

ALENE UCHOA DE CASTRO

**USO TÓPICO DO MEL DE ABELHA “*Apis mellifera*”, DA
OXITETRACICLINA E DA HIDROCORTISONA, COMBINADAS E
ISOLADAS, NA REPARAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS, POR
SEGUNDA INTENÇÃO, EM COELHOS.**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

Aos meus pais, grandes incentivadores e colaboradores.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado coragem e força nos tantos momentos que precisei, e por ter se mostrado de tantas formas quando eu menos esperei.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Veterinária pela oportunidade de realização deste curso.

Ao professor José Antônio Viana, pela orientação, pelos conselhos, pela paciência e por me mostrar, mesmo que de forma discreta, a importância de tantas coisas.

Ao professor Dejair Message por ter cedido a amostra de mel utilizada nesse trabalho.

Ao professor Lissandro Gonçalves Conceição pela orientação imprescindível na elaboração de grande parte deste trabalho.

À professora Marlene Isabel Vargas Vilória, pela orientação ao longo deste curso.

À professora Paula, pelo grande interesse que teve em esclarecer questões cruciais desse trabalho. Agradeço pela enorme colaboração.

Aos Professores: Tarcízio Santana, Luiz Gonzaga Pompermeiyer, Cláudio Fonseca, Marco Aurélio e Paulo Cecon por toda a colaboração.

Aos meus pais Euclides Leandro de Castro e Maria Letice Uchoa de Castro, pela imensa confiança, incentivo e pelos sacrifícios que fizeram por mim.

Ao meu irmão Eucle Uchoa de Castro “*In memoriam*” que sei que poderia contar com seu apoio.

Aos colegas Leonardo Oshio e João Paulo pela colaboração e pela boa convivência. À Betânia pela colaboração.

Ao senhor Raimundo “Ponte Nova” pela amizade.

Aos funcionários do Departamento de Veterinária, em especial à Maria José (Maninha) pelos serviços prestados com tão boa vontade; ao Cláudio Veridiano e ao Adão Cardoso pela ajuda e paciência em ensinar. Além de Divina, Sônia e Lucinda pelos serviços prestados.

A duas fieis companheiras: Pequena e Loba, pelo carinho e pela alegria.

BIOGRAFIA

ALENE UCHOA DE CASTRO, filha de Euclides Leandro de Castro e Maria Letice Uchoa de Castro, nasceu no dia 4 de julho de 1977, na cidade de Natal – RN.

Em março de 2000, graduou-se em Medicina Veterinária, pela Universidade Federal da Paraíba, Patos-PB.

Em março de 2001, iniciou o Curso de Especialização em Clínica e Cirurgia Veterinárias – Área de Pequenos Animais, na Universidade Federal de Viçosa, com duração de um ano, sob orientação do Prof. Paulo Renato dos Santos Costa.

Em abril de 2002, iniciou o Curso de Mestrado, em Medicina Veterinária, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa da dissertação em julho de 2004.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1. Fase inflamatória.....	33
4.2. Fase proliferativa	42
4.3. Fase de maturação.....	54
5. CONCLUSÕES	61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
7. APÊNDICE	69

RESUMO

CASTRO, Alene Uchoa de. Universidade Federal de Viçosa, julho de 2004. **Uso tópico do mel de abelha “*Apis mellifera*”, da oxitetraciclina e da hidrocortisona, combinadas e isoladas, na reparação de feridas cutâneas, por segunda intenção, em coelhos.** Orientador: José Antônio Viana. Conselheiros: Marlene Isabel Vargas Vilória e Lissandro Gonçalves Conceição.

O objetivo do trabalho foi avaliar macroscópica e histologicamente os efeitos do mel de abelha *Apis mellifera*, da oxitetraciclina 3%, da hidrocortisona 1% e do medicamento Terracortril® (hidrocortisona 1% e oxitetraciclina 3%) no processo de reparação de feridas cutâneas por segunda intenção. Foram utilizadas 30 coelhas, da raça Nova Zelândia, com 80 dias de vida, peso vivo médio de 2,5 Kg, provenientes do Setor de Cunicultura do Departamento de Zootecnia da UFV, nos animais, que foram divididos aleatoriamente em seis grupos, foram realizadas seis feridas com saca bocado (Punch) de 8mm em cada animal, sendo três de cada lado da região dorso caudal ao osso coxal, com espaçamento entre as lesões de 4 cm. Os grupos foram constituídos na seguinte ordem: **grupo Tes** - grupo controle; **grupo Cor** – hidrocortisona; **grupo Vas** – vaselina (veículo); **grupo Mel** – mel; **grupo Tco** - Terracortril®; **grupo Oxi** – oxitetraciclina. Os fragmentos de pele contendo as feridas foram colhidos com uma incisão elíptica na seguinte ordem: no segundo dia pós-cirúrgico, no quinto dia pós-cirúrgico, no nono dia pós-cirúrgico, no décimo quinto dia pós-cirúrgico, no vigésimo primeiro dia pós-cirúrgico e no trigésimo dia

pós-cirúrgico. As avaliações, clínica e histopatológica, revelaram que os animais tratados com o mel de abelha *Apis mellifera* apresentaram menor tamanho das feridas. Nos animais tratados com hidrocortisona e Terracortril® foi visualizado retardo na cicatrização das feridas.

ABSTRACT

CASTRO, Alene Uchoa de. Universidade Federal de Viçosa, July 2004. **Topic use of “*Apis mellifera*” honey, oxitetraciline and hydrocortisone, on skin wound healing by second intention, on rabbits.** Advisor: José Antônio Viana. Committee members: Marlene Isabel Vargas Vilória and Lissandro Gonçalves Conceição.

The objective of this study was evaluate macroscopic and histologically the effects of the topical application of *Apis mellifera* honey, hydrocortisone 1%, oxitetraciline 3% and the product called Terracortril® (hydrocortisone 1% and oxitetraciline 3%) on skin wound healing, by second intention. Thirty females rabbits was used and these animals were allotted in six groups and in all them were made six wounds with a 8mm punch, three wound in each side in dorsum caudal near pelvis. The groups were made of: **group Tes-** control group; **group Cor-** hydrocortisone group; **group Vas-** vaseline group; **group Mel-** honey group; **group Tco-** Terracortril group and **group Oxi-** Oxitetraciline group. The skin fragments with the wounds were picked with an elliptical incision in the following sequence: on the second postoperative day, on the fifth postoperative day, on the ninth postoperative day, on the fifteenth postoperative day, on the twentieth one day postoperative and on the thirtieth postoperative day. According to the results, the clinical and histological assessments revealed that the animals treat with honey had smaller size of the wounds than others groups. It was observed a delayed wound healing on the animals treated with hydrocortisone 1% and on the animals treated with Terracortril®.

1. INTRODUÇÃO

A pele, o órgão mais extenso, forma uma barreira entre o corpo e as agressões do ambiente externo (PEACOCK, 1984). Devido à sua localização, as células epiteliais são constantemente expostas aos traumatismos físico e químico gerados pela vida do organismo (PROBST, 1993). Qualquer interrupção na continuidade da pele representa uma ferida, que pode variar em espessura, pois algumas lesam apenas superficialmente a pele e outras podem até atingir tecidos profundos (AZEVEDO et al., 1999). Elas podem resultar de diversas fontes, podendo ser intencionais como a incisão cirúrgica, acidentais relacionadas ao trauma ou consequência de doenças como as úlceras crônicas no diabético (ROBSON, 1997).

Desde a pré-história, diversas substâncias têm sido usadas com o objetivo de tratar feridas, diminuir os riscos de infecções e prevenir complicações. Estas substâncias foram sofrendo alterações de acordo com a região e a época (MARCONDES, 2000). Muitos dos agentes comumente utilizados como mel, manteiga, argila, casca de árvores, seiva e outros extratos de plantas têm mostrado propriedades farmacológicas úteis e, como resultado, uma grande variedade de tratamentos tópicos efetivos tornou-se disponível à civilização há cerca de 600 anos (FORREST, 1982).

Cicatrização é o fenômeno pelo qual se garantem a restauração e o fechamento de uma lesão (RODRIGUES, 2001). Os macrófagos e as plaquetas são os tipos celulares predominantes no processo de reparação (VARDI et al., 1998). Todas as feridas cicatrizam

utilizando a combinação de três mecanismos: epitelização, deposição de tecido conjuntivo e contração. As fases da cicatrização são: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (HALL, 2000). O processo de cicatrização é muito complexo e todas as fases estão inter-relacionadas (RODRIGUES, 2001).

Acelerar o processo de cicatrização é uma questão importante e critérios para avaliar a forma de medir essa aceleração e o melhor modelo experimental devem ser considerados (PRUDDEN et al., 1969).

O mel é amplamente aceito na medicina popular como um excelente adjuvante para a aceleração da cicatrização de feridas (BERGMAN et al., 1983). Ele é extremamente viscoso, higroscópico, inibe o crescimento de muitos microrganismos gram-positivos e gram-negativos, assim como fungos (ZUMLA & LULAT, 1989; VARDI et al., 1998).

Todas as feridas são contaminadas (ROBSON et al., 1973) e, mais importante que a presença física de bactéria, é o número de organismos presentes por grama de tecido na ferida e o tipo de organismo identificado, uma vez que, a infecção retarda a cicatrização (PEACOCK, 1984; STADELMANN et al., 1998a).

O fator mais importante, introduzido na metade do século passado, para alterar o balanço entre a resistência do hospedeiro e a bactéria foi o uso de agentes antibacterianos (ROBSON et al., 1973). Somente um número limitado de antibióticos é usado topicamente. São preparações de clortetraciclina, oxitetraciclina, ácido fusídico e sulfonamida, aplicados em grandes e pequenos animais (WERNER & RUSSEL, 1999).

Os glicocorticóides são produzidos pela zona fasciculata do córtex adrenal e provavelmente são os agentes terapêuticos mais usados em Medicina Veterinária (SCOTT et al., 1996). São amplamente utilizados como imunossupressivos e antiinflamatórios sendo nas dermatopatias corriqueiramente utilizados (HOWE, 1998; SCHERING PLOUGH VETERINÁRIA, 2001).

Os corticóides estão incluídos dentre as drogas que mais frequentemente retardam a cicatrização (STADELMANN et al., 1998a). Porém, o seu uso associado a um antibiótico tópico leva a uma resposta mais rápida na cicatrização de feridas superficiais da pele (WERNER & RUSSEL, 1999).

A escolha do produto e a técnica correta de curativo são fundamentais para uma boa evolução do tratamento das feridas (MARCONDES, 2000).

O presente trabalho teve como objetivo testar o modelo experimental para estudos na área de Dermatologia; avaliar o efeito da limpeza das feridas na cicatrização de feridas contaminadas e avaliar o efeito da aplicação tópica do mel de abelha, da hidrocortisona 1%, da oxitetraciclina 3% e da associação da hidrocortisona 1% com a oxitetraciclina 3% (Terracortril®) no processo de reparação de feridas cutâneas, por segunda intenção, em coelhos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cicatrização

A cicatrização é um processo complexo que envolve interação entre diferentes tipos celulares, proteínas estruturais, fatores de crescimento e proteinases (STADELMANN et al., 1998b). A cicatrização do ferimento visa a restauração da continuidade normal das estruturas (PROBST, 1993). O tempo de evolução da cicatrização, assim como, a extensão desta variam na dependência do grau de lesão à membrana basal, da quantidade e velocidade com que é destruído o tecido, bem como, do estado de assepsia da lesão e da condição fisiológica geral do indivíduo (CASAUBON, 1993).

Todas as feridas cicatrizam utilizando a combinação de três mecanismos: epitelização, deposição de tecido conjuntivo e contração, com as seguintes fases: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (HALL, 2000). Entretanto, STADELMANN et al. (1998b) definiram esse processo em três fases clássicas: inflamação, fibroplasia e maturação. Estes estágios progridem de forma contínua e podem sobrepor-se consideravelmente (SCOTT et al., 1996), envolvendo a migração de células inflamatórias para o local da injúria; a reepitelização que envolve a migração de células para a borda da ferida para o fechamento da mesma; a formação do tecido de granulação, que inclui a diferenciação e a proliferação, e a remodelação tecidual que envolve a contração (COUTINHO et al., 2003).

2.2. Fases do processo de cicatrização

2.2.1. Fase inflamatória

Nesta fase ocorre o controle do sangramento e a limpeza, com duração de aproximadamente três dias (RODRIGUES, 2001).

O dano ao tecido desencadeia respostas celulares e vasculares compostas por dois principais componentes: a vasopermeabilidade vasomotora, que resulta na vasodilatação regional e aumento da permeabilidade capilar, e a infiltração de leucócitos que ocorre em resposta a fatores quimiotáticos específicos gerados na ferida (STADELMANN et al., 1998b).

A resposta imediata a uma lesão é a vasoconstrição dos pequenos vasos na área do ferimento, que se prolonga por cinco a dez minutos (PROBST, 1993). Os vasos contraem-se para limitar a hemorragia na área lesada (SCOTT et al., 1996). Segue-se uma ativa vasodilatação que se torna mais pronunciada aproximadamente 20 minutos após o trauma e que é acompanhada por um aumento na permeabilidade capilar (STADELMANN et al., 1998b). A histamina, serotonina e cininas estão envolvidas nesse aumento (PROBST, 1993).

As plaquetas afluem para a ferida, para tentar conter o sangramento (placa de fibrina) (RODRIGUES, 2001). Elas iniciam o processo de reparação liberando potentes fatores de crescimento e substâncias vasoativas como: o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador β (TGF- β), fator de crescimento epidermal (EGF), tromboglobulina β , fator plaquetário 4 (PF4), fator plaquetário derivado da angiogênese (PDAF), serotonina, bradicinina, prostaglandina, prostaciclina, tromboxano e histamina. A degranulação plaquetária também desencadeia a cascata do complemento com a formação de C3a e C5a, que promovem a liberação de histamina de basófilos e mastócitos (STADELMANN et al., 1998b; VARDI et al., 1998).

Com o aumento da permeabilidade dos vasos adjacentes não lesados ocorre o influxo de leucócitos (SCOTT et al., 1996). Inicialmente, a célula predominante é o leucócito polimorfonuclear (PMN), cujo papel principal é a destruição de bactérias. Os neutrófilos ativados liberam radicais livres de oxigênio e enzimas lisossomais, que incluem

proteases neutras, colagenases e elastases que auxiliam no combate à infecção e na limpeza da ferida (STADELMANN et al., 1998b). Os PMNs têm existência breve, em feridas limpas são logo superados pelos monócitos (PROBST, 1993).

Os monócitos ingressam na ferida e tornam-se macrófagos (PROBST, 1993). Os macrófagos são as células mais importantes na cicatrização. Existe um mecanismo quimiotático entre macrófagos e fibroblastos (PEACOCK, 1984), já que os fatores de crescimento derivados dos macrófagos, como PDGF, TGF- β , interleucinas (IL) e fator de crescimento tumoral (TNF) têm papéis na migração e ativação dos fibroblastos. Eles também estão envolvidos na proliferação dos fibroblastos e na subsequente síntese e degradação do colágeno (STADELMANN et al., 1998b), uma vez que a ativação dos macrófagos leva ao aumento da secreção de proteinases, como a colagenase (PEACOCK, 1984).

Os linfócitos T e B também são encontrados nos locais de inflamação. São mais importantes na inflamação causada por bactérias do que por trauma (PROBST, 1993). As células T são ativadas quando reconhecem antígenos apresentados pelos macrófagos, subsequentemente, resultam na proliferação de células T antígeno-específicas (ABBAS, 1998). Embora o papel deles no processo de reparação não esteja bem definido, os linfócitos parecem auxiliar na cicatrização de feridas secretando citocinas que são mitogênicas e quimioatraentes para os fibroblastos, enquanto, simultaneamente, removem da ferida neutrófilos velhos (STADELMANN et al., 1998b).

2.2.2. Fase proliferativa

A fase proliferativa ocorre através da ação dos fibroblastos, das células epiteliais e endoteliais, e é bastante dependente de fatores de crescimento e da deposição de colágeno (HALL, 2000). Torna-se mais evidente três a cinco dias após a lesão tissular e dá origem a um tecido de granulação, de aspecto róseo, granular e frouxo (PROBST, 1993).

Os fibroblastos nas feridas são derivados de células mesenquimais locais, particularmente as associadas com a adventícia dos vasos sanguíneos. Migram e depositam colágeno na ferida, tão logo sejam removidos os tecidos necrosados, os coágulos sanguíneos e outros restos teciduais, pelos granulócitos e macrófagos (PROBST, 1993).

Fatores como o de crescimento transformador β (TGF- β), fator de estimulação fibroblástica (FSF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e a interleucina 1 (IL-1) são tidos como as citocinas fibrinogênicas mais importantes, pois são fatores potencializadores da síntese de colágeno (ANDRADE, 1999).

Os fibroblastos produzem uma variedade de substâncias essenciais à reparação da ferida, incluindo glicosaminoglicanos (GAG) e colágeno. Os glicosaminoglicanos formam um gel amorfo que desempenha um importante papel na deposição e agregação de fibras colágenas (STADELMANN et al., 1998b). A quantidade de colágeno aumenta rapidamente durante as três primeiras semanas de cicatrização e então alcança um estado de equilíbrio (SCOTT et al., 1996).

A angiogênese é um processo biológico complexo, caracterizado pelo desenvolvimento de novos vasos sanguíneos a partir daqueles pré-existentes, sendo essencial para a reparação de feridas (FOLKMAN & BREM, 1992). Muitos estímulos bioquímicos para a angiogênese foram identificados e parecem ser originados dos macrófagos e plaquetas. A infiltração capilar da ferida em cicatrização assegura o fornecimento ótimo de oxigênio para os fibroblastos, que sem esse, não poderiam sintetizar adequadamente o colágeno (SCOTT et al., 1996). A angiogênese acompanha a fase fibroblástica e é essencial para a formação da cicatriz (STADELMANN et al., 1998b).

Os novos capilares são formados por brotamento endotelial, sendo importantes para o novo tecido de granulação (PROBST, 1993). Os capilares que proliferam formam alças ou “nós”, que conferem à ferida uma superfície granular. Os novos vasos anastomosam-se livremente e progressivamente diferenciam-se em arteríolas ou vênulas, um pouco mais tarde desenvolvem-se os vasos linfáticos e por último a inervação, por isso o novo tecido de granulação não dói, embora sangre ao menor contato (SCOTT et al., 1996; ANDRADE, 1999).

O leito capilar das células endoteliais em crescimento produz a degradação de agentes ativadores do plasminogênio e de colagenase, desse modo invade a ferida, por degradação enzimática do coágulo de fibrina e do novo tecido cicatricial (STADELMANN et al., 1998b).

A síntese de colágeno pelos fibroblastos inicia-se no quarto ou quinto dia do processo de reparação (SCOTT et al., 1996). Começa como um processo intracelular na

forma de monômero, que é secretado ativamente no ambiente extracelular da ferida onde ocorre a polimerização em fibras colágenas (STADELMANN et al., 1998b). Os feixes de colágeno são pequenos, mas crescem gradualmente até formarem o colágeno denso que une as bordas da ferida (PROBST, 1993).

O colágeno é uma proteína fibrosa cuja estrutura molecular é formada por três cadeias alfa dispostas em tripla hélice e contem hidroxiprolina e hidroxilisina (ANDRADE, 1999; STADELMANN et al., 1998b). A hidroxiprolina só aparece no colágeno, o que permite sua avaliação pela quantidade de colágeno presente numa amostra (ANDRADE, 1999). Até o momento, são reconhecidos 19 isótipos de colágeno, no mínimo 13 foram identificados em humanos (STADELMANN et al., 1998b; ANDRADE, 1999). Os mais abundantes, e por isso os mais importantes são os tipos I, III e IV (ANDRADE, 1999). Os tipos de colágeno encontrados na pele são os tipos I e III que na pele normal, estão na proporção 4:1 (STADELMANN et al., 1998b).

Vários fatores controlam a produção do colágeno e a sua degradação pelas colagenases. Essas são produzidas pelas células epiteliais que proliferam nas bordas da ferida e por fibroblastos, que entram em contato com novas células epiteliais (PROBST, 1993). A atividade da colagenase é controlada por vários fatores, incluindo hormônios da paratireóide, esteróides da adrenocortical e colchicina (STADELMANN et al., 1998b).

2.2.2.1. Epitelização

A proliferação e migração epitelial são os primeiros sinais óbvios de reconstrução e reparo. A reepitelização inicia-se dentro de 24 horas após a lesão e continua durante a formação de tecido de granulação (SCOTT et al., 1996).

A reepitelização envolve uma seqüência de passos que são: mobilização, migração e diferenciação das células epiteliais (STADELMANN et al., 1998b). A resposta inicial das células imediatamente adjacentes a uma ferida é a mobilização (PROBST, 1993). Este movimento é do tipo amebóide e é facilitado pela alta concentração aquosa do tecido e pela lise das fibras de colágeno que se interpõem no trajeto. As células migram sobre o tecido conjuntivo e são auxiliadas por diferentes substratos, como ativadores da colagenase e plasminogênio, assim como pela presença de fibronectina, que promove a adesão de células

ao colágeno (ALISON, 1992). Após a mobilização, as células epiteliais aumentam em número e começam a migrar para o interior e através da ferida (PROBST, 1993). O avanço das células epiteliais da margem da ferida aumenta, assim como o ritmo de mitose. Esse avanço continua para cobrir a ferida até que as bordas se encontrem. Nesse ponto, a migração celular cessa, devido ao fenômeno do contato por inibição (STADELMANN et al., 1998b). A diferenciação das células epiteliais é o restabelecimento da função celular, ou seja, a produção de ceratina (PEACOCK, 1984).

O novo epitélio é facilmente traumatizado. Com o passar do tempo, novas glândulas e folículos pilosos podem regenerar-se por diferenciação de células migrantes (SCOTT et al., 1996). Os folículos pilosos são a maior fonte de reserva de células epidérmicas durante a reparação de feridas. Cada folículo serve como uma fonte para a nova epiderme e assim, a reestruturação epitelial pode ocorrer de forma extremamente rápida, nas feridas excisionais (DAVIDSON, 1992).

2.2.2.2. Contração da ferida

Contração da ferida é a redução do tamanho de uma ferida aberta como resultado do movimento centrípeto de toda a pele que rodeia a lesão (SCOTT et al., 1996). Embora esse processo seja útil na redução do tamanho da ferida e num eventual fechamento de um defeito, trata-se de um processo que pode levar a uma desorganização da integridade estrutural, a perda da função e a uma deformidade da estética (STADELMANN et al., 1998b). A contração ocorre entre cinco e 45 dias após a lesão (SCOTT et al., 1996).

Existe um tipo de fibroblasto que se chama miofibroblasto que desempenha um papel-chave na contração das feridas (PROBST, 1993; RODRIGUES, 2001). Os miofibroblastos são capazes de formar uma ligação intercelular segura via desmossomos e a mácula de adesão. Eles estão aderidos uns aos outros como também nas margens da ferida fazendo com que todo o leito granular se contraia, aproximando assim as bordas das feridas. Simultaneamente, o colágeno é sintetizado e depositado (STADELMANN et al., 1998b).

2.2.3. Fase de maturação

Esta fase começa depois que a proliferação celular inicial decresce em intensidade. Assim, não há uma demarcação acentuada entre o fim da fase fibroblástica e o começo da fase de maturação. De fato, uma fase pode sobrepor a outra (PEACOCK, 1984). A fase de maturação está associada à redução gradual do número de pequenos vasos sanguíneos e à diminuição do número e tamanho dos fibroblastos, com o equilíbrio da produção e a degradação do colágeno. As fibras colágenas funcionalmente orientadas começam a predominar e as não funcionais são absorvidas (AUER, 1992). Esse processo continua por até dois anos. Durante essa fase, há aumento progressivo da força tênsil. Quando a cicatriz amadurece, as fibras de colágeno se tornam alinhadas paralelamente à superfície da pele. Este alinhamento se deve à força de tensão produzida pelas bordas da ferida. O colágeno do tipo III é substituído pelo colágeno tipo I e os glicosaminoglicanos são degradados até se encontrarem na concentração observada na derme (STADELMANN et al., 1998b). A resistência da ferida cresce significativamente, atingindo um máximo inicial por volta de 14 a 16 dias (PROBST, 1993). A resistência da pele permanece 15 a 20% mais fraca do que a do tecido normal (LEVENSON et al., 1965; SCOTT et al., 1996). Inicialmente, a cicatriz é fina e pálida e à medida que ocorre a maturação, torna-se hipo ou hiperpigmentada, dura e achatada (SCOTT et al., 1996; RODRIGUES, 2001).

2.3. Variação clínica do processo de cicatrização

A cicatrização por primeira intenção tem como exemplo as feridas cirúrgicas, nas quais as bordas estão justapostas quase sem deixar solução de continuidade. O reparo se faz com o mínimo de tecido conjuntivo, praticamente sem deixar cicatriz (ANDRADE, 1999). Nesse tipo de cicatrização, a fase inflamatória é mínima e, normalmente, a ferida tem uma coloração rósea sendo necessária pouca epitelização (RODRIGUES, 2001).

Na cicatrização por segunda intenção, as bordas da ferida não estão justapostas, encontram-se dilaceradas com perda significativa de tecidos e com maior quantidade de restos celulares (COTRAN, 1990). As fases da cicatrização são bastante marcantes, com a resposta inflamatória bem evidente, maior necessidade de formação do tecido de

granulação, com epitelização visível e a necessidade de um intenso processo de contração (RODRIGUES, 2001).

2.4. Fatores de crescimento

Os fatores de crescimento, que exercem importantes efeitos para o reparo e a cicatrização de feridas estão envolvidos na divisão celular, na migração e diferenciação (COLLINS, 2000; ZHANG et al., 2003). Os principais fatores de crescimento envolvidos na cicatrização de feridas são: fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento dos fibroblastos b (b-FGF) e o fator de crescimento transformador β (TGF- β) (TAKEHARA, 2000).

2.4.1. Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)

As plaquetas são consideradas a principal fonte de atividade mitogênica sendo o fator de crescimento responsável o PDGF (TAKEHARA, 2000). Ele é sintetizado pelas plaquetas e é armazenado nos grânulos α dessas, sendo liberado com a ativação plaquetária. É também sintetizado pelos macrófagos, células endoteliais, células musculares lisas, ceratinócitos e células tumorais. Provoca tanto a migração quanto a proliferação de fibroblastos e monócitos (COLLINS, 2000).

2.4.2. Fatores de crescimento dos fibroblastos (FGF)

Trata-se de uma família de fatores de crescimento (COLLINS, 2000). Eles se ligam aos glicosaminoglicanos e estão fortemente concentrados na matriz extracelular. Os principais membros dessa família regulam a proliferação, diferenciação, migração e, ou, a sobrevivência de uma variedade de células alvo (BEYER et al., 2003). Eles são liberados no local da ferida por macrófagos e por células endoteliais que sofrem danos (MARTIN, 1997).

O b-FGF é o mais potente estimulador de crescimento dentre todos os outros fatores. Ele estimula a divisão e migração de fibroblastos, células endoteliais e células

epiteliais (TAKEHARA, 2000), além de induzir todas as etapas necessárias para a formação de novos vasos sanguíneos e de promover a formação do tecido de granulação (COLLINS, 2000; TAKEHARA, 2000).

2.4.3. Fator de crescimento transformador β (TGF- β)

O TGF- β pertence a uma família de polipeptídios homólogos que incluem três isoformas principais do TGF- β (TGF- β -1, TGF- β -2, TGF- β -3) (COLLINS, 2000).

O TGF- β age como inibidor do crescimento para muitas células (TAKEHARA, 2000). Em altas concentrações possui a capacidade de inibir a expressão dos receptores de PDGF. Ele também estimula a quimiotaxia dos fibroblastos, a produção de colágeno (tipo I e III) e fibronectina pelas células (COLLINS, 2000). As isoformas β -1 e β -2 do TGF- β estão relacionadas com a indução da proliferação de fibroblastos da margem da ferida e da proliferação de ceratinócitos da área adjacente à borda da ferida, respectivamente (MARTIN, 1997). Seu efeito estimulador sobre a produção de matriz extracelular é muito mais forte do que a de outras citocinas (TAKEHARA, 2000).

Assim o b-FGF, PDGF e o TGF- β 1 não somente facilitam a migração dos monócitos, neutrófilos, macrófagos e fibroblastos, mas também desempenham importantes funções na formação do tecido de granulação (ONO, 2002). O tecido de granulação começa a aparecer na ferida entre o 3º e o 6º dia após a injúria. Ele cria uma superfície sobre a qual células epiteliais podem migrar, possui fibroblastos que são responsáveis pela formação de colágeno, além de que o processo de contração da ferida está centrado no seu desenvolvimento (STASHAK, 1991).

2.4.4. Fator de crescimento epidérmico (EGF)

O fator de crescimento epidérmico (EGF) é mitogênico para uma variedade de células epiteliais e fibroblastos *in vitro* e causa divisão dos hepatócitos *in vivo*. Distribui-se amplamente nas secreções e líquidos teciduais, como suor, saliva e conteúdo intestinal (COLLINS, 2000).

Por muito tempo o fator de crescimento epidermal, o fator de crescimento transformador β e o fator de crescimento epidermal de ligação com a heparina eram considerados como a chave para a proliferação dos ceratinócitos nas margens da ferida, mas atualmente eles dividem essa posição com o FGF-7 (MARTIN, 1997). Em um estudo realizado por ONO et al. (1995), o EGF e o b-FGF foram encontrados em baixa concentração. Eles relataram que a existência do EGF no exsudato ocorre em nível muito baixo.

2.4.5. Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)

Este é o mais importante fator de crescimento em tecidos adultos que sofrem angiogênese fisiológica, como por exemplo: o endométrio em proliferação, bem como, na angiogênese patológica observada na inflamação crônica, na cicatrização de feridas e em tumores (COLLINS, 2000).

O fator de crescimento endotelial vascular é um estimulador endógeno tanto da angiogênese como do aumento da permeabilidade vascular. Seus receptores são encontrados exclusivamente nas células endoteliais (ZHANG et al., 2003). A expressão do VEGF é estimulada por certas citocinas e fatores de crescimento como TGF- β , PDGF e TGF- α (COLLINS, 2000).

2.4.6. Citocinas

Estudos recentes demonstraram que certas citocinas desempenham importantes papéis na cicatrização de feridas (ONO et al., 1995). O fator de necrose tumoral α (TNF - α) e as citocinas pró-inflamatórias: interleucina-6 (IL-6), interleucina 1- β (IL-1 β), desempenham importantes funções nas fases iniciais e tardias da inflamação e na cicatrização das feridas. Elas são produzidas por inúmeras células como os macrófagos, células endoteliais e ceratinócitos (GRELLNER, 2002).

O TNF- α é quimiotático para macrófagos e promove a sua ativação. Ele estimula a angiogênese, a proliferação de fibroblastos, a síntese de prostaglandinas e colagenase pelos fibroblastos (TONKS et al., 2003).

A IL-6 é o principal mediador da reação da fase aguda da inflamação (GRELLNER, 2002). Ela é mitogênica para os ceratinócitos e contribui para a epitelização (TONKS et al., 2003). Em um estudo realizado por ONO et al. (1995), grandes quantidades de IL-6 foram encontradas no exsudato, o que sugere o envolvimento dessa na proliferação dos ceratinócitos.

A IL-1 e o TNF- α estimulam a liberação de fatores de crescimento, principalmente o PDGF e o TGF- β , que são quimiotáticos para monócitos e fibroblastos (TONKS et al., 2003).

2.5. Fatores que alteram a cicatrização

Alguns dos achados mais comuns e clinicamente significantes para o retardo na cicatrização das feridas incluem: hipóxia tecidual, infecção, presença de debris e tecidos necróticos, uso de medicamentos antiinflamatórios, uma dieta deficiente em vitaminas (A, C e E) ou em minerais ou uma deficiência nutricional geral, neoplasias, fatores ambientais e desordens metabólicas (STADELMANN et al., 1998a).

Assim, existem fatores gerais e locais que interferem na cicatrização. Dentre os fatores gerais o mais importante é o estado nutricional, uma vez que as proteínas são essenciais para a síntese das enzimas, do colágeno, dos anticorpos, dos hormônios, enfim das células e dos tecidos. Quanto aos fatores locais, deve ser evitado tudo que prolongue o processo inflamatório e a movimentação do paciente para evitar a ruptura de delicados capilares do tecido de granulação (ANDRADE, 1999).

2.6. Feridas contaminadas

Todas as feridas, cirúrgicas ou traumáticas, são contaminadas em algum grau (ROBSON, 1997). Mais importante que a presença física da bactéria é o número de microrganismos presentes por grama de tecido na ferida e o tipo de microrganismo identificado (STADELMANN et al., 1998a). O nível crítico de contaminação para a maioria das bactérias é de 10^5 microrganismos por grama de tecido (ROSIN et al., 1993). As bactérias patogênicas que mais frequentemente contaminam uma ferida cirúrgica são os

estafilococos coagulase positivos, seguidos da *Escherichia coli* (VADEN & PAPICH, 1998).

As bactérias contaminantes entram na ferida cirúrgica, a partir de fontes exógenas ou pela flora endógena do paciente. As fontes exógenas incluem o equipamento cirúrgico, a sala de cirurgia e as pessoas que participam da cirurgia. A contaminação com a fonte endógena do paciente é responsável, provavelmente, por um percentual maior de infecções pós-operatórias. A fonte endógena é tipicamente da pele do paciente ou das superfícies mucosas que são cortadas (VADEN & PAPICH, 1998). Por outro lado, ROSIN et al. (1993) citaram que existe pouca correlação entre as bactérias isoladas do ar da sala cirúrgica, equipamentos e equipe, com as bactérias isoladas de uma ferida pós-operatória com infecção. Esses autores relataram que as bactérias do próprio paciente são responsáveis pela maioria das infecções de ferimentos. Assim, segundo AZEVEDO et al. (1999), nas feridas cirúrgicas, a área mais contaminada é a pele localizada ao redor da ferida, enquanto nas feridas infectadas a área mais contaminada é a do interior da ferida.

A infecção da ferida é uma manifestação de um distúrbio entre o equilíbrio hospedeiro-bactéria em favor da bactéria (ROBSON, 1997).

A infecção retarda a cicatrização (PROBST, 1993) e prejudica a contração da ferida fazendo com que ela fique aberta (ROBSON et al., 1974). Esse mecanismo ocorre através da liberação de enzimas bacterianas e metaloproteinases que podem degradar a fibrina como também os fatores de crescimento (STADELMANN et al., 1998a). PROBST (1993) também citou que as bactérias alteram o pH da ferida. O nível persistente de bactérias no tecido resulta numa elevação prolongada das citocinas pró-inflamatórias como a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α). Essa condição causa um aumento nos níveis de matriz metaloproteinase, uma diminuição no nível dos inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMP) e uma diminuição na produção de fatores de crescimento (ROBSON, 1997).

Nas feridas crônicas, o tecido morto propicia um meio de crescimento para as bactérias, que liberam endotoxinas que inibem a migração de ceratinócitos e fibroblastos para a ferida, além das outras ações que prejudicam a cicatrização (STADELMANN et al., 1998a). Portanto, o debridamento dos tecidos infectados deve ser realizado (ROSIN et al.,

1993). A irrigação da ferida, de forma intermitente e com pressão, é um importante adjuvante para o debridamento da ferida (ROBSON, 1997).

2.7. Uso de antibióticos

O fator mais importante, introduzido no século passado, para alterar o balanço entre a resistência do hospedeiro e a bactéria, em favor do hospedeiro, foi o uso de agentes antibacterianos. A administração desses agentes no tempo apropriado, pela via correta e na dosagem certa pode ser terapêuticamente efetiva para prevenir e tratar infecção causada por um microrganismo susceptível ao agente administrado (ROBSON, 1997). Os antibióticos são utilizados intensamente na clínica dermatológica de pequenos animais para o tratamento, mais do que para a profilaxia (ROSIN et al., 1993). Eles são vistos como uma importante opção no tratamento de infecções leves como: infecções localizadas, no tratamento de piodermites primária e secundária e em queimaduras (SPANN et al., 2003).

As duas principais categorias de antimicrobianos tópicos são os anti-sépticos e os antibióticos. Essa última categoria está normalmente disponível na forma de pomada e seu uso em feridas abertas é uma excelente indicação. A pomada como veículo se destina a manter a ferida úmida, promovendo, assim, a cicatrização e minimizando a aderência de bandagens (SPANN et al., 2003). A eficácia de muitos agentes tópicos depende da formulação do agente químico (STADELMANN et al., 1998a). O antibiótico tópico deve ser formulado numa base não irritante, atóxica e não deve produzir reação local ou sensibilidade. Deve penetrar na pele e não ser inativado por fluidos teciduais ou proteínas, além de não afetar os microrganismos comensais. Somente um limitado número de antibióticos é usado topicamente e são preparações de clortetraciclina, oxitetraciclina, ácido fusídico e sulfonamidas, aplicados em grandes e pequenos animais (WERNER & RUSSEL, 1999). Como obstáculos para a eficácia da terapia tópica para cães e gatos são citadas: a presença de pelagem densa (limitando o acesso à lesão), a relutância do dono na aplicação de pomadas e a infrequente ocorrência de lesões isoladas (WERNER & RUSSEL, 1999).

A terapia tópica de feridas deve ser baseada na remoção de debris, na redução da proliferação bacteriana e no fornecimento de um meio quente e úmido no qual uma ótima cicatrização possa ocorrer sem destruir as células necessárias para a cicatrização

(STADELMANN et al., 1998a). Os antibióticos tópicos têm baixa toxicidade, poucos efeitos adversos e pouca possibilidade de permitir o desenvolvimento de resistência em relação aos antibióticos sistêmicos (SPANN et al., 2003). WERNER & RUSSEL (1999) citaram como efeitos adversos da terapia antimicrobiana tópica: as reações alérgicas e o possível desenvolvimento de resistência bacteriana.

Os antibióticos sistêmicos são pouco utilizados no tratamento das feridas agudas contaminadas (ROBSON, 1997). Apesar do abundante suprimento sangüíneo presente no tecido de granulação, a administração de antibiótico sistêmico não produz níveis favoráveis de antibióticos no tecido de granulação da ferida (STADELMANN et al., 1998a). Quando os mediadores inflamatórios que causam vasoconstrição estão presentes, a penetração de antibióticos pode ser menos efetiva (ROBSON, 1997). ROBSON et al. (1974) sugeriram que a base de fibrina da ferida pode impedir que níveis adequados de antibióticos penetrem na ferida e afirmam que os antibióticos sistêmicos não desempenham nenhum papel na diminuição de bactérias nas feridas.

A escolha do antibiótico pode ser feita baseada em resultados de cultura, teste de sensibilidade e em base empírica (SCOTT et al., 1996). Em apenas 10% dos casos, os clínicos instituem a antiobioticoterapia baseada em cultura. A seleção em base empírica deve basear-se no conhecimento das bactérias que infectam mais provavelmente os lugares específicos, na distribuição tecidual e no espectro de ação dos antibióticos específicos (VADEN & PAPICH, 1988).

Estudos sobre estafilococos coagulase positivos, *in vitro*, demonstraram excelente sensibilidade a oxaciclina e a cefalosporina (> 90%); boa (75 a 90%) ao cloranfenicol, eritromicina, lincomicina; razoável (50 a 75%) a drogas potencializadas pela sulfa; e má (< 50%) à penicilina, ampicilina e tetraciclina (SCOTT et al., 1996).

As tetraciclina são amplamente utilizadas na prática dermatológica. É definida como um dos grupos de drogas mais populares e é tida como um precioso instrumento de tratamento dermatológico, sendo sua ação é predominantemente antimicrobiana. É muito lipofílica e tem grande penetração tecidual, atingindo alta concentração na pele (TSANKOV et al., 2003). As tetraciclina são agentes bacteriostáticos que se ligam reversivelmente à subunidade ribossômica 30S bacteriana, e inibem a síntese das proteínas microbianas (ROSIN et al., 1993), embora elas tenham propriedades bactericidas sobre

alguns microrganismos. Independente da sua propriedade antibacteriana, as tetraciclina têm uma atividade antiinflamatória significativa. Dentre elas está incluída: a inibição de leucócitos e macrófagos, cujos mecanismos pelos quais são inibidas a quimiotaxia dos neutrófilos e outras funções são desconhecidos. As tetraciclina também possuem atividade que interfere com a migração de células na pele após a sua aplicação tópica (SADICK, 2000).

Inúmeros efeitos colaterais estão associados ao uso sistêmico das tetraciclina: fotossensibilidade, descoloração da pele após o uso prolongado, hipersensibilidade de contato, alteração da microflora vaginal, indução ao Lúpus Eritematoso Sistêmico pela minociclina, diminuição da síntese protéica, nefrite intersticial aguda, distúrbio vestibular e ataxia (GREENE, 1990; TSANKOV et al., 2003). Porém, os efeitos adversos mais comuns são o leve desconforto gastrointestinal, a alteração da coloração dos dentes em erupção, pode ser localizada no osso recém formado, além da nefrotoxicidade com alterações ultra-estruturais nos túbulos proximais renais e diminuição da capacidade de concentração do infiltrado glomerular (ROSIN et al., 1993).

Nenhum antibiótico, atualmente disponível, está inteiramente isento de efeitos colaterais. Os antibióticos devem ser utilizados pelo menor tempo possível, para que seja minimizado o risco de crescimento de linhagens mutantes resistentes (ROSIN et al., 1993).

2.8. Corticosteróides

O córtex adrenal sintetiza e libera três classes de hormônios, os mineralocorticóides (zona glomerular), glicocorticóides (zona fascicular) e os sexocorticóides (dentre eles os andrógenos, na zona reticular). Todos eles são quimicamente esteróides, sintetizados endogenamente, a partir do colesterol sendo denominados corticóides ou corticosteróides (CARGANO, 1993).

A corticotropina (ACTH) estimula a síntese e a liberação de glicocorticóides do córtex da supra-renal. Já o fator de liberação da corticotropina (CRF) do hipotálamo regula a liberação de corticotropina que, por sua vez, é regulada por fatores neurais e pelos efeitos de retroalimentação negativa dos glicocorticóides plasmáticos (RANG et al., 2001). Os

glicocorticóides são transportados no plasma ligados à globulina de ligação dos corticosteróides (CBG) e à albumina (FELDMAN & NELSON, 1996).

Um grande número desses medicamentos está disponível para o uso clínico e cada um varia no custo, via de administração, potência e duração da ação (MILLER & SCOTT, 1994). Os corticosteróides tópicos constituem um grande avanço na dermatofarmacologia (LAGOS & MAIBACH, 2002).

São nas dermatopatias que mais corriqueiramente se emprega essa classe de drogas (SCHERING PLOUGH VETERINÁRIA, 2001). As principais indicações da glicocorticoterapia são as dermatoses por hipersensibilidade (hipersensibilidade por picada de pulgas, atopia e hipersensibilidade alimentar), a dermatite piotraumática (“mancha quente”), a dermatite de contato (reações irritantes ou de hipersensibilidade) e as dermatoses imunomediadas (Pênfigo, Penfigóide e Lúpus Eritematoso) (SCOTT et al., 1996).

Na aplicação ocular e na formulação tópica de esteróide quando administrados por dias ou mais tempo, há possibilidade de ser absorvidos sistemicamente, e, subsequente, suprimir o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Mesmo que o grau de variação individual seja muito pronunciado em relação à administração de glicocorticóides, sabe-se que comparados a cães e gatos, os coelhos, ratos, camundongos e humanos são muito mais sensíveis aos efeitos antiinflamatórios e, ou, imunossupressivos dos glicocorticóides (FELDMAN & NELSON, 1996).

Os receptores de glicocorticóides estão presentes em praticamente todos os tecidos (FELDMAN & NELSON, 1996). O esteróide deve atravessar a membrana celular para se ligar ao receptor, uma vez que seu receptor está localizado no citoplasma (PRATT, 1978). O receptor torna-se ativado com alteração na sua conformação e expõe um domínio de ligação ao DNA. Formam-se dímeros (pares), que migram para o núcleo e ligam-se a elementos de respostas aos esteróides no DNA. O efeito consiste em reprimir (impedir a transcrição) ou induzir (desencadear a transcrição) genes particulares (RANG et al., 2001).

Os glicocorticóides são amplamente utilizados como antiinflamatórios e agentes imunossupressivos (HOWE, 1998). ROBBINS (1975) relatou que o recrutamento dos leucócitos pode ser bastante bloqueado pelo uso dos corticosteróides. Eles inibem a fase aguda da inflamação, edema, deposição de fibrina, dilatação capilar, migração de leucócitos

e fagocitose. O seu efeito clássico é a diminuição da migração dos neutrófilos nos tecidos inflamados, portanto prejudicando assim a fagocitose (FELDMAN & NELSON, 1996).

Os glicocorticóides estão incluídos dentre as drogas que mais frequentemente retardam a cicatrização (STADELMAN et al., 1998a), prejudicando a função dos fibroblastos, portanto menor produção de colágeno e de glicosaminoglicanos (PRATT, 1978). PEACOCK (1984) citou que o uso de altas doses pode até suprimir a proliferação dos fibroblastos. Eles levam a uma perda de colágeno e de tecido conjuntivo, resultando numa pele fina, de fácil contusão e de pobre cicatrização (FELDMAN & NELSON, 1996), já que diminuem a proliferação de capilares e retardam o desenvolvimento do tecido de granulação e a contração da ferida (BILLINGHAM & RUSSEL, 1956; HIGTON & JAMES, 1964; SANDBERG, 1964).

HOWE (1998) citou também o efeito dos glicocorticóides na supressão de inúmeras citocinas que são responsáveis pela resposta inflamatória e imune. Eles inibem a IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, TNF- α , TNF- β , Interferon- γ , e o fator estimulador de colônia monócito-granulócito. Assim eles reduzem ou bloqueiam completamente o fenômeno de revestimento (ROBBINS, 1975), uma vez que o progresso da epitelização está relacionado a citocinas na superfície da ferida (ONO et al., 1995).

Nas dermatoses, os glicocorticóides geralmente são administrados por via oral, injetável (intramuscular, subcutânea, intralesão e intravenosa), tópica ou em alguma combinação delas (SCOTT et al., 1996). Estudos clínicos sugerem que mesmo com uma aplicação menos freqüente a eficácia é igual. Isso ocorre por causa do seu lento processo de absorção, o chamado efeito reserva. Portanto, para a maioria dos corticosteróides novos é necessária apenas uma aplicação diária (LAGOS & MAIBACH, 2002). Já a hidrocortisona, glicocorticóide de curta ação, tem a meia-vida plasmática de 90 minutos e seus principais efeitos biológicos só aparecem depois de 2 a 8 horas (RANG et al., 2001). A duração do seu efeito é de 8 a 12 horas, isso tomando como base à via de administração oral com uma dose equivalente a 20mg (SCOTT et al., 1996). Quanto à prescrição tópica, pouco se sabe em relação à quantidade de miligramas para a área da superfície da pele (LAGOS & MAIBACH, 2002).

Quanto aos efeitos adversos, JAIN (1993) relatou que a administração a longo prazo de corticosteróide resulta numa mudança no número de leucócitos, principalmente a

eosinofilia e a linfopenia. SCOTT et al. (1996) relataram, como efeitos colaterais locais a atrofia, a descamação, os comedões, a alopecia e a piodermite. Acrescentou também, o risco de infecção como a principal preocupação. Porém CHARMAN & WILLIAMS (2003) citaram que o efeito colateral que mais preocupa os clínicos na prática diária é a atrofia da pele.

Já o seu uso associado a um antibiótico tópico, leva a uma resposta mais rápida na cicatrização de feridas superficiais da pele (WERNER & RUSSEL, 1999).

2.9. Mel

2.9.1. Histórico

De acordo com a Instituição Normativa nº9340 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o mel é um produto viscoso e aromático, é preparado pelas abelhas, a partir, principalmente, do néctar das flores e tem seu uso na medicina há séculos. Os antigos egípcios, chineses, gregos e romanos usavam o mel para o tratamento de feridas e doenças do intestino (ZUMLA & LULAT, 1989). O tratamento de feridas com o uso de mel data de 2000 antes de Cristo e foi um dos produtos mais usados pelos egípcios com essa finalidade (FORREST, 1982; GREENWOOD, 1993). Nessa época, havia a recomendação da colheita do mel em regiões e estações específicas para o tratamento de diferentes doenças, mas, atualmente, essa recomendação não tem recebido muita atenção (ALLEN et al., 1991).

No passado, a comunidade científica tinha opiniões controversas sobre o valor nutritivo do mel e o seu uso médico, hoje há um novo interesse no seu uso terapêutico pela medicina moderna, principalmente no que diz respeito à promoção de cicatrização de feridas (ZUMLA & LULAT, 1989; WESTON, 2001). De acordo com TONKS et al. (2001), a aplicação tópica do mel reduz a inflamação, debrís necróticos e edema, além de promover a angiogênese, epitelização e granulação das feridas.

2.9.2. Elaboração e composição

A elaboração do mel resulta de duas principais reações que ocorrem no néctar, uma, física, pela desidratação, através da evaporação na colméia e absorção no papo das abelhas e a outra reação, química, que atua sobre o néctar, transformando a sacarose, através da enzima invertase, em glicose e frutose. Outras reações que ocorrem em menor escala consistem em transformar o amido do néctar, através da enzima amilase, em maltose e a enzima glicose-oxidase transforma a glicose em ácido glicônico e peróxido de hidrogênio (LEGLER, 2000).

A análise do mel revelou que existem três componentes principais que são: frutose, glicose e água, que em média aparecem nas seguintes proporções: 38,2%, 31,3% e 17,2%, respectivamente (DONER, 1977). LADAS & RAPTIS (1999) citaram a sucrose com 0,2 a 2,5% em média, relataram também que o pH é em torno de 4,0. Outra característica do mel citada por BERGMAN et al. (1983) é a sua hipertonicidade, além de se mostrar estéril.

São encontradas no mel, aproximadamente, 181 substâncias (LADAS & RAPTIS, 1999). A composição mineral do mel apresenta diversos elementos, como: potássio, cloro, enxofre, cálcio, sódio, fósforo, magnésio, sílica, ferro, manganês e cobre. A presença de proteínas tem uma variação de 0,25% a 0,80%. Os aminoácidos livres mais comuns são: prolina, ácido glutâmico, alanina, fenilalanina, tirosina, leucina e isoleucina. Também foram encontradas vitaminas: B1, B2, B6 e C (LEGLER, 2000), derivados de ésteres de ácido caféico em níveis de 20 a 25% (HAMZAOGLU et al., 2000) e as enzimas são: diastase invertase, glicose oxidase e catalase (BERGMAN et al., 1983). DONER (1977) citou a invertase como a enzima mais importante do mel, sendo ela a responsável pela hidrólise da sucrose do néctar com a formação de frutose e glicose.

2.9.3. Ação

O mel tem demonstrado uma potente atividade antibacteriana, inibe o crescimento de muitos microrganismos gram-positivos e gram-negativos, sendo o *Staphylococcus aureus* uma das espécies mais sensíveis ao mel. Tem também propriedades antifúngicas

(MOLAN, 1992a; VARDI et al., 1998), embora, BOSE (1982) tenha citado que certas cepas de *Candida* não são inibidas pelo mel.

Nem todo mel tem o mesmo grau de ação antibacteriana (MOLAN, 1992a). De acordo com COOPER et al. (1999), o principal elemento envolvido na ação antibacteriana do mel é o peróxido de hidrogênio. McCARTHY (1995) relatou que essa diferença no grau de ação antibacteriana está associada à variação nos níveis de peróxido de hidrogênio, que é atribuída à planta com diferentes níveis de catalase, que é a enzima envolvida na hidrólise do peróxido de hidrogênio.

A atividade antifúngica não está relacionada à ação osmótica do mel, uma vez que alguns fungos são inibidos sob condições nas quais o açúcar não é o elemento responsável. Essa atividade pode estar relacionada, no mínimo, com fatores antifúngicos presentes em alguns tipos de mel (MOLAN, 1992a).

TONKS et al. (2003) relataram o efeito estimulante do mel em relação à produção de TNF- α , IL-1 β e IL-6 pelos monócitos.

Enzimas como a catalase auxiliam no processo de cicatrização (VARDI et al., 1998). Efeitos tumorocidas estão associados a componentes químicos como os ésteres do ácido caféico presentes no mel, além de muitos constituintes terem ação antioxidante (HAMAZAOGLU et al., 2000; NAGAI et al., 2001).

2.9.4. Indicações

A aplicação tópica do mel foi utilizada com sucesso no tratamento de feridas superficiais, úlceras de decúbito, feridas infectadas, queimaduras, úlcera diabética, gangrena e osteomielite (BERGMAN et al., 1983; GREENWOOD, 1993; VARDI et al., 1998). Tem sido usado com sucesso em muitos casos nos quais a infecção não responde à terapia anti-séptica e à antibioticoterapia. Tem rápida ação em limpar a infecção e promover a cicatrização (MOLAN, 1992b).

Não foram relatados efeitos adversos associados à aplicação tópica do mel (VARDI et al., 1998), no entanto, TOVEY (1991) citou que essa forma de aplicação pode permitir que o mel escape pelas bordas do curativo, atraindo insetos.

2.9.5. Propriedades

BERGMAN et al. (1983) e ZUMLA & LULAT (1989) afirmaram que as propriedades antimicrobianas do mel estavam relacionadas com o baixo pH e a hipertonidade (efeito osmótico). Porém, MOLAN (1992a) relatou que a acidez está relacionada, principalmente, com o conteúdo de ácido glucônico e, que não havia correlação entre a atividade antibacteriana e o pH do mel. Quanto à osmolaridade, esse mesmo autor, citou que ela, assim como outros fatores adicionais, está envolvida na atividade antibacteriana. Esse efeito estaria relacionado ao alto conteúdo de açúcar no mel. Assim, quanto mais diluído for o mel mais espécies de bactérias podem crescer nele (MOLAN, 1992b). Já COOPER et al. (1999) citaram que a ação antibacteriana não depende somente da sua osmolaridade, ela está relacionada, principalmente, ao peróxido de hidrogênio. Essa substância é produzida pela enzima glicose oxidase, originária das glândulas hipofaríngeas das abelhas melíferas (TAORMINA et al., 2002). A enzima catalase que destrói o peróxido de hidrogênio, também está presente no mel, mas, diferente da glicose oxidase, ela é originária do pólen (WESTON, 2001). O nível de peróxido de hidrogênio no mel é determinado pelos níveis relativos de glicose oxidase e catalase sendo diretamente proporcional ao nível de glicose oxidase e inversamente proporcional ao nível de catalase. As diferenças das atividades antimicrobianas entre cada amostra de mel das várias fontes florais podem, em parte, ser reflexo dessas variações (TAORMINA et al., 2002).

O envolvimento do peróxido de hidrogênio na atividade antibacteriana é também sustentado pelo achado de que toda ou pelo menos grande parte dessa atividade pode ser removida pela adição de enzimas que destroem o peróxido de hidrogênio, como a catalase ou peroxidase (MOLAN, 1992a).

WESTON (2001) citou como fatores responsáveis pela atividade antibacteriana “não-peróxido” os constituintes voláteis, a cera de abelha, o néctar, o pólen e a própolis. Porém, o autor concluiu que os flavonóides (principalmente o pinocembrin) e os ácidos benzóicos e cinâmicos têm uma contribuição pequena quando comparados ao peróxido de hidrogênio.

Uma das vantagens atribuídas ao uso terapêutico do mel relatada por COOPER et al. (1999) é que não há mecanismo de resistência aos tipos de atividade antibacteriana do mel.

O mel é um excelente adjuvante para a aceleração da cicatrização de feridas (BERGMAN et al., 1983). Esta capacidade está ligada a propriedades físicas de osmose e as propriedades antibacterianas do peróxido de hidrogênio e componentes “não-peróxido” do mel (TAORMINA et al., 2002). Já VARDI et al. (1998) citaram que o efeito do mel na cicatrização das feridas resulta da combinação de efeitos químicos, pelo debridamento de tecidos mortos e desvitalizados pela catalase, pela absorção do edema devido às propriedades higroscópicas do mel, pela promoção de granulação e epitelização das bordas das feridas, pelas propriedades bactericida e fungicida, propriedade nutricional do mel e pela produção de peróxido de hidrogênio. TONKS et al. (2003) relataram também a redução da inflamação e a promoção da angiogênese. No trabalho realizado por eles foram observados aumentos na liberação de TNF- α , IL-1 β e IL-6, em monócitos provenientes de seres humanos tratados com mel na concentração de 1%. LUSBY et al. (2002) relataram que a aplicação tópica de mel de abelha em feridas acelerou a granulação e a epitelização das mesmas, de acordo com a experiência clínica dos mesmos observada em seres humanos.

A desidratação do tecido causada pelo mel é rápida, mas são necessárias apenas duas aplicações ao dia, ao contrário da freqüente necessidade de aplicação do açúcar para manter um nível terapêutico ativo (BOSE, 1982).

O mel quando aplicado topicamente previne a implantação de tumor. Ele forma um filme que inibe a ligação de células tumorais à ferida. Além disso, ele inibe a proteólise local pela alteração do meio da ferida. A hipertonidade do mel pode criar um meio destrutivo ao redor das células tumorais fazendo-as encolherem. Assim, o efeito osmótico do mel está relacionado à atividade antitumoral (HAMZAOGLU et al., 2000). LADAS & RAPTIS (1999) relataram que o mel pode ter propriedades quimioprotetoras no cólon com carcinogênese, uma vez que ele contém ésteres de ácido caféico, que são potentes inibidores do crescimento celular do adenocarcinoma de cólon humano.

A ação antioxidante está relacionada à proteção do organismo contra o dano oxidativo causado pelos radicais livres e outros oxidantes, nos carboidratos, proteínas,

lipídeos e ácido nucléico. Esse dano pode prejudicar as organelas celulares e causar envelhecimento com ou sem doenças. Os tecidos normalmente se protegem fazendo uso de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (DSO), catalase, peroxidase e componentes de baixo peso molecular como tocoferol, ácido ascórbico e polifenóis (NAGAI et al., 2001). A capacidade antioxidante do mel está correlacionada positivamente com a quantidade de água e a cor do mel. A cor escura reflete o conteúdo de pigmentos como os carotenóides e os flavanóides, portanto quanto mais escuro for o mel, maior é o poder antioxidante (TAORMINA et al., 2002).

2.9.6. Cuidados com o mel

Alguns procedimentos podem afetar a atividade antibacteriana do mel, a sua exposição à luz e a altas temperaturas (McCARTHY, 1995), uma vez que a glicose oxidase, que gera o peróxido de hidrogênio, é desnaturada pelo calor e pela luz (ALLEN et al., 1991). Portanto, para o seu uso terapêutico recomenda-se que ele seja armazenado em frascos de vidro âmbar (MOLAN, 1992b).

Quanto à pasteurização, a temperatura deve ser de 70° a 75° C. Esse processo é utilizado para destruir fungos que podem sobreviver no mel com grande volume de água (MOLAN, 1992b). O tratamento térmico utilizado para modificar ou atrasar a cristalização pode destruir vitaminas e bionutrientes. Além de produzir, simultaneamente, uma diminuição da atividade da diastase e um aumento do conteúdo do hidroximetilfurfural (HMF) (TOSI et al., 2001; COSTA & PEREIRA, 2002). DONER (1977) relatou que o HMF é resultado da desidratação das hexoses; principalmente da frutose. Altos níveis de HMF sugerem adulteração do mel que pode ocorrer pela adição de calda de açúcar invertida, preparada a partir da sacarose, pela hidrólise ácida, armazenamento prolongado e pelo super aquecimento. Além disso, o tratamento térmico do mel a 100°C por 10, 20 e 30 minutos diminui drasticamente sua atividade antioxidante como também destrói a integridade de enzimas como catalase e peroxidase (NAGAI et al., 2001).

Assim, a pasteurização do mel é indesejável se ele for utilizado como anti-séptico. É também aconselhável manter o aquecimento do mel por um período mínimo, e ele deve ser estocado em temperaturas frescas (MOLAN, 1992b).

COSTA & PEREIRA (2002) relataram também que a adição de extrato de própolis diminui acentuadamente a viscosidade do mel, o que seria desagradável para o uso terapêutico, uma vez que escaparia com mais facilidade pelo curativo.

Portanto, com os cuidados acima citados, o mel é um medicamento efetivo, conveniente e seguro (SOMERFIELD, 1991).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Delineamento Experimental

3.1.1. Animais

Para a realização deste experimento foram utilizados 30 coelhos da raça Nova Zelândia, fêmeas, com peso médio de 2,5 kg, com 80 dias de vida, clinicamente sadios, provenientes do Setor de Cunicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. Esses animais, mantidos em gaiolas individuais, diariamente higienizadas, foram alimentados com ração comercial para coelhos, uma vez ao dia e água fornecida à vontade.

Para evitar que o fator estresse interferisse na cicatrização das feridas, uma vez que a cortisona e a epinefrina são potentes inibidores mitóticos (PEACOCK, 1984), antes do início do experimento foi observado um período de adaptação de sete dias (ONO, 2002).

Os animais foram separados aleatoriamente em seis grupos, cada grupo com cinco animais, segundo a caracterização a seguir:

Grupo Tes (Testemunho): animais utilizados como controle, cujas feridas eram limpas com solução fisiológica de cloreto de sódio 0,9%¹, duas vezes ao dia, pela manhã e à tarde.

1. Solução fisiológica de cloreto de sódio 0,9% - Equiplex

Grupo Cor (Corticóide): animais tratados com corticosteróide tópico, pomada à base de hidrocortisona 1%², aplicada duas vezes ao dia, pela manhã e à tarde.

Grupo Vas (Vaselina): animais tratados com o veículo utilizado nos produtos: pomada à base de vaselina³, aplicada duas vezes ao dia, pela manhã e à tarde.

Grupo Mel (Mel): animais tratados com aplicação tópica de mel de abelha puro, aplicado duas vezes ao dia, pela manhã e à tarde.

Grupo Tco (Terracortril®): animais tratados com Terracortril®⁴, combinação de hidrocortisona 1% e oxitetraciclina 3%, aplicado duas vezes ao dia, pela manhã e à tarde.

Grupo Oxi (Oxitetraciclina): animais tratados com antibiótico tópico, pomada à base de oxitetraciclina 3%⁵, aplicada duas vezes ao dia, pela manhã e à tarde.

As feridas dos animais de todos os grupos eram limpas com solução fisiológica de NaCl 0,9% antes da aplicação dos medicamentos que seriam testados. Os tratamentos foram feitos durante 30 dias.

A amostra do mel de abelha utilizada foi procedente do Sítio dos Chaves, município de Itapeçerica / MG, cedida pelo Professor Dejair Message do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa.

3.1.2. Procedimentos

Foi realizada uma tricotomia na região dorso caudal ao osso coxal de ambos os lados dos animais, 48 h antes da realização das lesões.

O protocolo anestésico consistiu de um bloqueio infiltrativo, em forma de L invertido com Lidocaína⁶ 2%, sem vasoconstritor, diluída em água destilada, na proporção de 0,5: 1. Foram feitas três aplicações do anestésico com espaçamento de cinco centímetros entre elas.

2 . Pomada à base de hidrocortisona 1% - Farmácia Real (farmácia de manipulação). Avenida PH Rolfs, 375. Loja 1

3. Pomada à base de vaselina - Farmácia Real (farmácia de manipulação)

4. Terracortril® pomada - Pfizer

5. Pomada à base de oxitetraciclina 3% - Farmácia Real (farmácia de manipulação)

6. Lidovet® - Lidocaína 2% - Bravet

Com um saca bocado⁷ (Punch) de 8mm de diâmetro foram efetuadas seis incisões sagitais cirúrgicas na pele da região dorso caudal ao osso coxal, paralelas ao plano sagital mediano, três do lado esquerdo e três do lado direito. O espaçamento entre as lesões era de quatro centímetros (ONO, 2002). A ferida número um correspondia à primeira incisão do lado esquerdo localizada mais cranialmente e assim sucessivamente.

Após uma hora do procedimento foram aplicados os medicamentos nos animais.

3.1.3. Coleta e análise de dados para avaliação clínica

As variáveis clínicas avaliadas foram edema, halo hiperêmico, profundidade, tamanho da ferida e tamanho da cicatriz. As mensurações foram realizadas antes da limpeza das feridas, com a utilização de um paquímetro. Os valores dessas variáveis foram transformados em área ($A = \pi \cdot r^2$), exceto para profundidade e tamanho da cicatriz ($A = \pi \cdot R \cdot r$), sendo R o valor do comprimento e r o valor da largura. A unidade de medida foi centímetros quadrados (cm^2). As feridas de cada animal foram mensuradas no 1º dia pós-cirúrgico, em seguida, em dias alternados até o término do experimento, com a última mensuração no 29º dia pós-cirúrgico. Para cada animal foram obtidas médias dos valores encontrados de cada variável, que com a realização das biópsias o número de repetições diminuía ao longo do experimento. A partir da média de cada animal do grupo correspondente foi obtida a média dos diferentes grupos.

Para determinar a influência dos diferentes tratamentos sobre as variáveis macroscópicas analisadas, as médias de cada grupo foram submetidas ao teste de ANOVA e quando significativo, foi utilizado o teste de Tukey. Para ambas as análises adotou-se o nível de significância de 5%. A análise de regressão foi utilizada para avaliar a evolução das variáveis ao longo do período do experimento.

Convencionou-se utilizar as médias dos grupos para as variáveis edema e halo hiperêmico em cinco momentos, que corresponderam ao 1º, 3º, 5º, 7º e 9º dias após terem sido feitas as feridas nos animais. Para a variável profundidade, os dias 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 15 após a intervenção. Para o tamanho, da ferida foram avaliados os dias 5, 9 e 15. Para o tamanho da cicatriz, as feridas foram avaliadas, em dias alternados a partir do 19º dia pós-

7. Punch - Miltex Instrument Company

cirúrgico até 29º dia do experimento. Essa convenção foi adotada devido a grande quantidade de valores nulos obtidos, a partir de certo momento para cada variável, para que não houvesse influência desses valores nas análises estatísticas.

3.1.4. Coleta, processamento do material para estudos histológicos e análise dos dados

Os fragmentos foram coletados com o auxílio de uma lâmina de bisturi em incisão elíptica colhendo-se toda a ferida, com uma pequena margem de pele íntegra (CONINCK et al., 1996).

A ferida de número um em todos os animais foi coletada no segundo dia após a intervenção. A ferida de número dois de todos os animais foi coletada no quinto dia após a intervenção. A ferida de número três, no nono dia após a intervenção. A ferida de número quatro, no décimo quinto. A ferida de número cinco, no vigésimo primeiro dia e a ferida de número seis no trigésimo dia após a intervenção.

Os fragmentos de tecido foram fixados isoladamente em formol 10% tamponado por 24 horas. Em seguida foi utilizado o procedimento de desidratação e diafanização do laboratório de Histopatologia dessa Instituição

Os fragmentos foram incluídos em parafina líquida e mantidos em estufa⁸ a 56°C por 30 minutos, para logo serem incluídos em blocos. Os blocos foram seccionados em micrótomo⁹ de rotação manual à espessura de cinco micrômetros e montados em lâminas de vidro, para, posteriormente, serem corados segundo a técnica de hematoxilina e eosina (GRIMALDI FILHO, 1981).

A análise histológica foi realizada com o auxílio de microscópio¹⁰ de luz, com objetivas de quatro, 10 e 40. Foram documentadas através de fotomicrografias¹¹.

Para a avaliação histológica foram analisados o infiltrado inflamatório, a crosta, o edema e a congestão, a fibroplasia, a hiperplasia do epitélio peri-incisional, a hiperplasia do epitélio, a reepitelização e a remodelação (ORDMAN & GILLMAN, 1966). As variáveis observadas foram classificadas quanto à intensidade em fraca (F), leve (+), moderada (++)

8. Estufa Orion - FANEM LTDA. São Paulo

9. Micrótomo Spencer - American Optical Company

10. Microscópio Dialux 20 EB - Leitz

11. Microscópio óptico binocular - Eclipse E 600 - Nikkon - Japan

ou intensa (+++). Em relação à reepitelização foi constatada presença (P) ou ausência (A) nos grupos, de acordo com os dias avaliados.

Para a análise estatística do exame histológico foi utilizado o procedimento de Cluster para o agrupamento aglomerativo hierárquico, com as variáveis padronizadas a uma distância Euclidiana média.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Fase inflamatória

4.1.1. Edema

O edema foi observado em todos os grupos, o que concorda com ROBBINS et al. (1986) ao relatarem o edema como consequência da exsudação, com aumento do fluido intersticial. Foi utilizado um modelo de equação exponencial para essa variável. Na análise de regressão, observou-se que o **grupo Tes** iniciou com alto valor para esse parâmetro (Figura 1).

De acordo com a avaliação clínica o grupo que obteve os menores valores de média, para a variável edema, do 1º ao 7º dia pós-cirúrgico, foi o **grupo Tco**. Embora sem diferença significativa entre esse grupo e o **grupo Tes** no 5º dia pós-cirúrgico, e no 7º dia pós-cirúrgico sem diferença significativa entre o **grupo Oxi** (Tabela 1). Esse achado demonstra o efeito dos glicocorticóides na redução do edema na fase inflamatória aguda como citaram FELDMAN & NELSON (1996). Além do que, a associação da hidrocortisona com a oxitetraciclina parece ter intensificado a ação antiinflamatória de ambos, o que explicaria esse comportamento no **grupo Tco**, uma vez que no **grupo Cor**, onde foi utilizado apenas a hidrocortisona, a redução do edema não foi tão marcante quanto no **grupo Tco**. O que demonstra o efeito benéfico da associação do glicocorticóide com o antibiótico na redução da reação inflamatória, como citaram WERNER & RUSSEL (1999).

Quanto aos grupos **Mel** e **Oxi**, no 1º dia pós-cirúrgico foi possível afirmar que esses grupos tiveram valores de média menores que o **grupo Tes** (Tabela 1). Assim, o efeito do mel na redução do edema devido as suas propriedades higroscópicas, como foi citado por EFEM (1988), ZUMLA & LULAT (1989), McCARTHY (1995) e TONKS et al. (2003) mostrou-se eficaz.

A diferença significativa entre o **grupo Tes**, com maior valor de média, e o **grupo Oxi**, no 1º dia pós-cirúrgico, sugere a ação antiinflamatória das tetraciclina, relatada por SADICK (2000). Porém, como relatou TSANKOV et al. (2003) sua ação é predominantemente antimicrobiana, fato que confirma a ausência de diferença significativa entre os demais grupos após esse período. Já quanto a comparação entre esse grupo e os grupos com menores valores de média, nos outros momentos avaliados (3, 5, 7 e 9 dia pós-cirúrgico), não foi possível demonstrar um efeito superior.

Pelo teste de média, o **grupo Vas** foi o grupo com maior valor nos dias 5 e 7 pós-cirúrgico (Tabela 1). Esse achado indica que a vaselina não demonstrou interferência na redução desse sinal da reação inflamatória. O edema desse grupo pode ter exercido um efeito inibitório temporário sobre a cicatrização, sendo de interferência mais mecânica do que bioquímica, como relatou PEACOCK (1984).

Tabela 1. Médias dos valores encontrados para edema nos dias analisados.

Grupo	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Tes	6.9322 A	2.9452AB	1.5354 B	1.5084 AB	0.2818 A
Cor	4.8528 ABC	4.8208 A	2.2106 AB	1.4382 AB	0.0000 A
Vas	5.8448 AB	4.0742 AB	4.3298 A	2.7486 A	0.8696 A
Mel	3.9606 BC	2.8848 AB	2.3948 AB	1.2076 AB	0.1270 A
Tco	2.7408 C	1.6854 B	1.0734 B	0.3134 B	0.4378 A
Oxi	3.8058 BC	3.2586 AB	2.8790 AB	0.0000 B	0.0000 A

Pares de média seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

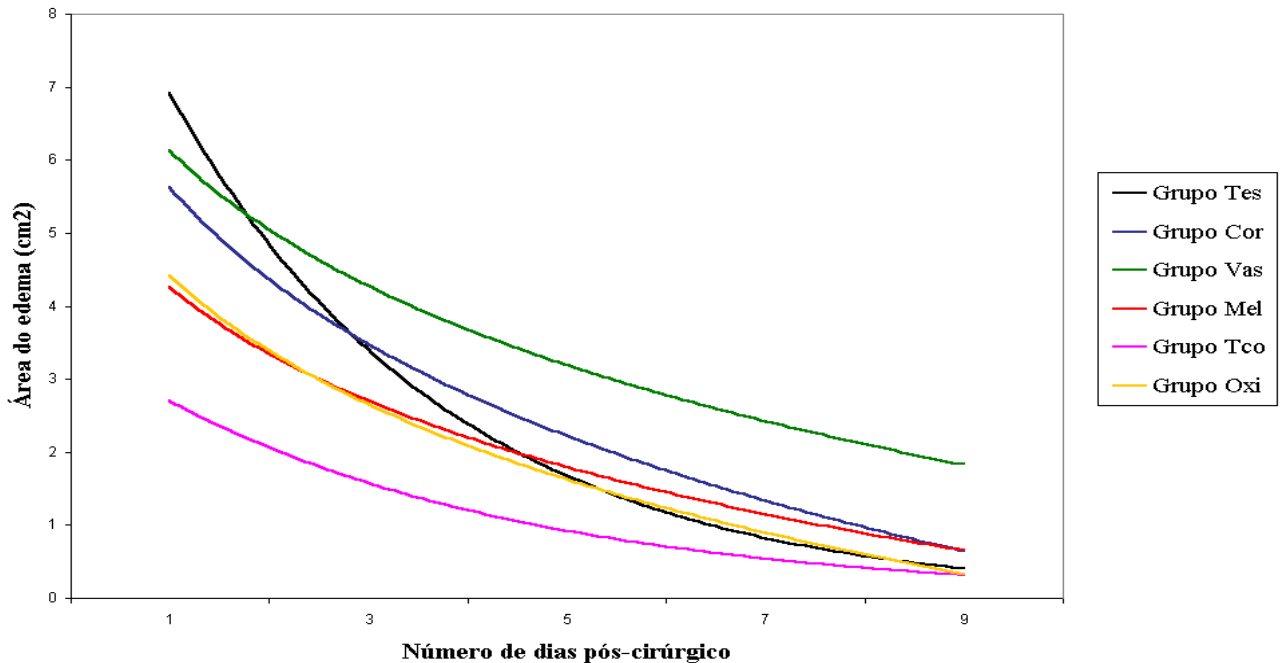


Figura 1. Análise de regressão para a variável edema

4.1.2. Halo hiperêmico

O dano ao tecido inicia uma resposta celular e vascular. A resposta vascular envolve uma intensa vasoconstrição, por 5 a 10 minutos, que auxilia na hemostasia. Em seguida, ocorre uma vasodilatação ativa que é acompanhada por um aumento na permeabilidade capilar (STADELMANN et al., 1998b). Assim, a cor avermelhada regional, na área em cicatrização tem essa característica por causa da vasodilatação e aumento nos números de capilares (CHEM, 2001). Para observar o comportamento dessa variável, o halo hiperêmico foi analisado até o 9º dia pós-cirúrgico (Figura 2).

Houve diferença significativa no 1º dia pós-cirúrgico, com o **grupo Oxi** apresentando o maior valor de média e o **grupo Cor**, o menor valor (Tabela 2). Esse achado demonstra o efeito do glicocorticoide na inibição da dilatação capilar, como foi relatado por FELDMAN & NELSON (1996), sendo superior a ação antiinflamatória das tetraciclina relatada por SADICK (2000).

O modelo de equação estudado para a análise de regressão para esse parâmetro foi $Y = A + B \cdot \text{Dia}$. De acordo com essa análise, comportamento do **grupo Cor** não foi

adequado ao modelo dessa equação, uma vez que o R^2 foi zero (Quadro 2). A evolução ao longo dos dias analisados no **grupo Cor** sugere a interferência de algum fator para a persistência da reação inflamatória. O que foi confirmado pelos achados de foliculite supurativa, focos de necrose e abscesso, observados na avaliação histopatológica desse grupo (Figura 3). Assim, a presença de infecção, comum quando se usa glicocorticóide tópico isoladamente (SCOTT et al., 1996) estaria retardando a cicatrização pela produção de mediadores pró-inflamatórios e proteinases que destroem os fatores de crescimento como também degrada a matriz de glicosaminoglicano, necessária para a cicatrização das feridas (STADELMANN et al., 1998a).

De acordo com a análise de regressão, foi possível observar o efeito do mel sobre a redução desse sinal da inflamação (Figura 2 e Quadro 2) concordando com os achados de LUSBY et al. (2002) em experiências clínicas com o uso do mel em feridas em seres humanos. Porém, não foi possível observar uma maior eficiência do mel em comparação aos outros grupos pelo teste de média (Tabela 2).

Tabela 2. Média dos valores encontrados para o halo hiperêmico durante os dias analisados

Grupo	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7	Dia 9
Tes	3.2786 AB	1.5916 A	1.0940 A	0.0000 A	0.0000 A
Cor	1.3446 B	1.8474 A	1.8784 A	2.4262 A	0.5538 A
Vas	3.6636 AB	2.9898 A	3.7290 A	1.6852 A	0.5242 A
Mel	2.6598 AB	1.3874 A	1.7030 A	1.0644 A	0.0000 A
Tco	2.6878 AB	2.1614 A	1.6070 A	1.2554 A	1.1066 A
Oxi	4.6430 A	2.5452 A	2.6330 A	0.7332 A	0.0000 A

Pares de média seguidas de letras iguais, na mesma coluna, uma não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

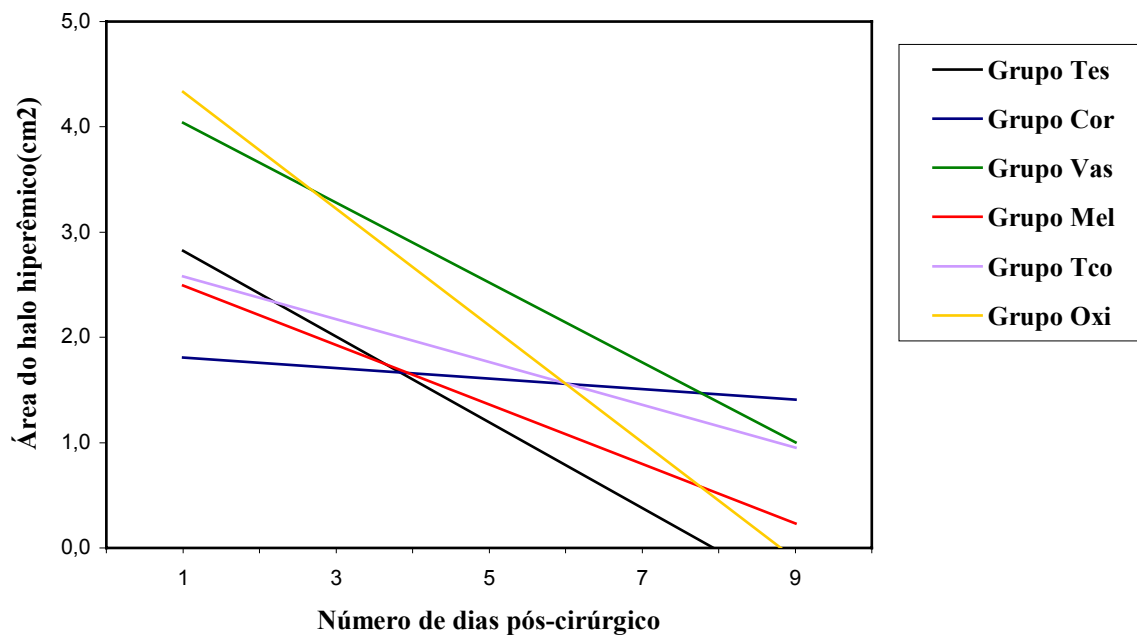


Figura 2. Análise de regressão para a variável halo hiperêmico

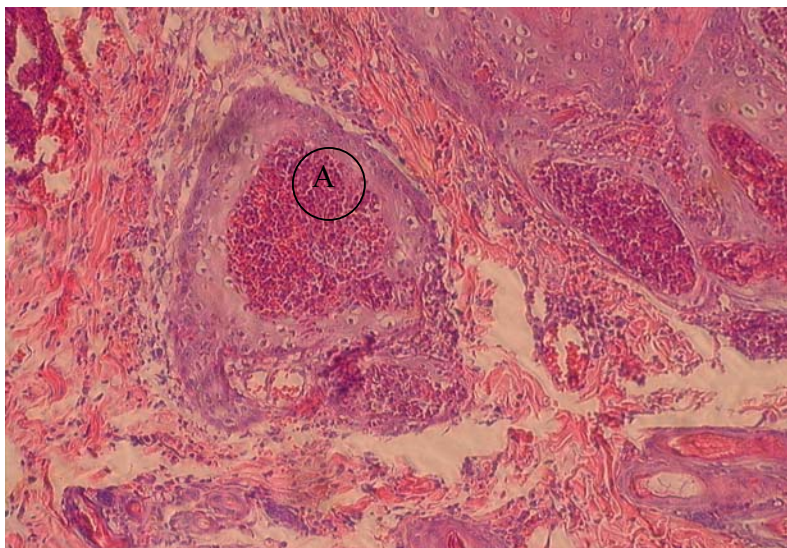


Figura 3. Foliculite supurativa (A) observada no **Grupo Cor** no 9º dia pós-cirúrgico, aumento de 40, coloração de Hematoxilina e Eosina.

4.1.3. Infiltrado inflamatório

Na avaliação histológica, observou-se no 2º dia pós-cirúrgico um infiltrado inflamatório classificado como intenso em todos os grupos (Quadro 5, 6, 7, 8, 9 e 10 e Figura 4), o que concorda com ROBBINS et al., (1986) ao relatar a ocorrência de um grande afluxo de leucócitos para o local da ferida.

Foi constatada redução na classificação do infiltrado inflamatório no 5º dia pós-cirúrgico nos grupos **Tes**, **Cor** e **Tco** (Figura 5). Porém, no **grupo Tes** as células que predominaram foram os neutrófilos, o que concorda com COLLINS (2000) ao afirmar que na cicatrização por segunda intenção os grandes defeitos teciduais apresentam, no início, uma maior quantidade de fibrina, de restos necróticos e de exsudatos a serem removidos. Assim, a fase de limpeza da ferida, citada por SCOTT et al. (1996) ainda estava presente no **grupo Tes**. Já a diminuição nos grupos **Cor** e **Tco** é indicativo da ação dos glicocorticóides sobre o recrutamento celular, uma vez que os glicocorticóides produzem efeitos em quase todos os tecidos e células como relatou PRATT (1978). Como afirmaram RANG et al. (2001) os glicocorticóides inibem a migração de leucócitos levando a uma menor saída de neutrófilos e monócitos dos vasos sanguíneos e redução nas suas atividades.

No 9º dia pós-cirúrgico foi observada a presença de infecção no **grupo Cor** foram visualizados: foliculite supurativa (Figura 3) e abscesso. A razão de a ferida contaminada ter se tornado infectada provavelmente ocorreu pelo efeito dos glicocorticóides prejudicando a fagocitose, como relataram RANG et al. (2001). Uma vez que, com a fagocitose diminuída, as bactérias encontraram no tecido necrótico um meio para o seu crescimento inibindo assim a migração de ceratinócitos e fibroblastos para a ferida pela liberação de endotoxinas, além da manutenção da reação inflamatória pela produção de mediadores pró-inflamatórios e proteinases que destroem os fatores de crescimento e degradam a matriz de glicosaminoglicano (STADELMANN et al., 1998a).

No **grupo Cor**, no 15º dia pós-cirúrgico, foi notado um aumento no infiltrado inflamatório, com predominância de eosinófilos. Esse achado concorda com JAIN (1993) ao afirmar que a eosinofilia tecidual e, conseqüentemente, a sanguínea estão presentes antecipando várias condições associadas com a formação e liberação de quimioatraentes eosinofílicos, como por exemplo nas doenças de pele. COLES (1984) citou a ocorrência de

eosinofilia em alguns animais com insuficiência adrenocortical. Portanto, a eosinofilia observada no 15º dia pós-cirúrgico no **grupo Cor** pode ter ocorrido por essa causa, uma vez que FELDMAN & NELSON (1996) citaram que os coelhos comparados aos cães e gatos são muito mais sensíveis aos efeitos dos glicocorticóides.

Foram observados focos de mononucleares no **grupo Tco**, no 15º dia pós-cirúrgico, indicando sinal de inflamação crônica, pois segundo COLLINS (2000) os macrófagos persistem nesse tipo de inflamação.

Nos grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi** a celularidade do infiltrado inflamatório estava diminuída no 15º dia pós-cirúrgico (Figura 6), concordando com ORDMAN & GILLMAN (1966) que observaram a partir do 15º dia a diminuição da celularidade na área de reparo, além da quase totalidade de ausência de sinais da inflamação. Os achados nos grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi** também condizem com os de LEVENSON et al. (1965) que observaram a celularidade nas feridas com 14 dias sendo menor do que nas de cinco dias.

Foi observado no **grupo Cor**, no 21º dia pós-cirúrgico, a presença de um infiltrado linfohistioplasmocitário, sendo um achado sugestivo de inflamação crônica, uma vez que de acordo com COLLINS (2000), na inflamação crônica ocorre a inflamação ativa, a destruição tecidual e a tentativa de reparação simultaneamente com a presença de linfócitos, plasmócitos, mastócitos e eosinófilos.

No 30º dia pós-cirúrgico não foi observado infiltrado inflamatório no **grupo Tes**, o que concorda com ROBBINS (1975) ao afirmar que ao final do primeiro mês é observado um tecido conjuntivo celular, vascularizado e destituído de infiltrado inflamatório. Já nos grupos **Vas**, **Mel** e **Oxi** foi observada uma diminuição progressiva da celularidade concordando assim com os achados de ORDMAN & GILLMAN (1966).

No **grupo Cor**, no 30º dia pós-cirúrgico, houve o predomínio de eosinófilos, que pode indicar reação adversa aos glicocorticóides, como foi citado por JAIN (1993), além das foliculites observadas (Figura 7), como demonstração de infecções, como foi citado por ROBBINS et al. (1986) quanto a essa susceptibilidade.

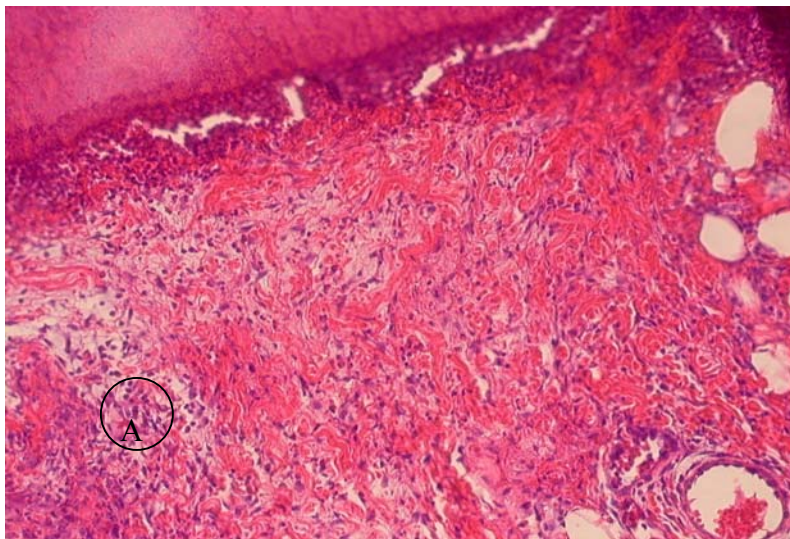


Figura 4. Infiltrado inflamatório intenso (A) observado no **Grupo Mel**, no 2º dia pós-cirúrgico. Aumento de 20, coloração de Hematoxilina e Eosina.

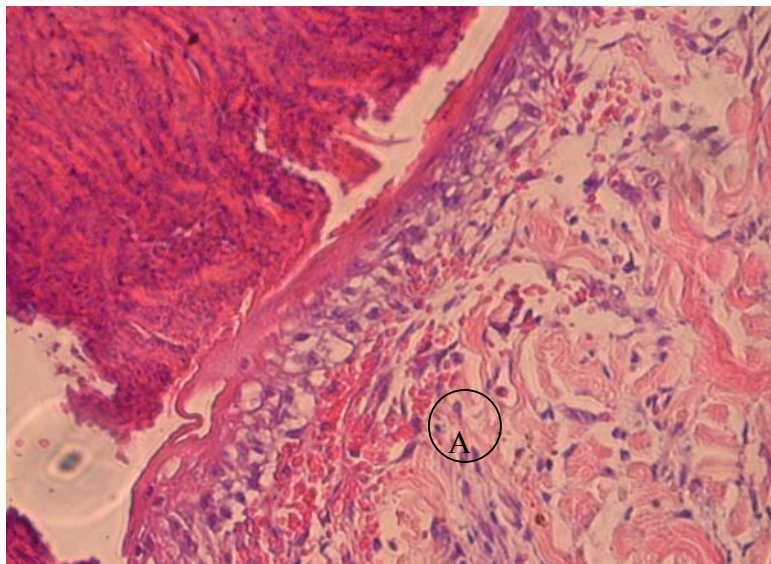


Figura 5. Redução do infiltrado inflamatório (A) no **Grupo Tes**, no 5º dia pós-cirúrgico. Aumento de 20, coloração Hematoxilina e Eosina

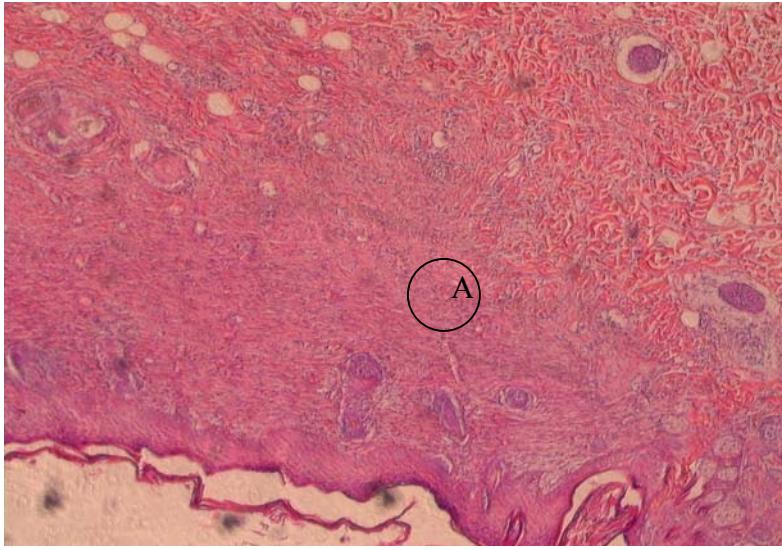


Figura 6. Redução do infiltrado inflamatório (A) no **Grupo Mel**, no 15º dia pós-cirúrgico. Aumento de 10, coloração Hematoxilina e Eosina.

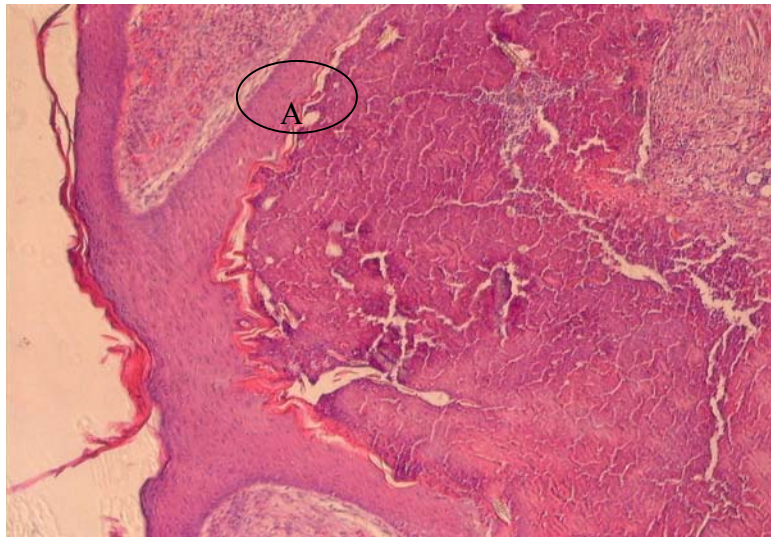


Figura 7. Foliculite supurativa (A) observada no **Grupo Cor**, no 30º dia pós-cirúrgico. Aumento de 40, coloração Hematoxilina e Eosina

4.2. Fase proliferativa

4.2.1. Reepitelização

Não houve reepitelização completa em nenhum dos grupos analisados no 2º dia pós-cirúrgico, o que discorda de DANCINI (2000) que afirma que num prazo de 48 horas, toda a superfície da ferida fica reepitelizada. Já no 5º dia pós-cirúrgico, a reepitelização observada no **grupo Mel** foi de aproximadamente 70% da área da ferida (Figura 8), diferente dos outros grupos, o que sugere a capacidade de estimulação da epitelização do mel relatada por TONKS et al. (2001) e LUSBY et al. (2002).

A crosta contém células mortas e fibrina fina, atua como bandagem e protege a ferida da contaminação externa (PEACOCK, 1984; STASHAK, 1991). O aspecto de fragmentação da crosta observado nos grupos **Cor** e **Tco** (Figura 9) foi diferente da crosta densa e compacta dos grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi** (Figura 10). Esse aspecto observado nos grupos **Cor** e **Tco** sugere a interferência na quantidade de fibronectina, uma vez que ela é muito abundante nas 24 a 48 horas após a injúria e é eficiente na aderência de proteínas fibrosas e o colágeno, como relatou PEACOCK (1984). Portanto, esse achado sugere o efeito do glicocorticóide interferindo na formação da crosta.

De acordo com STASHAK (1991), o desprendimento da crosta ocorre quando a epitelização for completa. No **grupo Vas**, ele foi visualizado em todos os animais, no 9º dia pós-cirúrgico. O que condiz com os achados de ORDMAN & GILLMAN (1966), no qual o desprendimento ocorreu a partir do 5º dia pós-cirúrgico. Já o desprendimento em menor número de animais nos grupos **Tes**, **Mel** e **Oxi** estariam de acordo com PROBST (1993) ao relatar que nas feridas abertas o desprendimento da crosta ocorre enquanto a epitelização progride e pode durar dias ou semanas para que se complete, o que sugere a simultaneidade dos estágios do reparo tecidual. Nos animais do **grupo Tco**, a crosta ainda estava presente no 21º dia pós-cirúrgico (Figura 11), o que confirma a citação de PROBST (1993) ao relatar o efeito do corticosteróide na diminuição da velocidade de epitelização.

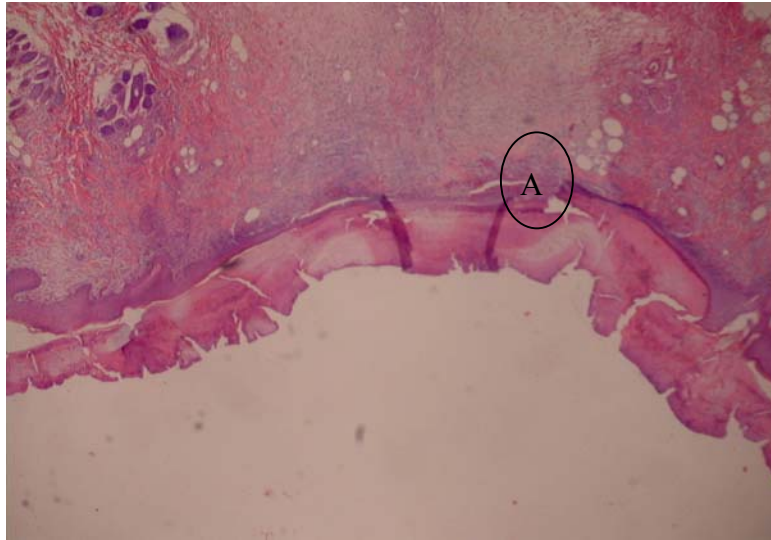


Figura 8. Reepitelização intensa (A) observada no **Grupo Mel**, no 5º dia pós-cirúrgico. Aumento de 5, coloração Hematoxilina e Eosina

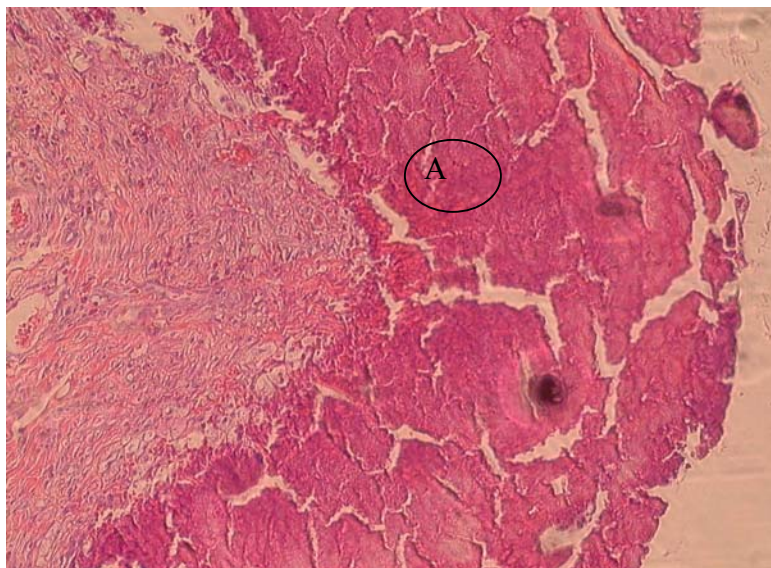


Figura 9. Aspecto de crosta fragmentada (A) observado no 9º dia pós-cirúrgico no **Grupo Tco**. Aumento de 40, coloração Hematoxilina e Eosina

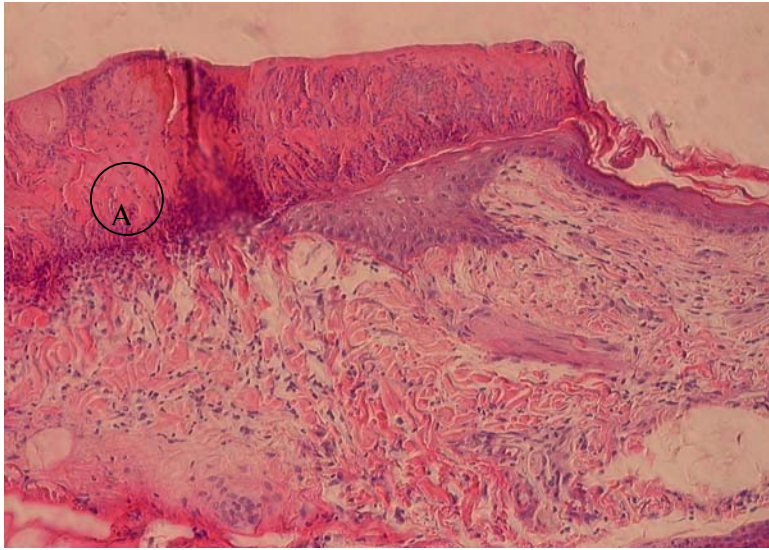


Figura 10. Aspecto da crosta densa observado no **Grupo Tes**, no 2º dia pós-cirúrgico. Aumento de 20, coloração Hematoxilina e Eosina

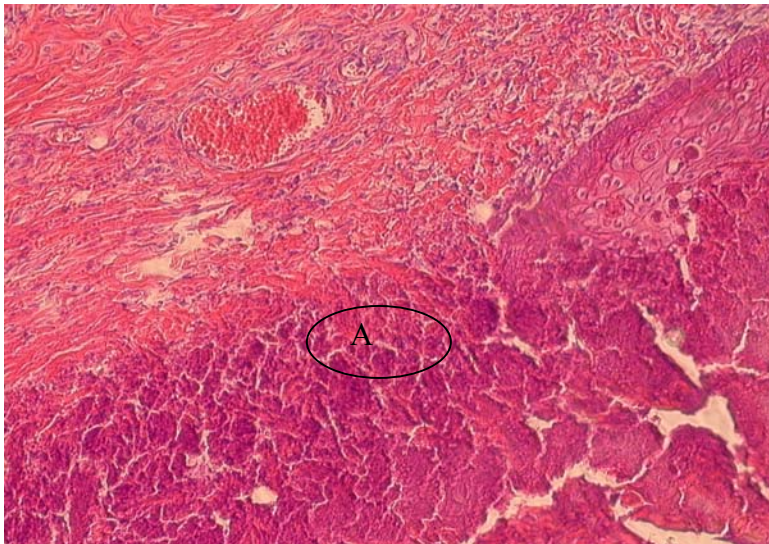


Figura 11. Presença da crosta fragmentada (A) no **Grupo Tco** no 21º dia pós-cirúrgico. Aumento de 40, coloração Hematoxilina e Eosina

4.2.2. Fibroplasia

A visualização da fibroplasia foi possível nos grupos **Tes**, **Vas**, **Mel**, **Tco** e **Oxi**, no 5º dia pós-cirúrgico (Figura 12), concordando com PEACOCK (1984) que afirmou que após o 4º ou 5º dia da ferida inicia-se a síntese de colágeno e a fase de fibroplasia começa. Porém, o **grupo Tco** recebeu a menor classificação dentre os grupos (Quadro 9 e Figura 13). O surgimento de uma fibroplasia fraca, no **grupo Tco**, sugere o efeito do glicocorticóide interferindo na fibroplasia, como o citado por PRATT (1978). Assim, a presença da fibroplasia nesse grupo talvez se deva ao efeito da oxitetraciclina, como foi observado no **grupo Oxi**. Portanto, a associação do glicocorticóide com um antibiótico tópico, como foi preconizado por WERNER & RUSSEL (1999), não demonstrou um efeito superior, quanto ao surgimento de uma fibroplasia mais intensa, como a observada nos grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi**.

A fibroplasia só foi surgir no **grupo Cor** no 9º dia pós-cirúrgico e foi classificada como leve, no 21º dia pós-cirúrgico foi avaliada como leve a moderada (Figura 14), enquanto que nos outros grupos era mantida como moderada a intensa. Isso demonstra o retardo no desenvolvimento do tecido de granulação devido ao uso do glicocorticóide, como foi relatado por SANDBERG (1964) e FELDMAN & NELSON (1996), que ocorre pela inibição da proliferação capilar, de fibroblastos e da deposição de colágeno, como relataram PRATT (1978) e ROBBINS et al. (1986).

No 9º dia pós-cirúrgico, enquanto o **grupo Mel** foi avaliado como intenso para a fibroplasia (Quadro 8), o **grupo Tco** continuou sendo avaliado como fraco (Quadro 9). Ainda sendo constatado nesse período o adelgaçamento da derme no **grupo Tco** (Figura 15). Achado que segundo CHARMAN & WILLIAMS (2003) é o efeito colateral que mais preocupa os clínicos.

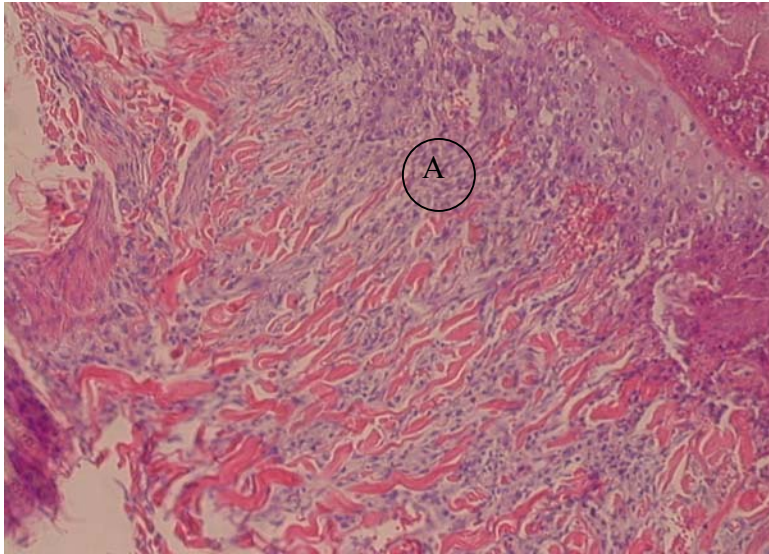


Figura 12. Surgimento da fibroplasia (A) no **Grupo Oxi** no 5° dia pós-cirúrgico. Aumento de 10, coloração Hematoxilina e Eosina

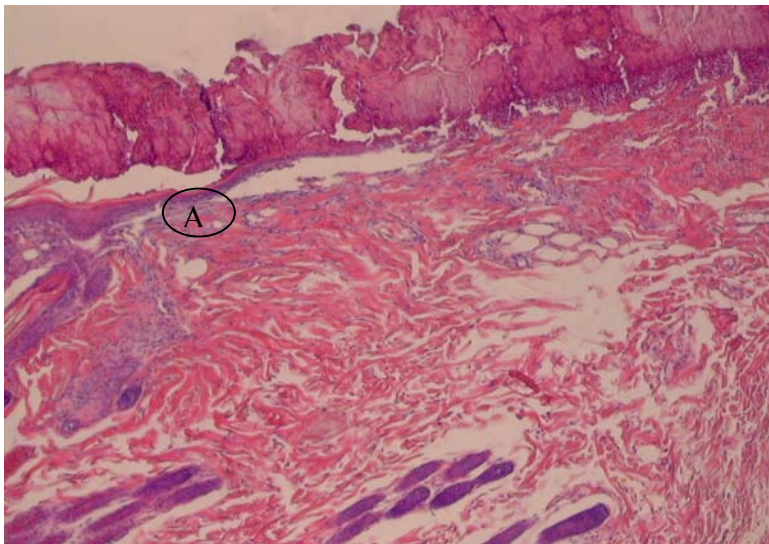


Figura 13. Fibroplasia avaliada como fraca (A) no **Grupo Tco**, no 5° dia pós-cirúrgico. Aumento de 20, coloração Hematoxilina e Eosina

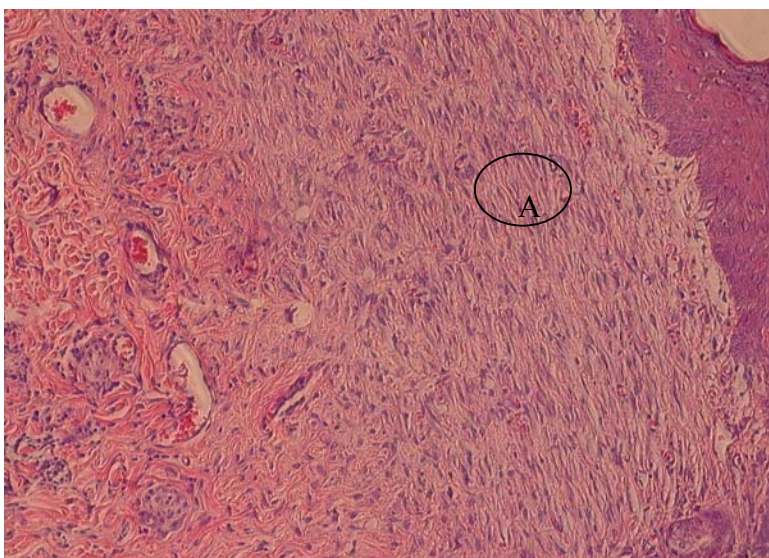


Figura 14. Fibroplasia avaliada como leve a moderada no **Grupo Cor**, no 21º dia pós-cirúrgico. Aumento de 20, coloração Hematoxilina e Eosina

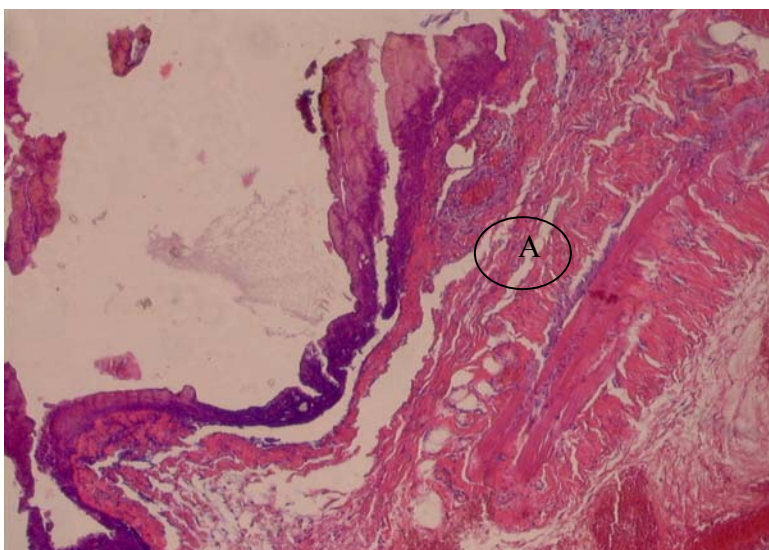


Figura 15. Adelgaçamento da derme (A) observada no 9º dia pós-cirúrgico no **Grupo Tco**. Aumento de 20, coloração Hematoxilina e Eosina

4.2.3. Profundidade

A profundidade da ferida está relacionada ao tecido de granulação formado, que cresce de baixo para cima e a partir das margens, e com a força de contração das feridas, que é um importante aspecto nas feridas abertas (ROBBINS, 1975; DANCINI, 2000).

O grupo com maior valor de média para essa variável nos dias 11, 13 e 15 pós-cirúrgico foi o **grupo Cor**, sendo que nos dias 11 e 13 não houve diferença significativa entre esse grupo e o **grupo Tco** (Tabela 3), o que demonstra o efeito inibitório do corticóide na formação do tecido de granulação, retardando a contração da ferida, como verificou PEACOCK (1984). Já que a contração da ferida é resultado de um movimento centrípeto das margens da pele intacta ao redor do defeito sendo, portanto a força de tensão proporcional ao tecido de granulação (HIGTON & JAMES, 1964). Esse efeito inibitório do glicocorticóide também foi observado no trabalho desenvolvido por BILLINGHAM & RUSSEL (1956) quando foi avaliado o fenômeno de contração das feridas na pele de coelhos ao testarem a administração subcutânea diária de 10mg de acetato de cortisona.

Os menores valores de média para a variável profundidade, nos dias 11, 13 e 15 foram observados nos grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi**, porém sem diferença significativa entre eles (Tabela 3). Assim, não foi possível observar uma formação de tecido de granulação mais rápida como observado por TONKS et al. (2003) no grupo tratado com mel, em relação aos grupos **Tes**, **Vas** e **Oxi**, apenas quando comparado aos grupos **Cor** e **Tco**. Porém, na análise de regressão o **grupo Mel** não se adequou ao modelo da equação (Figura 16), uma vez que obteve valores nulos a partir do 11º dia pós-cirúrgico, o que poderia sugerir o efeito do mel em promover a granulação de forma mais rápida que todos os outros grupos, como foi relatado por LUSBY et al. (2002).

Já a contração da ferida, analisada pelo direcionamento dos folículos pilosos, foi observada nos grupos **Tes** e **Mel**, a partir do 15º dia pós-cirúrgico pela avaliação histopatológica (Figura 17). Por se tratar de um processo extremamente importante nas feridas abertas, sendo talvez o aspecto que mais diferencie da cicatrização primária (PROBST, 1993; COLLINS, 2000), os achados no **grupo Tes** e no **grupo Mel** indicam uma melhor resposta nesses grupos do que nos outros quanto a esse aspecto.

Tabela 3. Média dos valores encontrados para profundidade nos dias analisados

Grupo	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7	Dia 9	Dia 11	Dia 13	Dia 15
Tes	0.14020 A	0.09540 B	0.10840 A	0.08500A	0.03900 A	0.01440B	0.01800B C	0.000000 C
Cor	0.10380 A	0.09700 B	0.08660 A	0.09160 A	0.08120 A	0.07860A	0.07140A	0.089400 A
Vas	0.11300 A	0.08600 B	0.09100 A	0.05620 A	0.02500A	0.00940B	0.00000C	0.000000 C
Mel	0.09920 A	0.13660A B	0.11320 A	0.09440 A	0.06320 A	0.00000 B	0.00000C	0.000000 C
Tco	0.11580 A	0.10520 B	0.12480A	0.07600 A	0.06980 A	0.05960 A	0.05420A B	0.049800 B
Oxi	0.14580 A	0.19100 A	0.13400 A	0.10540A	0.06140A	0.01200B	0.00000C	0.000000 C

Pares de média seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

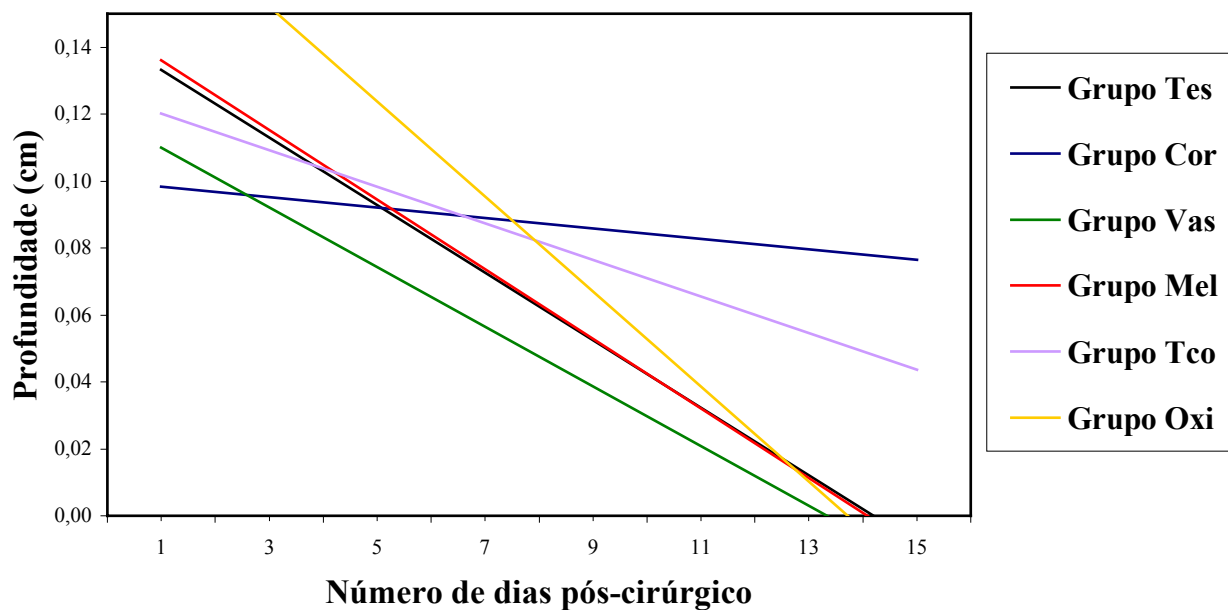


Figura 16. Análise de regressão para a variável profundidade

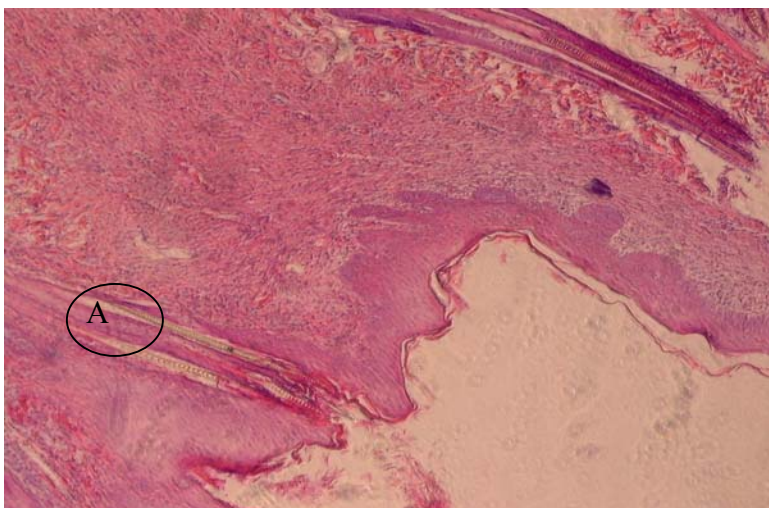


Figura 17. Contração da ferida avaliada pelo direcionamento dos folículos pilosos (A) no **Grupo Mel**, no 15º dia pós-cirúrgico. Aumento de 20, coloração Hematoxilina e Eosina

4.2.4. Tamanho da ferida

O tamanho da ferida foi avaliado a partir do 5º dia pós-cirúrgico, pois de acordo com PEACOCK (1984) durante os primeiros 5 a 7 dias pouca mudança ocorre no tamanho da ferida.

No 5º dia pós-cirúrgico, o **grupo Mel** quando comparado ao **grupo Tco**, mostrou menor tamanho de ferida, de acordo com as médias (Tabela 4). O **grupo Mel** também se adequou ao modelo de equação, de maneira superior ao **grupo Tco**, pela análise de regressão (Quadro 4), uma vez que o R^2 foi maior do que o do **grupo Tco**. Assim, esse menor tamanho de ferida do **grupo Mel** concorda com os achados de BERGMAN et al. (1983) que testaram o mel de abelha em feridas de camundongos e obtiveram aumento da espessura do tecido de granulação, da epitelização e menor tamanho das feridas.

Embora que nos dias 9 e 15 pós-cirúrgico não houvesse diferença significativa entre os valores de média entre os grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi** (Figura 18, 19, 20 e 21), foi possível afirmar superioridade desses tratamentos testados em relação aos grupos **Cor** (Figura 22) e **Tco** (Figura 23), que obtiveram os maiores valores de média (Tabela 4). Pois, de acordo com as observações de OLIVEIRA et al. (2000) o tamanho da ferida diminui

numa frequência constante que tende a zero após o 12º dia pós-cirúrgico. Essa diminuição, no tamanho da ferida, foi visualizada no presente trabalho nos grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi**. Assim, os maiores valores de média observados nos grupos **Cor** e **Tco** (Tabela 4) indicam que a aplicação tópica da hidrocortisona 1% (**grupo Cor**) e a sua associação a oxitetraciclina (**grupo Tco**) interferiram na cicatrização das feridas, retardando-a, o que pode ser explicado pela redução da fibroplasia, causada pelo corticóide, como observado por HIGTON & JAMES (1964). A confirmação da interferência do glicocorticóide na cicatrização da ferida pode ser observada pela avaliação histopatológica, pois no **grupo Cor** havia sinais de infecção (Figura 3) e no **grupo Tco** manutenção da reação inflamatória.

Para os grupos **Tes**, **Cor** e **Vas** não foi possível realizar a análise de regressão, pois a obtenção da média do tamanho das feridas dos animais desses grupos não obedeceu ao mesmo número de repetições das obtidas nos grupos **Mel**, **Tco** e **Oxi** (Figura 24).

Tabela 4. Média dos valores encontrados para o tamanho da ferida nos dias analisados

Grupo	Dia 5	Dia 9	Dia 15
Tes	0.9136 BC	0.4808 B	0.1088 B
Cor	1.3352 BC	1.5832 A	1.0980 A
Vas	1.7178 AB	0.7154 B	0.0972 B
Mel	0.7818 C	0.1586 B	0.0000 B
Tco	2.2622 A	2.4306 A	1.6012 A
Oxi	1.3664 BC	0.6378 B	0.0000 B

Pares de média seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

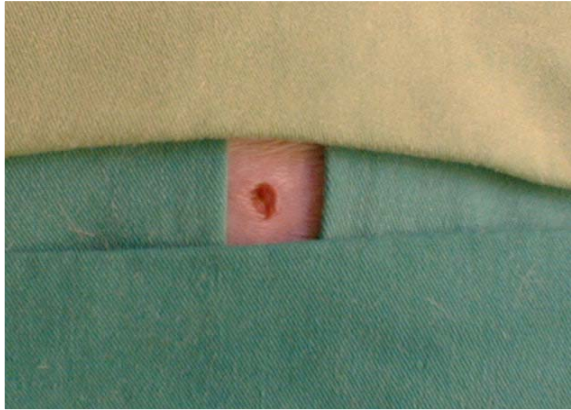


Figura 18. Ferida de um animal do **Grupo Tes** no 9º dia pós-cirúrgico

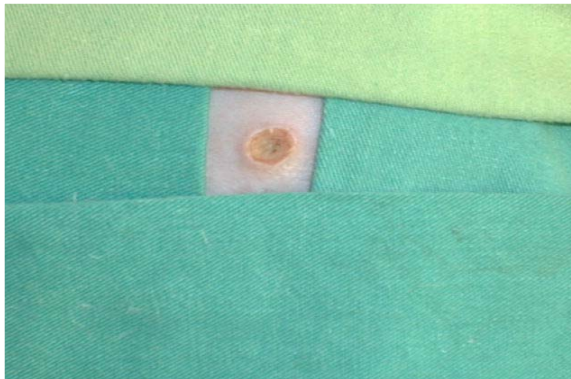


Figura 19. Ferida de um animal do **Grupo Vas** no 9º dia pós-cirúrgico

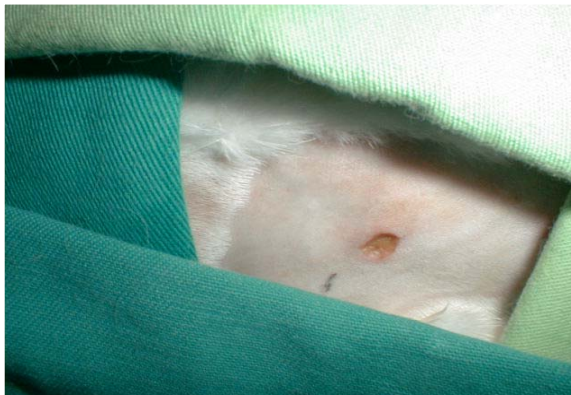


Figura 20. Ferida de um animal do **Grupo Mel** no 9º dia pós-cirúrgico

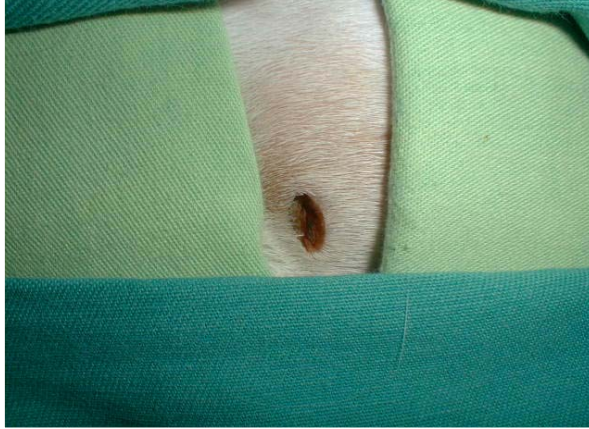


Figura 21. Ferida de um animal do **Grupo Oxi** no 9º dia pós-cirúrgico



Figura 22. Ferida de um animal do **Grupo Cor** no 9º dia pós-cirúrgico



Figura 23. Ferida de um animal do **Grupo Tco** no 9º dia pós-cirúrgico

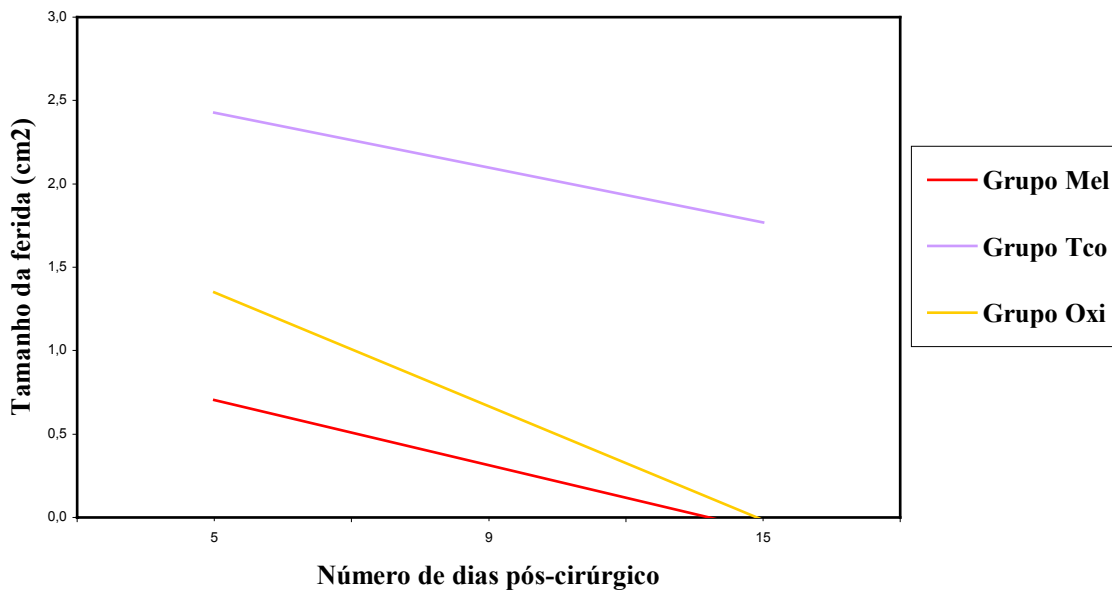


Figura 24. Análise de regressão para a variável tamanho das feridas nos grupos **Mel**, **Tco** e **Oxi**.

4.3. Fase de maturação

À medida que a reação inflamatória regride a superfície epitelial se espessa, associadas à hiperplasia do epitélio surgem numerosas projeções epiteliais, as chamadas cristas epiteliais, em direção ao tecido conjuntivo, que com o passar do tempo regridem (PEACOCK, 1984; DANCINI, 2000). A regressão da hiperplasia do epitélio começou a ocorrer no 9º dia pós-cirúrgico para os grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi**, sendo classificada como moderada no **grupo Tes** no 15º dia pós-cirúrgico (Figura 26). Enquanto que no **grupo Tco** apenas começou a surgir no 15º dia pós-cirúrgico (Figura 27), concordando com PROBST (1993) quanto ao fato de que a velocidade de epitelização é mais lenta nos animais que receberam corticosteróides.

A remodelação da ferida iniciou-se no 21º dia pós-cirúrgico nos grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi** (Figura 28), o que concorda com as afirmações de STADELMANN et al. (1998b) quanto ao início dessa fase. Nesse momento, o tecido de granulação que preenchia o defeito, nesses grupos, ficou mais localizado, lembrando uma faixa vertical, tal qual os achados de COUTINHO et al. (2003). Fibras de colágeno mais maduras, ou seja, com

maior espessura, mais compactas e agrupadas foram visualizadas nos grupos **Tes**, **Mel** e **Oxi** no 30º dia pós-cirúrgico (Figura 29), concordando com os achados de ORDMAN & GILLMAN (1966). Já no **grupo Vas**, o tecido de granulação que preenchia a área da ferida não tinha fibras colágenas maduras como nos grupos **Tes**, **Mel** e **Oxi**. Tal fato poderia sugerir um desvio na cicatrização pela formação de grande quantidade de tecido de granulação, como foi citado por ROBBINS et al. (1986) e por STASHAK (1991). Nesse mesmo período, nos grupos **Cor** e **Tco** foi constatado aumento da fibroplasia (Quadro 6 e 9).

O aspecto de frouxidão da fibroplasia no 30º dia pós-cirúrgico está relacionado ao efeito do corticosteróide (Figura 30), uma vez que ele interfere na contração da ferida inibindo-a, como foi citado por STADELMANN et al. (1998a). Além do que, como afirmou COLLINS (2000) nas feridas abertas a contração da ferida é um dos principais eventos. Portanto, em relação aos outros grupos, esses dois citados demonstraram sinais de retardo no processo de reparação das feridas.

A presença de anexos dérmicos, no 15º dia pós-cirúrgico nos grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi** (Figura 31) está de acordo com as afirmações de PEACOCK (1984) que relatou a ocorrência, de pelo menos alguns anexos dérmicos, em coelhos pela diferenciação do epitélio que migrou numa fase mais tardia da cicatrização. O mesmo achado foi observado por COUTINHO et al. (2003) que relataram a ausência de folículos pilosos na área de reparo até 12 dias após a injúria, em camundongos neonatos. Portanto, a presença de anexos dérmicos nesses grupos foi diferente do que foi visualizado por LEVENSON et al. (1965) que somente após 6 meses foi possível a visualização de anexos dérmicos nos ratos avaliados.

No presente trabalho as feridas analisadas eram circulares e o achado de cicatriz linear foi observado em todos os grupos, tal como relatou STASHAK (1991). PEACOCK (1984) afirmou que tal achado deve-se ao fato de que as margens da ferida tornam-se comprimidas simultaneamente pela força de contração, ao final do processo o resultado é uma cicatriz linear. Não houve evidência da influência dos tratamentos quanto ao tamanho da cicatriz, pois de acordo com o teste de média (Tabela 5) não houve diferença significativa entre os grupos no 29º dia pós-cirúrgico.

A análise estatística para a avaliação histopatológica nos permitiu agrupar os tratamentos testados em dois grupos, o primeiro incluiu os grupos **Tes**, **Vas**, **Mel** e **Oxi** e o segundo, os grupos **Cor** e **Tco**.

No dendrograma, a escala vertical à esquerda indica o nível de similaridade e no eixo horizontal, os tratamentos (Figura 32). Quanto menor for a altura do eixo vertical mais semelhantes são os tratamentos considerados (RIBEIRO JÚNIOR, 2001). Esse agrupamento indica a interferência do corticosteróide na cicatrização das feridas.

Tabela 5. Média dos valores encontrados para o tamanho da cicatriz nos dias analisados.

Grupo	Dia 19	Dia 21	Dia 23	Dia 25	Dia 27	Dia 29
Tes	0.1588 A	0.1096 B	0.2094 B	0.3850 A	0.3680 A	0.2832A
Cor	0.3146 A	1.1574 A	0.9570 A	0.6144 A	0.4816 A	0.3170 A
Vas	0.1954 A	0.4394 AB	0.4442AB	0.6846 A	0.8154 A	0.5900 A
Mel	0.2160 A	0.5156 AB	0.5040AB	0.4840 A	0.5498 A	0.5498 A
Tco	0.3312 A	0.6112 AB	0.5622 B	0.8209 A	0.3589 A	0.3589 A
Oxi	0.2734 A	0.4092 AB	0.4166AB	0.4994 A	0.3500 A	0.3428 A

Pares de média seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância



Figura 26. Hiperplasia do epitélio avaliada como moderada (A) no **Grupo Tes**, no 15° dia pós-cirúrgico. Aumento de 20, coloração Hematoxilina e Eosina

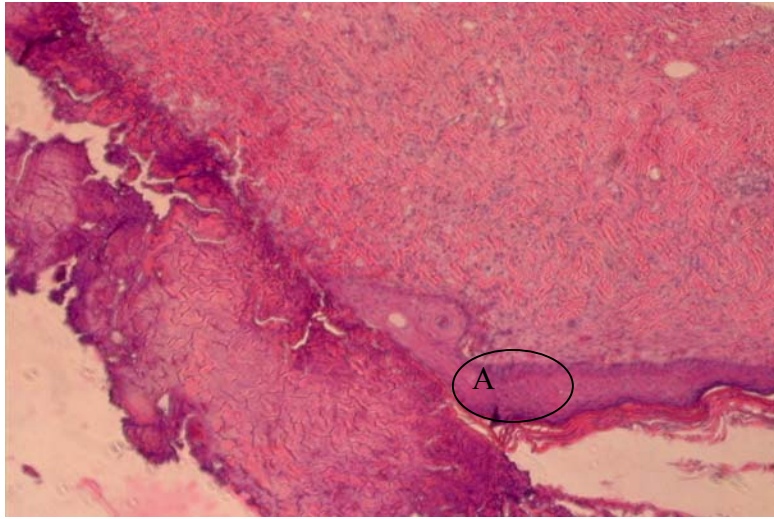


Figura 27. Surgimento da hiperplasia do epitélio no **Grupo Tco**, no 15^o dia pós-cirúrgico. Aumento de 20, colora o Hematoxilina e Eosina

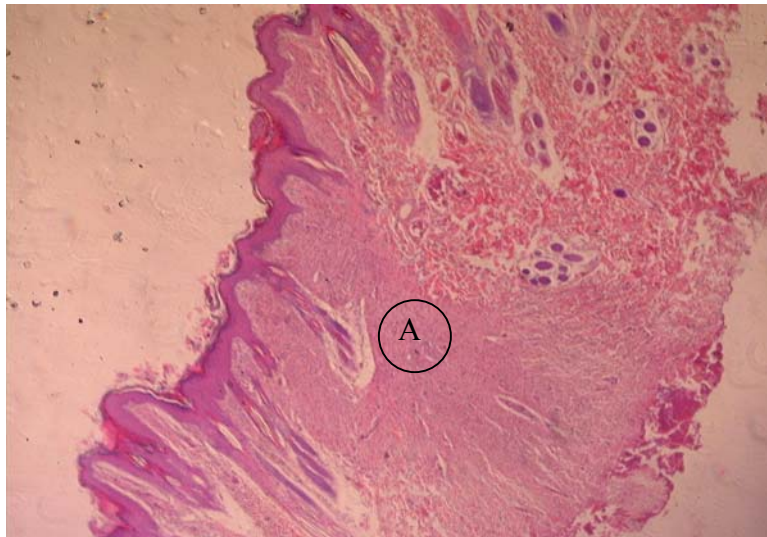


Figura 28. Remodela o da área da ferida (A) observada no **Grupo Vas**, no 21^o dia pós-cirúrgico. Aumento de 10, colora o Hematoxilina e Eosina

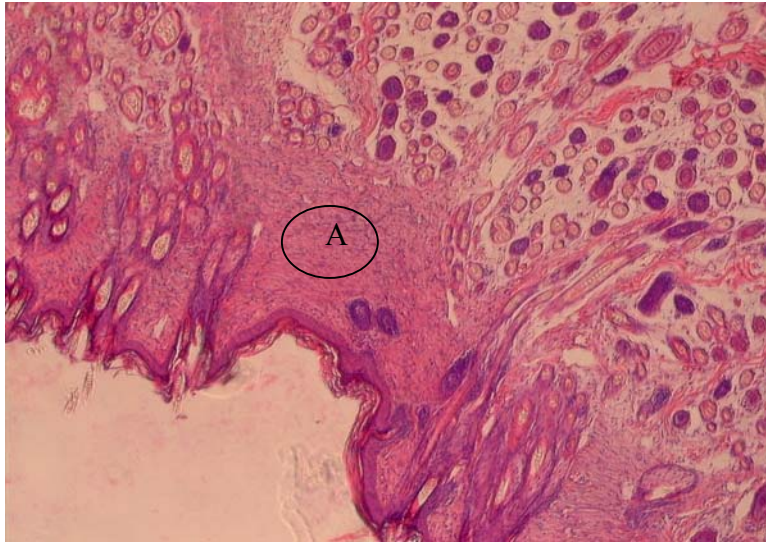


Figura 29. Área de remodelação da ferida (A) do **Grupo Oxi**, no 30º dia pós-cirúrgico. Aumento de 10, coloração Hematoxilina e Eosina

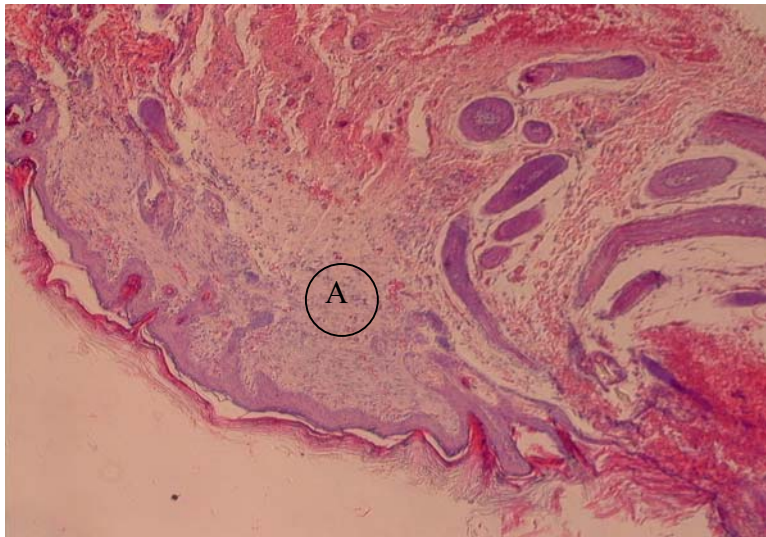


Figura 30. Fibroplasia avaliada como moderada (A) no **Grupo Cor**, no 30º dia pós-cirúrgico. Aumento de 10, coloração Hematoxilina e Eosina

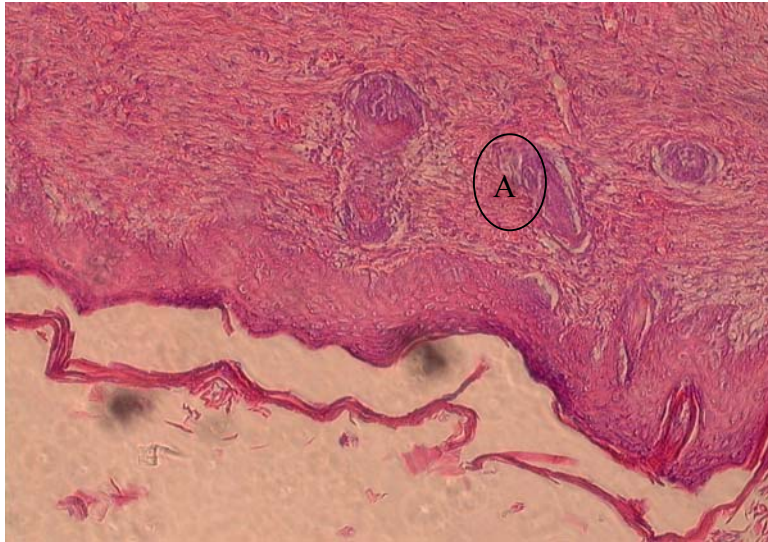


Figura 31. Surgimento de folículo piloso (A) observado no **Grupo Mel** no 15º dia pós-cirúrgico. Aumento de 20, coloração Hematoxilina e Eosina

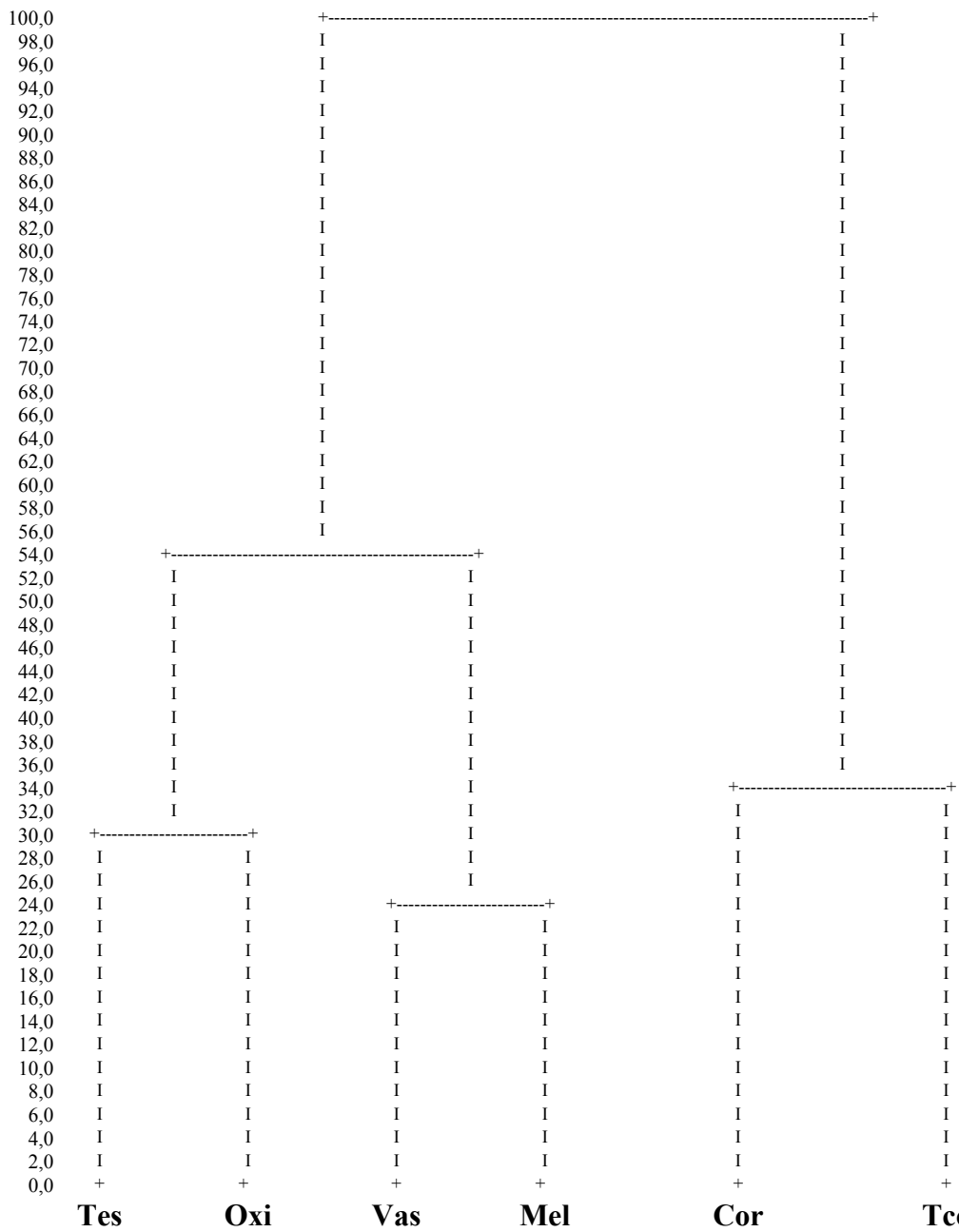


Figura 32. Dendrograma dos grupos avaliados em relação à avaliação histológica.

5. CONCLUSÕES

A análise global dos resultados, submetidos a testes estatísticos, permite as seguintes conclusões:

1. O modelo experimental é seguro e confiável para estudos.
2. O corticosteróide interfere negativamente no processo de cicatrização, porém reduz a reação inflamatória inicial.
3. Os cuidados de higiene diária com as feridas limpas são suficientes para que o processo de cicatrização ocorra.
4. O efeito do mel na diminuição do edema, no surgimento de reepitelização e na contração da ferida foi observado no presente trabalho. Quando comparado ao **grupo Tco** o **grupo Mel** demonstrou melhor efeito quanto a fibroplasia e ao tamanho da ferida. Portanto, pode ser indicado como auxiliar no tratamento de feridas cutâneas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K. et al. **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Revinter Ltda, 1998.

ALLEN, K. L. et al. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 43, p. 817-822, 1991.

ALISON, M. R. Repair and regenerative responses. In: McGEE, J. O. et al. **Oxford textbook of Pathology**. Oxford: Oxford University Press, 1992. v. 1, p. 365-368.

ANDRADE, A. Z. Tecido conjuntivo, reparo, regeneração e cicatrização. In: MONTENEGRO, R. M. ; FRANCO, M. **Patologia, processos gerais**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. cap. 8, p.139-150.

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

AZEVEDO, A. et al. **Normas para a realização de curativos**. 1999. Disponível em: <www.angelfire.com/ma/pliniomaia/curativos.html> Acesso em: 02 Set. 2002.

BERGMAN, A. et al. Acceleration of wound healing by topical application of honey – an animal model. **The American Journal of Surgery**, v. 143, p. 374-376, 1983.

BEYER, T. A. et al. Fibroblast growth factor 22 and its potential role during skin development and repair. **Experimental Cell Research**, v. 287, p. 228-236, 2003.

BILLINGHAM, E. R. ; RUSSEL, S. P. Studies on wound healing with special reference to the phenomenon of contracture in experimental wounds in rabbits' skin. **Annals of Surgery**, v. 144, n. 6, p. 961-981,1956.

BOSE, B. Honey or sugar in treatment of infected wounds? **The Lancet**, v. 1, p. 963, 1982.

CARGANO, A. Corteza adrenal. In: GARCIA, A. et al. **Fisiología veterinaria**. McGRAW-HILL, Interamericana, 1993.

CASAUBON, H. T. Reparación. In: TRIGO, F. J. ; MATEOS, A. **Patología general veterinaria**. 2.ed. McGRAW-HILL, Interamericana, 1993.

CHARMAN, C. WILLIAMS, H. The use of corticosteróides and corticosteroid phobia in atopic dermatitis. **Clinics in Dermatology**, v. 21, p. 193-200, 2003.

CHEM, R.C. **Cicatrização**. 2001. Disponível em: <www.abcdocorposalutar.com.br> Acesso em: 02 set. 2002.

COLES, E. H. Leucócitos. In: _ **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984. cap. 2, p. 15- 72.

COLLINS, T. Reparo dos tecidos: crescimento celular, fibrose e cicatrização de feridas. In: ROBBINS, S. L et al. **Patologia estrutural e funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap. 4, p. 79-100.

CONINCK, A. et al. Healing of full-thickness wounds in pigs: effects of occlusive and non-occlusive dressings associated with a gel vehicle. **Journal of Dermatological Science**, v. 13, p. 202-211, 1996.

COOPER, A. R. et al. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 92, p. 283-285, 1999.

COSTA, C.C. ; PEREIRA, G. R. The influence of propolis on the rheological behaviors of pure honey. **Food Research International**, v. 2, n.1, p. 13-19, 2002.

COTRAN, R. S. Inflamación y reparación. In: COTRAN, R.S. et al. **Patología estructural y funcional**. 4. ed. McGRAW-HILL, Interamericana, 1990. v. 1, p. 739.

COUTINHO, P. et al. Dynamic changes in connexin expression correlate with key events in the wound healing process. **Cell Biology International**, v. 27, p. 525-541, 2003.

DANCINI, J. L. **Os cuidados com a ferida operatória**. cap.17. 2000. Disponível em: <www.dancini.med.br/os cuidados.doc>. Acesso em: 02 set. 2002.

DAVIDSON, J. M. Wound repair. In: GALLIN, J. I. et al. **Inflammation: basic principles and clinical correlates**. 2. ed. New York: Raven Press Ltda, 1992. cap. 39, p. 809-817.

DONER, L. W. The sugars of honey-a review. **Journal of Science on Food and Agriculture**, v. 28, p. 443-456, 1977.

EFEM, S. E. E. Clinical observations on the wound healing properties of honey. **British Journal of Surgery**, v. 75, p. 679-681, 1988.

FELDMAN, E. C. ; NELSON, R. W. Glucocorticoid therapy. In: _ **Canine and feline endocrinology and reproduction**. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996. cap. 9, p. 323-337.

FOLKMAN, J. ; BREM, H. Angiogenesis and inflammation. In: GALLIN, J. L. et al. **Inflammation basic principles and clinical correlates**. 2. ed. New York: Raven Press Ltda, 1992. cap 40, p. 821-833.

FORREST, R. Early history of wound treatment. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 75, p. 198-205, 1982.

GREENE, C.E. Antibacterial chemotherapy. In: _ **Infectious diseases of the dog and cat**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1990. cap. 43, p. 461-497.

GREENWOOD, D. Honey for superficial wounds and ulcers. **The Lancet**, v. 341, p. 90-91, 1993.

GRELLNER, W. Time dependent immunohistochemical detection of proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α) in human skin wounds. **Forensic Science International**, v. 130, p. 90-96, 2002.

GRIMALDI FILHO, G. **Manual de técnica histológica**. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 1981.

HALL, L. K. **The regulation of wound healing**. 2000. Disponível em: <www.medinfo.edu/cme/grounds/mast/intro.html> Acesso em: 02 set. 2002.

HAMZAOGLU, I. et al. Protective covering of surgical wounds with honey impedes tumor implantation. **Archives of Surgery**, v. 135, p. 1414-1417, 2000.

HIGTON, D. I. R. ; JAMES, D. W. The force of contraction of full-thickness wounds of rabbit skin. **British Journal of Surgery**, v. 51, n. 6, p. 462-466, 1964.

HOWE, M. L. Treatment of endotoxic shock: glucocorticoids, lazaroids, and nonsteroidals. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 28, p. 249-266, 1998.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.

LADAS, S. D. ; RAPTIS, S. A. Honey, fructose absorption and laxative effect. **Nutrition**, v. 15, n. 7/8, p. 591-592, 1999.

LAGOS, B. R. ; MAIBACH, H. I. Topical corticosteroids: unapproved uses, dosages or indications. **Clinics in Dermatology**, v. 20, p. 490-492, 2002.

LENGLER, S. **Inspeção e controle da qualidade do mel**. 2000. Disponível em: <www.sebraern.com.br/apicultura/pesquisas/inspecao_mel01.doc> Acesso em: 02 set. 2002.

LEVENSON, M. S. et al. The healing of rat skin wounds. **Annals of Surgery**, v. 161, n. 2, p. 293-308, 1965.

LUSBY, P. E. et al. Honey: a potent agent for wound healing? **Journal Wound Care**, v. 29, n. 6, p.295-300, 2002.

MARCONDES, F. **História dos curativos**. 2000. Disponível em: <www.convatec.com.br/produtos/histcurt2.html> Acesso em: 02 set. 2002.

MARTIN, P. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. **Science**, v. 276, p. 75-87, 1997.

MCCARTHY, J. The antibacterial effects of honey: medical fact or fiction? **American Bee Journal**, p. 341-342, 1995.

MILLER, W. H. SCOTT, D. W. Medical management of chronic pruritus. **The Compendium of Continuing Education**, v. 16, n. 4, p. 449-463, 1994.

MOLAN, P. C. The antibacterial activity of honey. 1, the nature of the antibacterial activity. **Bee World**, v. 73, n.1, p. 5-28, 1992a.

MOLAN, P. C. The antibacterial activity of honey. 2, variation in the potency of the antibacterial activity. **Bee World**, v. 73, n.2, p. 59-76, 1992b.

NAGAI, T. et al. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly and propolis. **European Journal of Pediatrics**, v.160, n. 11, p. 677-682, 2001.

OLIVEIRA, S. T. et al. Formulações de Confrei (*Symphytum officinale L.*) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia de Uruguaiana**, v. 7, n. 1, p. 61-65, 2000.

ONO, I. et al. Studies on cytokines related to wound healing in donor site wound fluid. **Journal of Dermatological Science**, v. 10, p. 241-245, 1995.

ONO, I. The effects of basic fibroblast growth factor (b-FGF) on the breaking strength of acute incisional wounds. **Journal of Dermatological Science**, v. 29, p. 104-113, 2002.

ORDMAN, L. J. ; GILLMAN, T. Studies in the healing of cutaneous wounds. **Archives of Surgery**, v. 93, n. 6, p. 857-882, 1966.

PEACOCK, E. E. **Wound repair**. Philadelphia: W. B. Saunders company, 1984.

PRATT, W. B. The mechanism of glucocorticoid effects in fibroblasts. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 71, n. 1, p. 24-35, 1978.

PROBST, C. Cicatrização das feridas e regeneração de tecidos específicos. In: SLATTER, D. H. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1993. v. 1, cap. 4, p. 66-78.

PRUDDEN, J. F. et al. The acceleration of healing. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, v. 128, p. 1321-1326, 1969.

RANG, H. P. et al. A hipófise e o córtex adrenal. In: _ **Farmacologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. cap. 21, p. 345-353.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. Análise estatística no SAEG. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 2001.

ROBBINS, S. Inflamação e reparação. In: _ **Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Interamericana, 1975. cap. 3, p.51-96.

ROBBINS, S. L. et al. Inflamação e reparação. In: _ **Patologia básica**. Atheneu, Editora Universidade de São Paulo, 1986. cap. 2, p. 32-68.

ROBSON, C. M. et al. Biology of surgical infection. In: _ **Current problems in surgery**. Ravitch; yearbook medical publishers, 1973.

ROBSON, C. M. et al. The efficacy of systemic antibiotics in the treatment of granulating wounds. **Journal of Surgical Research**, v. 16, p. 299-306, 1974.

ROBSON, C. M. Wound infection, a failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria. **Surgical Clinics of North America**, v. 77, n. 3, p. 637-650, 1997.

RODRIGUES, S. **Cicatrização**. 2001. Disponível em: <www.curativoage.com.br> Acesso em: 02 set. 2002.

ROSIN, E. et al. Infecção das feridas cirúrgicas e uso de antibióticos. In: SLATTER, D. H. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1993. v. 1, cap. 6, p. 105-118.

SADICK, N. S. Antibiotics: unapproved uses or indications. **Clinics in Dermatology**, v. 18, p. 11-16, 2000.

SANDBERG, N. Time relationship between administration of cortisone and wound healing in rats. **Acta of Children Scand**, v. 127, p. 446-455, 1964.

SCHERING-PLOUGH VETERINÁRIA. Glucocorticoideterapia, prednisona e “outras” em cães e gatos: uma revisão. 2001. 24p.

SCOTT, D. W et al. **Dermatologia de pequenos animais**. 5.ed. Rio de Janeiro: Interlivros edições Ltda, 1996.

SOMERFIELD, D. S. Honey and healing. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 84, p. 179, 1991.

SPANN, C. T. et al. Topical antimicrobial agents in Dermatology. **Clinics in Dermatology**, v. 21, p. 70-77, 2003.

STADELMANN, K.W. et al. Impediments to wound healing. **The American Journal of Surgery**, v. 176(Suppl. 2A), p. 395-475, 1998a.

STADELMANN, K. W. et al. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. **The American Journal of Surgery**, v. 176(Suppl. 2A), p. 265-385, 1998b.

STASHAK, T. S. Principles of wound healing. In: _ **Equine wound management**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. cap. 1, p. 1-18.

TAKEHARA, K. Growth regulation of skin fibroblasts. **Journal of Dermatological Science**, v. 24(Suppl. 1), p. s70-s77, 2000.

TAORMINA, J. P. et al. Inhibitory activity of honey against food borne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. **Food Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 71-74, 2002.

TONKS, A. J. et al. Stimulation of TNF- α release in monocytes by honey. **Cytokine**, v. 14, n. 4, p. 240-242, 2001.

TONKS, A. J. et al. Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes. **Cytokine**, v. 21, p. 242-247, 2003.

TOSI, E. et al. Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfufural content. **Food Chemistry**, v. 75, n. 2, p. 237-240, 2001.

TOVEY, F. I. Honey and healing. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 84, p. 447, 1991.

TOVEY, F. I. Honey and sugar as a dressing for wounds and ulcers. **Tropical Doctor**, v. 30, p. 1, 2000.

TSANKOV, N. et al. Tetracyclines in dermatology. **Clinics in Dermatology**, v. 21, p. 33-39, 2003.

VADEN, L. S. ; PAPICH, G. M. Antibioticoterapia pratica para clínicos. **Whaltam Focus**, v. 8, n. 3, p. 10-16, 1998.

VARDI, A. et al. Local application of honey for treatment of neonatal postoperative wound infection. **Acta Pediatrics**, v. 87, p. 429-432, 1998.

WERNER, H. A. ; RUSSEL, D. A. Mupirocin, fusidic acid and bacitracin: activity, action and clinical uses of three topical antibiotics. **Veterinary Dermatology**, v. 10, p. 225-240, 1999.

WESTON, R. J. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. **Food Chemistry**, v. 69, n. 3, p. 217-225, 2001.

ZHANG, F. et al. The effect of vascular endothelial growth factor on the healing of ischaemic skin wounds. **The British Association of Plastic Surgeons**, v. 56, p. 334-341, 2003.

ZUMLA, A. ; LULAT, A. Honey - a remedy rediscovered. **Journal of Royal Society of Medicine**, v. 82, p. 384-385, 1989.

7. APÊNDICE

Tabela 6. Resultados da Análise de Variância para o parâmetro edema.

FV	GL	SQ	QM	F
Grupo (A)	5	76.7145307	15.3629061	4.61**
Resíduo (a)	24	79.8583336	3.3274306	
Dia (B)	4	357.3443116	89.3360779	68.27**
A x B	20	68.8975160	3.4448758	2.63**
Resíduo (b)	96	1.3086332		
		125.6287548		
Total	149	708.5434767		

** - significativo a 1% e a 5%

Tabela 7. Resultados da Análise de Variância para o parâmetro halo hiperêmico

FV	GL	SQ	QM	F
Grupo (A)	5	30.0014660	6.0002932	1.16ns
Resíduo (a)	24	123.9638072	5.1651586	
Dia (B)	4	124.5274886	31.1318721	29.84**
A x B	20	54.04321662	2.7021583	2.59**
Resíduo (b)	96	100.1588812	1.0433217	
Total	149	432.6948092		

ns - não significativo

** - significativo a 1% e a 5%

Tabela 8. Resultados da Análise de Variância para o parâmetro profundidade

FV	GL	SQ	QM	F
Grupo (A)	5	0.04687298	0.00937460	5.46**
Resíduo (a)	24	0.0412726	0.00171969	
Dia (B)	7	0.38339500	0.05477071	61.27**
A x B	35	0.11445335	0.00327010	3.66**
Resíduo (b)	168	0.15018340	0.00089395	
Total	239	0.73617733		

** - significativo a 1% e a 5%

Tabela 9. Resultados da Análise de Variância para o parâmetro tamanho da ferida

FV	GL	SQ	QM	F
Grupo (A)	5	59.06695736	11.81339147	30.23**
Resíduo (a)	24	9.37946115	0.39081088	
Dia (B)	7	28.21834350	4.03119193	46.98**
A x B	20	13.34377454	0.66718873	7.78**
Resíduo (b)	108	9.2665572	0.0858015	
Total	164	120.5320796		

** - significativo a 1% e a 5%

Tabela 10. Resultados da Análise de Variância para o parâmetro tamanho da cicatriz

FV	GL	SQ	QM	F
Grupo (A)	5	2.47161512	0.4932302	0.80ns
Resíduo (a)	22	13.55036250	0.61592557	
Dia (B)	6	1.33245295	0.22207549	3.15**
A x B	25	3.53299943	0.14131998	2.01**
Resíduo (b)	99	6.96962990	0.07040030	
Total	157	28.97164952		

ns - não significativo

** - significativo a 1% e a 5%

Quadro 1. Análise de regressão para o parâmetro edema

Edema $Y = A + B \cdot (e^{-C \cdot DIA})$				
Grupo	Parâmetros	Coeficientes	T	significância
Tes	A	0,54935	1,210	0,11957
	B	10,05039	8,52	0,00000
	C	0,45938	4,009	0,00029
Cor	A	0,00015	0,011	0,49567
	B	6,75913	4,761	0,00005
	C	0,21513	3,098	0,00263
Vas	A	0,10261	1,597	0,06230
	B	6,80039	7,563	0,00000
	C	0,15044	4,205	0,00018
Mel	A	0,10209	5,166	0,00002
	B	4,98933	10,988	0,00000
	C	0,21090	7,073	0,00000
Tco	A	0,000201	0,001	0,50000
	B	3,60527	3,074	0,00278
	C	0,26438	0,780	0,22176
Oxi	A	0,000121	0,199	0,42222
	B	5,31327	8,325	0,00000
	C	0,22619	5,479	0,00001

Quadro 2. Análise de regressão para o parâmetro halo hiperêmico

Halo hiperêmico $Y = A + B \cdot \text{DIA}$					
Grupo	Parâmetros	Coefficientes	T	significância	R ²
Tes	A	3,23004	7,236	0,00054	0,8688
	B	-0,40744	-5,243	0,01351	
Cor	A	1,86078	2,588	0,0812	0,00
	B	-0,05014	-0,401	0,7155	
Vas	A	4,4142	6,076	0,00895	0,6663
	B	-0,3792	-2,998	0,05776	
Mel	A	2,77357	7,062	0,00584	0,8003
	B	-0,28213	-4,127	0,02581	
Tco	A	2,78074	19,811	0,000281	0,9447
	B	-0,20342	-8,325	0,0003632	
Oxi	A	4,88538	9,765	0,00288	0,9083
	B	-0,55490	-6,372	0,00782	

Quadro 3. Análise de regressão para o parâmetro profundidade

Profundidade $Y = A + B \cdot DIA$					
Grupo	Parâmetros	Coefficientes	T	significância	R ²
Tes	A	0,14333	13,046	0,00000	0,9144
	B	-0,01010	-8,7808	0,00001	
Cor	A	0,0999899	18,593	0,00000	0,5460
	B	-0,0015667	-2,686	0,0362	
Vas	A	0,1188607	13,866	0,0000	0,9285
	B	-0,0089107	-9,5847	0,0000	
Mel	A	0,146573	8,033	0,00019	0,7920
	B	0,010406	-5,258	0,00190	
Tco	A	0,125624	13,796	0,00000	0,8090
	B	-0,005469	-5,536	0,00000	
Oxi	A	0,198400	10,483	0,00004	0,8742
	B	-0,01420	-7,045	0,00040	

Quadro 4. Análise de regressão para o parâmetro tamanho da ferida

Tamanho da ferida $Y = A + B \cdot \text{DIA}$					
Grupo	Parâmetros	Coefficientes	T	significância	R ²
Mel	A	1,2950	11,145	0,00003	0,8992
	B	-0,1004	-7,964	0,00020	
Tco	A	2,79181	16,963	0,00005	0,7522
	B	-0,07444	-4,384	0,00730	
Oxi	A	1,90690	0,1963	0,00006	0,8496
	B	-0,13556	0,02129	0,00070	

Quadro 5. Avaliação das variáveis histológicas, de todas as biópsias no grupo controle (**grupo Tes**)

		Grupo Tes					
Dia		2°	5°	9°	15°	21°	30°
Variáveis							
Infiltrado inflamatório		+++	+ / +++	++	+ / ++	Fraco	-
Crosta		+++	+++	++ / +++	-	-	-
Edema e congestão		+++	+	+	Fraco	Fraco	-
Fibroplasia		-	+ / +++	++	+++	+++	++ / +++
Hiperplasia do epitélio peri-incisional		+ / ++	++	++	-	+	Fraco
Hiperplasia do epitélio		-	+++	++ / +++	++	++	+
Reepitelização		P	P	P	P	P	P
Achados e observações		-	Focos de necrose Tricogranuloma com eosinófilos Desprendimento da crosta em um animal Cristas epiteliais	Calcificação distrófica Desprendimento da crosta em três animais	Calcificação distrófica Contração da ferida Surgimento de anexos Fibroplasia localizada superficialmente Cristas epiteliais Ortoceratose	Contração da ferida, de baixo para cima Anexos Fibroplasia até a derme profunda	Anexos Fibroplasia na derme papilar Ortoceratose

Quadro 6. Avaliação das variáveis histológicas no grupo tratado com hidrocortisona 1% (**grupo Cor**)

		Grupo Cor					
Dia \ Variáveis		2°	5°	9°	15°	21°	30°
Infiltrado inflamatório		+++	++	+ / +++	++	+ / +++	++
Crosta		+++	+++	+++	+++	-	-
Edema e congestão		+++	+ / +++	++	++	+ / +++	+ / +++
Fibroplasia		-	-	+	* ¹	+ / +++	+ / +++
Hiperplasia do epitélio peri-incisional		++	+ / +++	++	++	+	-
Hiperplasia do epitélio		-	-	+++	-	++	++
Reepitelização		-	P	P	P	P	P
Achados e observações		Aspecto de fragmentação da crosta	Discreta reepitelização em um animal	Abscesso Foliculite supurativa Focos de necrose	Calcificação distrófica Fibroplasia mínima, quase inexistente Reepitelização discreta * ¹ Vista em um animal	Foliculite supurativa Fibroplasia na derme papilar	Foliculite necrosante Foliculite ulcerada Foliculite luminal e mural superficial Calcificação distrófica

Quadro 7. Avaliação das variáveis histológicas, de todas as biópsias no grupo tratado com vaselina (grupo Vas)

		Grupo Vas					
Dia		2°	5°	9°	15°	21°	30°
Variáveis							
Infiltrado inflamatório		+++	+++	++	+ / +++	* ³	+
Crosta		+++	+++	* ¹	-	-	-
Edema e congestão		+++	+	F	F	+	F
Fibroplasia		-	+	+++	+++* ²	* ⁴	++
Hiperplasia do epitélio peri-incisional		+ / +++	++	+++	-	-	++ / ++++
Hiperplasia do epitélio		-	++	+++	++ / ++++	++	++ / ++++
Reepitelização		P	P	P	P	P	P
Achados e observações		-	-	Descolamento da crosta Cristas epiteliais * ¹ vista em um animal	* ² Até a derme profunda, com anexos Discretas cristas epiteliais	* ³ Padrão variado de fraco a moderado * ⁴ Padrão variado de leve a intenso Até a derme profunda	Poucos anexos Fibroplasia até a derme profunda Contração da ferida Cristas epiteliais

Quadro 8. Avaliação das variáveis histológicas, de todas as biópsias no grupo tratado com mel (**grupo Mel**)

		Grupo Mel					
Dia		2°	5°	9°	15°	21°	30°
Variáveis							
Infiltrado inflamatório		+++	+++	++/+++	++	+	+
Crosta		+++	+++	++/+++	-	-	-
Edema e congestão		+	+	F	F	F	-
Fibroplasia		-	+++	+++	+++	++/+++	+++
Hiperplasia do epitélio per-incisional		+ / ++	+++	++	-	+	F / +
Hiperplasia do epitélio		-	++	+++	++/+++	++	+ / ++
Reepitelização		P	P	P	P	P	P
Achados e observações		A reepitelização esteve presente, foi mais intensa que no grupo Tes	Focos de necrose Calcificação distrófica	Calcificação distrófica Necrose linear profunda Abscesso Granuloma do tipo corpo estranho Cristas epiteliais Desprendimento da crosta em dois animais	Contração da ferida Anexos na área de reparo Cristas epiteliais Ortoceratose	Calcificação distrófica Fibroplasia até a derme profunda; estreita	Anexos Contração da ferida Fibras colágenas mais maduras Fibroplasia na derme profunda Ortoceratose

Quadro 9. Avaliação das variáveis histológicas, de todas as biópsias no grupo tratado com Terracortril® (grupo Tco)

		Grupo Tco					
Dia		2°	5°	9°	15°	21°	30°
Variáveis							
Infiltrado inflamatório		+++	++	+ / ++	++	+++ / ++++	+++ / ++++
Crosta		+++ / ++++* ¹	++	+++	+++ / ++++	++	+++* ⁵
Edema e congestão		+ / +++	+ / +++	+ / +++	++	+ / +++	+ / +++
Fibroplasia		-	F	F* ²	* ³	F	+
Hiperplasia do espaço peri-incisional		+ / +++	++	+	++	+++ / ++++	+++ / ++++
Hiperplasia do epitélio		-	++	-	* ⁴	-	+++ / ++++* ⁶
Reepitelização		A	P	P	P	-	P
Achados e observações		* ¹ Aspecto de fragmentação da crosta	-	* ² Adelgaçamento da derme	Foco de necrose * ³ Fibroplasia mínima, quase inexistente * ⁴ Vista em dois animais	Focos de necrose Fibroplasia observada nas margens da ferida	* ⁵ Crosta desprendida em dois animais Aspecto de frouxidão da fibroplasia * ⁶ Observada em dois animais

Quadro 10. Avaliação das variáveis histológicas, de todas as biópsias no grupo tratado com oxitetraciclina 3% (**grupo Oxi**)

		Grupo Oxi					
Dia \ Variáveis	2°	5°	9°	15°	21°	30°	
Infiltrado inflamatório	+++	+++	++	+ / +++	+	+	
Crosta	+++	+++	+	-	-	-	
Edema e congestão	+++	+	F	F	F	F	
Fibroplasia	-	++ / +++	+++	+++	++ / +++	++ / +++	
Hiperplasia do espaço peri-incisional	+	++	+	-	-	F	
Hiperplasia do epitélio	-	++	++ / +++	++ / +++	++	+	
Reepitelização	P	P	P	P	P	P	
Achados e observações	-	Focos de colagenólise Focos de necrose Calcificação distrófica	Calcificação distrófica Fístula com polimorfonucleares Crosta desprendida em um animal Paraceratose	Poucos anexos na área de reparo	Granuloma do tipo corpo estranho Fibroplasia até a derme profunda	Aspecto de afunilamento da derme profunda Anexos	