

SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA

**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.**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2004

SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA

**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.**

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

APROVADA: 24 de junho de 2004.

Prof^a Marlene Isabel Vargas Vilorio

Prof Dejair Message

Prof^a Andréa Pacheco Batista Borges

Prof^a Paula Dias Bevilacqua

Prof José Antônio Viana
(Orientador)

*À minha filha Clara e meu filho Bernardo,
pela renúncia dos dias e das noites
ausentes, ao meu amigo e companheiro,
Ricardo pelo apoio e incentivo, a meus pais
pelo exemplo e conduta moral, espelho e
reflexo de minhas atitudes. Ao professor
José Antônio por representar o meu refúgio
através de sua serenidade.*

AGRADECIMENTO

A Deus por me permitir alcançar meus sonhos e realizá-los.

Aos animais pela sua docilidade, submissão intuitiva e pelo sacrifício de suas vidas.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Veterinária, pela oportunidade de realização do Curso.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - UFV.

Ao Departamento de Bioquímica agrícola, ao Laboratório de Biofármacos e à Professora Tânia Toledo pela boa vontade e orientação na extração da própolis.

Ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva-UFV, pela contribuição neste estudo.

Ao professor José Antônio Viana, em primeiro lugar por acreditar em

mim, pela orientação, pela amizade, pela compreensão e pelos ensinamentos recebidos durante o convívio. Por sua humildade, integridade, caráter e simplicidade qualidades estas que serviram de exemplo e fizeram de mim uma pessoa melhor, podendo agora me sentir honrada em passar adiante sua mensagem e conduta para meus alunos e orientados, perpetuando desta forma sua missão. **OBRIGADO!** principalmente pelo seu *carinho pois esse é o caminho do meu coração...!*

Ao professor Dejair Message, pela doação da amostra de própolis, pelos ensinamentos e pela sensibilidade, pela oportunidade de poder conhecer e me encantar com as abelhas. Prometo continuar contribuindo para o conhecimento através de realizações futuras.

A professora Paula pela valiosa contribuição na organização dos dados estatísticos, pela doação de suas horas de atenção incondicionais, e por colocar um ponto final nos conflitos “*conjuprofissionais*” sendo a ponte de entendimento dos diferentes aspectos desenvolvidos das conjecturas matemáticas e biológicas entre eu e meu parceiro. Espero sinceramente um dia poder retribuir!

À professora Marlene Vargas, por nos ensinar, através de seu forte instinto maternal, a bater nossas asas, mesmo tropeçando e caindo, mas sempre firmes e apoiados em seu exemplo, a rumar na direção do sucesso, ficam marcados os momentos de bate papo informais...; ao professor Joaquin Patarroyo por sua grande competência e dedicada contribuição à conclusão deste trabalho e pelo estímulo ao desafio.

Aos professores, Andréa Pacheco e Luiz Gonzaga pela alegria do convívio, pelo apoio, pelo exemplo e simplicidade.

Aos professores Marco Túlio, Tarcízio e Cláudio Fonseca, pela amizade.

As amigas, Fernanda, Liza, pelo prazer do convívio e pela amizade sincera e, á Michele (Mi) por poder conviver com sua doçura e meiguice à Fabiana pela sensibilidade, à Gisele, por ser uma grande companheira, ao Sidimar e Policarpo, pela imensa boa vontade. A todos os que aqui não foram citados, pela presença constante e impreterível.

A Cacá, meu anjo amigo, que foi enviada por Deus para me ajudar a concluir mais esta etapa de minha luta, o meu muito obrigado!

Ao acadêmico Marcel, que tenho certeza será um grande profissional, meu enorme agradecimento por tudo.

Aos técnicos Adão, Cláudio, Marquinho, Maninha, Lucinda e Luis Márcio, pelo apoio incondicional para realização dos ensaios de campo e de laboratório.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho e que por ventura não foram citados.

À minha mãe Vanir e meu pai Sérgio por seus conselhos muitas vezes renegados, porém sentidos no amor ou na dor! Pelo apoio incondicional, conforto e incentivo recebido durante toda a minha vida acadêmica. A toda minha maravilhosa família que tanto amo!!

Ao meu precioso amor... Ricardo... OBRIGADO!

UMA EPÍGRAFE

“A altura dos meus objetivos não me apavorará, embora possa tropeçar freqüentemente antes de alcançá-los. Se tropeçar levantar-me-ei e minhas quedas não me preocuparão, pois todos os homens devem tropeçar muitas vezes para alcançar a glória. Apenas o verme é livre da preocupação de tropeços. Eu não sou um verme. Que outros construam uma caverna com seus barros. Eu construirei um castelo com o meu.

Subirei a montanha do hoje com o extremo de minha capacidade, amanhã subirei mais alto do que hoje e, no dia seguinte mais alto que na véspera. Superar os feitos dos outros é importante; superar meus próprios feitos é tudo.

E assim como o vento quente conduz o trigo à natureza; o mesmo vento levará minha voz aos que me darão ouvido, e minhas palavras anunciarão meus objetivos. Uma vez pronunciadas não ousarei recordá-las para que não percam a expressão. Serei meu próprio profeta, e embora todos possam rir de minhas alocuções eles ouviram meus planos, conheceram meus sonhos; e assim não haverá saída para mim até que minhas palavras se tornem feitos realizados.

Hoje centuplicarei meu valor.

Não cometerei o terrível crime de aspirar pouco demais.

Executarei o trabalho que o fracasso não executará.

Sempre deixarei o meu desígnio exceder a minha compreensão.

Jamais me contentarei com o meu desempenho profissional

Sempre elevarei meus objetivos tão logo os atinja

Sempre me esforçarei para fazer a próxima hora melhor do que a hora presente.

Sempre anunciarei meus objetivos ao mundo.

Contudo, jamais proclamarei minhas realizações.

Deixarei, ao contrário, que o mundo se aproxime de mim com louvores e que eu possa Ter a sabedoria de recebê-los com humildade”.

Essa é minha PROMESSA!! Para todos os que acreditaram em mim!!

(OG MANDINO, 1977:62)

BIOGRAFIA

SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA, filha de Sérgio Silveira de Moura e de Vanir Lima de Moura, nasceu em 17 de Janeiro de 1973, em Três Rios-RJ.

Em Março de 1996, graduou-se em Medicina Veterinária pela Faculdade Niteroiense de Medicina Veterinária Plínio Leite.

De 1996 á 2001 atuou no atendimento clínico e cirúrgico a pequenos animais, na Clínica Veterinária Juiz de Fora e na Clínica Veterinária Clinical Vet.

Em agosto de 2001, iniciou o Programa de Mestrado em Medicina Veterinária, no Departamento de Veterinária-UFV, submetendo-se à defesa de tese em Junho de 2004.

Em junho de 2003, ingressou como professora assistente do Centro Universitário do Leste de Minas Gerais – Unileste MG, atuando como docente nos cursos de farmácia e bioquímica, fisioterapia, educação física e ciências biológicas.

Em fevereiro de 2004, aprovou junto à reitoria e às diretorias acadêmicas e administrativas, do Centro Universitário do Leste de Minas Gerais – Unileste MG, projeto interdisciplinar envolvendo os centros de ciências da saúde e o centro de ciências exatas desta instituição.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DA PELE	2
2.2 CLASSIFICAÇÃO DAS FERIDAS	3
2.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS FERIDAS:	4
2.3.1 EXSUDATO	4
2.3.2 TECIDO NECRÓTICO	5
2.3.3 TECIDO FIBROSO	5
2.3.4 TECIDO DE GRANULAÇÃO	5
2.3.5 TECIDO DE EPITELIZAÇÃO	5
2.3.6 CROSTA	6
2.4 PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO	6
2.4.1 CICATRIZAÇÃO	6
2.4.2 FASES DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO	7
2.4.3 FASE INFLAMATÓRIA	7
2.4.3.1 MUDANÇAS VASCULARES	7
2.4.3.2 RESPOSTA CELULAR	8
2.4.4 FASE DE PROLIFERAÇÃO	9
2.4.4.1 ANGIOGÊNESE E NEOVASCULARIZAÇÃO	10
2.4.4.2 FIBROPLASIA	10
2.4.4.3 EPITELIZAÇÃO	11
2.4.5 MATURAÇÃO E REMODELAGEM	12
2.5 CICATRIZAÇÃO POR PRIMEIRA INTENÇÃO	13
2.6 CICATRIZAÇÃO POR SEGUNDA INTENÇÃO:	13
2.7 FATORES QUE INTERFEREM NA CICATRIZAÇÃO	14
2.8 PRÓPOLIS	15
2.8.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA	16
2.8.2 ATIVIDADES TERAPÊUTICAS DA PRÓPOLIS	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 AMOSTRA DE PRÓPOLIS	19

3.2	PREPARAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO	19
3.3	OBTENÇÃO DO EXTRATO ALCOÓLICO	19
3.4	PREPARO DA POMADA	20
3.4.1	PRÓPOLIS ALCOÓLICO 5%	20
3.4.2	PRÓPOLIS AQUOSO 5%	20
3.5	ANIMAIS	20
3.6	PRODUÇÃO DAS FERIDAS	21
3.7	OBSERVAÇÃO CLÍNICA E MENSURAÇÃO DAS FERIDAS	22
3.7.1	APRESENTAÇÃO DOS DADOS	24
3.8	PROCEDIMENTO HISTOLÓGICO	24
3.9	ANÁLISE DOS DADOS	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1	DIÂMETRO DAS FERIDAS	26
4.1.1	ANÁLISE DE REGRESSÃO	27
4.1.2	ÍNDICE CLÍNICO DE RECUPERAÇÃO DE FERIDAS	28
4.2	OBSERVAÇÃO CLÍNICA	31
4.3	ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS	36
4.3.1	2º DIA PÓS-CIRÚRGICO	36
4.3.2	4º DIA PÓS-CIRÚRGICO	39
4.3.3	7º DIA PÓS CIRÚRGICO	41
4.3.4	12º DIA PÓS-CIRÚRGICO	42
4.3.5	15º DIA PÓS-CIRÚRGICO	43
5	CONCLUSÃO	45
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
7	ANEXOS	52

RESUMO

MOURA, Sandra Aparecida. Lima de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, Junho de 2004. **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.** Orientador: José Antônio Viana. Conselheiros: Marlene Isabel Vargas Vilória e Joaquim Hernán Patarroyo Salcedo.

Foi verificado a eficácia dos diferentes extratos da própolis (aquoso - PA) e (etanólico - PE) na concentração de 5% utilizando como veículo a vaselina e lanolina, no tratamento de feridas, produzidas experimentalmente em 20 coelhos divididos em quatro grupos segundo o tratamento (Própolis aquosa 5%, própolis alcoólica 5%, Vaselina e sem tratamento). Para tanto, acompanhou-se a evolução do diâmetro das feridas durante o processo de cicatrização por segunda intenção, por meio da aplicação de um índice proposto, ICRF (Índice Clínico de Recuperação de Feridas). Foram observadas também a presença e intensidade do edema, exsudato e crosta pela aplicação de Escores que variaram de zero a três. Também foram realizados exames histológicos. A aplicação do ICRF revelou a formação de uma crosta densa, ressecada e muito aderida à ferida, que quando arrancada, prejudicou o processo de cicatrização, impossibilitando a mensuração do real diâmetro da ferida no grupo não tratado (Testemunho), fato não observado para os demais grupos analisados e comprovado no exame histológico. Os resultados das análises histológicas não identificaram qualquer interferência das substâncias testadas, demonstrando a evolução uniforme em todas as fases da cicatrização para todos os grupos estudados. Os resultados obtidos demonstraram que, o modelo experimental e a metodologia é adequada para aplicação em estudos futuros de observação da evolução da cicatrização de feridas por segunda intenção.

ABSTRACT

MOURA, Sandra Aparecida Lima de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, June of 2004. **Development of experimental model for study of the cicatrization process for second intention of cutaneous wounds in rabbits, using extracts of the green propolis from Minas Gerais-Brazil.** Advisor: Jose Antonio Viana. Committee members: Marlene Isabel Vargas Vilória and Joaquim Hernán Patarroyo Salcedo.

The effect of different propolis extracts (aqueous - PA and ethanolic - PE) at the concentration of 5% was investigated in the treatment of wounds using vaseline as lanoline vehicle. The wounds were experimentally produced in 20 rabbits divided in four groups according to treatment (aqueous propolis 5%, alcoholic propolis 5%, vaseline and no treatment). For that, the evolution of the diameter of wounds was followed up during the process of healing by second intention through the application of an index, ICRF (Clinical Index of Recovery of Wounds). The presence and intensity of edema, exudate and scab were also analysed through the application of scores varying from zero to three. Histological examinations were also carried out. The ICRF index revealed the formation of a very dense and dried scab, strongly adhered to the wound, which hindered the healing process in the untreated group (control) when pulled out. These results are in agreement with the histological examination. This impossibilitated the accurate mensuration of the wound in this group, which did not occur for the others. The histological analyses did not identify any interference of the tested substances on the healing process, demonstrating an uniform evolution in all the phases of healing for all the groups. The results obtained demonstrated that the methodology is well suited for application in future studies of observation of the evolution of the wound healing by second intention.

RESUMO

MOURA, Sandra A. Lima, M.S., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2004.

Desenvolvimento de modelo experimental para estudo do processo de cicatrização por segunda intenção de feridas cutâneas em coelhos, utilizando a própolis verde de Minas Gerais-Brasil. Orientador: José Antônio Viana. Conselheiros: Marlene Isabel Vargas Vilória e Dejair Message.

Foi verificado a eficácia dos diferentes extratos da própolis (aquoso - PA) e (etanólico - PE) na concentração de 5% utilizando como veículo a vaselina e lanolina, no tratamento de feridas, produzidas experimentalmente em 20 coelhos divididos em quatro grupos segundo o tratamento (Própolis aquosa 5%, própolis alcoólica 5%, Vaselina e sem tratamento). Para tanto, acompanhou-se a evolução do diâmetro das feridas durante o processo de cicatrização por segunda intenção, por meio da aplicação de um índice proposto, ICRF (Índice Clínico de Recuperação de Feridas). Foram observadas também a presença e intensidade do edema, exsudato e crosta pela aplicação de Escores que variaram de zero a três. Também foram realizados exames histológicos. A aplicação do ICRF revelou a formação de uma crosta densa, ressecada e muito aderida à ferida, que quando arrancada, prejudicou o processo de cicatrização, impossibilitando a mensuração do real diâmetro da ferida no grupo não tratado (Testemunho), fato não observado para os demais grupos analisados e comprovado no exame histológico. Os resultados das análises histológicas não identificaram qualquer interferência das substâncias testadas, demonstrando a evolução uniforme em todas as fases da cicatrização para todos os grupos estudados. Os resultados obtidos demonstraram que, o modelo experimental e a metodologia é adequada para aplicação em estudos futuros de observação da evolução da cicatrização de feridas por segunda intenção.

ABSTRACT

MOURA, Sandra Lima, M.S., Federal University of Viçosa, July of 2004.

Development of experimental model for study of the cicatrization process for second intention of cutaneous wounds in rabbits, using extracts of the green propolis from Minas Gerais-Brazil. Advisor: Jose Antonio Viana. Council members: Marlene Isabel Vargas Vilória and Dejair Message.

The effect of different propolis extracts (aqueous - PA and ethanolic - PE) at the concentration of 5% was investigated in the treatment of wounds using vaseline as lanoline vehicle. The wounds were experimentally produced in 20 rabbits divided in four groups according to treatment (aqueous propolis 5%, alcoholic propolis 5%, vaseline and no treatment). For that, the evolution of the diameter of wounds was followed up during the process of healing by second intention through the application of an index, ICRF (Clinical Index of Recovery of Wounds). The presence and intensity of edema, exudate and scab were also analysed through the application of scores varying from zero to three. Histological examinations were also carried out. The ICRF index revealed the formation of a very dense and dried scab, strongly adhered to the wound, which hindered the healing process in the untreated group (control) when pulled out. These results are in agreement with the histopatological examination. This impossibilitated the accurate mensuration of the wound in this group, which did not occur for the others. The histological analyses did not identify any interference of the tested substances on the healing process, demonstrating an uniform evolution in all the phases of healing for all the groups. The results obtained demonstrated that the methodology is well suited for application in future studies of observation of the evolution of the wound healing by second intention.

1. INTRODUÇÃO

Apesar dos recentes avanços, da farmacologia e da biotecnologia no desenvolvimento de drogas novas e potentes, para o tratamento de feridas, tem-se intensificado a pesquisa de produtos naturais para auxiliar a cicatrização, tais como plantas e minerais. Dentre as substâncias naturais mais amplamente utilizadas para a cicatrização de feridas cutâneas, destacam-se o mel e a própolis (Silveira & Raiser, 1995).

A própolis é uma mistura complexa, formada por material resinoso e balsâmico coletado pelas abelhas dos ramos, flores, pólen, brotos e exsudados de plantas. Além disso, na colméia as abelhas adicionam secreções salivares a essa mistura (Ghisalberti, 1979).

Embora os mecanismos de ação destes componentes não estejam completamente esclarecidos vários trabalhos têm sido desenvolvidos e divulgados sobre as propriedades biológicas da própolis como, por exemplo, a antimicrobiana, antifúngica, antiprotozoária, antioxidante e antiviral (Marcucci, 1995). Seu emprego já era descrito pelos assírios, gregos, romanos, incas e egípcios. No antigo Egito (1700 a.C.) a “cera negra” como era denominada, era utilizada como material para embalsamar os mortos.

Ao final do século XIX, durante a guerra da África do Sul, a própolis foi amplamente utilizada devido às suas propriedades cicatrizantes. Os gregos, dentre os quais Hipócrates, a adotaram como cicatrizante interno e externo (Vanhaelen, 1979).

Breyer (1984), mencionou que a própolis também foi usada pelos Incas nas cirurgias de trepanação, para curar febres e infecções e que Aristóteles considerava a própolis como um remédio para os males da pele, as chagas e as supurações.

Segundo Lenhart (1986), durante a guerra dos Bôeres (1899 a 1902) era a própolis que encontrava maior aplicação na cicatrização das feridas, tendo também a propriedade de estimular a defesa do organismo, por elevar o índice protéico no sangue e a fagocitose.

A pele está exposta freqüentemente a traumatismos e, qualquer interrupção na continuidade da pele representa uma ferida. A cicatrização então é a tentativa do organismo de restaurar a integridade e função dos tecidos após uma lesão (Davidson, 1992).

As feridas lacerantes, úlceras, queimaduras, exérese de neoplasias e correções cirúrgicas de defeitos cutâneos exigem tratamento especializado para se obter retorno funcional e anatômico da região.

A extensão da perda cutânea dificulta ou até mesmo impossibilita a aproximação das bordas, ocorrendo a cicatrização por segunda intenção. Neste caso a cicatrização é um processo mais lento, podendo haver necessidade de dias ou mesmo semanas para que a epitelização se complete, o que poderá produzir muitas vezes cicatrizes extensas, retração cicatricial e elevação do custo do tratamento (Borges *et al.*, 1999).

Diante da questão exposta, o presente trabalho objetivou estudar e avaliar, de forma seqüencial, o efeito dos extratos aquoso e etanólico da própolis na concentração de 5% na cicatrização de feridas cutâneas produzidas experimentalmente em coelhos, sob a ótica clínica e histológica.

2. REVISÃO DE LITERATURA:

2.1. ANATOMIA E FISIOLOGIA DA PELE

A pele é o maior órgão do corpo, responsável pelo revestimento e delimitação, representa 15% do peso corporal e é composta de três camadas: epiderme, derme, hipoderme ou tecido subcutâneo sendo a epiderme a camada externa, sem vascularização, formada por várias camadas de células. Tem como função principal a proteção do organismo e a constante regeneração da pele. Impede a penetração de microorganismos ou substâncias químicas destrutivas, absorve radiação ultravioleta do sol e previne as perdas de fluídos e eletrólitos (Junqueira & Carneiro, 1999). A derme é uma camada intermediária, constituída por denso tecido fibroso, fibras de colágeno, reticulares e elásticas. Nela se situam os vasos, os nervos e os anexos cutâneos (glândulas sebáceas, sudoríparas e folículos pilosos) e a hipoderme formada por tecido conjuntivo frouxo, tendo como função principal o depósito nutritivo de reserva, funcionando como isolante térmico e proteção mecânica, e facilitando a mobilidade da pele em relação às estruturas subjacentes (Scott *et al.*, 1995; Banks, 1992; Junqueira & Carneiro, 1999).

Segundo Banks, (1996) sua classificação pode ser feita de acordo com a presença de pêlos (pele pilosa) ou ausência (pele glabra). No caso da pele pilosa, os pêlos podem ser táteis ou não, tendo a função de captar estímulos físicos de contato. Os pêlos táteis podem ainda ser divididos em pêlos sinusais (vibrissas) e pêlos tilotríquios (que se encontram espalhados entre os pêlos normais).

Não seria exagero dizer que a pele por si só é capaz de revelar muito sobre a vida de um indivíduo. Nenhum órgão torna tão evidente a passagem dos anos, nem tão marcante os traumas que possa ter sofrido durante sua vida (Scott *et al.*, 1995).

2.2. CLASSIFICAÇÃO DAS FERIDAS

Uma ferida é qualquer interrupção na solução de continuidade do tecido cutâneo-mucoso, acarretando alterações na estrutura anatômica, funcional e fisiológica dos tecidos afetados.

Para Dealey, (1996); e Slatter, (1998) as feridas podem ser classificadas:

- A) **Quanto à causa, em:** cirúrgicas, e não cirúrgicas (feridas incisionais, feridas laceradas, feridas perfurantes);
- B) **Segundo o tempo de cicatrização:** em agudas (ocorre à cicatrização dentro do tempo esperado) e crônicas (a cicatrização pode demorar semanas, meses ou anos).
- C) **Quanto à presença de microorganismos ou grau de contaminação em:**
 - C1) **Feridas limpas** são realizadas através de técnicas assépticas. São feridas recentes com menos de 6 horas, considerando-se uma população de bactérias de menos de 10^5 por grama de tecido. São fechadas por suturas, após todos os vasos sangrantes terem sido ligados cuidadosamente.
 - C2) **Feridas contaminadas** incluem feridas acidentais, e abertas com procedimentos cirúrgicos com quebras importantes na técnica asséptica. Tais feridas apresentam uma população de bactérias superior a 10^5 por grama de tecido, sendo também consideradas assépticas e infectadas quando permanecem abertas e com retenção de tecido desvitalizado por tempo superior a 6 horas, sendo este tempo influenciado pela virulência do agente contaminante. Apresentam os sinais clínicos de inflamação caracterizados pelo aumento da temperatura local, dor, edema e exsudação excessiva.
- D) **De acordo com a profundidade, em relação à camada tissular envolvida** (epiderme, derme, subcutâneo e tecidos mais profundos, como músculos, tendões, ossos e outros), conforme figura 01, as feridas são classificadas em graus, I, II, III e IV (Dealey, 1996; Novato, 2000).

- Grau I: são feridas nas quais ocorreu comprometimento apenas da epiderme.
- Grau II: ocorre comprometimento com perda tecidual da epiderme e/ou derme; os folículos pilosos, os capilares e as glândulas.
- Grau III: existe comprometimento da epiderme, derme e hipoderme.
- Grau IV: ocorre comprometimento da epiderme, derme, hipoderme e tecidos mais profundos.

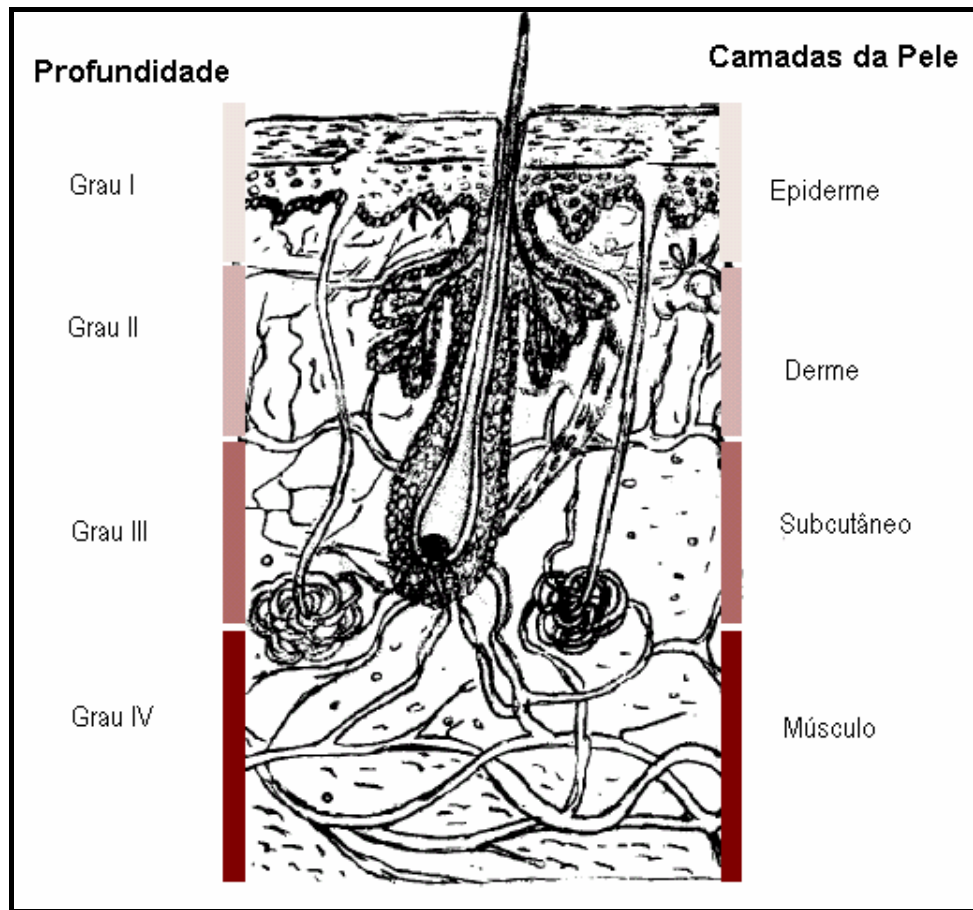


Figura 01 - Camadas da pele e profundidade da ferida

Fonte: adaptado de (Banks, 1992)

2.3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS FERIDAS:

2.3.1. EXSUDATO

Para Dealey, (1996) as características do exsudato são indicadores valiosos para o monitoramento da ferida. Segundo Stashak, (1991) os fluidos serosos e sanguinolentos são considerados normais nas primeiras 48 a 72 horas. O exsudato

purulento é indicativo de um processo infeccioso. A quantidade de exsudato pode ser estimada por observação clínica e quantificada pela drenagem.

As células do exsudato inflamatório são fonte importante de mediadores que amplificam e mantêm os fenômenos vasculares e exsudativos e que iniciam os fenômenos reparativos e produtivos (Bogliolo, 2004).

2.3.2. TECIDO NECRÓTICO

Segundo Gomes (2000), o tecido necrótico varia de coloração, desde a cores preta, cinza, esbranquiçada, marrom, até a esverdeada. Corresponde ao tecido morto, desidratado, podendo estar presente também o pús e o material fibrinoso, que favorecem a multiplicação de microorganismos. A crosta é um tipo de tecido desvitalizado, devido à sua exposição ao ar, ocasionado pelo ressecamento e desidratação celular e que muitas vezes mascaram o tamanho real da ferida.

2.3.3. TECIDO FIBROSO

Apresenta cor amarela, de consistência cremosa, devido à quantidade de degradação celular. A fibrina pode recobrir toda a extensão da ferida ou se apresentar como pontos de fibrina recobrimo parcialmente a lesão (Stashak, 1991).

2.3.4. TECIDO DE GRANULAÇÃO

Stashak, (1991) relatou que o tecido de granulação aparece na ferida após 3 a 4 dias da injúria. Para Dealey (1996), o tecido de granulação tem aspecto vermelho, brilhante e úmido, enquanto o tecido doente tem aspecto pálido-escuro. O topo dos arcos capilares fazem com que a superfície tenha aparência granular, daí seu nome. Os novos vasos anastomosam-se livremente e progressivamente diferenciam-se em arteríolas e vênulas e podem sangrar espontaneamente (Scott *et a.*, 1995).

2.3.5. EPITELIZAÇÃO

Segundo (Dealey, 1996), à medida que o epitélio, nas margens das feridas, começa a se dividir rapidamente, a margem se torna ligeiramente elevada e adquire uma coloração azulada-rósea. Quando o epitélio se espalha pela superfície da ferida, a

margem fica plana e o tecido epitelial formado se caracteriza pela coloração branco-rosada.

2.3.6. CROSTA

Novato (2000) relatou que antigamente, a crosta era considerada como uma cobertura natural para proteger as feridas de bactérias e auxiliar na regeneração epitelial. Entretanto, têm-se notado que feridas sem crosta cicatrizam mais rapidamente, além do fato de que fluidos podem se juntar embaixo da crosta e favorecer a infecção. A crosta também pode interferir na cicatrização, evitando a contração da ferida (Gomes, 2000).

A migração epitelial ocorre com maior rapidez quando a superfície da ferida está umedecida e bem oxigenada. Se uma escara, ou “casca” está por cima da ferida, as células migratórias promovem uma dissecação entre a matriz e os debrís subjacentes, mas o processo sofre certo atraso (Jones *et al.*, 2000).

Dealey (1996), descreveu a constituição da crosta como a de um material protéico do tecido desvitalizado, composto por colágeno, fibrina, elastina e restos celulares, podendo estar relacionada ao término do estágio inflamatório no processo de cicatrização. Os neutrófilos têm uma vida útil curta e podem morrer antes de serem removidos. Em condições adequadas para a cicatrização, os macrófagos geralmente são capazes de remover a crosta e ela desaparece à medida que a cicatrização vai evoluindo. A crosta geralmente apresenta cor branca/amarela. Também pode ser grossa, endurecida, de cores preta, cinza ou marrom, constituídas predominantemente de tecido necrótico (Peacock & Early, 1984; Dealey; 1996; Jones *et al.*, 2000).

2.4. PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

2.4.1. CICATRIZAÇÃO

Um ferimento ou ferida é uma lesão corporal física que resulta no rompimento da continuidade normal das estruturas cutâneas. A cicatrização do ferimento é a restauração da continuidade (Probst, 1993).

Geralmente dois processos diferentes estão envolvidos, a regeneração, onde o tecido lesionado é substituído por outro do mesmo tipo e sem sinais de lesão prévia, e a cicatrização, cujo novo tecido é de natureza embrionária e que, com o tempo, se transforma em tecido adulto, chamado tecido cicatricial ou cicatriz (Acioly, 1991).

2.4.2. FASES DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

A cicatrização das feridas divide-se em três séries de eventos que podem sobrepor-se, segundo Scott *et al.*, (1995):

- a) Inflamação (eventos vasculares e celulares).
- b) Proliferação (neovascularização, contração e epitelização).
- c) Remodelação.

2.4.3. FASE INFLAMATÓRIA

Primeira etapa desse processo, constituída pela resposta inicial do organismo ao trauma. Ocorre com uma reação vascular e inflamatória, que conduz à hemostasia, à remoção de restos celulares e de microorganismos. Imediatamente após o trauma, ocorre a vasoconstrição que leva à parada do sangramento. Este processo envolve a presença de plaquetas, coágulos de fibrina que ativam a cascata da coagulação, resultando na liberação de substâncias para formação da matriz provisória. Esta matriz constitui o suporte para a migração de células inflamatórias, seguidas da ativação dos mecanismos de proteção e preparação dos tecidos para o desenvolvimento da cicatrização. A inflamação leva às conhecidas manifestações clínicas de calor, dor, edema e perda da função, sinais que podem ser mínimos, transitórios ou duradouros. A infecção intensifica e prolonga a inflamação (Peacock & Early, 1984; Scott *et al.*, 1995; Brasileiro Filho, *et al.*, 1996; Slatter, 1998).

2.4.3.1. MUDANÇAS VASCULARES

No estágio inflamatório as principais mudanças vasculares são: vasoconstrição arteriolar passageira, imediata à aplicação do estímulo inflamatório (Brasileiro Filho, *et al.*, 1996). Ocorre oclusão vascular no ponto do traumatismo, tendendo a controlar a hemorragia. Esta resposta se prolonga por 5 a 10 minutos, sendo seguida por uma vasodilatação ativa envolvendo todos os elementos das vasculas locais (Johnston, 1981). Inicialmente o sangue flui com rapidez através dos vasos dilatados, essa velocidade pode se prolongar por minutos ou horas, dependendo da gravidade da lesão. Certos mediadores químicos e, principalmente as prostaglandinas são responsáveis pelo

relaxamento do músculo liso arteriolar e pela subsequente dilatação e aumento da circulação sangüínea capilar (Jones *et al.*, 2000).

Com a abertura de todos os capilares, a quantidade de sangue que passa no local aumenta. As vênulas menores se tornam dilatadas, mas as maiores sofrem pequena constrição, aumentando a pressão hidrostática na microcirculação (Brasileiro Filho *et al.*, 1996). As forças que mantêm as trocas normais de fluidos (lei de Starling) ficam conturbadas e o aumento da pressão hidrostática vascular resulta na exsudação de um fluido rico em proteínas para o espaço intersticial (Jones *et al.*, 2000).

2.4.3.2. RESPOSTA CELULAR

A fase de debridamento começa por volta de 6 horas após o trauma e dura por mais de 12 horas. A duração dessa fase é diretamente proporcional à quantidade de restos celulares, ao tamanho da lesão e ao grau de contaminação da ferida (Auer, 1992).

O fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) é quimiotático para as células inflamatórias, inclusive polimorfonucleares e monócitos. Um papel do fator de crescimento derivado das plaquetas consiste em mediar o recrutamento das células inflamatórias até os locais lesionados, dando assim início ao processo de cicatrização (Slatter, 1998).

Estudos verificaram que o fator de crescimento derivado das plaquetas tem efeito quimiotático sobre os fibroblastos e que este fator pode mediar o recrutamento de tais células até às feridas (Huang *et al.*, 1988).

O primeiro evento é a *marginção leucocitária*, processo em que os leucócitos deixam o centro da coluna sangüínea e passam a ocupar a superfície endotelial (fenômeno de rolamento) e finalmente migram através da parede das vênulas, passando entre as células endoteliais por um processo passivo (Brasileiro Filho *et al.*, 1996).

Inicialmente, as células predominantes são os leucócitos polimorfonucleares (PMN), cujo papel principal é a destruição de bactérias, mas fagocitam também os detritos celulares (Slatter, 1998). Os macrófagos, mastócitos, eosinófilos, linfócitos e plasmócitos também são atraídos para o local da lesão. Em contraste com o papel desempenhado pelos neutrófilos nos processos de reparo, o subsequente influxo de macrófagos até a área da lesão é, isoladamente, o elemento mais crítico na indução dos mecanismos de reparo. Macrófagos derivados de monócitos começam a acumular-se no local da ferida entre 2 a 5 dias após a lesão. O papel destas células é ajudar os neutrófilos na fagocitose de microorganismos e debris teciduais, bem como na remoção

de neutrófilos exauridos. Mais importante ainda, os macrófagos liberam diversos fatores de crescimento e citocinas, que são importantes na manutenção da reação inflamatória e na iniciação, maturação e controle do processo de cura da ferida (Jones, *et al.*, 2000). Todo processo de migração dos leucócitos depende da liberação de substâncias quimiotáticas, que são capazes de orientar o movimento de células através de um gradiente de concentração (Brasileiro Filho *et al.*, 1993; Banks, 1992).

Vinte e quatro horas após a agressão, a exsudação, especialmente de macrófagos monócitos, já está plenamente constituída e suas células invadem o coágulo com velocidade de 0.2mm/dia, iniciando a digestão dos coágulos e tecidos mortos (Bogliolo, 2004). Em 48 horas os fibroblastos do tecido conjuntivo das margens tornam-se ativados, proliferam, migram em direção ao coágulo em reabsorção e começam a sintetizar os componentes da matriz extracelular (Brasileiro Filho *et al.*, 1993).

A duração do estágio inflamatório depende de vários fatores: o grau de contaminação, a extensão do tecido lesado e a presença de infecção. Uma ferida limpa, na qual não há agentes microbianos presentes, pode ser caracterizada por atingir o pico de resposta inflamatória em 3 a 4 dias. A progressão da regeneração é acompanhada pela diminuição gradual e contínua das células inflamatórias (Banks, 1992).

2.4.4. FASE DE PROLIFERAÇÃO

Segundo (Brasileiro Filho *et al.*, 1993), é a segunda etapa do processo de cicatrização. Ocorre após a reação inflamatória inicial e compreende os seguintes estágios: granulação, epitelização e contração. A granulação é a formação de um tecido novo, composto de novos capilares (angiogênese), da proliferação e da migração dos fibroblastos responsáveis pela síntese de colágeno (Stashak, 1991). Ao final ocorre a epitelização, que se constitui na etapa que levará ao fechamento da superfície da ferida, por meio da multiplicação das células epiteliais a partir das bordas, ocorre redução da capilarização e aumento do colágeno produzido. Alguns fibroblastos desenvolvem a capacidade de se mover entre os materiais da matriz por mecanismos contráteis, a contração reduz o tamanho da ferida, sob a ação dos chamados miofibroblastos (Banks, 1992).

2.4.4.1. ANGIOGÊNESE E NEOVASCULARIZAÇÃO

A neovascularização ocorre simultaneamente com o crescimento centrípeto dos fibroblastos a partir das margens da ferida. Com a lesão da microvasculatura no local da ferida e com a formação de um trombo avascular, o tecido situado no centro da lesão fica isquêmico e a hipóxia torna-se a força propulsora subjacente à elaboração, pelos macrófagos, dos fatores de crescimento, mais notavelmente os fatores de crescimento dos fibroblastos (FGFs) que favorecem tanto a migração dos fibroblastos como a angiogênese (Jones *et al.*, 2000).

As células endoteliais dos capilares intactos surgem através da membrana basal da parede vascular e a partir das margens da ferida, em seguida, migram na direção do espaço ocupado pela ferida, utilizando como substrato a matriz extracelular e diferenciam-se formando novos tubos capilares. O broto capilar une-se ao capilar genitor para que, então, se restabeleça o fluxo sanguíneo (Bogliolo, 2004).

Desse modo, logo após a exsudação dos fagócitos, um tecido conjuntivo vascularizado cresce, preenchendo o espaço antes ocupado pelo coágulo. Esse tecido conjuntivo frouxo, rico em capilares sanguíneos, contendo leucócitos e matriz extracelular formada por fibras colágenas finas (colágeno tipo III) ácido hialurônico e moderada quantidade de proteoglicanos, recebe o nome de tecido de granulação (Brasileiro Filho *et al.*, 1993).

A infiltração capilar da ferida em cicatrização é importante para assegurar o fornecimento ótimo de oxigênio para os fibroblastos, sem o qual não poderiam sintetizar de forma adequada o colágeno (Scott *et al.*, 1995).

2.4.4.2. FIBROPLASIA

Com a ativação de macrófagos na ferida e com a elaboração de fatores de crescimento específicos, a matriz extracelular pode começar a ser substituída por um tecido conjuntivo mais forte e mais elástico, rico em colágeno e células fibrilares alongadas, contendo núcleos hipercromáticos roliços e ovóides que se distribuem no local formando feixes ou fascículos e são denominados fibroblastos (Jones *et al.*, 2000).

Segundo Slatter (1998), os fibroblastos formam o elemento celular mais importante, pois são responsáveis pela síntese de colágeno e acompanham o endotélio proliferado. Os fibroblastos depositam grandes quantidades de fibronectina na ferida que é usada como uma espécie de “molde” para a produção e deposição de fibroblastos

e de colágeno, de modo que, à medida que a ferida vai avançando em seu processo de maturação, os proteoglicanos e a fibronectina são cada vez mais substituídos pelo colágeno, o principal componente estrutural da cicatriz.

Os fibroblastos são mais ativos em uma ferida por volta dos 14 a 21 dias e avançam ao longo das linhas de fibrina dentro de um coágulo e ao longo dos capilares que estão crescendo dentro de uma ferida. Inicialmente, a fibrina, os fibroblastos e novas fibras colágenas são orientadas verticalmente numa ferida, mas após 6 dias são orientados de forma horizontal, paralela à superfície da ferida (Scott *et al.*, 1995). Esse alinhamento se deve à força de tensão produzida pela ferida (Slatter, 1998).

Ao mesmo tempo em que o colágeno está sendo produzido, alguns fibroblastos diferenciam-se em células contráteis chamadas *miofibroblastos*. Estas células produzem colágeno, mas contêm fibrilas musculares que se unem umas às outras para a obtenção de ponto de apoio no tecido de granulação começam a exibir características estruturais e funcionais similares às células do músculo liso. De acordo com Banks (1996) essas células são responsáveis pelo fenômeno de contração da ferida, um processo em que o tamanho do espaço ocupado pela ferida é diminuído pela aproximação de suas margens. Entretanto as contrações excessivas podem gerar cicatrizes que causam perdas funcionais e deformidades estéticas (Tateshita *et al.*, 2001).

A fase fibroblástica da cicatrização do ferimento se prolonga por 2 a 4 semanas, dependendo da ferida. Com o aumento do conteúdo de colágeno, diminuem os conteúdos das glicoproteínas e mucopolissacarídeos, bem como dos fibroblastos sintetizadores. Os capilares começam a regredir e a velocidade de produção do colágeno cai, terminando por se equilibrar com a velocidade de destruição desta proteína, marcando o fim do estágio de reparação (Scott *et al.*, 1995; Slatter, 1998).

2.4.4.3. EPITELIZAÇÃO

Nesta fase da ferida verifica-se a migração celular somente sobre tecidos viáveis. Ésta migração é auxiliada por diferentes substratos, como ativadores da colagenase e plasminogênio, assim como a presença de fibronectina, que promove a adesão de células ao colágeno (Alison, 1992).

Os estímulos responsáveis por essa migração são os mesmos atuantes nos fibroblastos, ou seja, fatores de crescimento, particularmente, o fator de crescimento epidérmico (EGF) (Jones *et al.*, 2000).

A proliferação e migração epitelial são os primeiros sinais óbvios de reconstrução e reparação. A reepitelização do defeito epidérmico começa dentro de 24 horas após a lesão e continua durante a formação do tecido de granulação (Scott *et al.*, 1995).

O fenômeno que determina o deslocamento das células através do restante da lâmina basal ou ao longo dos depósitos de fibrina é denominado orientação por contato. Como ocorre com os fibroblastos, as células epiteliais migratórias interrompem seu movimento quando entram em contato com uma célula semelhante (inibição por contato). À medida que o epitélio sofre espessamento, as células tornam-se mais colunares e a atividade mitótica aumenta. Ocorre queratinização nas células epiteliais mais superiores da ferida, e a “casca da ferida” suprajacente afrouxa e é desalojada (Slatter, 1998).

O novo epitélio possui uma superfície lisa com ligação fraca ao tecido conjuntivo, de forma que pode ser facilmente traumatizado. Com o passar do tempo, novas glândulas sebáceas e folículos pilosos podem regenerar-se por diferenciação de células migrantes (Scott *et al.*; 1995).

2.4.5. MATUREZAÇÃO E REMODELAGEM

Para Stashak (1991) é a terceira etapa do processo de cicatrização. Trata-se de um processo lento, que inicia-se com a formação do tecido de granulação e da reorganização das fibras de colágeno proliferado, estendendo-se por meses após a reepitelização. É responsável pelo aumento da força de tração.

A resistência de uma cicatriz conjuntiva fibrosa pode ser atribuída à deposição de colágeno e à remodelagem das fibrilas de colágeno onde são formados feixes maiores dessa proteína, com maior número de ligações covalentes transversais entre as fibrilas. A formação dessas fibras maiores de colágeno, apresentando uma quantidade significativa de ligações cruzadas entre as fibrilas, explica a grande resistência tênsil inerente às cicatrizes (Stashak, 1991; Slatter, 1998).

O processo de remodelagem da cicatriz envolve a contínua produção, digestão, agregação e orientação das fibrilas e fibras de colágeno. Dependendo da natureza e direção das tensões aplicadas ao tecido, essas fibras de colágeno são subsequentemente digeridas pela enzima colagenase e depositadas novamente em arranjos similares aos ocorrentes no tecido adjacente não afetado. À medida que vai ocorrendo a remodelagem

da cicatriz, as fibras de colágeno ficam orientadas paralelamente às forças direcionais aplicadas sobre elas (Brasileiro Filho *et al.*, 1993; Banks,1996).

Durante a remodelagem ocorre à diminuição da atividade celular e do número de vasos sanguíneos, perda do núcleo dos fibroblastos, levando à maturação da cicatriz (Slatter, 1998).

Inicialmente, a cicatrização tem aspecto plano; posteriormente, enrijece-se e se eleva. Após um determinado tempo, a cicatriz se torna mais clara, menos rígida e mais plana e ocorre a sua redução. Apesar de ocorrer um aumento de resistência da cicatriz por um tempo prolongado, ela permanece 15% a 20%, mais fraca que o tecido vizinho (Auer, 1992).

2.5. CICATRIZAÇÃO POR PRIMEIRA INTENÇÃO

É aquela onde as bordas da ferida são aproximadas por suturas cirúrgicas e a cicatrização ocorre sem contaminação bacteriana significativa e com perda mínima de tecido (Cotran & Robbins, 1996).

2.6. CICATRIZAÇÃO POR SEGUNDA INTENÇÃO:

A cicatrização por segunda intenção ocorre nas lesões com grande perda de tecido, com exsudato abundante ou em feridas com margens traumatizadas ou naquelas em que não houve junção das margens (Bogliolo, 2004). A cicatrização por segunda intenção difere da de primeira intenção por vários aspectos: inevitavelmente, grandes defeitos tissulares, inicialmente, têm mais fibrina e mais restos necróticos e exsudatos que devem ser removidos. Por via de conseqüência, a reação inflamatória é mais intensa (Alison, 1992; Casaubon, 1993) e forma-se uma quantidade muito maior de tecido de granulação (Mac Sween & Whaley,1992).

Nas grandes feridas abertas, todos os estágios do reparo epitelial ocorrem simultaneamente. Inicialmente, a migração epitelial é rápida, mas à medida que as células migratórias se deslocam para locais mais distantes da borda da ferida, o epitélio se torna uma monocamada e progride mais lentamente (Slatter, 1998).

De acordo com Cotran & Robbins (1996), a contração das feridas contribui bastante para o reparo dos defeitos de grande superfície.

2.7. FATORES QUE INTERFEREM NA CICATRIZAÇÃO

Segundo Mac Sween & Whaley (1992), os fatores que podem afetar a eficiência da cicatrização, são classificados como locais e sistêmicos. Os fatores locais são: infecção, irrigação pobre, movimentação excessiva, presença de corpo estranho e tecido desvitalizado e irradiação ionizante. Entre os sistêmicos destacam-se os fatores nutricionais. A carência de proteínas, vitamina C e o zinco causados por desnutrição, má absorção gastrointestinal e dietas inadequadas pode comprometer a evolução do processo de cicatrização. Outros fatores de origem sistêmica são, diabetes mellitus, tratamentos com corticosteróides, doenças hematológicas, neutropenia, falência renal, tumores, caquexia, entre outros fatores, (Probst, 1993; Scott *et al.*, 1995; Ellinson, 1996). A obesidade dificulta a movimentação e a deambulação, levando ao sedentarismo, o que pode provocar transtornos circulatórios, que dificultam a cicatrização de feridas. (Mac Sween & Whaley, 1992).

A pressão contínua sobre a área lesada por proeminências ósseas, calosidades e/ou imobilização contínua, conduz à interrupção do suprimento sanguíneo, impedindo que o fluxo de sangue chegue aos tecidos (Scott *et al.*, 1995).

Na infecção, a presença de corpos estranhos e tecidos desvitalizados ou necróticos prolongam a fase inflamatória do processo de cicatrização, provocam a destruição do tecido, inibindo a angiogênese, retardando a síntese de colágeno e impedindo a epitelização. Esses devem ser removidos por processo mecânico ou autolítico, para que ocorra a fase reparadora (Stashak, 1991).

O edema interfere na oxigenação e na nutrição dos tecidos em formação, impede a síntese do colágeno, diminuindo a proliferação celular e reduzindo a resistência dos tecidos à infecção (Mac Sween & Whaley, 1992).

O uso de agentes tópicos inadequados, como os corticosteróides, também pode retardar a epitelização e a granulação e provoca a citólise. Como exemplos, podem ser citados os degermantes e anti-sépticos tópicos derivados do permanganato, do iodo e sabões. Os antibióticos locais como neomicina, bacitracina, gentamicina podem desenvolver a resistência bacteriana e ainda, têm a capacidade de induzir reações de hipersensibilidade que retardam o processo de cicatrização (Dealey, 1996; Novato, 2000; Gomes, 2000).

Gomes (2000) ressaltou que o tecido de granulação é constituído de capilares que são frágeis e sensíveis a pequenos traumas, sendo mais lábeis que o epitélio normal. A técnica de curativo pode ocasionar trauma mecânico, provocado pela limpeza

agressiva (atrído com gaze, jatos líquidos com excesso de pressão), coberturas secas aderidas ao leito da ferida e,ou, inadequadas que interferem no processo da cicatrização e retardam a cura.

O uso de medicamentos sistêmicos, como os antiinflamatórios, retarda a resposta inflamatória da primeira fase do processo de cicatrização (Arrieta, 2001). Os imunossupressores, os quimioterápicos e a radioterapia são fatores que podem eliminar as respostas imunes e reduzir a cicatrização. A quimioterapia interfere na síntese de fibroblastos e na produção de colágeno (Stashak, 1991; Slatter, 1998).

O estresse, a ansiedade e a depressão têm sido identificados como fatores de risco para o agravamento e,ou, retardamento da cicatrização, pois provocam alterações hormonais, inibem o sistema imunológico, diminuem a resposta inflamatória e reduzem o processo fisiológico da cicatrização (Stashak, 1991).

2.8. PRÓPOLIS

A própolis é uma resina de coloração e consistência variada coletada pelas abelhas do gênero *Apis mellifera* de diversas partes das plantas como brotos, botões florais e exsudatos resinosos. As abelhas coletoras trazem as resinas nas corbículas (espécie de cestas com longos pêlos junto às patinhas traseiras). Na colméia as abelhas misturam a cera e a própolis coletada juntamente com a enzima 13-glicosidase, presente na sua saliva, acarretando a hidrólise dos flavonóides glicosilados em flavonóides agliconas (Marcucci, 1995).

Possui como caracterização física e sensorial: cor variável desde a amarela, parda, esverdeada clara ao pardo escuro, aroma característico (balsâmico e resinoso), cujos constituintes voláteis, reduzem também a aeroflora no interior da colméia. Dependendo da origem botânica, seu sabor pode variar de suave a forte, amargo a picante sendo sua consistência maleável à ligeiramente rígida, à temperatura ambiente, e rígida, em temperaturas abaixo de 20°C (Peppeljnjak *et al.*, 1985; Apacame, 1999).

Na colméia as abelhas utilizam a própolis como material de construção e para reparação de frestas na estrutura da colméia, para que o ambiente se mantenha hermeticamente fechado e para impedir a entrada de outros insetos. Aqueles insetos invasores que as abelhas não conseguem retirar da colméia são totalmente recobertos de própolis, constituindo-se numa espécie de embalsamamento que impede a decomposição pútrida (Ghisalberti, 1979).

Sabe-se que a própolis já era usada pelos sacerdotes do Egito e pelos gregos, que deram origem a seu nome “Pro” significando diante e “polis”, cidade –diante da cidade, por ser sempre encontrada na porta de entrada e saída das abelhas na colméia (Ghisalberti, 1979).

2.8.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A composição química da própolis varia de região para região, sendo que a proporção e tipos de substâncias nela encontrada se alteram dependendo do local da coleta (Marcucci, 1995). Sua composição química inclui 55% de resinas e bálsamos, 30% de ceras, 10% de óleos voláteis e 5% de pólen (Nikolaev, 1975; Matsuno, 1994).

Os principais compostos se encontram distribuídos nas seguintes classes: ácidos graxos, ácidos fenólicos e seus ésteres, flavonóides (flavonas, flavononas, flavonóis, dihidroflavonóis, chalconas), terpenos, β -esteroides, aldeídos aromáticos e álcoois, sesquiterpenos, naftaleno e derivados do estilbeno (Bankova *et al.*, 1983; Greenaway *et al.*, 1990, Marcucci, 1995).

As vitaminas B1, B2, B6, E, C e minerais como, manganês, ferro, cálcio, alumínio também já foram identificados em amostras de própolis (Marcucci, 1995), assim como açúcares como a arabinose, frutose, glicose, sacarose e maltose (Bonvehi *et al.*, 1994).

Existe uma grande dificuldade para a padronização de sua composição que se deve a fatores como localidade, época do ano e clima, que exercem influência sobre as plantas visitadas pelas abelhas e conseqüentemente sobre a constituição da própolis (Cheng, 1996).

Segundo (Banskota *et al.*, 1998) e (Banskota *et al.*, 1999), as prováveis fontes de própolis no Brasil, dependendo da região, seriam as plantas: *Baccaris dracunculifolia*, *Clusia minor*, *Clusia major*, *Eucalyptus citriodora*, *Auracaria angustifolia* e *Araucária heterophylla*.

O esforço para a completa elucidação da constituição química das amostras de própolis está diretamente relacionado à necessidade, tanto do controle de qualidade das preparações comerciais oferecidas à população, quanto da validação das propriedades biológicas da resina (Park *et al.*, 1998).

2.8.2 ATIVIDADES TERAPÊUTICAS DA PRÓPOLIS

Na medicina popular, a própolis tem sido utilizada pela população de inúmeros países por suas propriedades antibacteriana, antiviral, fungicida, antitumoral, cicatrizante, antioxidante, antiprotozoária, entre outras, e tem recentemente atraído a atenção dos pesquisadores pela riqueza de sua constituição química e suas propriedades biológicas (Bankova *et al.*, 1999).

As abelhas secretam uma resina com um extraordinário poder antibiótico que as defende contra qualquer ataque de bactérias ou de vírus. Esta pesquisa feita pelo Dr. Remy Chauvin comprovou que esse antibiótico não oferece capacidade de resistência por parte dos vírus e bactérias, pois os constituintes possuem um padrão de absorção e distribuição e excreção que assegura os níveis bactericidas pelo tempo necessário à cura (Shub *et al.*, 1978).

Segundo estudos realizados por Mirzoeva *et al.*, (1997), a própolis afeta a motilidade e a quimiotaxia das bactérias, que são importantes fatores de virulência por guiar a bactéria aos seus sítios de aderência e invasão no hospedeiro. A ação antimotilidade dos componentes da própolis tem importante função na inibição da patogênese bacteriana e no desenvolvimento de infecções (Mirzoeva *et al.*, 1997).

A própolis tem atividade antibacteriana contra os germes gram-positivos ativos como *Staphylococcus aureus* e *epidermis*, o *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei* e o *Proteus vulgaris*, propriedades antifúngicas, e também um efeito importante na regeneração dos tecidos, além da ação anestésica acentuada (Marcucci, 1995).

Diferentes estudos têm demonstrado a atividade antioxidante da própolis, (Said 2001). (Matsushige *et al.*, 1996), comprovou a atividade antioxidante no extrato aquoso da própolis. Componentes como flavonóides e o CAPE (ácido caféico) foram apontados como os responsáveis por esta atividade.

(Tatefuji *et al.*, 1996), isolaram seis compostos derivados do ácido caféico, do extrato aquoso de própolis brasileira, com a capacidade de aumentar a migração e mobilidade de macrófagos.

Outra atividade biológica atribuída à própolis é quanto à sua ação anti-inflamatória. Em experimentos conduzidos utilizando-se cobaias, verificou-se que os extratos de própolis apresentaram resultado comparado a uma droga padrão comumente utilizada no tratamento de doenças inflamatórias, chamada diclofenac (Khayyal *et al.*, 1993).

Um outro estudo realizado por (Park *et al.*, 1998), utilizando diferentes concentrações de álcool para preparação dos extratos de própolis e avaliando sua relação com a enzima hialuronidase, que é responsável por muitos dos processos inflamatórios conhecidos atualmente, observou-se que a própolis inibiu de forma considerável a atividade dessa enzima. A concentração ideal de etanol para a preparação do extrato que apresentou a maior inibição foi de 80%.

A própolis tem se apresentado como um estimulante de vários sistemas enzimáticos do metabolismo de células, da circulação e da formação de colágeno e tem melhorado satisfatoriamente a cicatrização de feridas por queimadura (Ghisalberti, 1979).

Em um outro estudo, investigou-se a ação imunomodulatória de um derivado hidrossolúvel da própolis (Water Soluble Derivative –WSD) natural da Bulgária. Dimov *et al.*, (1991) mostraram, em infecções experimentais por *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, em camundongos, que o WSD estimulou macrófagos peritoniais a produzirem a interleucina-1. No entanto, o WSD não foi capaz de desencadear a proliferação de linfócitos. Tal fato sugere que o WSD aumenta a defesa não específica do hospedeiro por ativação de macrófagos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRA DE PRÓPOLIS

A amostra de própolis verde utilizada foi procedente do município de Itapeçerica, Minas Gerais, Sítio dos Chaves, produzida em colméias do sistema CPI (Coletora Própolis Inteligente) e coletada nos meses de maio e junho de 2002.

Esta amostra foi dividida em duas partes, com pesos iguais, para posterior utilização no processamento dos extratos aquoso e alcoólico.

3.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO

Inicialmente triturou-se 200g da amostra de própolis em recipiente de porcelana, em seguida acrescentou-se 500ml de água destilada.

A temperatura da solução formada foi elevada a 80°C e mantida por um período de 6 horas. Após este período procedeu-se à filtração do material em papel whatman #1, obtendo-se a primeira fração do extrato e resíduo. Este resíduo recebeu o tratamento anterior para se obter a segunda fração do extrato.

As duas frações dos extratos foram juntadas e posteriormente liofilizadas¹ (SAID, 2001).

3.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO ALCOÓLICO

Inicialmente triturou-se 200g da amostra de própolis em recipiente de porcelana, em seguida adicionou-se 400ml de álcool etílico 80°C.

A solução formada foi mantida à temperatura ambiente, sob agitação por 18h. Após este período procedeu-se à filtração do material em papel whatman #1, sendo a solução resultante parcialmente evaporada sob pressão reduzida² e posteriormente liofilizada¹ (SAID, 2001).

¹ Liofilizador Modelo TR 800, marca Metal Lux® Setor de Medicina Veterinária Preventiva-DVT/UFV.

² Evaporador rotativo à vácuo Modelo TE 120, marca Tecnal®-Laboratório de Biofármacos DBB/UFV.

3.4 PREPARO DA POMADA

3.4.1 PRÓPOLIS ALCOOLICO 5%

Em recipiente de porcelana foram adicionados 12,5g do extrato própolis alcoólico bruto, 125,0g de lanolina 50% e 112,5g de vaselina sólida qsp 250g.

A mistura foi mantida em banho-maria, à temperatura de 50°C, até sua completa homogeneização com auxílio de um pistilo.

O produto final foi acondicionado em recipientes plásticos de 50g.

3.4.2 PRÓPOLIS AQUOSO 5%

Em recipiente de porcelana foram adicionados 12,5g do extrato própolis aquoso bruto, 125,0g de lanolina 50% e 112,5g de vaselina sólida qsp250g.

A mistura foi mantida em banho-maria, à temperatura de 50°C, até sua completa homogeneização com auxílio de um pistilo.

O produto final foi acondicionado em recipientes plásticos de 50g.

As duas pomadas foram manipuladas em farmácia especializada³

3.5. ANIMAIS:

Para a realização desse experimento foram utilizados 20 coelhos sadios , machos ou fêmeas, adultos-jovens, da raça Nova Zelândia, brancos, com peso médio de 3,0kg, provenientes do Setor de Cunicultura do Departamento de Zootecnia da UFV. Os animais selecionados a partir de exames físicos e laboratoriais, foram divididos aleatoriamente em quatro grupos de cinco coelhos cada, segundo o tratamento:

1. animais tratados com pomada do extrato aquoso de própolis a 5%, aplicada topicamente 1 vez ao dia, (Grupo PA).
2. animais tratados com pomada do extrato alcoólico de própolis a 5%, aplicada topicamente 1 vez ao dia (Grupo PE).
3. animais tratados com a substância veículo aplicada topicamente 1 vez ao dia, (Grupo V).
4. animais controle, sem tratamento; (Grupo T).

³ Farmácia Real de Manipulação, Viçosa/MG.

Durante a condução do experimento os animais foram mantidos em gaiolas individuais, isoladas e higienizadas, alimentados com ração comercial balanceada para coelhos adultos, feno e água à vontade.

3.6. PRODUÇÃO DAS FERIDAS

Uma área medindo 8x8cm da região dorso lateral esquerda paralela ao eixo vertebral dos animais foi tricotomizada utilizando-se uma lâmina de barbear⁴.

Decorridos 48h do procedimento de tricotomia, a região foi devidamente preparada para a cirurgia, promovendo-se o desgorduramento com éter⁵ e anti-sepsia com povidine tópico⁶.

O protocolo anestésico constou de infiltração local, em linha, ortogonalmente, nas posições superior e lateral esquerda, da região tricotomizada, com o anestésico lidocaína⁷ na proporção 1/1(lidocaína/água destilada) sem vasoconstrictor.

Para a produção das feridas efetuou-se 5 (cinco) excisões cirúrgicas com um “Punch”⁸ (saca bocado) de 6mm de diâmetro na pele da região preparada do animal com espaçamento entre lesões de aproximadamente 2,0cm, permitindo assim delimitar cinco zonas distintas, conforme ilustra a Figura 02. Foram utilizadas como material para análises histopatológicas, as feridas de número 1, 2, 3 e 4, nos tempos de 2, 4, 7 e 12 dias, respectivamente. A ferida de número 5, eleita para testemunha em todas as observações e para representar a etapa final da cicatrização, foi examinada no 15º dia de coleta dos dados.

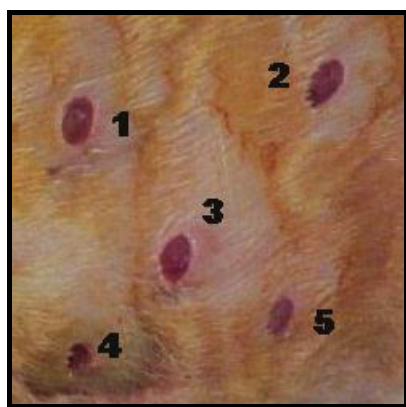


Figura 02 – Aspecto e identificação das feridas na região dorso lateral esquerda do animal logo após a cirurgia.

⁴ Lamina de barbear;marca Lord®. ⁵ Éter Sulfúrico marca, Prolinfar®, ⁶ Povidine Tópico 100ml, marca Johnson®,⁷ Lidocaína 50ml, marca Pearson® ⁸ Punch Acuderm,inc., marca Acu-punch®

As feridas dos animais de todos os grupos eram irrigadas diariamente, durante 15 dias utilizando-se frascos de 500ml de solução salina isotônica a 0,9%⁹ perfurado em sua base com agulha de 25x8mm descartáveis¹⁰ e mantido à uma temperatura ambiente. Após este procedimento secava-se a pele íntegra em torno da ferida usando-se gaze estéril, e aplicava-se com o auxílio de uma espátula de plástico uma fina camada de pomada sobre as feridas.

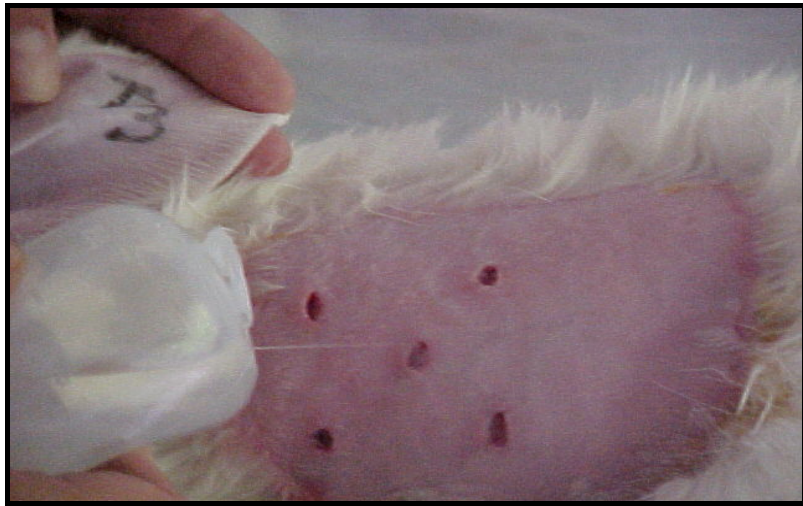


Figura 03- Limpeza da ferida com solução isotônica e secagem da pele

3.7. OBSERVAÇÃO CLÍNICA E MENSURAÇÃO DAS FERIDAS

As feridas foram mensuradas com auxílio de um paquímetro analógico¹¹ a partir da determinação de duas medidas do diâmetro, ortogonais entre si, adotando-se a média destes valores durante a cicatrização das feridas de todos os grupos. As observações clínicas e a determinação das medidas de diâmetro foram procedidas em etapa anterior aos procedimentos de lavagem e aplicação dos medicamentos. Para um melhor entendimento e descrição dos dados matemáticos relacionados à evolução das feridas e dos tratamentos, propôs-se a seguinte equação:

⁹ Soro fisiológico 500ml, marca DARROW®, ¹⁰ Agulha 25x8mm descartável, marca BD. ¹¹ Paquímetro Analógico, marca MITUTOYO

$$\text{ICRF} = (\phi_{\text{máx}} - \phi_{\text{observado}}) / \phi_{\text{máx}}$$

onde: ICRF = Índice Clínico de Recuperação de Feridas
 $\phi_{\text{máx}}$ = máximo diâmetro das feridas ($\phi_{\text{máx}} = \phi_{\text{punch}} = 6\text{mm}$)
 $\phi_{\text{observado}}$ = diâmetro lido, observada metodologia normalizada para sua determinação

A equação proposta retrata, de forma percentual, como as feridas evoluíram quando submetidas a cada tratamento aplicado, analisando-se a variação do diâmetro da ferida com o tempo, simultaneamente. Para tanto, quanto maior o ICRF melhor o desempenho do tratamento aplicado para um determinado período de tempo.

Os animais foram submetidos à avaliação clínica diária pela manhã e ao final da tarde quando as feridas eram observadas quanto ao grau de edema, características do exsudato, coloração e grau de aderência da crosta, durante toda a evolução do processo de cicatrização.

Para a coleta dos dados, foram determinados scores com a finalidade de se estabelecer uma comparação da evolução do processo cicatricial entre os grupos observados de acordo com a presença e intensidade do edema, exsudação e crosta.

Para a determinação da eficácia de cada tratamento, propôs-se ainda, a avaliação dos seguintes parâmetros:

- Edema
- Exsudato
- Crosta

Cada um dos parâmetros recebeu um valor numérico (score) com graduação de 1 a 3, definidos conforme a tabela 1.

Tabela 1. Score dos padrões clínicos adotados.

Edema	Exsudato	Crosta
0-1: Discreto	0-1: Discreto	0-1: Reduzida
1-2: Moderado	1-2: Moderado	1-2: Moderada
2-3: Intenso	2-3: Intenso	2-3: Grande

3.7.1 APRESENTAÇÃO DOS DADOS

Tabela 2. Apresentação dos dados

Valores Observados					
Coelhos (REP)	1	2	3	4	5
Dias (TEMPO)	2	4	7		
Tratamento (TRA)	1	2	3	4	

A tabela 2 agrupa a representação dos dados analisados no experimento, sendo que os cinco coelhos foram utilizados como repetições, em 4 tratamentos distintos, sendo:

- Tratamento 1= Própolis aquoso 5%
- Tratamento 2= Própolis etanólico 5%
- Tratamento 3= Vaselina
- Tratamento 4= Testemunho

Foram coletados dados, em três intervalos de tempo, (2, 4, e 7 dias) determinados de maneira a evidenciar os aspectos histológicos das lesões e sua evolução, quando submetidas aos diversos tratamentos propostos no experimento.

3.8. PROCEDIMENTO HISTOLÓGICO

Para acompanhar o processo de cicatrização cada uma das feridas foi coletada, usando-se Punch de 8mm (saca bocado) conforme descrição a seguir:

- ◆ A primeira foi coletada no 2° dia (48h) após a cirurgia (feridas T₁, PA₁, PE₁, V₁).
- ◆ A segunda foi coletada no 4° dia (96h) após a cirurgia (feridas T₂, PA₂, PE₂, V₂).
- ◆ A terceira foi coletada no 7° dia (168h) após a cirurgia (feridas T₃, PA₃, PE₃, V₃).
- ◆ A quarta foi coletada no 12° dia (288h) após a cirurgia (feridas T₄, PA₄, PE₄, V₄).
- ◆ A quinta foi coletada no 15° dia (360h) após a cirurgia (feridas T₅, PA₅, PE₅, V₅).

Os fragmentos de tecido colhidos foram fixados em solução de formalina tamponada por 24h.

Após a fixação, os fragmentos foram lavados em água corrente durante 30-60 minutos, procedendo-se em seguida à desidratação em álcool 70%, 80%, 90% e 100% por 24h, com uma repetição em dois banhos de xilol, por 2h cada ou até a diafanização do tecido.

Os fragmentos foram embebidos em parafina e mantidos em estufa a 58°C, durante 2h para logo serem incluídos no mesmo.

Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação manual¹², com espessura de 5µm e montados em lâmina de vidro para posteriormente serem corados segundo a técnica de hematoxilina e eosina e Tricômico de Gomori descrita por (Grimaldi Filho, 1981).

A análise histológica foi realizada no laboratório de histopatologia¹³ em microscópio de luz com objetivas 4X, 10X, 40X e 100X, e documentadas fotograficamente.

3.9. ANÁLISE DOS DADOS

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com 05 repetições (coelhos), 04 tratamentos (1 = própolis aquoso 5%, 2 = própolis etanólico 5%, 3 = vaselina e 4 = testemunho), em 03 tempos (02, 04 e 07 dias). Para a análise dos dados, foram utilizadas as médias dos diâmetros das feridas para a mesma posição, nas repetições adotadas como variável dependente. As médias foram comparadas pelo teste ANOVA e posteriormente testadas com aplicação do Teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Foram adotados os intervalos de tempo de 2, 4 e 7 dias.

Para a análise de regressão adotou-se o modelo quadrático como sendo o mais adequado à análise dos dados selecionados e suas interações.

A análise de regressão foi conduzida de forma a analisar também as interações TEMPO e TEMPO X TRATAMENTO justificadas pelo ANOVA.

¹² Micrótomo de rotação manual, laboratório histopatologia UFV

¹³ Laboratório de Histopatologia Veterinária-DVT/UFV

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para a variável TEMPO e a interação TEMPO X TRATAMENTO apresentaram-se como significativas pela análise de variância ANOVA), ANEXO A.

4.1. Diâmetro das Feridas

Os resultados das análises estatísticas referentes aos diâmetros das feridas encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Média do diâmetro da ferida.

	Tempo de Coleta		
	2 dias ⁽¹⁾	4 dias ⁽²⁾	7 dias ⁽³⁾
TRA			
PA	0,5660 ^a	0,4860 ^a	0,1760 ^a
PE	0,5060 ^a	0,4760 ^a	0,1700 ^a
V	0,5040 ^a	0,4360 ^{ab}	0,1440 ^a
T	0,3740 ^b	0,3960 ^b	0,1200 ^a

⁽¹⁾ Quadrado médio do resíduo = 0,0023925. ⁽²⁾ Quadrado médio do resíduo = 0,001605. ⁽³⁾ Quadrado médio do resíduo = 0,00379. Nível de 5% de significância. As médias seguidas de mesmo índice são iguais estatisticamente

Para o tempo de 2 dias, os tratamentos 1 (Própolis Aquoso 5%); 2 (Própolis etanólico 5%) e 3 (Vaselina e Lanolina) puderam ser considerados estatisticamente idênticos em desempenho; diferindo apenas do grupo testemunho que apresentou a menor média.

Para o tempo de 4 dias os tratamentos 1, 2, e 3 puderam ser considerados estatisticamente idênticos em seu desempenho; e ainda puderam ser considerados idênticos também, estatisticamente, os tratamentos 3 e 4.

Para a análise da variável DIÂMETRO, para o tempo de 7 dias, todos os tratamentos, analisados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância apresentaram desempenhos estatisticamente idênticos.

4.1.1. ANÁLISE DE REGRESSÃO

A análise de regressão considerou o modelo diâmetro (DIAM) em função do tempo (TEMPO). Adotou-se o modelo quadrático para a análise, por representar a opção matemática que melhor descreveu o fenômeno analisado.

Foram tomadas como variável dependente, o diâmetro das feridas e como variável independente, o tempo. Essa opção é validada e justificada pela significância indicada na ANOVA; além de ser o diâmetro das feridas o aspecto clínico que melhor representou o desempenho clínico dos tratamentos (Dealey, 1996).

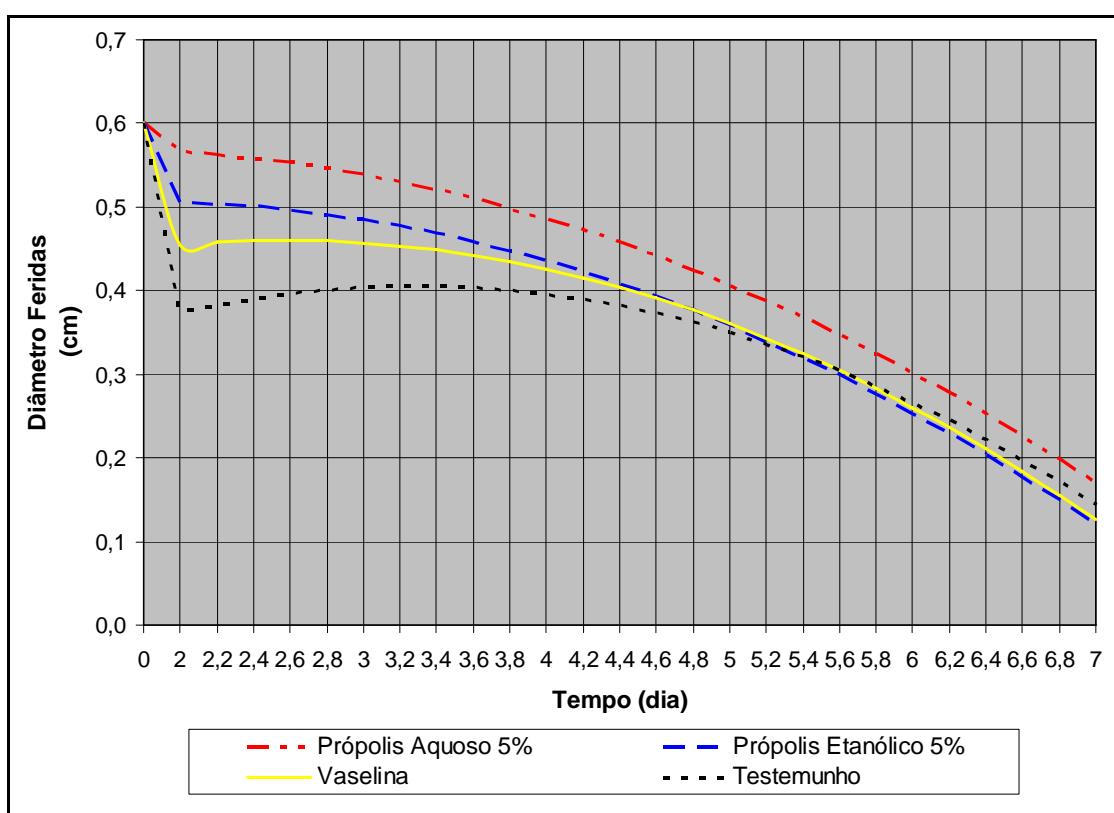


Figura 04 – Análise de Regressão segundo tratamento adotado, Viçosa 2004.

Os dados plotados no gráfico da Figura 04 representam o comportamento das feridas submetidas aos diversos tratamentos PA5%, PE5%, V e T.

Para o tempo de 0 dias, no instante imediatamente posterior à abertura das feridas com punch de 0,6cm, foram adotados diâmetros equivalentes ao diâmetro do instrumento de perfuração.

Observa-se que para o tempo de 2 dias, os grupos de animais submetidos ao tratamento T (testemunho) apresentaram maior redução no diâmetro das feridas, quando

analisados macroscopicamente, seguidos dos tratamentos V, PE5% e PA5%, nesta ordem.

Para o intervalo de tempo compreendido entre 2 e 4 dias, os tratamentos PA5% e PE5% indicaram redução de seus diâmetros, enquanto os tratamentos V e T apresentaram acréscimos em seus diâmetros .

Para o intervalo de tempo compreendido entre 4 e 7 dias pode-se observar uma convergência dos resultados. Para o intervalo de tempo compreendido entre 4 e 7 dias, os tratamentos PA5% e T indicaram diâmetros superiores aos apresentados pelos tratamentos PE5% e V.

4.1.2. Índice Clínico de Recuperação de Feridas

A Tabela 6 apresenta os dados utilizados para a determinação do ICRF. Foram analisados, nesse caso, os resultados preditos da análise de regressão para cada tratamento, em cada dia de observação.

Tabela 6. Resultado de análise de regressão segundo tratamento adotado e tempo de cicatrização.

Tempo (dias)	Tratamento			
	PA5%	PE5%	V	T
0	0,600	0,600	0,600	0,600
2	0,566	0,506	0,454	0,374
3	0,539	0,485	0,457	0,404
4	0,486	0,436	0,426	0,396
5	0,407	0,359	0,360	0,350
6	0,301	0,253	0,26	0,266
7	0,170	0,120	0,126	0,144

Os dados relativos ao índice adotado apresentam-se plotados à Figura 05, onde se destacam os parâmetros de observação aplicados à equação desenvolvida.

Tabela 7. Valores de ICRF segundo o tratamento adotado e o tempo de cicatrização

Tratamento		PA5%	PE5%	V	T
Tempo (dias)					
0		0	0	0	0
2		6	16	24	38
3		10	19	24	33
4		19	27	29	34
5		32	40	40	42
6		50	58	57	56
7		72	80	79	76

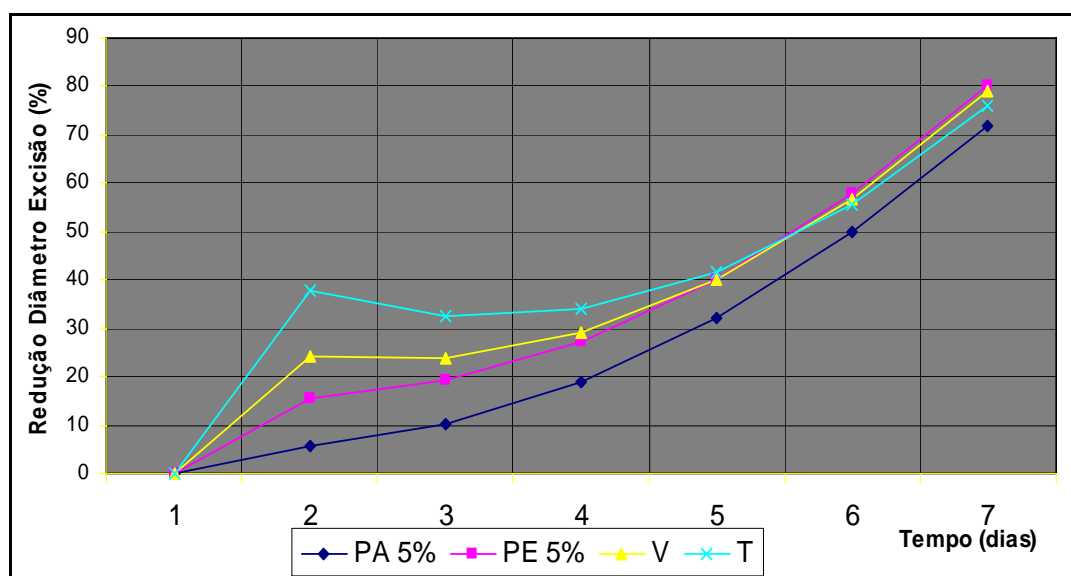


Figura 05 – Índice clínico de recuperação de feridas, segundo tratamento adotado, Viçosa 2004.

O ICRF descreve de forma percentual os resultados da evolução dos tratamentos, em relação ao tempo de cicatrização da ferida, cujos resultados apresentam-se descritos na Tabela 7.

As análises estatísticas para o **2º dia**, indicaram a redução do diâmetro da ferida como significativamente maior para o grupo T, seguida dos grupos V, PE5% e PA5% respectivamente.

Esses resultados demonstraram que o grupo testemunho apresentou redução em seu diâmetro muito superior aos demais grupos. Essa redução no diâmetro, segundo Oliveira, (1992), está relacionada à contração centrípeta sofrida nas bordas da ferida, em função da tensão elástica da pele circunjacente o que foi expressivamente maior no grupo testemunho.

Os resultados do presente trabalho, quanto à aplicação do ICRF, estão de acordo com aqueles de (Dealey, 1996; Novato, 2000) e confirmaram os resultados indicados pela aplicação do ICRF no grupo T, relativos ao comportamento das feridas. Esse comportamento deu-se à presença de uma crosta ressecada, com maior índice de contração dos tecidos da ferida, e, conseqüentemente, menor área, conforme constatação experimental. Em relação aos grupos PA5%, PE5% e V, a aplicação das pomadas, provavelmente, contribuiu de alguma forma para a manutenção da umidade da superfície da ferida, dificultando a desidratação local provocada pela ação do ar.

Pode-se considerar ainda que a utilização de um instrumento padrão punch para execução dos procedimentos cirúrgicos, buscou minimizar as interferências relativas às interações pertinentes ao grau de profundidade da ferida e tempo de cicatrização. A adoção de tal procedimento possibilitou a padronização e a determinação do grau II de profundidade para as feridas produzidas nos grupos de animais estudados (Dealey, 1996; Novato, 2000).

Para o **4^o dia**, as análises estatísticas indicaram a redução do diâmetro da ferida como significativamente maior para o grupo T, seguida dos grupos V, PE5% e PA5%. A disposição dos dados segundo o ICRF, indicaram o aumento do diâmetro das feridas do grupo T em comparação aos dias anteriores. A utilização de solução salina a 0,9%, removeu os debris por meio da força hidráulica do jato, sem contudo traumatizar a ferida. confirmando as observações de (Gomes, 2000), que afirmou ser a solução inócua às células do tecido de granulação, não apresentando toxicidade. No grupo T a aplicação deste procedimento foi essencial também para remoção da crosta da ferida, revelando assim seu real tamanho.

Nos demais grupos a permanência das pomadas sob as feridas contribuiu para a diminuição da contração e para a uniformidade das áreas ocupadas pelas crostas, uma vez que o veículo utilizado tem constituição oleosa, necessitando aplicação de técnicas de limpeza com auxílio de movimentos de fricção (Gomes, 2000) para a sua remoção, procedimento não aplicado neste experimento.

Os grupos PA5% e PE5%, apresentaram redução nos diâmetros das feridas, já a partir do terceiro dia, de forma uniforme, declinando ainda mais com o passar do tempo.

Observou-se neste trabalho que o tempo de duração do estágio inflamatório é função de fatores como; grau de contaminação, extensão do tecido lesado e presença de infecção. e que provavelmente tais fatores não interferiram no tempo do estágio inflamatório em nenhum dos grupos estudados alcançando sua máxima atividade no tempo de 3 a 4, estando de acordo com os achados de (Banks, 1992; Brasileiro Filho *et al.*, 1996; Bogliolo, 2004).

As análises estatísticas para o 7^o dia, demonstraram desempenhos idênticos e indicaram a redução do diâmetro de todas as feridas, de todos os grupos, de maneira uniforme. O fenômeno da aproximação das bordas da ferida, em função da contração cicatricial e conseqüente redução do diâmetro, deu-se possivelmente em função da atividade das células contráteis (*miofibroblastos*) que predominam durante a fase proliferativa da cicatrização e concordam com os achados descritos por (Banks, 1992; Bogliolo 2004).

4.2. OBSERVAÇÃO CLÍNICA

Para a determinação da eficácia de cada tratamento, propôs-se também, a avaliação de três parâmetros:

- Edema
- Exsudato
- Crosta

Para cada uma das características abordadas, foram adotadas as pontuações (Scores) de 1 a 3, que procuraram retratar, o comportamento destas características, quando da observação (ANEXO A). As pontuações impostas a cada uma das características, de forma não paramétrica e ordinal, foram estatisticamente modeladas a partir da aplicação do teste de Friedman, que permite a análise comparativa de 3 ou mais grupos de fatores dependentes, de modo a calcular uma estatística que indique diferenças existentes nos ordenamentos entre as situações experimentais.

Apresentam-se a seguir, nas Figuras 06, 07 e 08, os resultados relativos às observações clínicas dos tratamentos PA5%, PE5%, V e T.

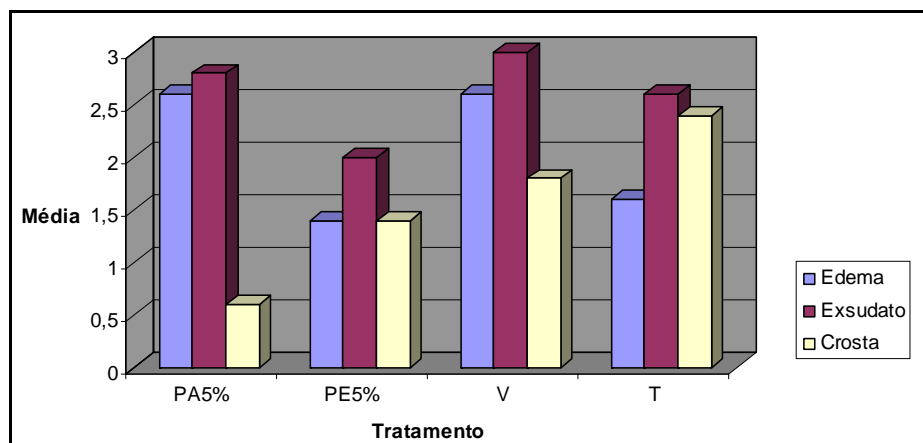


Figura 06 – Média dos parâmetros edema, exsudato e crosta, segundo o tratamento adotado e o tempo de cicatrização igual há dois dias, Viçosa 2004.

Nos grupos PA, V observou-se edema intenso, o que se justificou pelas mudanças vasculares ocorridas durante a fase inflamatória do processo de cicatrização, de acordo com (Slatter, 1993; Scott *et al.*, 1995; Brasileiro Filho *et al.*, 1996; Jones *et al.*, 2000). O grupo T e PE apresentaram edema discreto.

As mudanças vasculares referiram-se à primeira fase dos fenômenos da inflamação, onde as proteínas plasmáticas foram exsudadas pela ação da histamina no endotélio local.

A provável ação da histamina combinada a outros mediadores químicos liberados no local da lesão promoveu a vasodilatação e o aumento da permeabilidade capilar, o que favoreceu a retenção de líquido fora do vaso, induzindo, dentre outros fatores, alterações nas forças de “Starling”, responsáveis pela regulação da pressão hidrostática e oncótica intravascular e extravascular, que manteve o equilíbrio hemodinâmico. O resultado desta exsudação deformou os vasos linfáticos sobrecarregando a circulação linfática, reduzindo, dessa forma, a eficiência da drenagem e agravando ainda mais a retenção de água no interstício, favorecendo o agravamento do edema.

A paridade dos resultados apresentados para os escores dos parâmetros exsudato e edema concordam com os resultados publicados por (Bogliolo, 2004), que descreveu a proporcionalidade dos fenômenos vasculares exsudativos.

O tamanho da crosta variou em todos os grupos. Essa observação pode ser atribuída, nesta fase, ao maior ou menor grau de hemorragia da ferida, com conseqüente

formação de coágulo de fibrina e acúmulo de células mortas proporcionais ao grau de insulto (Banks, 1992).

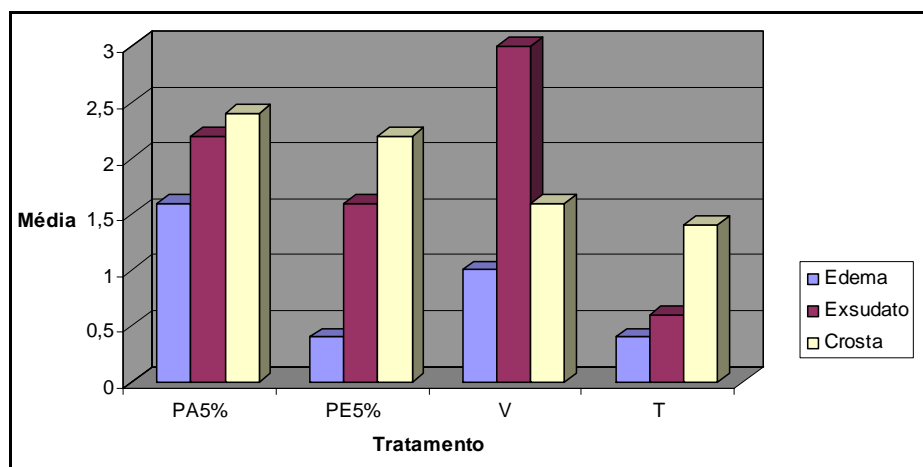


Figura 07 – Média dos parâmetros edema, exsudato e crosta, segundo o tratamento adotado e o tempo de cicatrização igual a quatro dias, Viçosa 2004.

Os achados relativos ao tempo de **4 dias** estabelecidos em função da análise dos Escores para os parâmetros edema e exsudato (fig. 09), revelaram que no grupo PA5% os parâmetros edema e o exsudato apresentaram-se como moderado a intenso respectivamente, o que provavelmente pode estar relacionado ao fato da própolis aquosa conter substâncias terapeuticamente ativas tais como flavonóides e seus derivados, atuarem como potente vasodilatador intensificando a ação dos mastócitos na fase vascular e exsudativa da inflamação (Matsushige *et al.*, 1995, Tatefugi *et al.*, 1996). Tais substâncias, possivelmente atuaram de forma a estimular a capacidade migratória dos macrófagos, e relaciona-se possivelmente a uma atividade estimulante da síntese de IL1 da própolis aquosa, e que estaria também, relacionada com o aumento da permeabilidade capilar local, favorecendo a exsudação de fagócitos e de proteínas plasmáticas estando de acordo com os achados de (Matsushige *et al.*; 1995; Tatefugi *et al.*, 1996; Abbas, 1998).

Em contraste, o grupo PE5% revelou intensa atividade anti-edematogênica quando comparado aos demais grupos. Trabalhos realizados por (Rossi *et al.*, 2002) revelaram o potencial do ácido caféico, obtido a partir dos extratos alcoólicos da própolis, na redução do edema induzido experimentalmente. Os resultados dessas observações revelaram atividade inibitória do ácido caféico em cobaias. Revelaram ainda a ação inibitória do ácido caféico sobre a síntese da enzima COX 1

(cicloxygenase) responsável por pela ativação de diversos endoperóxidos cíclicos (prostaglandinas) com ação vasodilatadora, que aumentaram a permeabilidade vascular, responsável em parte pela etiopatogênese do edema na fase aguda do processo inflamatório.

O grupo V apresentou um exsudato ainda superior aos demais grupos de tratamento, PA5%, PE5% e T. Tais achados deveram-se, provavelmente, à composição oleosa do produto aplicado. Esta hipótese está de acordo com as observações e diferenciações feitas por (Oliveira, 2000), quanto ao aspecto exsudativo conferido às feridas tratadas com pomadas à base de vaselina.

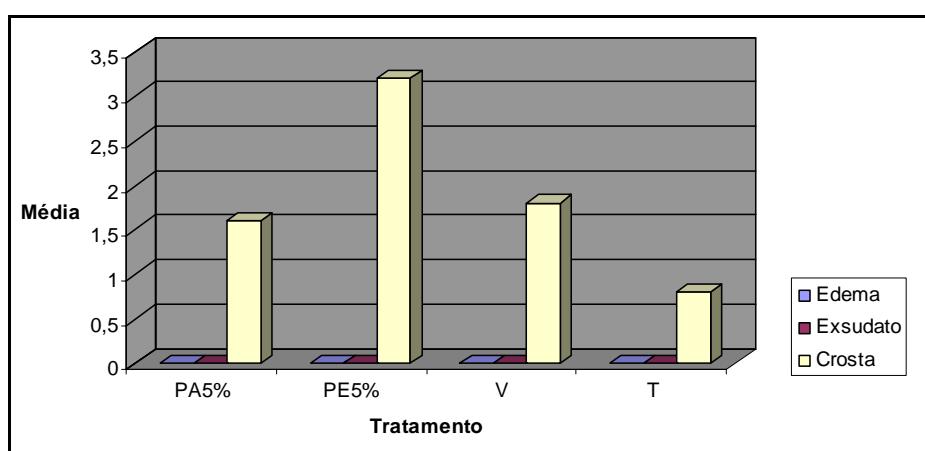


Figura 08 – Média dos parâmetros edema, exsudato e crosta, segundo o tratamento adotado e o tempo de cicatrização igual a sete dias, Viçosa 2004.

As análises conduzidas no tempo de **7 dias**, indicaram ser o tempo final de cicatrização igual para todos os grupos testados.

Demonstrou-se que o protocolo clínico utilizado proporcionou a obtenção de resultados satisfatórios, confirmando que nenhum dos fatores que interferem na cicatrização influenciaram os resultados finais da experimentação.

Podemos inferir também que as substâncias testadas PA5%, PE5% e V, não influenciaram os resultados, quando analisados qualitativamente. Os parâmetros *exsudato* e *edema* não foram significantes, indicando o final da fase vascular e exsudativa e subsequente avanço da fase proliferativa da cicatrização das feridas (Scott *et al.*, 1995; Banks, 1992).

Ryan (1990) citado por Gomes, (2000) afirmou que é a crosta responsável pelo ressecamento da ferida, dificultando sua oxigenação, e ainda que a hipóxia retarda a

formação do tecido de granulação e a migração das células epiteliais. Essas observações foram observadas neste trabalho, onde se demonstrou que a permanência da crosta e a uniformidade de sua evolução não interferiram na atividade migratória e proliferativa das células. Além disso, apesar da oxigenação da ferida ser fundamental em todas as etapas da cicatrização, a ferida não depende apenas do oxigênio disponível na atmosfera, mas principalmente da oxigenação proporcionada pelo restabelecimento da circulação sanguínea local, favorecendo o estabelecimento perfeito da barreira epidérmica sob a crosta.

Em observações clínicas durante a aplicação do protocolo de limpeza, pode-se constatar que todas as crostas se desprenderam com relativa facilidade, concordando e reforçando as observações de (Banks, 1992) para o sétimo dia de cicatrização. Tais achados concordam ainda com (Dealey, 1996), indicando que os macrófagos são capazes de remover a crosta, que desapareceu à medida que a cicatrização evoluiu.

4.3. ACHADOS HISTOLÓGICOS

4.3.1. 2º DIA PÓS –CIRURGICO

A análise histológica das amostras colhidas, das feridas dos animais PA5% e PE5% revelou a presença de uma crosta espessa, com formada principalmente por restos celulares e depósitos de fibrina, estando de acordo com as inferências feitas por (Dealey, 1996).

Nos animais do grupo V a crosta formada apresentava-se menos espessa, porém mais aderida à pele. Na avaliação da crosta dos animais do grupo T observou-se uma crosta delgada e com poucos depósitos de fibrina o que poderia estar relacionado ao fato de não haver sido utilizado nenhuma pomada nas lesões destes animais, não favorecendo desta forma o acúmulo destas substâncias no local da ferida.

O infiltrado inflamatório era ligeiro ou escasso em todos os grupos, com predominância de células do tipo polimorfonucleares, localizados principalmente na camada reticular e papilar da derme. Tendo estas células uma vida útil curta (máximo de 3 a 4 dias). os achados das amostras colhidas em 48 horas após a injúria, confirmaram o final do estágio inflamatório da lesão e concordam com os achados de (Peacock & Early, 1984; Banks 1996; Dealey, 1996), e, demonstraram desta forma que a ferida possuía condições adequadas para o desenvolvimento subsequente do processo de cicatrização.

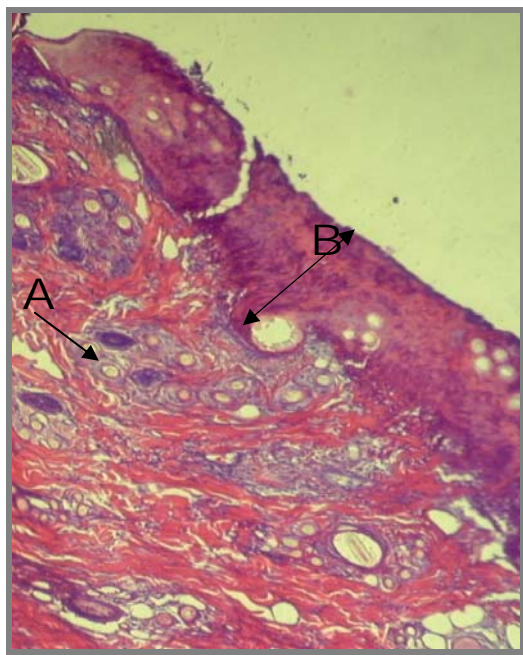


Figura 10. Histologia da ferida de um animal do grupo PE5% (H&E) (Aumento 10X) 2º dia de cicatrização. A letra **B**, indica a espessura da crosta formada. A letra **A** indica a migração dos anexos cutâneos para o 2º dia de cicatrização.

Observou-se a presença de anexos cutâneos lesados (folículos pilosos, glândulas sebáceas), na maioria dos grupos analisados que se encontravam circundados por células inflamatórias sendo direcionados e migrando em direção à ferida, figura 10. Poucos anexos nos diferentes grupos observados, já haviam sido expulsos e permaneciam aderidos à crosta. Características similares também foram encontradas nas amostras dos animais nos demais grupos.

De acordo com (Davidson, 1992), os folículos pilosos intactos são a maior fonte de reserva para as células epidérmicas durante a reparação de feridas (Kashayap *et al.*, 1995) afirma que animais de pele pilosa, como os coelhos e porquinho da índia, apresentam uma quantidade muito maior de folículos pilosos em comparação aos demais animais de uso experimental, figura 10, concordando com as observações feitas neste trabalho para o modelo animal utilizado, o que provavelmente contribuiu de forma considerável para evolução da fase proliferativa do processo de cicatrização das feridas.

Na maioria dos animais dos grupos PA5%, PE5%, V já havia a formação de focos iniciais de neovascularização, apesar de uma pequena minoria não apresentar formação de nenhum foco angiogênico. No grupo T somente 2 animais apresentavam focos escassos de neovascularização, diferindo dos achados dos demais grupos.

As características histológicas observadas nas feridas 48 horas após a lesão estão de acordo com (Casaubon, 1993; Steinbrech *et al.*, 1999), constatando que a partir do momento em que a inflamação aguda começa a ficar sob controle, o coágulo de fibrina é gradualmente substituído pelo tecido de granulação em desenvolvimento, figura 11. Desse modo, um tecido vascularizado cresce, preenchendo o espaço antes ocupado pelo coágulo. Esse tecido conjuntivo frouxo, rico em capilares sanguíneos, leucócitos e matriz extracelular é muito importante para assegurar o fornecimento de oxigênio para os fibroblastos, sem o qual não poderiam sintetizar de forma adequada o colágeno.(Scott *et al.*, 1995).

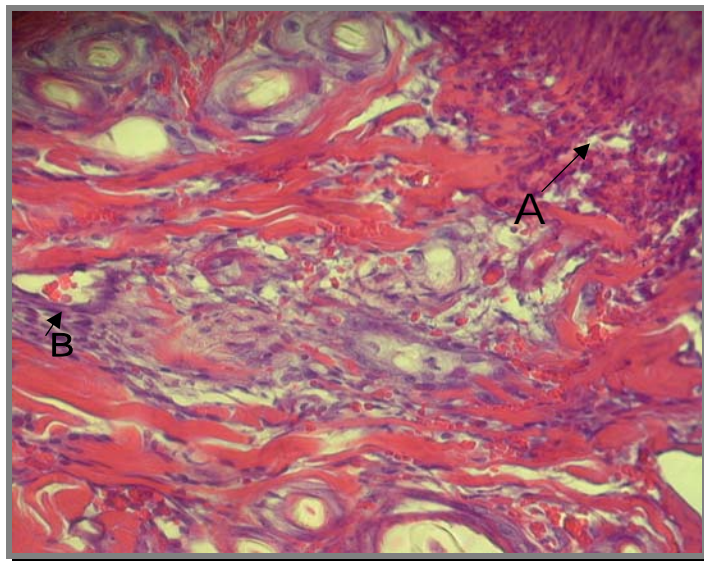


Figura 11. Histologia da ferida de um animal do grupo PE5% (H&E) (Aumento 40X). 2º dia de cicatrização. A Letra **A** indica a presença de células inflamatórias, aderidas á crosta. A letra **B** indica focos de neovascularização com a formação da rede de capilares na área lesada.

Nos grupos PA5% e PE5% as fibras predominantes eram do tipo colágena, o que pode ser evidenciado pela coloração especial de Tricômico de Gomori e encontravam-se depositadas de forma irregular e aleatória em toda região da derme.

A epitelização foi inicial na maioria dos animais (14) dos grupos avaliados. (Scott *et al.*, 1995) afirmaram que a proliferação e migração epitelial são os primeiros sinais óbvios de reconstrução e reparação. A reepitelização do defeito epidérmico começa dentro de 24 horas após a lesão e continua durante a formação do tecido de granulação.

4.3.2. 4º dia pós-cirúrgico

Embora a maioria dos animais dos grupos PA5%, PE5%, V e T apresentassem uma crosta espessa com características fibrinoleucocitárias, a crosta dos animais dos grupos V e T encontrava-se bem aderida ao tecido conjuntivo.

Nos animais dos grupos PE5% e PA5% a crosta encontrava-se “madura”, ou seja, desprendendo-se da lesão, indicando que a atividade migratória foi mais fácil nestes animais, provavelmente por influência da pomada de própolis aplicada.

De forma geral, as feridas apresentaram escassa infiltração de células inflamatórias. Os anexos já se encontravam sendo expulsos, na maioria dos animais de todos os grupos. Pode-se observar também que na maioria dos animais do grupo PA5% e do grupo V a circulação local já havia se restabelecido, com inúmeros focos de capilares se organizando em redes, localizados principalmente na camada reticular da derme e nas bordas da ferida, conforme observado por (Jones *et al.*, 2000). Estes autores afirmaram que a neovascularização ocorre simultaneamente com o crescimento centrípeto dos fibroblastos a partir das margens da ferida.

Através da coloração especial de Tricômico de Gômori (T/G) pode-se evidenciar que os animais do grupo PE5% e V, com maior predominância no primeiro grupo citado, apresentava inúmeros fibroblastos e muitas fibras colágenas, dispostas ainda de forma aleatória e irregular ao longo da lesão, formando no local uma rede de tecido conjuntivo fibroso, figura 13. Tais achados estão de acordo com (Rode *et al.*, 1983), que observaram que as feridas experimentais em coelhos tratadas com própolis alcoólica 5% apresentavam uma densidade maior de fibroblastos e maior proliferação de vasos sanguíneos indicando uma possível ação estimulante sobre macrófagos, o que provavelmente induziu a síntese de fatores de crescimento fibroblástico.

Nos animais dos grupos PA5% e T os fibroblastos eram escassos a discretos, contudo nestes animais as fibras colágenas já apresentavam uma tendência a alinhar-se paralelamente à superfície da lesão se organizando na linha de tração da ferida.

Em todos os grupos, a maioria das feridas apresentou epitelização inicial, com as células epiteliais migrando a partir dos anexos e principalmente a partir das bordas da ferida, para o foco da lesão.

Scott *et al.*, (1995), e Bogliolo, (2004), citaram que os eventos (inflamação, proliferação e remodelação) não ocorreram de forma isolada no tempo e que embora tivessem seu início em momentos sucessivos, outras ocorrências iniciavam-se apenas após o início da outra, sobrepondo-se muitas vezes, durante a evolução do processo de cicatrização.

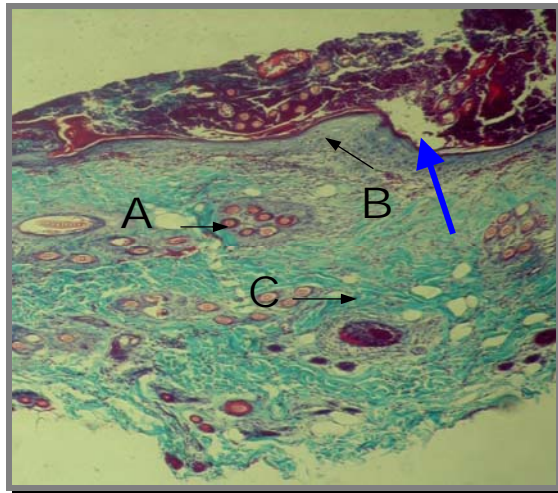


Figura 13 Histologia da ferida de um animal do grupo PE5% (T/G) (Aumento 4X). 4º dia de cicatrização. A letra **A** indica a os anexos cutâneos já organizados e funcionais. A letra **B** indica a epitelização completa apesar da não diferenciação do epitélio. A letra **C** indica a organização das fibras colágenas na área de tensão da ferida. A seta azul indica a crosta com focos de aderência ao epitélio.

4.3.3. 7º dia pós-cirúrgico

Na maioria dos animais de todos os grupos já não havia crosta, embora em dois animais do grupo PE5% e grupo T a crosta ainda estava presente, espessa e bem aderida. À medida que o epitélio sofre espessamento, a “casca da ferida” afrouxa e é desalojada (Slatter, 1993).

O infiltrado inflamatório era ausente, e a neovascularização já havia se restabelecido em todos os animais.

Os achados histológicos desta fase da cicatrização indicam que os fibroblastos depositaram grandes quantidades de fibronectina na ferida que foram usadas como uma espécie de “molde” para a produção e deposição de fibras de colágeno, de modo que, à medida que a ferida foi avançando em seu processo de maturação, os proteoglicanos e a fibronectina foram cada vez mais substituídos pelo colágeno, o principal componente estrutural da cicatriz. Ao mesmo tempo em que o colágeno era produzido, alguns fibroblastos diferenciaram-se em células contráteis, os *miofibroblastos*, importantes na fase de remodelação das feridas, pois induziram a contração das feridas a partir de suas margens através do movimento centrípeto exercido por estas células concordando com as observações feitas por (Thomson, 1983).

Importante comentar que em 2 animais do grupo V e um animal do grupo T a epitelização apesar de completa e com clara evidencição das camadas celulares, em alguns focos apresentava falhas especialmente nos locais onde havia resquícios de crosta figura 14. A observação minuciosa demonstrou que o epitélio já reconstruído havia sido arrancado, juntamente com a crosta desprendida, durante a manipulação e confecção do curativo, confirmando e estando de acordo com (Scott *et al.*, 1995), que relatou que o novo epitélio possui uma superfície lisa com ligação fraca ao tecido conjuntivo, de forma que poderia ser facilmente traumatizado, e que, com o passar do tempo, novas glândulas sebáceas e folículos pilosos poderiam regenerar-se por diferenciação de células migrantes o que se pode ser observado nesse experimento, onde o epitélio das bordas da ferida já se organizava, com células epiteliais alongadas e migrando das bordas em direção aos focos lesados para iniciar uma nova reconstrução da epitelização local.

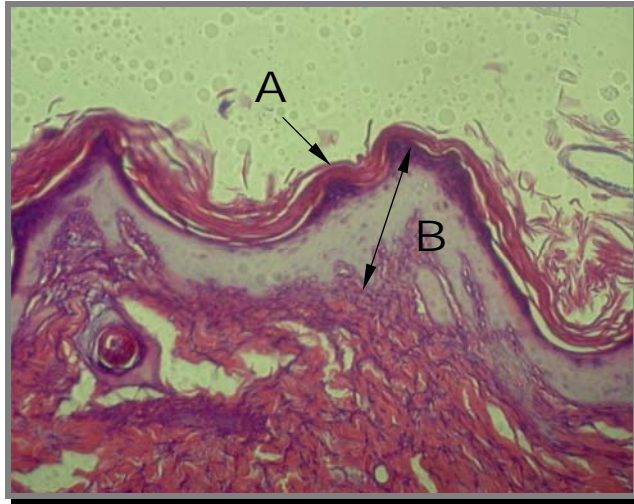


Figura 14. Histologia da ferida de um animal do grupo PA5% (H&E) (10X). 7º dia de cicatrização. A letra **A** indica a queratinização do epitélio com desprendimento de queratina. A letra **B** indica a completa reconstituição do tecido epitelial com clara diferenciação das camadas da epiderme.

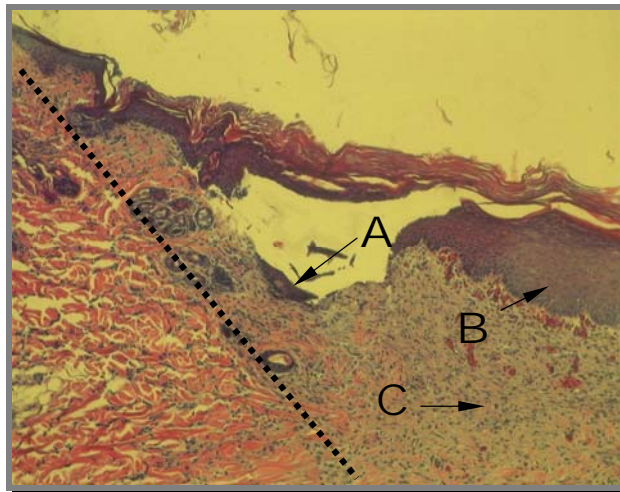


Figura 15. Histologia da ferida de um animal do grupo V (H&E) (10X). 7º dia de cicatrização. A letra **A** indica área de lesão recente, onde o epitélio foi removido. A letra **B** indicando borda íntegra com tecido epitelial já reconstituído. A letra **C** indicando a área que sofreu lesão antiga já substituída por tecido cicatricial fibroso. A linha pontilhada indica a área de transição entre o tecido normal e o tecido lesado estudado.

4.3.4. 12º dia pós-cirúrgico:

Com a neovascularização já restabelecida, os anexos organizados e funcionais os eventos mais marcantes eram a fibroplasia e a epitelização. O número e a intensidade das fibras colágenas depositadas era mais evidente nos animais do grupo PE5%, com

maior organização das fibras colágenas que já se encontravam alinhadas e dispostas paralelamente no local da lesão.

Outra importante observação refere-se ao número de fibroblastos presentes na ferida. Enquanto no grupo PE5% a presença destas células era muito intensa, os demais grupos apresentavam presença moderada de fibroblastos e estes se apresentavam ainda mais ativos. Os capilares começaram a regredir, e a velocidade de produção do colágeno caiu, terminando por se equilibrar com a velocidade de destruição desta proteína marcando o fim do estágio de reparação. Os achados estão de acordo com aqueles observados por (Scott *et al.*, 1995; Slatter, 1998).

A epitelização já havia se completado em todos animais e a organização de todas as camadas da epiderme já era evidente. Slatter (1993), relatou que o fenômeno que determina o deslocamento das células através da lâmina basal é denominado orientação por contato. Ainda conforme (Slatter, 1993), à medida que o epitélio sofre espessamento, as células tornam-se mais colunares e a atividade mitótica aumenta, ocorrendo diferenciação celular e queratinização nas células epiteliais mais superiores da ferida, conforme observado neste trabalho.

Vale ressaltar que aqueles animais, onde o epitélio parecia ter sido arrancado, durante esta fase da cicatrização o defeito já havia sido reparado, porém com o epitélio jovem e morfológicamente não diferenciado, contrastando com outros focos onde a epitelização já havia se completado e definiam-se claramente as camadas da epiderme.

4.3.5. 15° dia pós-cirúrgico:

A presença de fibroblastos era ainda mais intensa nos animais do grupo PE5%, porém nos animais do grupo PA5% o número destas células havia aumentado, tornando-se muito maior que nos dias anteriores. Pode-se observar ainda que o número de fibras colágenas e elásticas aumentou significativamente em todos os grupos e se mantiveram organizadas paralelamente no local da lesão.

Banks, (1996) e Brasileiro Filho *et al.*, (1993), relatam que à medida que ocorre a remodelagem da cicatriz, as fibras de colágeno ficam orientadas paralelamente às forças direcionais aplicadas sobre elas ocorrendo a contínua reorganização das fibras de colágeno que pode se estender por meses após a reepitelização haver se completado.

O processo de remodelagem da cicatriz, observada neste experimento, envolveu a contínua produção, digestão, agregação e orientação das fibrilas e fibras de colágeno.

A natureza e a direção das tensões aplicadas ao tecido, provavelmente direcionou as fibras de colágeno que, foram subseqüentemente degradadas pela enzima colagenase e depositadas novamente em arranjos similares aos ocorrentes no tecido adjacente não afetado, concordando com as observações de (Banks, 1992; Brasileiro Filho *et al.*, 1993; Stashak, 1991); que afirmam que esta reorganização é a responsável pelo aumento da força de tração conforme indica a figura 16.

A epitelização também já havia se completado em todos os animais, e, todas as camadas da epiderme já haviam sido definidas, podendo-se evidenciar a camada córnea bem espessa. As exceções eram os animais cujo epitélio formado havia sido arrancado provavelmente pela manipulação durante a execução dos curativos.

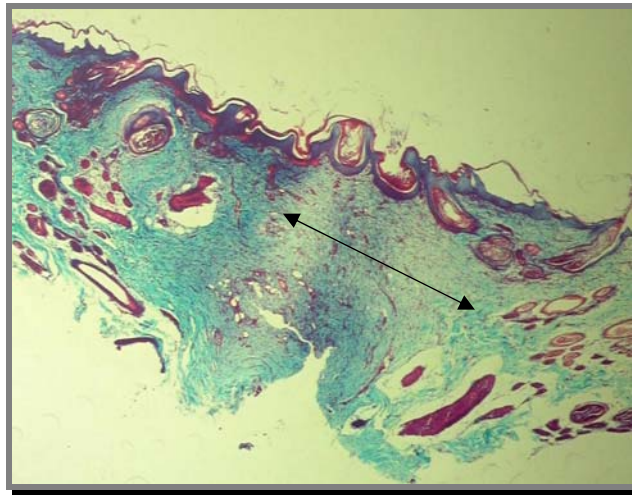


Figura 16. Histologia da ferida de um animal do grupo PA5% (T/G) (4X). 15º dia de cicatrização. A seta indica a área da derme preenchida por tecido conjuntivo fibroso.

5. CONCLUSÃO

As feridas por excisão, onde quantidades excessivas de tecido são perdidas, se caracterizam por intensa reação inflamatória cuja exsudação de fagócitos é muito intensa, conseqüentemente forma-se abundante tecido de granulação, bem como, intensa proliferação do tecido conjuntivo fibroso. O efeito dos extratos aquoso e etanólico da própolis a uma concentração mínima de 5%, aplicado às feridas no processo de cicatrização por segunda intenção em coelhos, não alterou o processo de cicatrização.

Os resultados demonstraram que nas feridas não tratadas e expostas ao ar, a crosta formada era grande e ressecada, mascarando o real tamanho da ferida que evoluiu por sob ela.

Os achados das análises histológicas não evidenciaram qualquer interferência das substancias testadas nos grupos tratados, contudo demonstrou através da análise histológica que nas feridas não tratadas a aderência das crostas á superfície do epitélio em regeneração, favoreceu o traumatismo da área interferindo dessa forma na evolução do processo de cicatrização após o 7º dia.

O modelo experimental, que utilizou a análise qualitativa proposta, combinada com a análise quantitativa, com acompanhamento histológico, mostrou-se eficiente para o desenvolvimento de estudos futuros.

Conclui-se ainda que a ação terapêutica da própolis na cicatrização de feridas precisa ser melhor estudada, afim de que se comprove a concentração mais eficiente para os extratos propostos, bem como o isolamento das substâncias biologicamente ativas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K., LICHTMAN, A. H., POBER, J. S. **Imunologia Celular e Molecular**. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter Ltda, 1998. 469p.

ACIOLY, R. S. Inflamação e Reparo. In: ACIOLY, R. S.; V.; ROBBINS, S. L. **Patologia Estrutural e Funcional**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 33-72.

ALISON, M.R. Repair and Regenerative Responses. In: MCGEE, J.O., ISAACSON, P., WRIGHT, N.A. **Textbook of Pathology**. 1 ed, Oxford, 1992. p365-368.

APACAME – Associação Paulista de Apicultores Criadores de Abelhas Melíferas Européias. **Regulamentos técnicos para fixação de identidade e qualidade de própolis**. Revista Mensagem Doce, n.52, p.13-14, 1999.

ARRIETA, A., F., L., **Efeito da hidrocortizona, da prednizolona e da neomicina no processo de reparação de feridas cutâneas em cães**. 2001, 56p., Tese (Mestrado em Medicina Veterinária – Manuscrito), Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa MG.

AUER, J. A. **Equine surgery**, 1 ed Philadelphia:W.B. Saunders Company, 1992. 1214p.

BANCROFT, I. D., STEVENS, A., TURNER, D.R. **Theory and Practice of Histological Techniques**. 4.ed. New York: Churchill Livingstone, 1996. 766p.

BANKS, W. J. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992.629p.

BANKOVA, V., S., POPOV, S. S., MAREKOV, N. L. A study on flavonoids of propolis. **Journal of Natural Products**, v. 46, p. 471-474, 1983.

BANKOVA, V., S., KRASTEVA, G., B., SFORCIN, J., M., FRETE, X., KUJUMGIEV, A., RODELLA, R., M., POPOV, S., Phytochemical evidence for the

plant origin of brasilian propolis from São Paulo State. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.54, p.401-405, 1999.

BANSKOTA, A., H., TEZUKA, Y., PRASAIN, J., K., MATSUSHIGE, K., SAIKI, I., KADOKA, S. Chemical constituents of brazilian propolis and their cytotoxic activities. **Journal of Natural Products**, v.61, n.7, p.896-900, 1998.

BOGLIOLO L. **Patologia Geral**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 335p.

BONVEHI, J., S., COLL, F., V., JORDÁ, R., E. The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietectis. **Journal of American Oil Chemists Society**, v.71, n.5, p.529-532, 1994.

BORGES E., L., GOMES, F., S., L., SAAR, S., R., C., Custo comparativo do tratamento de feridas. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.52, n.2, p.215-222, 1999.

BRASILEIRO FILHO, G.; PEREIRA, F.E.D.; PITTELA, J.E.H.; BAMBIRRA, E. A; BARBOSA, A, J. A. **Patologia Geral** 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 209 p.

BRASILEIRO FILHO, G.; GUIMARÃES, R.C. Distúrbios do crescimento e da diferenciação celular. In: BRASILEIRO FILHO, G.; PEREIRA, F.E.D.; PITTELA, J.E.H.; BAMBIRRA, E. A; BARBOSA, A, J. **Patologia Geral**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 312 p.

BREYER, E., U., **Abelhas e saúde**, 4 ed, Santa Catarina: Uniporto, 1984.70p.

CASAUBON, H. T. Reparati3n. In: TRIGO, F. J., MATEOS, A. **Patologia General Veterin3ria**. 2. ed. McGRAW-HILL-Interamericana, 1993,242p.

CHENG, P., C., WONG, G., Honey bee propolis: prospects in medicine. **Bee World**, v.77, n.1, p.8-15, 1996.

COTRAN, R. S., ROBBINS, L. S. **Patologia Estrutural e Funcional**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 1277p.

DAVIDSON, J. M. Wound Repair. In: GALLIN, J.I., GOLSTEIN, I.M., SNYDERMAN, R. **Inflammation Basic Principles and Clinical Correlates**. 2 ed. New York: Raven Press Ltda, 1992. 1182p.

DEALEY, C., **Cuidando de feridas: Um Guia Prático para Enfermeiras**, 2 ed, São Paulo: 1992, p. 96-102.

DIMOV, V., IVANOVSKA, N., MANOLOVA, N., BNAKOVA, N., NIKOLOV, V., POPOV, S., Immunomodulatory action of própolis. Influence on anti-infectious and macrophage function. **Apidologie**, v.22, n.2, p.155-162, 1991.

ELLISON, W. G. Cicatrização Visceral e Distúrbios Decorrentes da Reparação. In: BORJRAB, J.M. **Mecanismos da Moléstia na Cirurgia dos Pequenos Animais**. 2 ed. Manole Ltda, 1996, 1446p.

GHISALBERTI, E., L. Propolis: a review. **Bee World**, v. 60, p. 59-84, 1979.

GOMES, F., S., L. **Tratamento de feridas crônicas com coberturas oclusivas**. 2000, 124p, Tese (Mestrado em Enfermagem - manuscrito) Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GREENAWAY, W., SCAYSBROOK, T., WHATLEY, F., R., The composition and plant origins of propolis: a report of work at Oxford. **Bee World**, v.71, p.107-118, 1990.

GRIMALDI FILHO, G. **Manual de Técnica Histológica**., Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro: 1981.

HUANG J. S., Platelet-derived grow factor. In CLARK R.A.F., HENSON P. M. **The Molecular and Cellular Biology of wound Repair**. New York: Plenum, 1988, p 243.

JOHNSTON D.E.: Skin and subcutaneous tissue. In: BORJERAB M. J. **Pathophysiology in Small Animal Surgery**. 2 ed, Philadelphia: Lea & Febiger, 1981. p 405.

JONES, T., C., HUNT, R., D., KING, N., W., **Patologia Veterinária**. 1 ed. São Paulo: Manole, 2000. 1353p.

JUNQUEIRA, L., C., CARNEIRO, J., **Histologia Básica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan SA, 1999. 412p.

KASHAYAP, A., BEEZHOLD, D., WISEMAN, J. et al. Effect of povidone iodine dermatologic ointment on wound healing. **The American Surgeon**, v. 61, n. 6, p. 486-491, 1995.

KHAYYAL, M., T., GHAZALY, M. A., KHATIB, A. S. Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. **Drugs Exp Clin res.**, v. 19, p.197-203, 1993.

MAC SWEEN, R. N. M., WHALEY, K.: **Muir's Textbook of Pathology**. 13 ed., British Library, 1993. 1191p.

MARCUCCI, M.C. Própolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v.26, n. 2, p. 83-99, 1995.

MATSUSHIGE, K., BASNET, P., HASE, K., KADOTA, S., TANAKA, K., NAMBA, T. Propolis protects pancreatic β -cells against the toxicity of streptozotocin (STZ). **Phytomedicine**, v.3, p.203-209, 1996.

MIRZOEVA, O., K., GRISHANIN, R., N., CALDER, P., C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. **Microbiology Research**, v.152, p.239-246, 1997.

NIKOLAEV, A., B. **Defensa de la ciudad de las abejas**. In: Comisión permanente de tecnología y utillaje apícolas. Un valioso producto de la apicultura: Propoleos – Investigaciones científicas y opiniones acerca de su composición, características y utilización con fines terapéuticos. Bucarest, p.8-10, 1975.

NOVATO, D., A. **Tratamento de feridas uma contribuição ao ensino de enfermagem**. 2000, 98p. Tese (Mestrado em Enfermagem – manuscrito) Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

OLIVEIRA, H., P. Traumatismos nos animais domésticos. **Cadernos Técnicos Escola Veterinária**, v.1, n.7, p.01-57, 1992.

OLIVEIRA, S.T, LEME, M., C., PIPPI, N., L., RAISER, ^a, G., MANFRON, M., P., Formulações de confrei (*symphytum officinale* L.) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. **Rev. Fac. Zootecnia. Vet. Agro.**, Uruguaiana, v.7, n.1, p. 61-65, 2000.

PARK, Y., K., IKEGAKI, M., ABREU, J., S., ALCICI, N., M., F., Estudo da reparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p.313-318, 1998.

PEACOCK JR., EARLE, E., **Wound repair**, 3 ed. Philadelphia: Saunders, 1984.

PROBST, C., W. Wound healing and Specific Tissue Regeneration. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. V.1, 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993,1141p.

PEPELJNJAK, S., JALSENJAK, I., MAYSINGER, D. Flavonoid content in propolis extract and growth inhibition of *Bacillus subtilis*. **Pharmazine**, v. 40, n. 2, p. 122-123, 1985.

RODE, M., VONCINA, D., HERMAN, O., MIHELIC, A. M., Wirkung des Propolisextraktes auf die Wundheilung. In: **Der XXIX. Internationale Bienenzüchterkongress in Budapest**. Bukarest: Apimondia-Verlag p.452, 1983.

ROSSI, A., LONGO, R., RUSSO, A., BORRELLI, F., SAUTEBIN, L. The role of the phenethyl Ester of caffeic acid (CAPE) in the inhibition of rat lung cyclooxygenase activity by propolis. **Fitoterapia** 73 Suppl. 1(2002) S30-S37

SAID, R., A. **Atividade hepatoprotetora de diferentes concentrações dos extratos aquoso e etanólico da própolis, nas intoxicações agudas por acetaminofen, em camundongos**. 2001. 87p, Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SCOTT, D. W. MILLER, W.H., GRIFFIN, C. E. **Dermatologia de Pequenos Animais**. 5 ed. New York: Interlivros, 1995, 1130p.

SHUB, T., A, et al. Antimicrobial activity of Propolis extracts. **Pharm. Chemic Journal**. V.11, n.9, p.1242-1244, 1978.

SILVEIRA, I., RAISER, A. G., Controle microbiológico dos efeitos in vivo de duas apresentações da própolis em feridas contaminadas de cães. **Veterinária Notícias**, v.1, n.1, p.11-17, 1995.

SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. vl. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998. 1141 p.

STASHAK, T. **Equine wound management**. 1 ed. Philadelphia: Lea&Febiger, 1991. 278p.

STEINBRECH, D.S., LONGAKER, M. T., MEHRARA, B. J. SAADEH, P. B., CHIN, G. S. GERRETS, R. P., CHAU, D. C., ROWE, N. M., GITTES, G. K. Fibroblast Response to Hypoxia: The Relationship between Angiogenesis and Matrix Regulation. **Journal of Surgical Research**. v.84,n. 2, p. 127-133, 1999.

TATEFUJI, T., IZUMI, N., OHTA, T., ARAI, S., IKEDA, M., KURIMOTO, M. Isolation and identification of compounds from Brazilian propolis wich enhance macrophage spreading and mobility. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.19, n.7, p.966-970, 1996.

TATESHITA, T., ONO, I., KANEKO, F. Effects of collagen matrix containg transforming growth factor (TGF)- β_1 on wound contraction. **Journal of Dermatological Science**. v. 27, n.2, p. 104-113, 2001.

VANHAELLEN, M., Y., R., Própolis II: Identification parchomatographies haute-performance (liquide, gaz-liquide et sur couches minces) dès constituants. Bioaotographie dès chromato – grammes dès composes antibacteriens. **Journal. Pharm. Belgique**, Bruxelles, v.34 n.6, p.317-328, 1979.

ANEXOS

Tabela A1. ANOVA

Diâmetro (DIAM)					
Fator Variação	GL	SQ	QM		F
Total	59	1,600618			
Total de Redução	27	1,531285	0,05671426	26,18	0,0000
TRA	3	0,08921839	0,02973946	13,73	0,0000
Resíduo (A)	16	0,05526666	0,003454166	1,59	0,1277
TEMPO	2	1,342413	0,6712067	309,79	0,0000*
TEMPOXTRA	6	0,04438665	0,00739777	3,41	0,0102**
RESÍDUO	32	0,06933341	0,002166669		

* significativo a 1% de significância. ** significativo a 5% de significância

Número de dados	60
Média Geral	0,36283
Coefficiente de variação	12,829

A tabela A1 apresenta ANOVA para as fontes de variação de interesse. A análise principal deste trabalho concentra-se na determinação das eficiências dos tratamentos propostos, para as concentrações indicadas, no tempo.

Tabela A2. Tratamento 1

Tratamento (TRA) 1		
Nome	Média	Desvio Padrão
DIAM	0,4073	0,1862
TEMPO	4,3333	2,1269

Modelo Quadrático DIAM variável dependente
 TEMPO variável independente

Tabela A3. Parâmetros da Regressão para tratamento 1 (própolis aquoso 5%)

Nome	Coefficiente	Desvio	T	Beta	Probabilidade
Constante	0,541464				
Tempo	0,0384010	0,0532744	0,720816	0,438599	0,2424
X ²	-0,0130668	0,00575354	-2,27108	-1,38190	0,0212
R ²	0,903107				
R ² ajustado	0,886958				

Tabela A4. Análise de variância

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Probabilidade
Devido à regressão	2	0,4384524	0,2192262	55,92	0,0000
Independente	27	1,531285	0,05671426	26,18	0,0000

As tabelas A2, A3 e A4 agrupam a análise dos dados relativos ao tratamento 1 (Própolis aquoso 5%) para o diâmetro e tempo. A equação de regressão, de coeficiente R²= 0,9031 tem seus dados plotados à figura A1

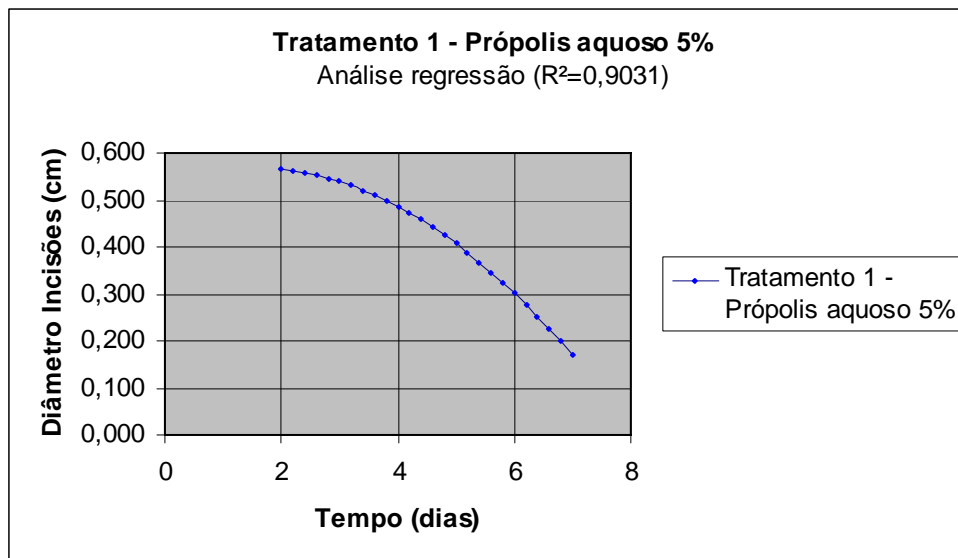


Figura A1. Análise de regressão grupo tratado com própolis aquoso a 5%

$$\phi_{\text{máx}}^{2\text{dias}} = 0,566\text{cm}; \phi_{\text{mín}}^{7\text{dias}} = 0,170\text{cm}; \phi_{\text{médio}} = 0,407\text{cm}$$

Tabela A5. Tratamento 2 (própolis etanólico 5%)

Tratamento (TRA) 1		
Nome	Média	Desvio Padrão
DIAM	0,3540	0,1802
TEMPO	4,3333	2,1269

Tabela A6. Parâmetros da Regressão para tratamento 2 (própolis etanólico 5%)

Nome	Coeficiente	Desvio	T	Beta	Probabilidade
Constante	0,463464				
Tempo	0,0494011	0,0436922	1,13066	0,583119	0,1401
X^2	-0,0140668	0,00471868	-2,98108	-1,53744	0,0057
R^2	0,930393				
R^2 ajustado	0,918791				

Tabela A7. Análise de variância

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Probabilidade
Devido à regressão	2	0,4229192	0,2114596	80,20	0,0000
Independente	12	0,03164073	0,002636727		

As tabelas A5, A6 e A7 agrupam a análise dos dados relativos ao tratamento 2 (Própolis etanólico 5%) para o diâmetro e tempo. A equação de regressão, de coeficiente $R^2 = 0,9304$ tem seus dados plotados à figura A2.

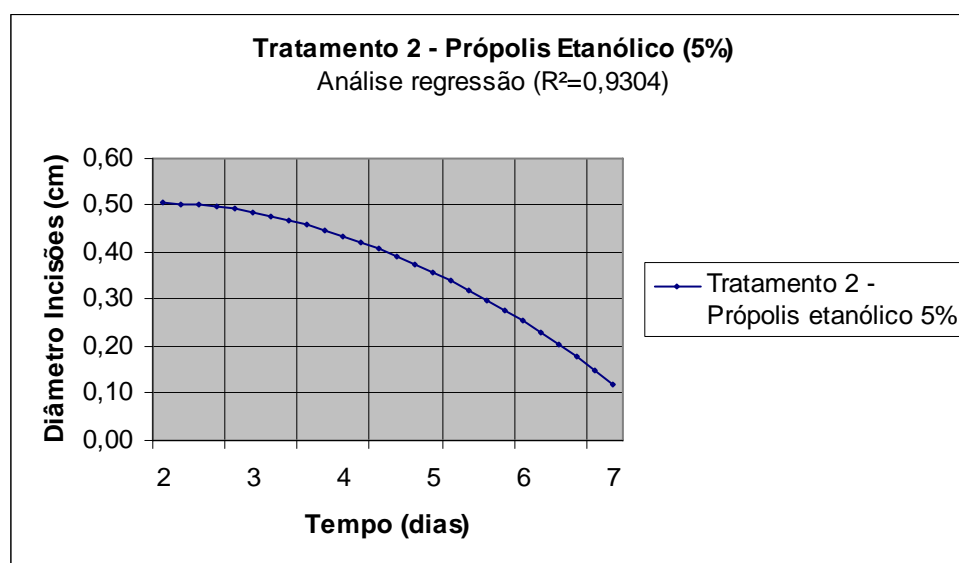


Figura A2. Análise de regressão grupo tratado com própolis etanólico a 5%

$$\phi_{\text{máx}}^{2\text{dias}} = 0,506\text{cm}; \phi_{\text{mín}}^{7\text{dias}} = 0,120\text{cm}; \phi_{\text{médio}} = 0,354\text{cm}$$

Tabela A8. Tratamento 3 (vaselina)

Tratamento (TRA) 1		
Nome	Média	Desvio Padrão
DIAM	0,3853	0,1598
TEMPO	4,3333	2,1269

Tabela A9. Parâmetros da Regressão para tratamento 3 (vaselina)

Nome	Coefficiente	Desvio	T	Beta	Probabilidade
Constante	0,344398				
Tempo	0,0892011	0,0401814	2,21999	1,18748	0,0232
X ²	-0,0172001	0,00433952	-3,96360	-2,12017	0,0009
R ²	0,925120				
R ² ajustado	0,912640				

Tabela A10. Análise de variância

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Probabilidade
Devido à regressão	2	0,3306132	0,1653066	74,13	0,0000
Independente	12	0,02676014	0,002230012		

As tabelas A8, A9 e A10 agrupam a análise dos dados relativos ao tratamento 3 (vaselina) para o diâmetro e tempo. A equação de regressão, de coeficiente $R^2 = 0,9251$ tem seus dados plotados à figura A3

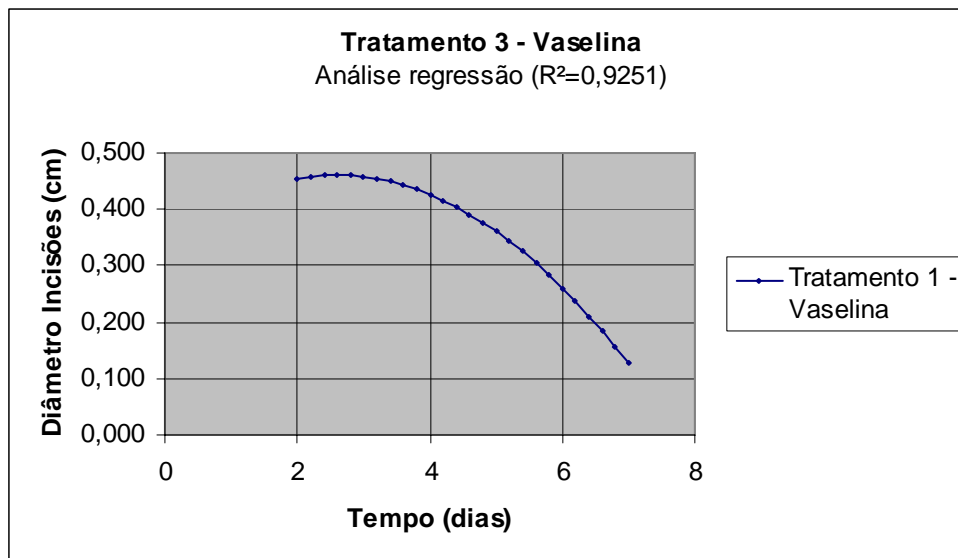


Figura A3. Análise de regressão grupo tratado com vaselina

$$\phi_{\text{máx}}^{2\text{dias}} = 0,454\text{cm}; \phi_{\text{mín}}^{7\text{dias}} = 0,126\text{cm}; \phi_{\text{médio}} = 0,385\text{cm}; \phi^{3\text{dias}} = 0,457\text{cm}$$

Tabela A11. Tratamento 4 (testemunho)

Tratamento (TRA) 1		
Nome	Média	Desvio Padrão
DIAM	0,3047	0,1236
TEMPO	4,3333	2,1269

Tabela A12. Parâmetros da Regressão para tratamento 2 (testemunho)

Nome	Coefficiente	Desvio	T	Beta	Probabilidade
Constante	0,199998				
Tempo	0,125001	0,0339993	3,67659	2,15056	0,0016
X^2	- 0,0190002	0,00367186	- 5,17453	- 3,02676	0,0001
R^2	0,925120				
R^2 ajustado	0,912640				

Tabela A13. Análise de variância

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Probabilidade
Devido à regressão	2	0,1948141	0,09740703	61,01	0,0000
Independente	12	0,01915927	0,001596606		

As tabelas A11, A12 e A13 agrupam a análise dos dados relativos ao tratamento 4 (testemunho) para o diâmetro e tempo. A equação de regressão, de coeficiente $R^2 = 0,925$ tem seus dados plotados à figura A4.

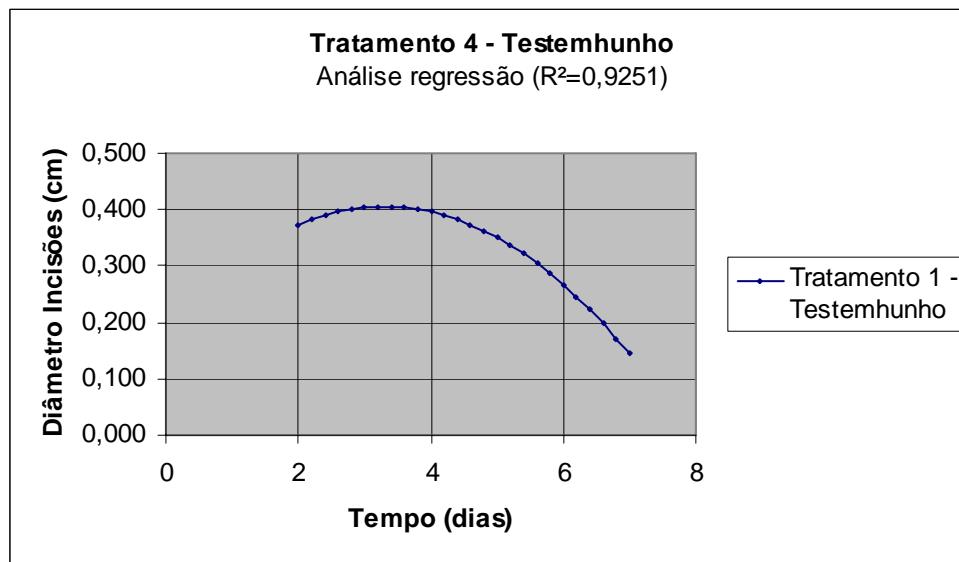


Figura A4. Análise de regressão grupo sem tratamento

$$\phi_{\text{máx}}^{2\text{dias}} = 0,374\text{cm}; \phi_{\text{mín}}^{7\text{dias}} = 0,144\text{cm}; \phi_{\text{médio}} = 0,305\text{cm}; \phi^{3\text{dias}} = 0,405\text{cm}$$

Tabela A14. Quadro de desempenho de tratamentos - ESCORES

PARÂMETRO	PRÓPOLIS AQUOSO 5%						PRÓPOLIS ETANÓLICO 5%						VASELINA					TESTEMUNHO							
	c1	c2	c3	c4	c5		c1	c2	c3	c4	c5		c1	c2	c3	c4	c5		c1	c2	c3	c4	c5		
Edema	1	2	3	3	2	3	2,6	1	2	1	1	2	1,4	2	3	2	3	3	2,6	1	1	2	2	2	1,6
Exsudato	2	3	3	3	2	3	2,8	3	1	1	2	3	2,0	3	3	3	3	3	3,0	3	3	2	2	3	2,6
Crosta	3	1	1	1	0	0	0,6	2	1	1	1	2	1,4	2	2	3	1	1	1,8	1	2	3	3	3	2,4
Edema	1	1	2	2	1	2	1,6	0	0	1	1	0	0,4	1	1	1	1	1	1,0	1	0	1	0	0	0,4
Exsudato	2	2	2	3	2	2	2,2	3	1	1	1	2	1,6	3	3	3	3	3	3,0	1	1	0	0	1	0,6
Crosta	3	3	2	2	2	3	2,4	2	1	3	1	4	2,2	1	2	2	1	2	1,6	2	1	0	2	2	1,4
Edema	1	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0,0
Exsudato	2	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0,0
Crosta	3	4	0	0	0	4	1,6	0	4	4	4	4	3,2	0	0	3	4	2	1,8	0	4	0	0	0	0,8

Tabela A15. Teste de Friedman. Interações edema-tempo.

	- 1 -	- 2 -	- 3 -	- 4 -
	Controle - Edema	Vaselina	PA	PE
Soma dos ranks	9,0000	17,0000	17,0000	7,0000
Mediana	2,0000	3,0000	3,0000	1,0000
Média dos ranks	1,8000	3,4000	3,4000	1,4000
Média dos valores	1,6000	2,6000	2,6000	1,4000
Desvio padrão	0,5477	0,5477	0,5477	0,5477
Friedman (f)	9,9600	-	-	-
Graus de liberdade	3	-	-	-
p	0,0189	-	-	-
Comparações	Diferença	p		-
Ranks 1e 2	8	>0,05		-
Ranks 1e 3	8	>0,05		
Ranks 1e 4	2	>0,05		
Ranks 2 e 3	0	>0,05		
Ranks 2 e 4	10	>0,05		
Ranks 3 e 4	10	>0,05		

Tabela A16. Teste de Friedman. Interações exsudato-tempo.

	- 1 -	- 2 -	- 3 -	- 4 -
	Controle-Exsudato	Vaselina	PA	PE
Soma dos ranks	5,5000	19,0000	14,0000	11,5000
Mediana	1,0000	3,0000	2,0000	1,0000
Média dos ranks	1,1000	3,8000	2,8000	2,3000
Média dos valores	0,6000	3,0000	2,2000	1,6000
Desvio padrão	0,5477	0,0000	0,4477	0,8944
Friedman (f)	11,3400	-	-	-
Graus de liberdade	3	-	-	-
p	0,0100	-	-	-
Comparações	Diferença	p	-	-
Ranks 1 e 2	13,5	<0,05	-	-
Ranks 1 e 3	8,5	>0,05	-	-
Ranks 1 e 4	6	>0,05	-	-
Ranks 2 e 3	5	>0,05	-	-
Ranks 2 e 4	7,5	>0,05	-	-
Ranks 3 e 4	2,5	>0,05	-	-

Tabela A17. Teste de Friedman. Interações crosta-tempo.

	- 1 -	- 2 -	- 3 -	- 4 -
	Controle-Crosta	Vaselina	PA	PE
Soma dos ranks	9,5000	12,5000	12,0000	16,0000
Mediana	0,0000	2,0000	0,0000	3,0000
Média dos ranks	1,9000	2,5000	2,4000	3,2000
Média dos valores	0,6000	1,6000	1,2000	2,4000
Desvio padrão	1,3416	1,5166	1,6432	1,3416
Friedman (f)	2,5800	-	-	-
Graus de liberdade	3	-	-	-
p	0,4610	-	-	-

Tabela A18. Teste de Friedman. Interações crosta-tempo.

FONTES DE VARIÇÃO	GL	SQ	QM	F	(p)
Fator A (tratamentos)	3	1,662	0,5541	-	-
Fator B (parâmetros – edema, exsudato, crosta)	2	2,8289	1,4144	-	-
Fator C (tempo)	2	15,5089	7,7544	-	-
Interação A x B	6	1,9178	0,3196	1,1782	0,3795
Interação A x C	6	3,0244	0,5041	1,8580	0,1699
Interação B x C	4	7,6511	1,9126	7,0505	0,0040
Erro (A x B x C)	12	3,2556	0,2713	-	-