

Reparação de feridas cutâneas de roedores da espécie *Calomys callosus*, tratadas com hidrocarboneto alifático: aspectos morfométricos, morfológicos e histológicos

Skin healing of *Calomys callosus* treated with organic solvent: morphological, morphometrical and histological aspects

Glenda Ramalho BARBUDO¹; Marcelo Emílio BELETTI²;
Duvaldo EURIDES³; André Luís SELMI⁴

CORRESPONDÊNCIA PARA:
André Luís Selmi
Faculdade de Agronomia e Medicina
Veterinária da Universidade de Brasília
Caixa Postal, 04508 - Asa Norte
70910-970 - Brasília - DF
e-mail: selmi@unb.br

1- Departamento de Clínica e Cirurgia
Veterinária da Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias da UNESP,
Campus de Jaboticabal - SP
2- Departamento de Morfologia da
Universidade Federal de Uberlândia - MG
3- Departamento de Medicina Animal
da Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias da UNESP, Campus de
Jaboticabal - SP
4- Faculdade de Agronomia e Medicina
Veterinária da Universidade de Brasília - DF

RESUMO

O efeito cicatrizante do hidrocarboneto alifático foi pesquisado através da aplicação diária em feridas cutâneas, cirurgicamente provocadas, em roedores da espécie *Calomys callosus*. As feridas dos animais foram analisadas sob os aspectos macroscópicos e histológicos transcorridos 3, 7, 14 e 21 dias de tratamento e comparado com o uso de solução fisiológica a 0,9%. O hidrocarboneto alifático antecipou a cicatrização ao diminuir a umidade, aumentar a formação do tecido de granulação e a neovascularização, conduzindo à reepitelização.

UNITERMOS: Cicatrização; Cura; Hidrocarbonetos; Roedores.

INTRODUÇÃO

Clinicos veterinários geralmente defrontam-se com leigos medicando ferimentos de animais com diferentes substâncias, nem sempre com ação conhecida ou comprovada.

Somente através de procedimentos cirúrgicos é que se poderia acelerar o processo de reparação local e com isso a evolução da cura de feridas¹⁷. A aplicação tópica de substâncias alternativas, no entanto, tem sido utilizada na tentativa de facilitar a reparação de feridas tais como vitamina A⁵, colagenase¹⁹, colágeno¹; tintura de calêndula¹³, extrato de castanha de betel¹¹, papaína¹⁴, fenitoína² e óleo de copaíba⁶.

A pasta de açúcar, quando usada no tratamento de feridas infectadas, resultou em acentuada melhora no decorrer do quinto ao trigésimo dia de tratamento¹², enquanto o uso tópico de nitrofurazona não foi eficiente na cicatrização de feridas cutâneas⁷.

Os hidrocarbonetos alifáticos podem provocar depressão do sistema nervoso central ocasionando tonturas e incoordenação motora⁹, enxaqueca, paralisia periférica e lesão no sistema nervoso central¹⁸, convulsões, pneumonia, fibrilação ventricular³, lesões hepatorreais e hemólise⁴.

Neste experimento objetivou-se avaliar os aspectos morfométricos, morfológicos e histológicos da reparação de feridas cutâneas de roedores da espécie *Calomys callosus* tratadas ou não com hidrocarboneto alifático, bem como a observação de sua ação tóxica nesses animais.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 40 roedores *Calomys callosus*, machos, adultos distribuídos em dois grupos de igual número, denominados de grupo controle (I) e tratado (II), acondicionados em quatro caixas e avaliados nos períodos de 3, 7, 14 e 21 dias de pós-operatório (PO). Os animais foram submetidos à indução anestésica por inalação em campânula com éter etílico^a e manutenção com máscara de plástico. Realizou-se tricotomia da região dorsal do tórax onde foi removido um segmento de pele de 10,0 mm de diâmetro, expondo-se as fâscias musculares. Foi instilado diariamente sobre a ferida dos animais do grupo I, 0,1 ml de solução fisiológica estéril a 0,9% e nas do grupo II, 0,1 ml de hidrocarboneto alifático^b. As feridas dos animais de ambos os grupos foram diariamente avaliadas e mensuradas com paquímetro^c até os períodos estabelecidos de PO, sendo que para obtenção da área das feridas utilizou-se a equação $A = \pi.R.r$, onde A corresponde à área da lesão, R ao raio maior e r ao raio menor. Os resultados em relação à diminuição das áreas das feridas foram analisados através da "prova de U de Mann-Whitney"¹⁶. Estabeleceu-se o nível de significância em $\alpha = 0,05$ ou 5% como nível de rejeição de hipótese de nulidade.

Decorridos os períodos preestabelecidos de 3, 7, 14 e 21 dias de PO, os animais foram sacrificados por inalação de éter etílico para colheita de fragmentos da lesão, fígado e rins, posteriormente fixados em formol a 10% e impregnados e incluídos em glicolmetacrilato. Os cortes histológicos foram corados pelo azul

de metileno e fucsina básica. Ao exame histológico pesquisou-se a reparação tecidual das feridas assim como alterações no fígado e rins dos animais dos grupos controle e tratado.

O comportamento dos animais foi avaliado diariamente durante os períodos preestabelecidos de tratamento para identificar possíveis alterações devido à intoxicação do sistema nervoso central.

RESULTADOS

Os cálculos estatísticos foram efetuados considerando-se a maior extensão de cada ferida, até a cicatrização. Os resultados obtidos encontram-se relacionados na Tab. 1.

As diferenças encontradas foram significativas, entre todas as comparações das medidas efetuadas entre o grupo tratado no 10º dia e o grupo controle com 4, 8 e 10 dias, sendo que os resultados do grupo controle foram mais elevados do que os do grupo tratado. Quando comparadas as últimas medidas dentro dos grupos tratado e controle verificaram-se diferenças significativas entre as comparações, com exceção do grupo controle no 4º dia e no 10º dia, sendo que nas outras as primeiras medidas foram sempre mais elevadas do que as últimas (Tab. 1).

Alguns animais de ambos os grupos apresentavam-se com as feridas aparentemente cicatrizadas a partir do 10º dia, nos grupos controle apenas 10%, no grupo tratado 20%. Do 10º ao 14º dia de pós-operatório, a porcentagem de animais curados foi gradativamente maior em ambos os grupos. Do 15º ao 21º, no grupo tratado, as feridas encontravam-se reparadas em 100% dos

animais; no grupo controle no 21º dia, em 80% dos animais as feridas apresentavam-se reparadas (Fig. 1). No 21º dia, observou-se microscopicamente diferença na reorganização do tecido entre os grupos controle (Fig. 2) e tratado (Fig. 3).

No decorrer do experimento observou-se macroscopicamente, sem utilização de qualquer instrumento de aferição, que a umidade das feridas nos animais do grupo tratado foi menor que a do grupo controle e em ambos os grupos houve aumento na espessura das bordas da ferida. Nos animais do grupo tratado o aumento foi acentuado, permanecendo por um período de tempo maior em relação ao grupo controle.

Os animais do grupo tratado, quando submetidos à administração tópica de hidrocarboneto alifático, manifestavam acentuada inquietação durante cinco minutos.

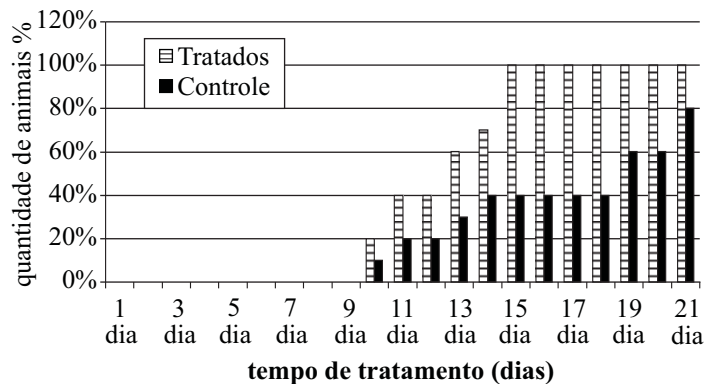


Figura 1

Porcentagem de animais dos grupos tratado e controle que apresentaram reparação cicatricial das feridas cutâneas em relação aos dias de tratamento.

Tabela 1

Probabilidades associadas ao valor de U (teste de U de Mann-Whitney) quando da comparação entre as medidas dos grupos controle e grupos tratados. Uberlândia, 1997.

Comparações entre grupos	Probabilidades
Tratado 10º dia X controle 10º dia	0025*
Tratado 10º dia X controle 4º dia	0002*
Tratado 10º dia X controle 8º dia	0040*
Tratado 8º dia X controle 10º dia	7133
Tratado 8º dia X controle 4º dia	0027*
Tratado 8º dia X controle 8º dia	8345
Tratado 4º dia X controle 10º dia	1736
Tratado 4º dia X controle 4º dia	4497
Tratado 4º dia X controle 8º dia	0169*
Tratado primeira medida X última medida - 10º dia	0002*
Tratado primeira medida X última medida - 4º dia	0413*
Tratado primeira medida X última medida - 8º dia	0027*
Controle primeira medida X última medida - 10º dia	1212
Controle primeira medida X última medida - 4º dia	8798
Controle primeira medida X última medida - 8º dia	0049*

(*) Valores com diferença significativa estatisticamente, pelo teste de U de Mann-Whitney a 0,05.

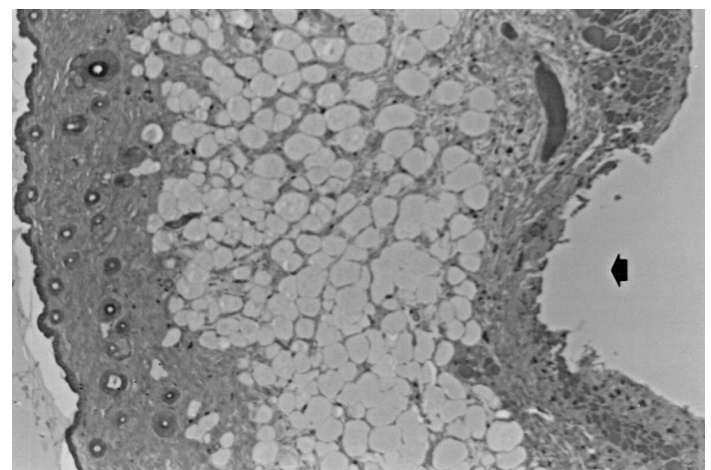


Figura 2

Pele de um animal do grupo I com 21 dias de tratamento. A seta indica a camada muscular não reparada (coloração azul de metileno e fucsina básica e aumento de 18x).

MATERIAIS DA PESQUISA:

- Éter etílico. Laboratório Rhodia Farma. São Paulo, SP;
- Bras-Raz. Cobradis. Produtos de petróleo. Araras, São Paulo;
- Paquímetro 0,05mm - nº 5056633-50. Japão.

Ao exame em microscopia de luz do fígado e rins dos animais dos grupos controle e tratado não foram verificadas diferenças entre as avaliações histológicas ou alterações que pudessem estar relacionadas aos tratamentos.

Encontram-se relacionados nas Tab. 2 e 3 os valores avaliados quantitativamente da formação de crostas, presença de células polimorfonucleares, neovascularização, reepitelização e fi-

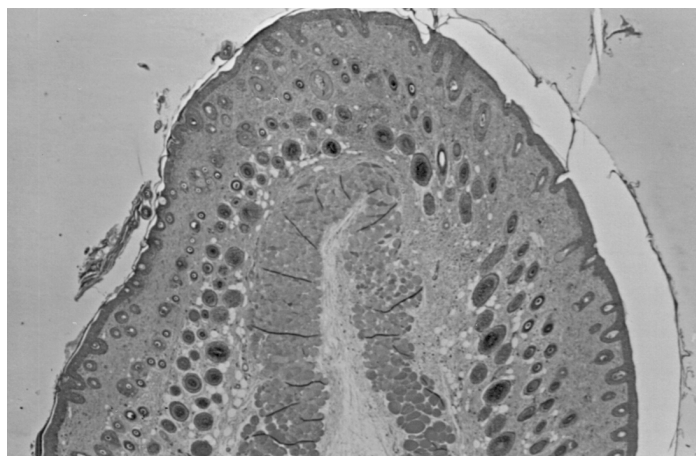


Figura 3

Pele de um animal do grupo II com 21 dias de tratamento. O tecido está totalmente reparado (coloração azul de metileno e fucsina básica e aumento de 9x).

Tabela 2

Avaliação microscópica dos fragmentos de pele dos animais do grupo controle da presença de crosta, polimorfonucleares, neovascularização, reepitelização e fibras colágenas, nos períodos de 3, 7, 14 e 21 de pós-operatório. Uberlândia, 1997.

Grupo	Crosta	Polimorfo-Nucleares	Neovascularização	Reepitelização	Fibras Colágenas
3 dias	Sim	-	+	+	-
3 dias	Sim	+	+	+	-
3 dias	Sim	-	+	+	-
3 dias	Sim	-	+	-	-
3 dias	Sim	-	+	-	-
7 dias	=	=	=	=	=
7 dias	Sim	-	+	+	-
7 dias	Sim	+	-	-	+
7 dias	=	=	=	=	=
7 dias	Sim	-	-	-	-
14 dias	Não	-	-	Cura	-
14 dias	Sim	+	-	+	-
14 dias	=	=	=	=	=
14 dias	Sim	-	-	++	-
14 dias	Sim	-	-	++	-
21 dias	Não	-	-	+++	-
21 dias	Não	-	-	+++	-
21 dias	Não	-	-	Cura	-
21 dias	Não	-	-	Cura	-
21 dias	Não	-	-	Cura	-

+ presença e quantidade das estruturas; - ausência das estruturas; = cortes histológicos não passíveis de avaliação; Cura: reepitelização completa e reorganização das estruturas.

Tabela 3

Avaliação microscópica dos fragmentos de pele dos animais do grupo tratado da presença de crosta, polimorfonucleares, neovascularização, reepitelização e fibras colágenas, nos períodos de 3, 7, 14 e 21 de pós-operatório. Uberlândia, 1997.

Grupo	Crosta	Polimorfo-Nucleares	Neovascularização	Reepitelização	Fibras Colágenas
3 dias	Sim	-	-	-	-
3 dias	Sim	+	++	+	-
3 dias	Sim	+	++	+	-
3 dias	Sim	-	-	-	-
3 dias	Sim	+	++	+	-
7 dias	=	=	=	=	=
7 dias	Não	-	++	+	-
7 dias	Não	-	++	++	-
7 dias	Não	-	+	+++	++
7 dias	Sim	+	+++	++	-
14 dias	Sim	-	-	Cura	++
14 dias	=	=	=	=	=
14 dias	=	=	=	=	=
14 dias	=	=	=	=	=
14 dias	Não	-	-	Cura	+
21 dias	Não	-	-	Cura	-
21 dias	Não	-	-	Cura	-
21 dias	Não	-	-	Cura	-
21 dias	Não	-	-	Cura	-

+ presença e quantidade das estruturas; - ausência das estruturas; = cortes histológicos não passíveis de avaliação; cura: reepitelização completa e reorganização das estruturas.

bras colágenas nas feridas dos animais dos grupos controle e tratado.

As crostas e células polimorfonucleares encontravam-se nas mesmas proporções no grupo controle e grupo tratado. No entanto, a neovascularização, reepitelização e fibras colágenas apresentavam-se em maior quantidade nas feridas dos animais do grupo tratado.

DISCUSSÃO

Somente o cirurgião através da técnica operatória pode acelerar a evolução da cura de feridas¹⁷. Neste experimento, foram obtidos valores estatísticos que permitiram deduzir que a administração tópica de hidrocarboneto alifático em feridas cutâneas de roedores da espécie *Calomys callosus* pode favorecer a cicatrização. Tal fato pode ser constatado através das análises dos dados relacionados na Tab. 1, onde verifica-se significativa contração cicatricial entre as feridas dos animais do grupo tratado no 10º dia, quando comparado com os resultados obtidos com as do grupo controle no 4º, 8º e 10º dia de PO.

A partir do 10º dia de PO, alguns animais dos grupos controle e tratado apresentavam feridas cicatrizadas. No entanto, 10% das feridas do grupo controle e 20% das do grupo tratado encontravam-se reparadas. Todos os animais do grupo tratado apresentavam-se com as feridas reparadas no 21º dia de tratamento, en-

quanto, no controle, 80%. A reepitelização das feridas pode ser alterada por mudanças ambientais e pela aplicação de agentes tópicos⁸, o que provavelmente ocorreu com as feridas submetidas à administração tópica de hidrocarboneto alifático (Fig. 1).

A presença de líquidos em ferimentos interfere no processo de crescimento bacteriano, dificulta a formação de tecido de granulação e epitelização¹⁵. Sendo assim, os fluidos em feridas interferem negativamente na contração cicatricial¹⁰. Neste experimento, as feridas tratadas com administração tópica de hidrocarboneto alifático apresentavam-se com ausência de secreção purulenta, redução de umidade e antecipação da reparação cicatricial. O fato deveu-se, provavelmente, à redução local do teor de umidade, confirmada histologicamente pelo estabelecimento do tecido de granulação, seguida de epitelização¹⁰. Outrossim, a rápida evaporação do hidrocarboneto alifático utilizado neste estudo, sugere efeito análogo à pasta de açúcar que possui efeito redutor da água disponível, inibindo o crescimento bacteriano e permitindo a formação de tecido de granulação e epitelização¹⁵.

A análise histológica dos fígados e rins não demonstrou alterações, possivelmente porque o volume administrado de hidrocarboneto alifático sobre as feridas e o período de observação não foram suficientes para causar lesões nesses órgãos. No entanto, notou-se que os animais apresentavam, logo após a administração tópica, acentuada agitação, sugerindo excitação do sistema nervoso central, não coincidindo com as afirmações de que os hidrocarbonetos alifáticos deprimem o sistema nervoso central causando tontura e incoordenação motora. A excitação ocasionada, porém, pode estar relacionada à ação irritante do agente químico sobre a ferida^{3,9,18}.

CONCLUSÕES

O hidrocarboneto alifático administrado em feridas cutâneas de roedores da espécie *Calomys callosus* ocasiona aumento da formação de tecido de granulação, neovascularização e reepitelização, e é aparentemente capaz de reduzir o tempo de reparação tecidual devido à diminuição local da umidade.

SUMMARY

The healing effect of an organic solvent was studied by means of topical application in surgically-induced skin lesions in *Calomys callosus*. Wounds were evaluated both macroscopically and histologically at days 3, 7, 14 and 21 post-operation, and compared to the control group where saline was used. The organic solvent used in this experiment shortened the healing time by reducing moisture, increasing granulation tissue and neovascular formation, leading to reepithelization.

UNITERMS: Healing; Curing; Hydrocarbons; Rodents.

REFERÊNCIAS

- 1- ABRAMO, A. C. **Análise histológica da atuação da lâmina esponjosa de colágeno heterólogo sobre o tecido de granulação**. 1990. 130 f. Dissertação (Doutorado em Morfologia) - Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.
- 2- BASHER, A. W.; HANNA, P. E.; McCAVILLE, C. A. Effect of topical phenytoin in open wound healing of rats. **Veterinary Surgery**, v. 23, n. 5, p. 421-424, 1994.
- 3- BECKER, C. E.; OLSON, K. R. Tratamento do paciente intoxicado. In: KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. p. 838-839.
- 4- BISTNER, S. I.; FORD, R. B. Envenenamento. In: BISTNER, S. I.; FORD, R. B. **Manual de procedimentos veterinários e tratamento de emergências**. 6.ed. São Paulo: Roca, 1996. p. 180-198.
- 5- BONDI, F. E. Topical tretinoin therapy. **American Family Physician**, v. 39, n. 3, p. 269-272, 1989.
- 6- BRITO, N. M. B. **Aspectos morfológicos e morfométricos da cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos tratados com óleo de copaíba**. 1996. 59 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Experimental) - Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.
- 7- EAGLSTEIN, W. H.; MERTZ, P. M.; ALVAREZ, O. M. Effect of topically applied agents on healing wounds. **Clinical Dermatology**, v. 2, n. 1, p. 112-115, 1984.
- 8- GERONEMUS, R. G.; MERTZ, P. M.; EAGLSTEIN, W. H. The effects of topical antimicrobial agents in wound healing. **Archives of Dermatology**, v. 8, n. 11, p. 1311-1314, 1979.
- 9- KLAASSEN, C. D. Tóxicos ambientais não metálicos: poluentes atmosféricos, solventes, vapores e pesticidas. In: GILMAN, A. G.; GOODMAN, L. S.; GOODMAN e GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. p. 1069-1084.
- 10- LEE, A. H.; SWAIM, S. F.; YANG, S. T.; WILKEN, L. O.; MILLER, D. P.; WILT, G. R.; HUGHES, K. S. The effects of petrolatum, polyethylene glycol, nitrofurazone and hydroactive dressing on open wound healing. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 22, n. 6, p. 443-451, 1986.
- 11- PADMAJA, P. N.; BAIRY, K. L.; KULKARNI, D. R. Pro-healing effect of betel nut and its polyphenols. **Fitoterapia**, v. 65, n. 4, p. 298-300, 1994.
- 12- PAIM, S. P.; MARFRA, C. A.; TOSTES, R. O. Uso tópico do açúcar em feridas. **Revisão Médica**, v. 4, n. 2, p. 88-90, 1991.
- 13- RAO, S. G.; UDU, A. L.; UDUPA, S. L.; RAO, P. G. M.; RAO, G.; KULKARNI, D. R. Caledula and hypericum: two homeopathic drugs promoting wound healing in rats. **Fisioterapia**, v. 62, n. 6, p. 508-510, 1991.
- 14- SANCHEZ NETO, R.; BARONE, B.; TEVES, D. C.; SIMÕES, M. J.; NOVO, N. F.; JULIANO, Y. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamentos com solução de papaína a 2%. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 18-23, 1993.
- 15- SEAL, D. V.; MIDDLETON, K. Healing of cavity wounds with sugar. **Lancet**, v. 338, n. 8, p. 571-572, 1991.
- 16- SIEGEL, S. Para as ciências do comportamento. In: 6 toques. **Estatística não-paramétrica**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1975. p. 131-144.
- 17- SCHILLING, J. A. Healing of cavity wounds. **Lancet**, v. 337, n. 13, p. 1355-1357, 1991.
- 18- SEPPÄLÄINEN, A. M. Neurophysiological findings among workers exposed to organic solvents. Occupational neurology. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 66, n. 92, p. 109-116, 1982.
- 19- TEVES, D. C.; SIMÕES, M. J.; MARTINS, D. M. F. S.; MARCHINI, F. B. Aspectos morfológicos dos processos de cicatrização em ratos albinos sob ação da colagenase. **Folha Médica**, v. 98, n. 1, p. 191-194, 1989.

Recebido para publicação: 01/03/1999
Aprovado para publicação: 02/07/2001