit. **J. Sci. Food and Agriculture.** v.9, n.84, p.1049-1052, 2004.

JUNQUEIRA, L.C.U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, B.B. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochem. J.** v.11, p.447-455, 1979.

KHAN, M.N.; MUTI-UR-REHMAN; KHAN, K.W. A study of chemical composition of *Cocos nucifera* L. (coconut) water and its usefulness as rehydration fluid. **Pakistan J. Botany**, Karachi, v.35, n.5, p.925-930, 2003.

KOTZIAS-BANDEIRA, E.; WABERSKI, D.; WEITZE, K. F.; BARRETO, M.B.P. Pré-diluição e congelação de sêmen suíno em água de coco *in natura*, após três diferentes pré-tratamentos de incubação. **Braz. J. Vet. Research and An. Scienc.** v.36, n.3, p.149-152, 1999.

KRAHWINKEL, D.J.; BOOTHE, H.W. Topical and systemic medications for wounds. **Vet. Clin. Small Anim.** v.36, p.739-757, 2006.

LIM-SYLIANCO, C.Y.; GUEVARA, A.P.; SYLIANCO-WU, L.; SERRAME, E.; MALLORCA, R. Antigenotoxic effects of coconut meat, coconut milk, and coconut water. **Philip. J. Sci.** v.121, p.231- 253, 1992.

LLOYD, L.E.; McDONALD, B.E.; CRAMPTON, E.W. **Fundamentals of nutrition: water and its metabolism.** San Francisco: W.H. Freeman and Company, 1978. p.22-35.

LO, S.Y.; LI, W.C.; HUANG, S.H. Water clusters in life. **Med Hypotheses.** v.54, n.6, p.948-53, 2000.

LOPES, G.N.; KROETZ, V.J.; ALVES, J.M.A.; SMIDERLE, O.J. Irrigação Magnética. **Agro@mbiente On-line**, v.1, n.1, 2007.

LU, W.; ZHANG, Y.; JIN, Y. Potencial of stem cells for skin regeneration following burns. **Expert Rev. Dermatol.** v.4, n.2, p.97-99, 2009.

MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Educação Médica Continuada. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte 1. **An. Bras. Dermatol.** v.78, n.4, p.393-410, 2003.

MAGALHÃES, M.P.; GOMES, F.S.; MODESTA, R.C.D.; MATTA, V.M.; CABRAL, L.M.C. Conservação de água-de-coco verde por filtração com membrana. **Ciênc. e Tecn. de Alimentos**. v.25, n.1, p.72-77, 2005.

MAGALHÃES, M.S.F. **Avaliação do efeito do Dersani® e da água-de-coco liofilizada no modelo cutâneo de cicatrização por segunda intenção em ratos Wistar**. 2007. 178f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. A. Cicatrization: current and auxiliary resources-Part 1. **An. Bras. Dermatol.**, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MARTINS, N.L.P.; MALAFAIA, O.; RIBAS-FILHO, J.M.; HEIBEL, M.; BALDEZ, R.N.; VASCONCELOS, P.R.L.; MOREIRA, H.; MAZZA, M.; NASSIF, P.A.N.; WALLBACH, T.Z. Healing process in cutaneous surgical wounds in rats under the influence of *Orbignya phalerata* aqueous extract. **Acta Cir. Bras.** v.21, p.66-75, 2006. Supplement 3.

MEZENTSEV, V. **Enciclopedia de las Maravillas**. Moscú: MIR, 1991. 277p.

MEZZETTI, C. Ambiente e strutture di allevamento. **Rivista di coniglicoltura**. v.14, n.12, p.33, 1977.

MICHELACCI, Y.M. Collagens and proteoglycans of the corneal extracellular matrix. **Braz. J. Medical and Biolog. Research**. v.36, p.1037-1046, 2003.

MIOT, H.A.; BRIANEZI, G. Análise morfométrica do colágeno dérmico a partir da segmentação por conglomerados (clusters) de cor. **An Bras Dermatol.** v.85, n.3, p.361-364, 2010.

MONTES, G.S. Structural biology of the fibers of the collagenous and elastic systems. **Cell Biol. Int.** v.20, p.15-27, 1996.

MORI, R.; KONDO, T.; NISHIE, T.; OHSHIMA, T.; ASANO, M.. Impairment of skin wound healing in β -1,4-galactosyltransferase-deficient mice with reduced leukocyte recruitment. **Am. J. Pathol.** v.164, n.4, p.1303-1314, 2004.

MOURA, S.A.L. **Desenvolvimento de modelo experimental para estudo do processo de cicatrização por segunda intenção de feridas cutâneas em coelhos, utilizando extratos da própolis verde de Minas Gerais-Brasil.** 2004. 62f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MYLLYHARJU, J.; KIVIRIKKO, K.I. Collagens and collagen-related diseases. **Ann. Med.** v.3, n.1, p.7-21, 2001.

NADANASABAPATHY, S.; KUMAR, R. Physicochemical constituents of tender coconut (*Cocos nucifera*) water. **Indian J. Agric. Sciences.** v.69, n.10, p.750-751, 1999.

NILIPOUR, A.H.; BUTCHER, G.D. Water: the cheap, plentiful and taken for granted nutrient. **World Poultry**, v.14, n.1, p.26-27, 1998.

NOGGLE, G.R.; FRITZ, G.J. **Introductory plant physiology.** 2 ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1983.

NOGUEIRA, A.L.C.; SOUZA, G.C.; ALVES, O.M.B.; DOMINGOS, M.S.C.; MARQUES, L.F.; COSTA, T.L.; PAIXÃO, F.J.R. Avaliação sensorial de água-de-coco (*Cocos nucifera* L) *in natura* e processada. **Rev. de Biol. e Ciênc. da Terra.** v.4, n.2, 2004.

NOORLANDER, M.L.; MELIS, P.; JONKER, A.; VAN NOORDEN, C.J.F. A quantitative method to determine the orientation of collagen fibers in the dermis. **The J. Histochem. Cytochem.** v.50, n.11, p.1469-1474, 2002.

NOVATO, D.A.; CARVALHO, D.V. Tratamento de Feridas: Uma Contribuição ao Ensino de Enfermagem. **Rev. Min. Enf.** v.4, p.47-51, 2000.

NUNES, J.F.; SALGUEIRO, C.C.M. Utilização da água de coco como diluidor de sêmen de caprinos e ovinos. **Rev. Cient. Prod. Anim,** v.1, p.17-26, 1999.

NUNES, J.F. Utilização da água de coco como diluidor do sêmen de animais domésticos e do homem. **Rev. Bras. Reprod. Anim,** v.22, p.109-112, 1998.

OLIVEIRA, S. T. et al. Formulações de Confrei (*Symphytum Officinale* L.) na Cicatrização de Feridas Cutâneas de Ratos. **Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro. Uruguaiana.** v.7/8, n.1, p. 61-65, 2000.

PAIVA, F.P.; MAFFILI, V.V.; SANTOS, A.C.S. **Curso de manipulação de animais de laboratório.** Fundação Oswaldo Cruz - Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz. Salvador: FIOCRUZ. 2005.

PEERSCHKE, E.I.; YIN, W.; GHEBREHIWET, B. Platelet mediated complement activation. **Adv. Exper. Med. Biol.** v.632, n.1, p.81-91, 2008.

PEIRE, F.J. **El tratamiento magnético en el agua.** Técnica de laboratório. Tomo XV. 179:114-116. 1993.

PEREIRA, A.L.; BACHION, M.M. Tratamento de feridas: análise da produção científica publicada na Revista Brasileira de Enfermagem de 1970-2003. **Rev. Bras. Enferm.** v.58, n2, p.208-213, 2005

PÉREZ, V.H.; CHACÓN, D.A.; OSELIS, R.J. **Biomagnetismo:** una ciencia joven. Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA). Cuba: Universidad de Oriente, 1996.

PETRIANOV, I.V. **Las sustancias más extraordinarias del mundo.** Moscú: MIR, 1980. 107p.

PETROIANU, G.A.; KOSANOVIC. M.; SHEHATTA, I.S.; MAHGOUB, B.; SALEH. A.; MALECK, W.H. Green coconut water for intravenous use: Trace and minor element content. **J. of Trace Elem. Exp. Medicine.**17, n.4, p.273-282, 2004.

PINA, V.M.R.; CAVALCANTI NETO, C.C.; HOLANDA, G.M.L.; FREITAS NETO, L.M.; SANTOS JUNIOR, E.R.; MACHADO, P.P.; PAULA-LOPES, F.F.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Adição da água-de-coco (*Cocos nucifera*) ao meio de maturação de oócitos caninos. **Med. Veterinária.** v.1, n.2, p.42-49, 2007.

PORTO, M.E.G. **Alterações de propriedades biológicas e físico-químicas da água induzidas por campos magnéticos.** 1998. 92f.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PORTO, M.E.G. **Alterações de propriedades da água por processos físicos e químicos**. 2004. 175f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PRATA, M.; HADDAD, C.; GOLDENBERG, S. et al. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea. Estudo experimental em rato. **Acta Cir. Bras.** v.3, n.2, p.43-48, 1988.

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIM, L.H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. Washigton: Armed Forces Institute of Pathology. 1992. 264p.

QUESENBERRY, K.E. Rabbits. In: **Saunders Manual of Small Animal Practice**. BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. (Eds.). Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994. 1346p.

RIBEIRO, S.M.C.P. Soluções anti-sépticas em curativos. In: JORGE, S.A. **Abordagem Multiprofissional do Tratamento de Feridas**., cap. 9. São Paulo: Atheneu, 2003. p.101-109.

RICHES, D. W. Macrophage involvement in repair, remodeling and fibrosis. In: CLARK, R. A. F. (Ed.). **Mol. Cell. Boil. wound rep.** 2 ed. New York: Plenum, 1996. p.143-168.

ROCHA JÚNIOR, A.M.; OLIVEIRA, R.G.; FARIAS, R.E.; ANDRADE, L.C.R.; AARESTRUP, F.M. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no

processo de reparo tecidual. **An. Bras. Dermatol.** v.81, n.2, p.150-156, 2006

RODRIGUES, K.L.; CARDOSO, C.C; CAPUTO, L.R; CARVALHO, J.C.T; FIORINI, J.E.; SCHNEEDORF, J.M. Cicatrizing and antimicrobial properties of an ozonised oil from sunflower seeds. **Inflammopharmacology.** v.12, n.3, p.261-270, 2004.

ROSA, M.F.; ABREU, F.A.P. **Água de coco**: métodos de conservação. Fortaleza: Embrapa CNPAT/SEBRAE-CE, 2000. 40p. (Documentos 37)

ROSS, M.H.; REITH, E.J.; ROMRELL, L.J.; **Tecido conjuntivo**. In: _____. 2ed. Histologia: texto e atlas. São Paulo: Panamericana, 1993, Cap.2, p.85-115.

SAAT, M.; SINGH, R.; SIRISINGHE, R.G.; NAWAWI, M. Rehydration after exercise with fresh young coconut water, carbohydrate-electrolyte beverage and plain water. **J. Physiol. Anthropology.** v.21, n.2, p.93-104, 2002.

SANTOS, A.H.A. **Estudo comparativo das propriedades mecânicas do concreto produzido com água tratada magneticamente**. 2006. 137f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SANTOS et al. Parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) produzidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena.** v. 6, 106101, 2010.

SILVA, A.S.; COSTA, M.M.; LOPES, S.T.A.; MONTEIRO, S.G. Alterações hematológicas em coelhos infectados experimentalmente pelo *Trypanosoma evansi*. **Ciência Rural**. v.38, n.2, p.538-542, 2008.

SILVA, T.F.P.; ACKERMANN, C.L.; PINHEIRO, F.T.S.; SILVA, L.D.M. Uso da água de coco em pó (ACP-117) na criopreservação de sêmen de gato doméstico. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17, 2007, Curitiba, PR. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 2007.

SOARES L.F.; RIBEIRO, A.M.L.; PENZ JUNIOR, A.M.; GHIOTTI, A. Influência da restrição de água e ração durante a fase pré-inicial no desempenho de frangos de corte até os 42 dias de idade. **R. Bras. Zootec.** v.36, n.5, p.1579-1589, 2007.

SU, N.; WU, C. Effect of magnetic field treated water on mortar and concrete containing fly ash. **Cement and Concr. Composites**. n.25, p.681-688, 2003.

SU, N.; WU, Y. MAR, C. Effect of magnetic water on the engineering properties of concrete containing granulated blast-furnace slag. **Cement and Concr. Research**. n.30 , p.599-605, 2000.

TABORDA, C.; MEHNERT, D.U.; SILVA, C.A. **Manual de Normas Técnicas** - Biotério de Experimentação Animal. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas - USP, 2004. 24p.

TEIXEIRA, M.Z. Homeopatia: ciência, filosofia e arte de curar. **Rev. Med.** v.85, n.2, p.30-43, 2006.

TOMASEK, J.J.; GABBIANI, G.; HINZ, B.; CHAMPONNIER, C.; BROWN, R.A. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective

tissue remodeling. **Nat. Rev. Molec. Cell. Biol.** v.3, n.5, p.349-363, 2002.

TRINDADE, A.E. Hemograma do Coelho. **Mem. Inst. Osvaldo Cruz.** v.52, n.2, p.397-403, 1954.

UCHOA, D.C.; SILVA, A.R.; CARDOSO, R.C.S.; PEREIRA, B.S.; SILVA, L.D.M. Conservação do sêmen canino a 37°C em diluentes à base de água de coco. **Ciênc. Rural.** v.32, n.1, p.91-95, 2002.

VIEIRA, S. A. L. **Efeito do laser de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas experimentais.** 2006. 47f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Franca, Franca.

VIGLIAR, R.; SDEPANIAN, V.L.; FAGUNDES-NETO, U. Biochemical profile of coconut water from coconut palms planted in an inland region. **J. Ped.** v. 82, p. 308-312, 2006.

VIGNON, E. **Efectos económicos del agua tratada con campo magnético en la germinación de semillas botánicas.** C. Habana: Ministerio de la Agricultura (MINAGRI) y Ministerio de Educación Superior (MES). 1990.

VON DER MARK, H.; VON DER MARK, K.; GAY, S. Study of differential collagen synthesis during development of the chick embryo by immunofluorescence. **Dev. Biol.** v.48, p.237-249, 1976.

WOSIACKI, G.; DEMIATE, I.M.; MELLO, F. Nata de Coco: o estado da arte. **Boletim Soc. Bras. Ciênc. Tecn. Alim.** v.30, n.2, p.142-155, 1996.