

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ANÁLISE DA REAÇÃO TECIDUAL ÀS INCLUSÕES
SUBCUTÂNEAS DE MATRIZ DE COLÁGENO
LIOFILIZADA NO DORSO DE RATOS
WISTAR TRATADOS COM *Aloe vera***

André Luís Filadelpho
Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Setembro de 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ANÁLISE DA REAÇÃO TECIDUAL ÀS INCLUSÕES
SUBCUTÂNEAS DE MATRIZ DE COLÁGENO
LIOFILIZADA NO DORSO DE RATOS
WISTAR TRATADOS COM *Aloe vera***

André Luís Filadelpho

Orientadora: Prof. Dra. Silvana Martinez Baraldi Artoni

Co-orientador: Prof. Dr. José Wanderley Cattelan

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Cirurgia Veterinária.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Setembro de 2009

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

André Luís Filadelpho, nascido em 17 de novembro de 1973, em Marília – SP formou-se médico veterinário pela Universidade de Marília, UNIMAR, em janeiro de 1997. Em maio de 2003, recebeu o título de Mestre em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, pela Universidade de São Paulo, USP. Em agosto de 2005, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária, na Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal.

***“Se vi mais longe, foi por estar de pé
sobre ombros de gigantes”.***

Isaac Newton

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à:

DEUS, O Grande Arquiteto do Universo, pela dádiva da vida...

À memória de minha avó, **Sra. Clotildes**, hoje, anjo querido a iluminar o caminho, em minha estada terrestre...

Ao meu pai, **Sr. Manoel**, de quem eu herdei a honestidade e desejo de me tornar a cada dia, um homem melhor...

À minha tia, **Sra. Maria do Carmo**, “minha mãe”, pelo amor, carinho e dedicação com que nos criou...

Às minhas irmãs, **Renée e Haydée**, a quem eu amo com todas as fibras do meu coração...

Aos meus cunhados **Fernando e Júnior**, pelo companheirismo...

Ao meu sobrinho e afilhado, **Álvaro**, que tanta alegria trouxe às nossas vidas...

À minha querida **Silvia**, que me estendeu as suas mãos em um dos momentos mais difíceis da minha vida, e com seu carinho e ternura, ajudou a reconstruir minha vida e acreditar novamente no amor...

“**Aos meus irmãos caçulas**”, **Flávio Alexandre Pereira Batel, Maria Francisca Neves, Jayme Augusto Peres, Arlei José Birck, Lucas Alécio Gomes, Mário Henrique Bariani e Soraya Regina Sacco**, sem a amizade de vocês, meus queridos, o viver não faria sentido...

“**Aos meus irmãos mais velhos**”, **Prof. Titular Antônio Alberto D’Errico (*in memoriam*)**, **prof. Titular Valêncio José de Mattos Campos**, **Prof. Titular Antônio Marcos Orsi**, **Prof. Titular Otávio Campos Neto**, **Prof. Dr. Antônio Luiz Scalzo**, **Prof. Dr. Joffre Guazzeli**, **Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Pinto e Silva**, **Prof. Dr. Geraldo Seullner**, **Prof. Ms. Marcílio Félix**, **Prof. Ms. Roque Raineri Neto** e **Sr. Décio Bertoncini**, cavalheiros e professores valorosos, que com seu exemplo pessoal e profissional, nortearam para sempre a minha vida acadêmica...

A todos vocês a minha eterna gratidão...

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente à:

Minha orientadora **Prof. Dra. Silvana Martinez Baraldi Artoni**, pela paciência no decorrer da pós-graduação, dedicação e orientação durante a confecção desta tese e como carinhosamente possibilitou o meu ingresso no doutorado...

Agradeço também à:

Meu co-orientador **Prof. Dr. José Wanderley Cattelan**, pelas suas aulas muito proveitosas na pós-graduação, e, que gentilmente aceitou ser meu co-orientador...

Ao **Prof. Titular Antônio Marcos Orsi** que, mais uma vez, não mediu esforços para que pudéssemos finalizar mais um trabalho, pelos seus sábios conselhos, pelas várias horas que lhe retirei do convívio familiar e que, sem o seu auxílio magistral, não teria como concluir esta tese...

Aos mantenedores da Associação Cultural e Educacional de Garça – ACEG, **Profa. Dra. Dayse Alonso Shimizu** e do **Sr. Wilson Shimizu**, a quem eu devo minha formação profissional e pedagógica...

Ao diretor da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça – FAMED, **Prof. Dr. Paulo César Gonçalves dos Santos**, pela paciência e incentivo durante todo o doutorado...

Ao Vice-Diretor da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça – FAMED, **Prof. Dr. Antonio Luiz Scalzo**, pela amizade sincera e convívio fraterno durante todos estes anos...

Ao Pós-graduando da FCAV/UNESP, **Valcinir Aloisio Scalla Vulcani**, pelo auxílio imprescindível com as matrizes de colágeno...

A Pós-graduanda **Giovana Rampazzo**, pela colaboração na fotodocumentação da tese...

A docente da FAEF, **Profa. Dra. Mônica Neves**, pela importante contribuição na estatística deste trabalho...

Aos docentes da FAMED, **Prof. Esp. Mário Henrique Bariani**, pelo seu auxílio com os animais e fotodocumentação da tese, **Prof. Esp. Romulo Francis Estangari**

Lot, pela colaboração na leitura das lâminas de histologia deste trabalho, **Prof. Ms. Luís Gustavo Gosuen Gonçalves Dias e Profa. Tatiana Monici Cabrini**, pela contribuição no procedimento cirúrgico dos animais da tese...

Agradeço também, aos funcionários dos Laboratórios de Anatomia Veterinária da FCAV/UNESP, Anatomia Veterinária do IBB/UNESP e Histologia do IBB/UNESP pela sua contribuição no desenvolvimento deste trabalho...

Aos técnicos dos Laboratórios Anatomia Patológica e Ornitopatologia da FAMED/ACEG, **Sr. Marcos Roberto Araújo**, e Laboratório de histologia do IBB/UNESP, **Sr. Gelson Rodrigues**, por sua contribuição na confecção das lâminas de histologia deste trabalho...

Aos acadêmicos da FAMED/ACEG, **Jessé Ribeiro Rocha, Luana Maria dos Santos, Marcelo Bocardo, Silvia Cristina Nardy Dotta e Mayara Bérghamo**, pela colaboração no procedimento cirúrgico e histologia do trabalho...

A todos vocês o meu muito obrigado...

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	ii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
RESUMO.....	v
SUMMARY.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVO.....	03
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	04
3.1. Tratamento com plantas medicinais.....	04
3.2. História e uso popular da <i>Aloe vera</i>	05
3.3. A pele.....	06
3.4. Cicatrização.....	08
3.5. O uso da <i>Aloe vera</i> no processo cicatricial de feridas.....	11
3.6. Biomateriais.....	11
3.7. Implantes biológicos.....	12
3.8. Matrizes de colágeno liofilizadas.....	15
3.9. O uso de matrizes de colágeno liofilizadas na cirurgia.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1. Animais, alimentação e instalação.....	18
4.2. Preparação do gel de <i>Aloe vera</i>	18
4.3. Preparação das matrizes de colágeno liofilizadas.....	18
4.4. Preparação cirúrgica dos animais.....	19
4.5. Grupos Experimentais.....	19
4.6. Procedimento cirúrgico.....	20
4.7. Análise Histológica.....	21
4.8. Tratamentos.....	22
4.9. Análise estatística dos dados.....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
6. CONCLUSÃO.....	44
7. REFERÊNCIAS.....	45

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Valores médios das espessuras das matrizes de colágeno liofilizadas (MCL), em ratos tratados com Aloe vera (AV) e Solução Fisiológica 0,9% (SF), em função do tempo de implante no tecido subcutâneo do dorso torácico de ratos Wistar.....	29

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Etapas cirúrgicas de preparo para o implante dos moldes de MCL nos ratos da variedade <i>Wistar</i> , machos e adultos, durante a realização do experimento.....	23
Figura 2. Etapas cirúrgicas de implantação da MCL, no tecido subcutâneo do dorso torácico dos ratos albinos (<i>Wistar</i>), durante os procedimentos experimentais.....	24
Figura 3. Etapas cirúrgicas de implantação da MCL, no tecido subcutâneo do dorso torácico dos ratos albinos (<i>Wistar</i>), durante os procedimentos experimentais.....	25
Figura 4. Representação gráfica comparativa das médias das alturas (espessuras em μm), das matrizes liofilizadas de colágeno (MCL) em relação ao tempo, nos grupos <i>Aloe vera</i> (AV) e Solução Fisiológica 0,9% (SF), aos 15, 30 e 45 dias de implante no tecido subcutâneo do dorso torácico de ratos <i>Wistar</i>	29
Figura 5. Corte histológico da pele de rato <i>Wistar</i> com implante de matriz liofilizada de colágeno (MCL), correspondendo ao grupo AV 15 dias. H.E. 40X.....	34
Figura 6. Corte histológico da pele de rato <i>Wistar</i> com implantes de matriz liofilizada de colágeno (MCL), correspondendo ao grupo AV 30 dias. Masson. 40X.....	35
Figura 7. Corte histológico da pele de rato <i>Wistar</i> com implantes de matriz liofilizada de colágeno (MCL), correspondendo ao grupo AV 30 dias. H.E. . 40X.....	36
Figura 8. Corte histológico da pele de rato <i>Wistar</i> com implantes de matriz liofilizada de colágeno (MCL), correspondendo ao grupo AV 45 dias. H.E. 40X.....	37
Figura 9. Corte histológico da pele de rato <i>Wistar</i> com implantes de matriz liofilizada de colágeno (MCL), correspondendo ao grupo SF 15 dias. H.E. 40X.....	38
Figura 10. Corte histológico da pele de rato <i>Wistar</i> com implantes de matriz liofilizada de colágeno (MCL), correspondendo ao grupo SF 15 dias. H.E. 40X.....	39

Figura 11. Corte histológico da pele de rato Wistar com implante de matriz liofilizada de colágeno (MCL), correspondendo ao grupo SF 30 dias. H.E. 40X.....	40
Figura 12. Corte histológico da pele de rato Wistar com implante de matriz liofilizada de colágeno (MCL), correspondendo ao grupo SF 30 dias. H.E 40X.....	41
Figura 13. Corte histológico da pele de rato Wistar com implante de matriz liofilizada de colágeno (MCL), correspondendo ao grupo SF 45 dias. H.E. 40X.....	42
Figura 14. Corte histológico da pele de rato Wistar com implante de matriz liofilizada de colágeno (MCL), correspondendo ao grupo SF 45 dias. H.E. 40X.....	43

ANÁLISE DA REAÇÃO TECIDUAL ÀS INCLUSÕES SUBCUTÂNEAS DE MATRIZ DE COLÁGENO LIOFILIZADA NO DORSO DE RATOS WISTAR TRATADOS COM *Aloe vera*

RESUMO – Este trabalho teve por objetivo avaliar a incorporação das matrizes liofilizadas de colágeno no dorso de ratos, testando principalmente a sua integridade e capacidade de servir como suporte para a migração de fibroblastos. Implantou-se no dorso torácico de 60 ratos albinos da variedade Wistar, machos e adultos, uma matriz de colágeno liofilizada. Os animais foram divididos em dois grupos de 30 animais, e cada grupo com três subgrupos de 10 animais. O primeiro grupo de animais, grupo AV, recebeu aplicação tópica de gel de *Aloe vera* e, no segundo grupo de animais, grupo SF, foi aplicado de modo similar, solução fisiológica a 0,9%. Os animais (10 ratos/subgrupo) foram submetidos à eutanásia aos 15, 30 e 45 dias de pós-operatório. A avaliação microscópica demonstrou aos 15 dias de pós-cirúrgico, nos dois grupos estudados, a ocorrência de uma reação inflamatória aguda, seguida de edema linfático e formação de tecido de granulação. Esse tecido era formado, principalmente, por leucócitos, que migraram para o local da inflamação. Linfócitos e macrófagos foram encontrados em maior número, no material tratado com *Aloe vera*. Aos 30 dias de pós-implante verificou-se um processo inflamatório moderado, nos dois grupos experimentais. Observou-se ainda, a presença de infiltrado inflamatório mononuclear discreto, associado à proliferação de fibroblastos. E aos 45 dias, no grupo AV, as matrizes encontravam-se menos espessas do que no grupo SF, havendo total bioincorporação dos moldes implantados. Frente aos resultados obtidos, é possível concluir que a matriz liofilizada de colágeno, é substituída por tecido local próximo ao normal e que a aplicação tópica de gel de *Aloe vera* acelerou o processo de cicatrização das lesões cirúrgicas e de incorporação das matrizes de colágeno liofilizadas.

Palavras-Chave: cirurgia experimental, implantes subcutâneos, matriz liofilizada de colágeno, *Aloe vera*, ratos.

ANALYSIS OF REACTION INCLUSIONS SUBCUTANEOUS TISSUE MATRIX COLLAGEN LYOPHILISATE THE BACK OF WISTAR RATS TREATED WITH ALOE VERA

SUMMARY – For this study aimed to evaluate the incorporation of lyophilized collagen matrix in the back of rats, mainly by testing their integrity and ability to serve as support for the migration of fibroblasts. Implanted in the thoracic dorsum of 60 albino rats of the Wistar variety, males and adults, a lyophilized collagen matrix. The animals were divided into 2 groups of 30 animals, and each group with 3 subgroups of 10 animals. The first group of animals, the AV group received topical application of *Aloe vera* gel and in the second group of animals the SF group was applied similarly saline 0.9%. Animals (10 rats / subgroup) were euthanized at 15, 30 and 45 days postoperatively. Microscopic evaluation demonstrated 15 days after surgery in both groups, the occurrence of an acute inflammatory reaction, followed by lymphoedema and formation of granulation tissue. This tissue was formed mainly by leukocytes, which migrated to the site of inflammation. Lymphocytes and macrophages were found in greater numbers, the material treated with *Aloe vera*. At 30 days post-implantation there was a moderate inflammatory process in both experimental groups. It was also observed, the presence of discrete mononuclear inflammatory infiltrate, associated with the proliferation of fibroblasts. And after 45 days in the AV group, matrixes were thinner than in the SF group, with total bioincorporation the molds in place. Given our results, we conclude that the freeze-dried collagen matrix is replaced by local tissue close to normal and that topical application of *Aloe vera* gel has accelerated the healing of surgical wounds and incorporation of freeze-dried collagen matrix.

Key-words: experimental surgery, subcutaneous implants, lyophilized collagen matrix, *Aloe vera*, rats.

1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, o homem busca auxiliar o organismo humano e dos animais domésticos no processo de reparação de lesões causadas por traumatismos, malformações congênitas e neoplasias (ANDREWS, 1988).

O uso de materiais estranhos ao organismo surge na história de dezenas de civilizações em placas de argila, esculturas, vasos, pergaminhos e papiros (ROSSA, 2005).

Atualmente, a ciência biológica mostra, cada vez mais, a tendência na utilização da chamada “engenharia de tecidos” em muitas áreas e tem como meta a reposição de tecidos ou órgãos danificados por outros verdadeiramente biológicos e funcionais (NIMNI,1997).

Hoje, um dos grandes desafios da cirurgia é a substituição de tecidos no organismo por materiais que apresentem as seguintes características: reação inflamatória mínima no tecido hospedeiro e incorporação tecidual (ANTELL e SMITH, 1991). Deste modo, muitos materiais foram usados para este fim, sendo eles sintéticos ou biológicos (MARQUES, 1984; ANDREWS, 1988).

Apesar de não se ter encontrado um material que preencha todos estes requisitos, atualmente existe uma grande variedade de opções de bioimplantes, associada a um avanço crescente no desenvolvimento e aperfeiçoamento desse tipo de material. São considerados biomateriais seguros e compatíveis aqueles que, após serem submetidos a testes biológicos e mecânicos, apresentam resultados nulos e aceitáveis, sendo que esta referida segurança e efetividade incluem o conhecimento histopatológico da interface material-tecido e a possibilidade da ocorrência de inflamação crônica e resposta granulomatosa (HOLMES, 1990; SILVER e MASS, 1994).

Nas últimas décadas, o colágeno vem sendo amplamente utilizado como matéria prima para a produção de biomateriais nas formas de membranas, esponja, pó, como agente hemostático e para o revestimento de queimaduras e também como suporte

para o crescimento de terminais nervosos periféricos danificados. As matrizes de colágeno são utilizadas também como suporte para o crescimento celular e géis de colágeno para reposição de humor vítreo e para a liberação de drogas no organismo (CHVAPIL, 1980; RAO, 1988; YANNAS, 1988).

2- OBJETIVO

Frente às inúmeras aplicações e vantagens apresentadas pela matriz de colágeno liofilizada, o propósito do presente estudo foi o de analisar as reações teciduais após o implante cirúrgico de matrizes de colágeno na região subcutânea do dorso de ratos Wistar e verificar o efeito do gel de *Aloe vera* na cicatrização da pele e na bioincorporação dos implantes.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Tratamento com plantas medicinais (Fitoterapia)

O conhecimento sobre as plantas medicinais acompanha a evolução do homem através dos tempos. Remotas civilizações já haviam percebido ao lado de plantas comestíveis e de outras, dotadas de maior ou menor toxicidade, que ao serem utilizadas no tratamento de doenças revelavam embora ainda empiricamente, o seu potencial curativo (SOARES, 1998).

A história da descoberta e utilização de fármacos originários de plantas remonta vários séculos, tendo sido descrito por babilônios, egípcios e outras civilizações antigas. Na China antiga, Sheng-Nung (2838-2698 a.C), importante monarca e considerado pai da medicina tradicional chinesa, descreveu curativos a base de plantas em seu *Pen Tsan* (O Herbário), onde narra a utilização de plantas como a papoula, o cânhamo, o cinamomo e a mandrágora. Na Grécia antiga, Pedamaos Dioscórides (40 a 90 a.C), compilou um tratado intitulado *Materia medica*, que relatava o uso de mais de 600 plantas, muitas das quais não existem mais (LIMA, 1994).

Até o século XIX os recursos terapêuticos constituíam-se exclusivamente de plantas e extratos medicinais. Durante o século XX inicia-se a tendência do isolamento de princípios ativos (ALONSO, 1998). Todas estas informações vêm sendo transmitidas, desde os tempos imemoriais, de geração em geração, pela forma oral e depois com o aparecimento da escrita passaram a ser compiladas e guardadas como segredo pelos curandeiros e sacerdotes (CUNHA, 2006).

Apesar dos recentes avanços na produção de fármacos, química sintética e biotecnologia, os produtos naturais como plantas e minerais continuam sendo a principal fonte para a obtenção de medicamentos e, muitos deles têm a sua origem na medicina popular (NOORMOHAMED, 1994).

Destes produtos “fitoterápicos”, ou de extratos de plantas, que estão sendo testados, alguns ou muitos deles são selecionados por serem benéficos em tratamentos

na “Fitomedicina” (ALONSO, 1998). Dentre estes se destacam aqueles utilizados no processo de cicatrização de feridas, como a papaína e a sacarose (SANCHES NETO *et al.*, 1993; BRENDA *et al.*, 1995), também o óleo de copaíba (EURIDES *et al.*, 1996; BRITO *et al.*, 1999); o extrato de barbatimão (MELLO *et al.*, 1995; EURIDES *et al.*, 1995; MELLO *et al.*, 1999), e os extratos de própolis e de calêndula (LOPEZ *et al.*, 1989; MASTRANTONIO *et al.*, 2002). Todas estas plantas são fitoterápicas cuja função cicatrizante de seus extratos líquidos a literatura vem enfatizado (ALONSO, 1998, PAGNANO, 2005).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) vem enfatizando a necessidade de se valorizar a utilização de plantas medicinais, levando em consideração o fato de que 80% da população mundial dependem desta forma de tratamento. Ao lado disso, destaca-se também, a participação dos países em desenvolvimento nesse processo, sendo que os mesmos possuem 67% das espécies vegetais medicinais do mundo. Deste modo, o Brasil por apresentar a maior diversidade vegetal do mundo, uma vasta área territorial e clima favorável o ano todo, teria todos os itens para transformar o conhecimento popular associando o mesmo às pesquisas e novas tecnologias em medicamentos fitoterápicos, garantindo assim, a segurança contra efeitos tóxicos, contra-indicações e mutagenicidade, possibilitando desta maneira a distribuição mundial destes produtos (MELLO, 1980; LOPES *et al.*, 1989 ; SOARES, 1998; ANTONIO, 2005; SANTOS *et al.*, 2006).

3.2. História e uso popular da *Aloe vera*

Em placas de argila na Mesopotâmia e em papiros no antigo Egito encontram-se descrições do uso de *Aloe vera* para cura de infecções, lesões de pele e como laxativo (SHENTON, 1991). Nefertiti e Cleópatra, rainhas do Egito, incluíam um creme a base de *Aloe vera* em seus tratamentos de beleza (SURJUSHE, 2008). Esta planta também foi utilizada por Hipócrates, na Grécia antiga, e por Alexandre o Grande, imperador persa, que supria suas legiões com *Aloe vera*, para o tratamento de soldados feridos (ATHERTON, 1998; HALLER, 1990; SURJUSHE, 2008).

A *Aloe vera* é muito comum nas medicinas chinesa, ayurvedica e árabe. Pelos chineses era utilizada em queimaduras provocadas pelo frio e como laxante, o gel era utilizado também como calmante. Pelos hindus era usada como laxativo, anti-helmíntico, no tratamento de hemorróidas, regulador menstrual e, topicamente, era utilizada no tratamento de eczema e psoríase (BENSKY, 1993). Pelos árabes, o gel foi utilizado para resfriar a cabeça, no caso de febre, para tratar conjuntivite, também como desinfetante e laxativo (GHAZANFAR, 1994).

O nome *alloe* é originado do árabe que significa substância amarga e lustrosa e *vera* do latim que significa verdadeiro (ATHERTON, 1998).

Segundo Mourelle *et al.* (1996), a planta *Aloe vera*, conhecida na medicina popular como “babosa”, sendo nativa originalmente do mediterrâneo, pertence à família *Liliaceae*, foi reclassificada recentemente pelos botânicos como *Asphodelaceae*.

A babosa é encontrada tanto na América Central e Caribe, como no subcontinente da América do Sul. Deste modo, trata-se de uma planta de plantio e cultivo fáceis, sendo ainda de fácil manuseio e também é facilmente encontrado em nosso meio. Da folha de babosa se extrai o rico extrato “fitoterápico” na forma de gel e extrai-se ainda uma densa mucilagem, que também compõe as folhas desta planta, e que apresenta outras aplicabilidades (ALONSO, 1998).

Hoje a *Aloe vera* é um ingrediente ativo em centenas de loções de pele, protetores solares e cosméticos. É utilizado também com sucesso nas queimaduras provocadas pela radioterapia. Mais recentemente o extrato de *Aloe vera* tem sido utilizado no tratamento de úlceras de pele, úlceras pépticas e como complemento alimentar para pacientes com AIDS (GRINDLAIR & REYNOLDS, 1986; DANHOF, 1993).

3.3. A pele

A pele, ou *cútis*, é a base estrutural do sistema tegumentar, e a sua constituição tecidual, fundamental, em mamíferos tetrápodes é similar à da *cútis* humana. Apesar de ambas serem estruturadas pela epiderme e derme, repousando sobre a tela subcutânea (hipoderme), ocorre maior abundância de pêlos, formando uma pelagem

comum e uniforme, nos animais. Por outro lado, observa-se maior quantidade de glândulas sudoríparas presentes na cútis humana, em detrimento da ausência de uma “pelagem” uniforme, sendo estes, mais esparsos e distribuídos em vórtices (ORSI, 1993).

É continua com as membranas mucosas que revestem os seguintes sistemas: respiratório, digestório e urogenital, nos locais onde os mesmos se abrem no meio externo (ARNOLD JUNIOR *et al*, 1994; FRANDSON, 2005).

A pele é dividida em duas camadas, a epiderme e derme, ambas se mantêm unidas entre si firmemente. A primeira camada, a epiderme, é uma porção conjuntiva de origem ectodérmica composta por três linhagens de células: os queratinócitos, os melanócitos e as células de Langerhans (MOORE & PERSAUD, 2000; JUNQUEIRA e CARNEIRO. 2004).

A epiderme organiza-se em camadas, à medida que as mais superficiais são eliminadas, as camadas mais profundas são restauradas pelo processo de mitose celular. Apresenta cinco camadas: germinativa, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea. A camada germinativa é a mais profunda e faz limite com a derme. Ela é rica em células tronco, apresenta intensa atividade mitótica e é formada por células prismáticas ou cubóides. A camada espinhosa apresenta filamentos de queratina e desmossomos, que apresentam papel importante na manutenção da coesão entre as células da epiderme e na resistência ao atrito sendo formadas por células cubóides ou ligeiramente achatadas. A camada granulosa apresenta células que estão carregadas de grânulos de querato-hialina, o material lipídico produzido por estas células contribui para formar uma barreira contra a penetração de substâncias e impermeável a água, impedindo a desidratação do organismo. Na camada lúcida, os núcleos e as organelas das células desta camada foram digeridos por enzimas dos lisossomos, é composta por uma delgada camada de células achatadas. A camada córnea apresenta espessura variável e é constituída por células mortas, achatadas e sem núcleo. O citoplasma dessas células apresenta-se repleto de queratina (BANKS, 1992; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004; FRANDSON, 2005).

A derme é uma camada espessa de tecido conjuntivo de origem mesodérmica, que se estende da epiderme até o tecido subcutâneo. Nesta camada localizam-se os anexos da pele, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos (ARNOLD *et. al.*, 1994).

Esta camada pode ser dividida em camada papilar e camada reticular. A camada papilar é constituída principalmente de tecido conjuntivo frouxo que forma as papilas dérmicas. A camada reticular é mais espessa e constituída por tecido conjuntivo denso. A derme contém muitos tipos diferentes de células incluindo fibroblastos, fibrócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e linfócitos. Fornece também uma base firme para a epiderme e para os anexos cutâneos. Possui fibras colágenas que proporcionam resistência a tensão e fibras elásticas que lhe conferem flexibilidade (BANKS, 1992; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

A hipoderme ou tecido celular subcutâneo, não faz parte da pele e é composta por tecido conjuntivo frouxo, que se une de maneira pouco firme aos órgãos subjacentes. É a região responsável pelo deslizamento da pele sobre as estruturas nas quais se apóia, modela o corpo, funciona como isolante térmico e reservatório de energia (BANKS, 1992; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004; FRANDSON, 2005).

A pele recobre toda a superfície do o corpo, constituindo-se como seu maior órgão, atingindo aproximadamente 16% do peso corporal. A pele também apresenta inúmeras funções como: protege o organismo contra perda e água e o atrito; através de suas terminações nervosas sensitivas recebe informações sobre o ambiente e as envia para o sistema nervoso central; por meio dos vasos sanguíneos, glândulas e tecido adiposo colabora na termorregulação do corpo; as glândulas sudoríparas participam na excreção de várias substâncias; a melanina um pigmento produzido e acumulado na pele, tem função protetora contra os raios ultravioleta e sintetiza a vitamina D, pela ação da radiação solar, em precursores produzidos pelo próprio organismo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004; FRANDSON, 2005).

3.4. Cicatrização

A cicatrização de feridas é um processo fisiológico que se inicia com uma resposta inflamatória que se caracteriza pelo aumento do fluxo sanguíneo,

permeabilidade capilar e migração de leucócitos para o local lesado (MODOLIN e BEVILAQUA, 1985).

Esse processo de reparação ocorre com reposição do tecido original. O trauma inicial gera uma resposta inflamatória aguda, que se manifesta pela formação de edema e de exsudado seroso. As células epidérmicas das margens da ferida e das invaginações epidérmicas dos folículos pilosos e glândulas sudoríparas e sebáceas começam a proliferar e migrar para o leito da ferida, ocluindo a sua superfície (ANDRADE *et al.*, 1992; ABLA e ISHISUKA, 1995).

Como a pele delimita o espaço ocupado pelo organismo, ela se constitui na primeira barreira de proteção do corpo. Deste modo, ela estará sujeita às agressões ou injúrias constantes partindo, principalmente, do meio externo. Portanto, a reparação tecidual da pele é de importância vital para a sobrevivência do organismo (COCKBILL e TURNER, 1995).

Alguns autores consideram três estágios no processo de reparação tecidual: um estágio inflamatório, um de proliferação e finalmente um estágio de remodelação. FAZIO *et al.* (2000), classificam-na de uma forma mais complexa, dividindo em cinco fases

1. Coagulação: o início imediato após o surgimento da ferida. Esta fase depende principalmente da atividade plaquetária e da cascata de coagulação. São liberadas substâncias vasoativas, proteínas adesivas, fatores de crescimento, e proteases (TERKELTAUB e GINSBERG, 1998).
2. Inflamação: intimamente ligada à fase anterior, esta fase depende além de muitos mediadores químicos, das células inflamatórias, como leucócitos polimorfonucleares, macrófagos e linfócitos (DIEGELMANN *et al.* 1981).
3. Proliferação: é responsável pelo fechamento da lesão propriamente dita, ela é dividida em três subfases: a primeira é a reepitelização. Nesta fase, fatores de crescimento são provavelmente os responsáveis pelos aumentos das mitoses e hiperplasia do epitélio. A segunda fase inclui a fibroplasia e a formação da matriz, fundamental na formação de tecido de granulação (coleção de elementos celulares: fibroblastos, células inflamatórias e componentes neovasculares; e da matriz como: fibronectina, glicosaminoglicanas e proteases. A terceira fase é a

angiogênese, essencial para o suprimento de oxigênio e nutrientes para a cicatrização (ABLA e ISHISUKA, 1995).

4. Contração da ferida: é o movimento centrípeto das bordas da ferida (STEGMAN *et al.*, 1982).
5. Remodelação: esta é a última das fases, ocorre no colágeno e na matriz durando meses. É responsável pelo aumento da força de tensão e pela diminuição da cicatriz e do eritema. A neovascularização diminui e tardiamente a cicatriz é considerada avascular (DOILLON *et al.*, 1985).

Apesar de a reparação tecidual ser um processo sistêmico, é necessário favorecer as condições locais através de terapia tópica adequada para viabilizar o processo fisiológico através dos seguintes princípios: remover tecidos necróticos e corpos estranhos do leito da ferida, identificar e eliminar processos infecciosos, obliterar espaços mortos, absorver o excesso de exsudato, manter o leito da ferida úmido, promover o isolamento térmico e proteger a ferida de traumas e invasão bacteriana (DOUGHTY, 1992; DEALEY, 1996; YAMADA, 1999).

Para a reparação tecidual, podem-se utilizar dois grandes grupos de produtos: os agentes tópicos são aqueles aplicados diretamente sobre a ferida ou destinados à limpeza ou proteção da área lesada; e os curativos, também chamados de cobertura, são utilizados para recobrir uma ferida com o objetivo de favorecer o processo de cicatrização e protegê-la contra agressões externas, mantendo-a úmida e preservando a integridade da região periférica (DEALEY, 1996).

Vários fatores podem interferir ao longo deste complexo processo de reparação tecidual, eles podem ser de ordem geral como: a idade, o estado nutricional, alterações cardiocirculatórias e de coagulação, aterosclerose, disfunção renal, diabetes, quadros infecciosos e o uso de drogas sistêmicas. Os de ordem local incluem: formação de hematomas, infecção, reação de corpo estranho, uso de drogas tópicas e ressecamento durante a cicatrização (MANDELBAUM, 2003).

3.5. O uso da *Aloe vera* no processo cicatricial de feridas

Deve-se considerar que o extrato de *Aloe*, com destaque ao gel de *Aloe vera* (MOTHYKIE *et al.*, 2004), apresenta propriedades farmacológicas que se caracterizam pela sua grande capacidade de penetrar nos tecidos lesados, exercendo função cicatrizante, anestésico e anti-inflamatório, previamente comprovados em seres humanos (DAVIS *et al.*, 1986; DAVIS *et al.*, 1988; DAVIS *et al.*, 1989; FUJITA *et al.*, 1996; MOTYKIE *et al.*, 2004; PAGNANO, 2005).

Os produtos que mostraram capacidade antiinflamatória no gel de *Aloe* são esteróides de ação tópica; eucosanóides e terpenóides, os quais abrandam o processo inflamatório; giberelina e auxina, dois fitohormônios, que estimulam a produção de anticorpos “*in loco*”, e vários íons inorgânicos que atuam como oligoelementos essenciais no processo de cicatrização (MOTYKIE *et al.*, 2004).

3.6. Biomateriais

Um dos grandes desafios atuais da cirurgia moderna tem sido a substituição de tecidos do organismo, inclusive em áreas de lesão cutânea, isso, por meio do uso de implantes, ou de inclusões, de materiais sintéticos; de produtos artificiais ou de “biomateriais” (FREDEL e BARRA, 2004).

Um biomaterial configura-se em um produto que possa ser utilizado no todo ou numa parte de um segmento orgânico, a qual foi previamente lesada, ou sofreu um trauma, ou mesmo teve injúria grave (BORETOS e EDÉN, 1984).

Espera-se que esses produtos desenvolvam reação inflamatória mínima quando implantados, cirurgicamente num tecido hospedeiro determinado, o qual se que reparar (ANTEL & SMITH, 1991).

Mas por outro lado, a efetividade de materiais utilizados como implantes biológicos, visando reparos cirúrgicos, necessariamente dependem da interface do material implantado com o tecido (FREDEL e BARRA, 2004).

Na busca pelo desenvolvimento destes “substitutos biológicos”, para reparar, manter ou melhorar a função de diversos tecidos, um novo campo interdisciplinar tem emergido com intenso vigor, a “engenharia de tecidos” (NIMNI, 1997).

Este novo campo da medicina visa à substituição no caso de perdas de estruturas anatômicas nos defeitos congênitos, seqüelas de trauma ou cirurgia oncológica (ANDREWS, 1988).

Entretanto, grande esforço ainda se faz para que esse biomaterial desenvolva uma mínima reação inflamatória no hospedeiro (ANTELL e SMITH, 1991).

A segurança e efetividade dos materiais incluem o conhecimento histopatológico da relação implante-tecido, e a possibilidade de ocorrer inflamação crônica e resposta granulomatosa, a partir de estudos experimentais, visando-se obter uma menor reação possível no hospedeiro, bem como a restauração dos tecidos (ANTELL e SMITH, 1991; SILVER e MASS, 1994).

3.7. Implantes biológicos

A técnica de implantes de materiais de diversas naturezas, em seres vivos, tem sido uma prática necessária, e relativamente freqüente, no caso de perdas de estruturas anatômicas decorrentes de defeitos congênitos; seqüelas de trauma, ou de injúria grave, e também em conseqüência da realização de cirurgias de reparo em Oncologia e em Cirurgias de Traumas (ANDREWS, 1988; HADDAD FILHO *et al.*, 2004).

As duas novas especialidades vêm se desenvolvendo com sucesso, criando e inovando importantes biomateriais, cuja compatibilidade tecidual e orgânica destes produtos tem representado ganhos e avanços na técnica cirúrgica, dentro das Ciências Médicas. Assim, a Física Médica é uma área, relativamente recente do saber humano, com implicações diretas com a Cirurgia Experimental. Esse desdobramento, antes citado, foi muito importante por ter lançado os alicerces, de base, e o ulterior desenvolvimento da Engenharia Biomédica. Essa vem desenvolvendo, com sucesso, importantes materiais biocompatíveis ou biomateriais visando a utilização destes

materiais, ou produtos histocompatíveis, em Medicina Humana e em Medicina Veterinária (FREDEL e BARRA, 2004),

Segundo Boretos e Eden (1984), o conceito de biomaterial refere-se a qualquer nova substância desenvolvida, exceto as drogas medicamentosas, ou se reporta, ainda, à elaboração de uma combinação estável de substâncias, com origem sintética ou natural. Estas devem poder ser usadas, durante qualquer período de tempo, em parte, ou no todo, sobre uma parte de um sistema orgânico, ou em uma parte de um segmento orgânico, lesado ou sob injúria, aos quais se trata ou se repara cirurgicamente.

Um biomaterial, além do que foi considerado, configura-se em um “produto” que possa substituir qualquer tecido, órgão, ou até mesmo beneficiar a recuperação e o re-equilíbrio de uma função orgânica determinada, antes prejudicada e mostrando seqüelas na parte somática do corpo. Eles podem ser originários de processos de tratamentos químicos e físicos de materiais, inclusive aqueles de natureza biológica (FRANKE, 2003). Ele também pode ter origem sintética, representando às vezes, um produto elaborado a partir de uma combinação estável de substâncias. O implante de materiais sintéticos, contudo, continua sendo um desafio a ser empregado no reparo de cirurgias estéticas, embora o uso de moldes de silicone tivesse, até hoje, obtido um relativo sucesso na cirurgia mamária (BORETOS e EDÉN, 1984).

“Biocompatibilidade”, segundo Williams (1987), refere-se à habilidade, desempenho adequado ou favorável, que ocorre entre um material produzido para implante cirúrgico, ou para inclusão biológica, e os tecidos circunjascentes, bem como a obtenção de uma resposta orgânica apropriada do hospedeiro, em termos da aplicação específica daquele material (FRANKE, 2003).

Com a finalidade de realizar implantes ou inclusões, para reparo cirúrgico, muitos materiais foram utilizados, sendo tanto “produtos” sintéticos como materiais de natureza biológica (MARQUES, 1984).

No Reino Unido, em 1937, iniciou-se a utilização de resinas sintéticas, tais como o polietileno e o metacrilato de metila, com objetivos de bioimplantação cirúrgica. Desde então, outros materiais foram desenvolvidos, tais como o silicone, o “politetrafluoretileno”, o polietileno poroso e a poliamida, podendo ser veiculados em

solução salina ou na forma de gel (MARQUES *et al.*, 1989; HADDAD FILHO *et al.*, 2004).

Scales (1953) definiu as características de um implante sintético ideal, as quais englobariam cerca de nove parâmetros, conforme segue: 1) não causar modificação física no tecido ou órgão hospedeiro; 2) ser quimicamente inerte; 3) não ser um material carcinogênico; 4) não causar reação alérgica, ou reação de corpo estranho; 5) ter a comprovada capacidade de resistência a forças mecânicas, tais como a tração e a tensão físicas a que se possa submeter a área do implante; 6) poder ser fabricado na forma, ou na conformação, desejadas (e, se possível, em escala compatível com a demanda); 7) poder ser submetido à esterilização; 8) existir, ou estar disponível, em diferentes tamanhos e formatos, e, 9) não necessitar de reparo, após ser realizado o implante (SCALES, 1953; HADDAD FILHO *et al.*, 2004).

Em relação ao emprego de materiais sintéticos, foi sugerido, para a sua utilização cirúrgica, que reproduzissem, de forma ideal, repostas inflamatórias agudas mínimas e que ocorresse uma incorporação tecidual “perfeita”, ou adequada, a cujo conjunto pudesse se denominar de biocompatibilidade (NELL, 1983).

Materiais “biocompatíveis” e seguros, foram considerados aqueles que, ao serem submetidos a testes biológicos e mecânicos, não mostraram resultados de reatividade histopatológica, ou mostraram apenas uma reatividade inflamatória discreta, em termos de bioincorporação e de histocompatibilidade (HOLMES, 1990; HADDAD FILHO *et al.*, 2004).

Concernente ao implante de substitutos biológicos de procedência animal, muita importância tem sido dada ao pericárdio bovino. Esse foi utilizado principalmente na cirurgia cardiovascular, em consequência de sua alta resistência e da fácil aquisição deste material (BARTEK *et al.*, 1974 e HADDAD FILHO *et al.*, 2004).

Outras membranas biológicas têm sido utilizadas experimentalmente ou na prática médica, tais como: o centro tendinoso do diafragma de cão, objetivando a reparação de defeitos musculares em ratos Wistar (BRUN *et al.*, 2004); as membranas da camada cortical óssea, “não mineral” e liofilizada de bovino, para implante subcutâneo em ratos (YAMATOGLI *et al.*, 2005); a cartilagem auricular conservada em glicerina a 98% (HADDAD FILHO *et al.* 2004); e as matrizes de colágeno, previamente

preparadas em soluções alcalinas, usadas essas, por exemplo, no reparo cirúrgico da parede abdominal de eqüinos (VULCANI *et al.*, 2008a).

3.8. Matrizes de Colágeno Liofilizadas

O colágeno é uma proteína fibrosa presente na pele, tendões, ossos, dentes, vasos sanguíneos, intestinos e cartilagem, correspondendo a 30% da proteína total e a 6% em peso do corpo humano (TONHI e PLEPIS, 2002).

No processo de reparação tecidual, o colágeno é de fundamental importância, sua produção pelos fibroblastos tem início entre o quarto e o quinto dia após a injúria, resultando em um significativo ganho de resistência da ferida. Desde modo, qualquer substância com potencial para melhorar este processo auxiliará efetivamente o processo de cicatrização (SAGE, 1982; TEVES, 2001). São produzidos no local da lesão colágenos tipo I e tipo III, todavia o tipo III é o principal sintetizado no leito da ferida. A quantidade de colágeno aumenta com o tempo e após duas semanas suas fibras predominam na matriz celular (CARDOSO, 2003).

Esses biomateriais vêm sendo utilizados como matéria prima na medicina, odontologia e farmacologia, pois se trata de um material biocompatível, atóxico e biodegradável, além de inúmeras propriedades biológicas (BIAGINI, 1991; MUZZARELLI, 1994; CHAMBERLAIN, 1998). Ele pode se apresentar nas mais variadas formas: membranas, esponja, pó, como agente hemostático e materiais para revestimento de queimaduras e outras lesões, e ainda como suporte para o crescimento de terminais nervosos periféricos danificados (YANNAS, 1980).

De um modo geral, o colágeno é utilizado na sua forma original ou reconstituído, associado principalmente a reações de reticulação com a finalidade de aumentar a biocompatibilidade e propriedades mecânicas. Somente em alguns casos tem sido quimicamente modificado por esterilação, acilação ou desaminação (GRIMM *et al.*, 1992; SHENOY e ROSEMBLATT, 1995).

Recentemente, materiais colagênicos têm sido obtidos de várias espécies de animais, o que requer diferentes técnicas de conservação para preservar a sua viabilidade e diminuir a sua antigenicidade. Esta preservação tem sido feita por

congelamento ou agentes químicos como soluções mercuriais, ácido acético glacial, ácido peracético e glicerina (VULCANI *et al.*, 2008b).

A preservação das matrizes de colágeno liofilizadas não pressupõe a manutenção da viabilidade celular, sendo que a eficiência da cirurgia reparadora geralmente está associada à reação biológica de reparação e não à sobrevivência dos elementos celulares presentes no implante, uma vez que o implante funciona como um arcabouço ou suporte temporário à migração dos fibroblastos (PRISTA, 1990). Para isso são necessários: meios de preservação que sejam de fácil obtenção, que impeçam a decomposição e o crescimento de microorganismos, aumentem a resistência e atuem por um período necessário à condição a que estão sendo expostos (ALVARENGA, 1992).

Em seu trabalho, Vulcani *et al.* (2008), afirma que a composição química de uma membrana biodegradável determinará não somente a longevidade, mas também a resposta inflamatória e imune.

Segundo Vert *et al.* (1992), o termo “membranas biodegradáveis” é utilizado para polímeros ou dispositivos sólidos que devido a degradação das macromoléculas sofrem dispersão *in vivo*, mas sem que ocorra a eliminação dos produtos e subprodutos pelo organismo. Essas membranas podem sofrer ação de elementos biológicos de forma que a sua integridade possa ser afetada, formando fragmentos que poderão ser removidos do seu local de ação, mas não necessariamente do organismo.

Portanto, quando a estrutura biológica de um órgão ou tecido não pode ser reparada, a melhor alternativa para o restabelecimento das funções normais de um organismo é a substituição deste tecido lesado por um implante de um biomaterial, como por exemplo, a matriz de colágeno liofilizada (TONHI e PLEPIS, 2002; BARBANTI e ZAVAGLIA, 2005).

3.9. O uso de matrizes de colágeno liofilizadas na cirurgia

Quanto à utilização de matriz de colágeno liofilizada (MCL) VULCANI *et al.* (2008b) descreveram que o no reparo cirúrgico da parede abdominal de eqüinos, após cirurgia, foi feita, com sucesso, a partir do emprego do tecido conjuntivo denso (ou

tecido colágeno), presente em centros tendinosos do diafragma de animais, sendo previamente submetidos a soluções alcalinas por diferentes períodos de tempo.

O biomaterial obtido é, genericamente, denominado de “matriz de colágeno liofilizada” (MCL), e houve a submissão, prévia, do tecido colágeno a diferentes testes físico-químicos para, a seguir, ser usado como implante cirúrgico. As amostras, aparentemente ideais, para os implantes foram àquelas tratadas em meio alcalino, durante 72 horas e, a seguir, liofilizadas. Como implantes eficazes, utilizaram-se amostras de MCL submetidas a uma solução aquosa de glicerina a 98%. A aplicação de membranas biológicas (BRUN *et al.*, 2004; YAMATOGLI *et al.*, 2005), como, por exemplo, o uso de um “fragmento” adequado de MCL na parede abdominal de eqüinos (VULCANI *et al.*, 2008a), tem sido útil no reparo cirúrgico, constituindo-se num achado valioso, e, aparentemente inquestionável, para uso em técnica cirúrgica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais, alimentação e instalações

Foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), da variedade *Wistar*, machos e adultos, com pesos corpóreos variando entre 320 e 400 gramas. Os roedores foram agrupados em dois grupos experimentais de 30 ratos em cada grupo, e cada grupo em 3 subgrupos de 10 animais, em função dos períodos de observação pós-operatória, fixou-se os períodos de tempos após as cirurgias em 15, 30 e 45 dias respectivamente.

Nas fases que precederam as cirurgias experimentais, bem como durante o período pós-operatório, que precedeu a eutanásia para observações e coletas de tecidos com o implante de MCL, os ratos foram mantidos em cativeiro, isolados entre si, em ambiente adequado (Salas de Biotérios da FAMED\ACEG e do IBB/UNESP), procedendo-se administração de alimentação e água *ad libitum*.

4.2. Preparação do gel de *Aloe vera*

As amostras de *Aloe vera* foram coletadas no banco de plantas medicinais do campo experimental Rosa Dourada, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça – FAMED\ACEG, localizada no município de Garça, estado de São Paulo. A preparação do *Aloe vera* foi obtida a partir de um corte transversal da folha da planta e em seguida extraíndo-se da porção central um produto *in natura* em forma de gel (SEMENOFF SEGUNDO, 2007).

4.3. Preparação das matrizes de colágeno liofilizadas

As matrizes de colágeno foram preparadas no Departamento de Química e Física Molecular, Grupo de Bioquímica e Biomateriais, Instituto de Química de São Carlos – UFSCAR, a partir de centros tendinosos diafragmáticos de eqüinos (que

vieram a óbito ou foram eutanasiados, exceto aqueles com doenças infectocontagiosas), oriundos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – FCAV/UNESP.

Os centros tendinosos diafragmáticos foram lavados em solução fisiológica a 0,9%, permanecendo imersos por 4 horas. Após este período, o material foi submetido a congelamento, sob a temperatura de 15° C por 12 horas e -15° C por mais 12 horas. Em seguida as amostras foram pesadas e submetidas ao processo de liofilização. A cada 12 horas elas eram novamente pesadas, até que não houvesse mais diminuição da massa, indicando desta forma a remoção da água presente no material. Posteriormente as amostras foram esterilizadas em óxido de etileno e acondicionadas em embalagens de papel estéril de grau cirúrgico (VULCANI, 2008b).

4.4. Preparação cirúrgica dos animais

Como procedimento inicial, os roedores foram acondicionados em recipientes apropriados, contendo chumaços de algodão embebidos com éter, e, em seguida, anestesiados através de anestesia inalatória.

A assepsia da região do dorso torácico, escolhida como local para os implantes, foi realizada com álcool iodado e procedeu-se também uma cuidadosa tricotomia regional. Em seqüência, foi realizada uma incisão longitudinal mediana do dorso torácico, imediatamente, abaixo da borda caudal das duas escápulas, com posterior divulsão dos tecidos moles subjacentes, e identificação da musculatura epaxial dorsal superficial, sendo essa musculatura o parâmetro adotado para se avaliar a profundidade da incisão cirúrgica.

4.5. Grupos experimentais

O primeiro grupo experimental de ratos, (grupo AV), recebeu o implante de MCL e aplicação, na região operada de gel de *Aloe vera in natura*. Esse foi aplicado de forma tópica sobre a área cirúrgica, desde o pós-operatório até o evoluir do processo cicatrizante e reparatório das cirurgias. Decorridos os períodos de 15, 30 e 45 dias de

pós-operatório, os animais de cada subgrupo de roedores (10 animais em cada subgrupo) foram, respectivamente, eutanasiados, visando coletas de materiais biológicos da região abordada para estudos histológicos.

O segundo grupo experimental de ratos (grupo SF), considerado grupo controle, recebeu também o implante e foi aplicada na região operada, solução fisiológica a 0,9%, sendo realizada diariamente desde o início da etapa de cicatrização, até a eutanásia dos roedores. Os procedimentos cirúrgicos para o implante das matrizes e sutura da pele foram semelhantes ao grupo AV.

4.6. Procedimento cirúrgico

A metodologia cirúrgica utilizada, de modo geral, nos grupos experimentais para o implante de molde de matriz de colágeno liofilizada (MCL), constou das etapas de pré-operatório, trans-operatório (transcurso da cirurgia) e pós-operatório.

Na etapa de pré-operatório os roedores sofreram uma extensa e cuidadosa tricotomia do dorso torácico e de modo, aproximadamente concomitante, eram pré-anestesiados por inalação controlada de éter etílico, aplicado através de um inalador cujo bocal cobria toda a parte rostral do focinho (Figura 1a).

Logo após ligeira sedação, procedeu-se a indução e manutenção anestésica, em aparelho de anestesia inalatória¹. Utilizou-se anestésico halogenado (halotano), diluído em oxigênio, administrado por meio de máscara, em circuito de Brin. A concentração dos gases no procedimento cirúrgico era suficiente para manter o paciente no segundo plano do estágio III de Guedel.

A seguir os animais foram colocados numa câmara de inalação (Figura 1b), para completar esta fase pré-anestésica. O parâmetro utilizado, neste caso, para se avaliar o grau de sedação anestésica correspondeu à coloração do espelho nasolabial e das extremidades dos dígitos, relativamente ao grau de cianose observada.

Em seqüência, os ratos pré-anestesiados foram conduzidos ao campo cirúrgico, em ambiente asséptico, e receberam uma solução dorsal de álcool iodado (anti-séptico tópico), aplicado na região tricotomizada (Figura 1c).

¹Oxigel Materiais Hospitalares Indústria e Com. Ltda, modelo O600, São Paulo.

Precedendo o período trans-operatório, e, concomitantemente, os ratos foram submetidos ao inalador de halotano fixado à região cefálica (Figura 1d), visando obter eficiência plena da anestesia.

Durante estes procedimentos, os moldes de MCL eram hidratados com solução fisiológica (Figura 2a e 2b), objetivando-se, logo a seguir, sua implantação.

Após a seleção e isolamento da área cirúrgica (Figura 2c e 2d), procedeu-se uma secção transversal, interescapular, na pele do dorso torácico (Figura 2e e 2f), e, “divulsão” dos tecidos cutâneo e subcutâneo, tendo como limite de profundidade da secção, a musculatura “epaxial” dorsal. Fez-se a implantação de cada molde de MCL (Figura 3a e 3b), o qual foi alojado na profundidade da tela subcutânea (Figura 3c e 3d).

Imediatamente a seguir, se procedeu à sutura da pele com fio de náilon 3-0 (Figura 3e e 3f), utilizando-se pontos simples e separados, assim sendo concluída a etapa trans-cirúrgica.

4.7. Análise Histológica

Fragmentos de tecidos do dorso torácico dos ratos após a incorporação das matrizes liofilizadas de colágeno foram coletados e fixados, em solução de Bouin para estudos de microscopia de luz (MO). Decorridos os tempos de fixação histológica, os tecidos foram conduzidos para a rotina habitual de MO, com obtenção de fragmentos histológicos incluídos em paraplast. Posteriormente, foram obtidos cortes histológicos de 5 a 7 μm de espessura, que foram corados com HE e tricrômicos de Masson segundo a técnica de Behmer *et al.* (2003). Os cortes foram analisados e documentados em microscópio óptico de pesquisa². Foi utilizado também um equipamento de multi-análises, sendo composto por um microscópio fotográfico Axiophot³ e um sistema de análise de imagens Zeiss KS-300⁴.

No sistema KS-300, foi realizada, também, a análise histomorfométrica da espessura das matrizes liofilizadas de colágeno em relação ao tempo nos grupos de *Aloe vera* e solução fisiológica 0,9% aos 15, 30 e 45 dias de implante no tecido subcutâneo do dorso torácico de ratos Wistar.

² Olympus Inc. BH-2, Japão.

³ Axiophot, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha.

⁴ Carl Zeiss, KS 300, Oberkochen, Alemanha.

4.8. Tratamentos

Os passos tomados a seguir foram: o aguardo do término do período anestésico, condução dos roedores às caixas de criatório e a aplicação tópica no primeiro grupo experimental de gel de *Aloe vera* e no segundo grupo de solução fisiológica a 0,9%. Os ratos passaram então a receber visitas diárias, sete vezes por semana, uma vez ao dia e sempre no mesmo horário. As aplicações eram realizadas com animais em estado de alerta, sendo os mesmos contidos manualmente enquanto o auxiliar realizava a aplicação, da mesma forma como foi realizado nos trabalhos de Pagnano (2005) e Semenoff-Segundo (2007). O gel de *Aloe vera in natura* foi aplicado sobre as suturas cutâneas com o auxílio de uma espátula plástica descartável, enquanto que a solução fisiológica foi aplicada com o uso de um conta gotas, preenchendo toda a superfície da sutura. O tratamento foi mantido até o término do experimento aos 45 dias.

4.9. Análise estatística dos dados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa estatístico Statistical Analysis of Systems "SAS" (2002) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

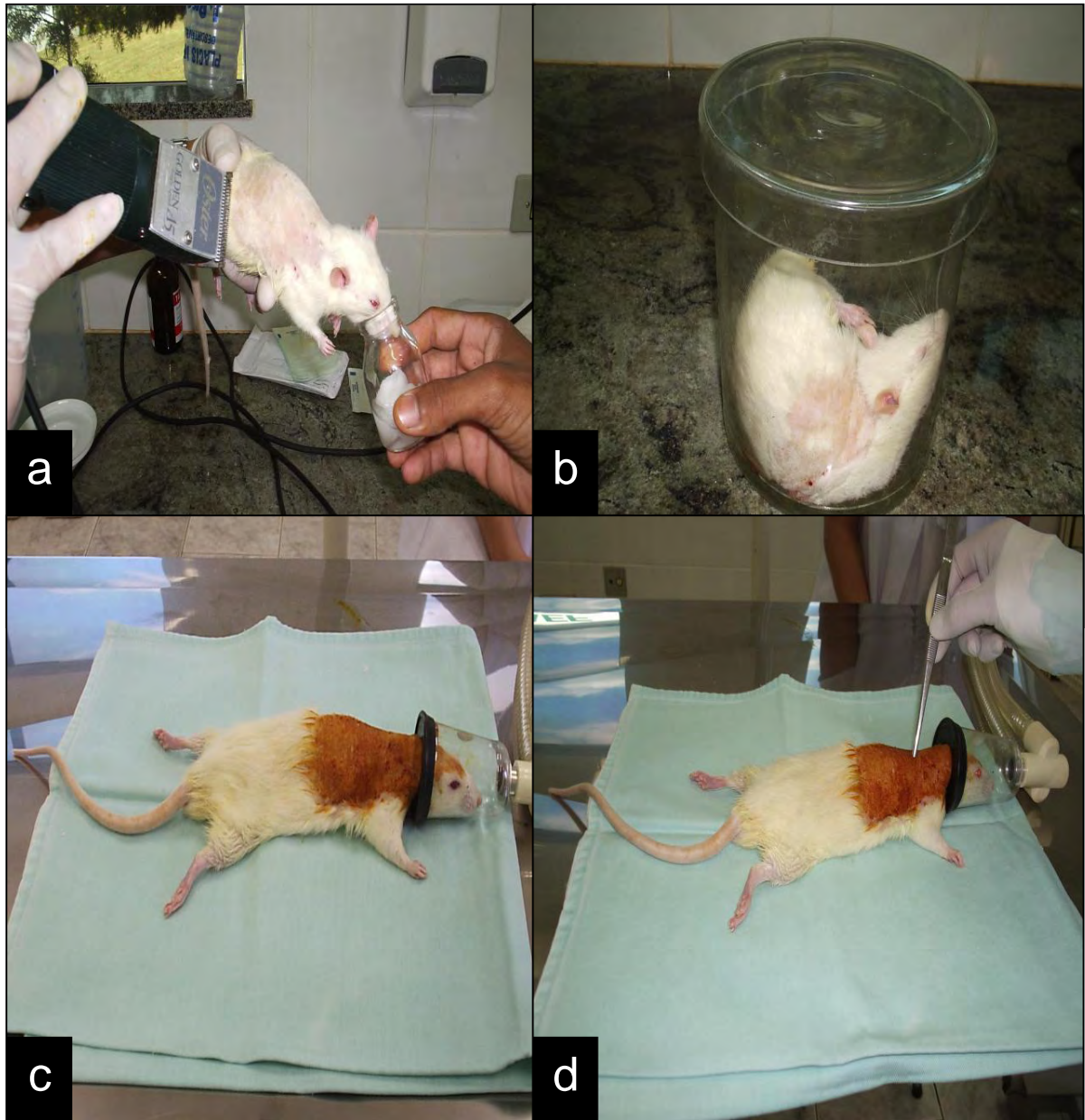


Figura 1. a, b, c, d, e, f: Mostram as etapas cirúrgicas de preparo para o implante dos moldes de MCL nos ratos da variedade Wistar, machos e adultos, durante a realização do experimento. Em a e b, a fase indução anestésica; em c, a anestesia inalatória e em d, a demonstração do local para o implante das matrizes.

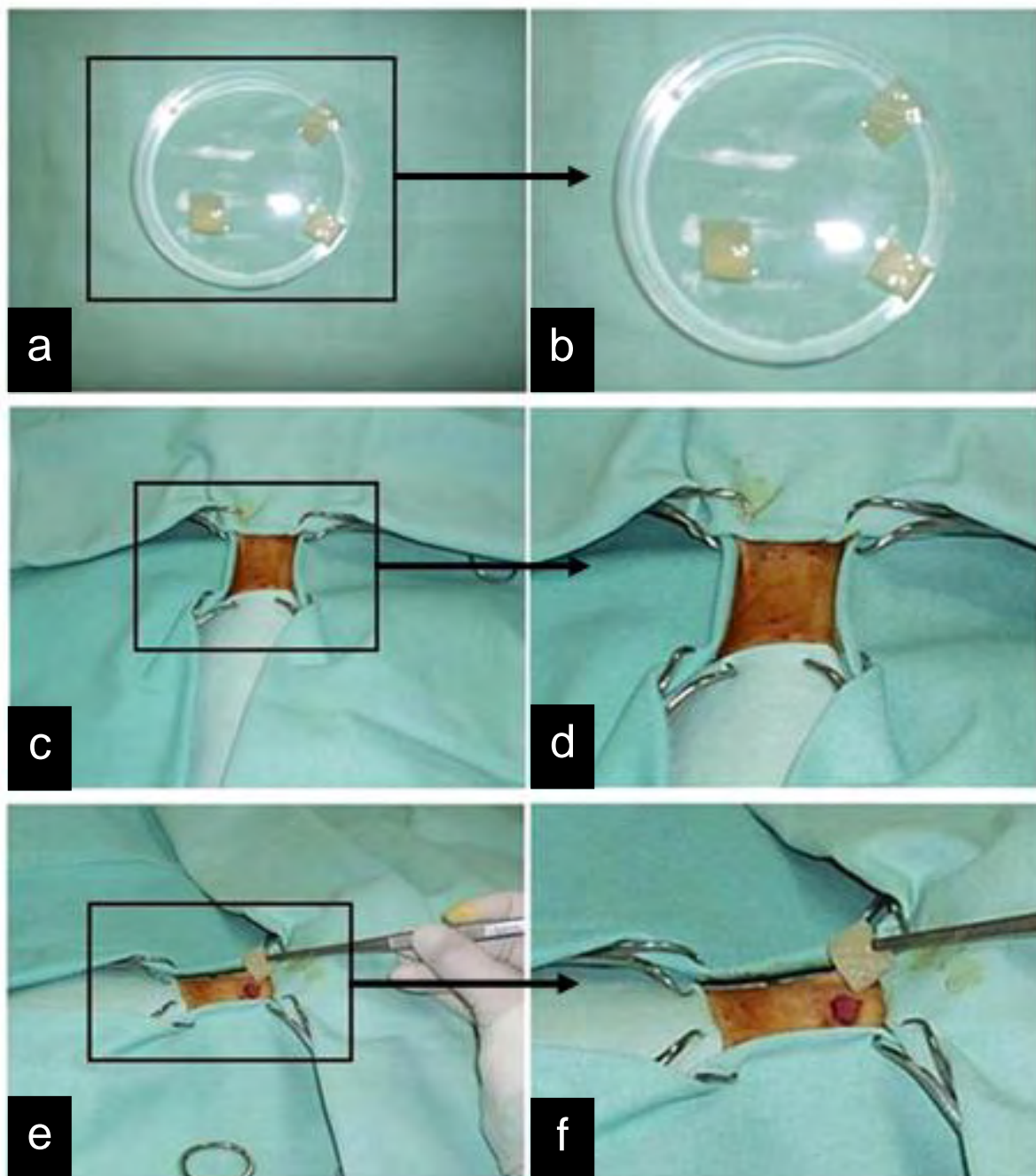


Figura 2. a, b, c, d, e, f: Mostram as etapas cirúrgicas de implantação dos moldes de MCL no tecido subcutâneo do dorso torácico dos ratos durante os procedimentos experimentais. Em a e b, é realizada a hidratação dos moldes; em c e d, o preparo do campo cirúrgico e em e e f a demonstram o início da implantação das matrizes.

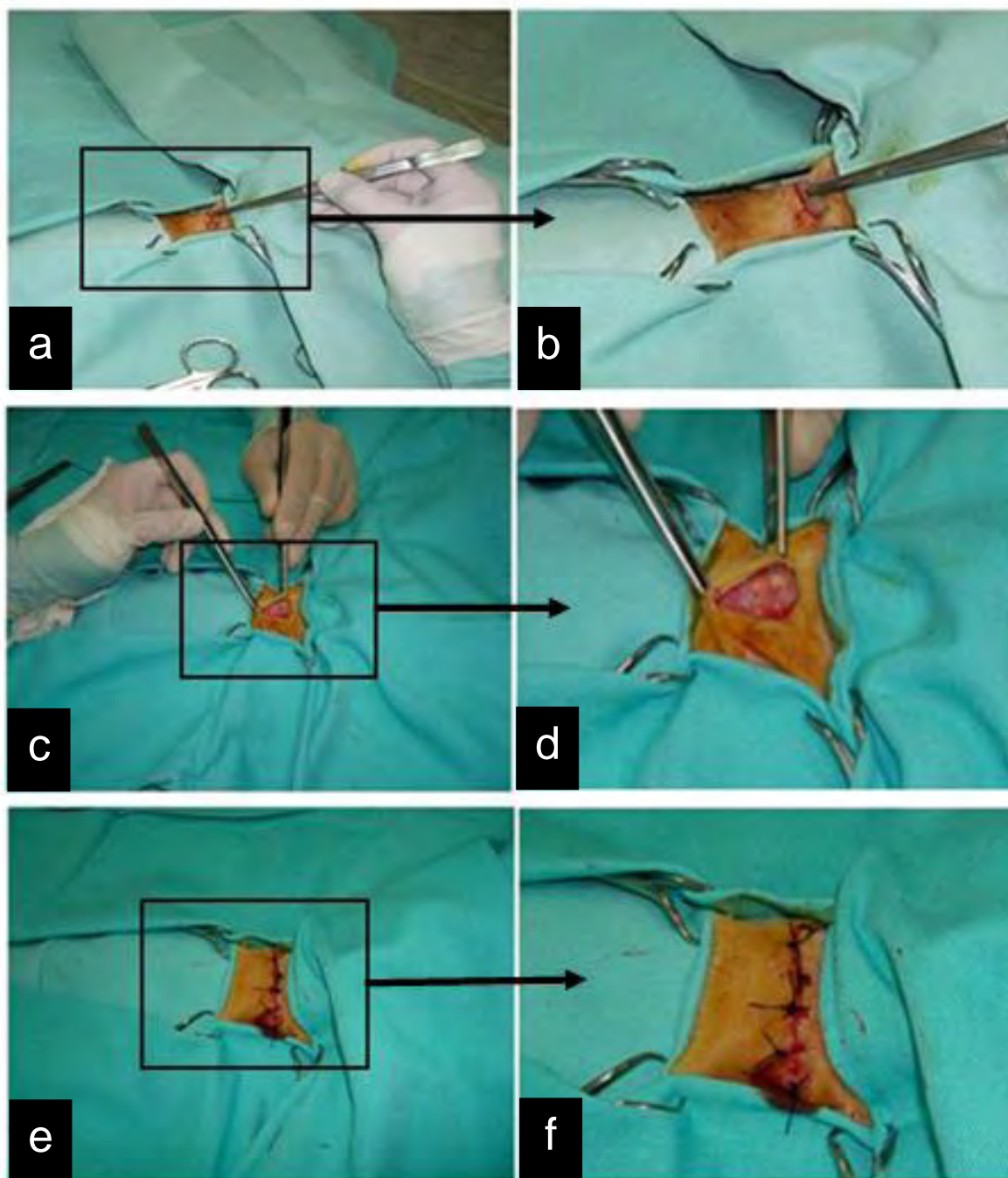


Figura 3. a, b, c, d: Mostram as etapas cirúrgicas de implantação dos moldes de MCL no tecido subcutâneo do dorso torácico dos ratos durante os procedimentos experimentais. Em a e b, é realizada a hidratação dos moldes; em c e d, o preparo do campo cirúrgico e em e e f a demonstram o início da implantação das matrizes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A evolução da cicatrização ao nível macroscópico foi considerada clinicamente normal. Observou-se, nos quinze primeiros dias a formação de tecido de granulação, e não foi evidenciada a formação de abscessos.

Ao nível histológico nos ratos dos dois grupos experimentais não foram observadas alterações marcantes nos tecidos cortados (pele e hipoderme), a não ser aos 15 dias de idade em que se caracterizaram os eventos típicos de um processo inflamatório agudo asséptico, e decorrente das lesões cirúrgicas. Aos 45 dias após a cirurgia os cortes se apresentavam totalmente cicatrizados.

No grupo de ratos *Aloe vera*, tratados com gel de extrato líquido de *Aloe vera* (15 dias), os resultados foram, em linhas gerais, similares ao grupo SF, no mesmo período. Todavia a bioincorporação dos moldes a partir dos 30 dias, acontece de forma mais intensa que no grupo AV, apresentando cápsulas mais delgadas, maior número relativo de fibroblastos e fibrócitos que invadem a matriz. Aos 45 dias, no grupo AV, os moldes apareceram menos espessos do que no grupo solução fisiológica 0,9% (SF), de 45 dias, havendo total bioincorporação dos moldes implantados (Figura 4).

No grupo experimental de ratos, com emprego de gel de *Aloe vera*, aos 15 dias de pós-implante, aparentemente, houve aumento dos moldes de MCL (Figura 5), pelo menos, na dimensão microscópica, da região tecidual bioincorporada. Tal aumento não foi acompanhado de alterações macroscópicas à vista desarmada.

Nas observações realizadas em microscopia de luz (ML), feitas sobre os implantes de moldes de matriz de colágeno liofilizado (MCL), no grupo AV, após 15 dias de pós-operatório, notou-se processo inflamatório agudo e grande evidencia do molde implantado, que apresentava áreas com infiltrado de células mononucleares (Figuras 6 e 7). A parte periférica dos moldes mostrava-se com maior eosinofilia retratando, efetivamente, maior resposta biocompatibilizante, assim como uma marcante ocorrência de neovasculatura. (Figuras 6 e 7).

Aos trinta dias, no grupo implantado com molde de MCL e tratado com gel de *Aloe vera* (AV), verificou-se processo inflamatório moderado. Histologicamente, com o

emprego de maiores aumentos, notou-se ainda presença de infiltrado inflamatório mononuclear discreto, associado à proliferação de fibroblastos (Figuras 6 e 7).

Ocorrência de neovasculatura e de início da maturação do tecido conjuntivo fibroso foi observada *in loco* no grupo AV com 30 dias. Ademais, resquícios do biomolde apareciam, de forma evidente, sendo mais biocompatibilizados do que no grupo de solução fisiológica 0,9% aos 30 dias de pós-operatório (Figuras 6 e 7; e Tabela1).

No grupo AV, após 45 dias de implante, o molde de MCL se apresentava reduzido e circundado por tecido conjuntivo, ocorrendo ainda uma apreciável quantidade de tecido adiposo de natureza hipodérmica (Figura 8).

No grupo dos ratos tratados com solução fisiológica 0,9%, verificaram-se as etapas do processo inflamatório agudo (15 dias), formação de tecido de granulação, linfedema e aporte de leucócitos (30 dias) e persistência dos eventos inflamatórios, porém mais brandos, com aparente incorporação dos moldes de MCL (45 dias pós-cirúrgico) (Figura 4).

Os resultados obtidos no grupo (SF), exceto aos 15 dias de pós-operatório, mostraram valores médios mais discretos quanto à espessura dos moldes implantados. Logo a consistência dos moldes de MCL foi menos alterada, ou talvez, os moldes foram menos biocompatibilizados, relativamente aos resultados visualizados no grupo *Aloe vera* (Figuras 9 e 10).

As áreas circundantes dos moldes implantados, no grupo com SF aos 15 dias de pós-operatório, mostraram as características marcantes de um processo inflamatório, caracterizando-se algumas células inflamatórias mononucleares (linfócitos), com moderada quantidade de fibras colágenas e também ocorreram fibroblastos, não muito abundantes (Figuras 9 e 10).

No grupo SF, aos 15 dias de pós-operatório, os blocos de MCL estavam incorporados no tecido subcutâneo dorsal dos ratos. Estes moldes mostravam-se bem evidentes e bastante contrastados, em sua maior extensão, verificando-se a presença dos tecidos dérmicos e hipodérmicos adjacentes. Numa determinada extensão, por outro lado, a parte dos moldes predominantemente voltada para o estrato reticular da derme, já se mostrava infiltrada por células do tecido conjuntivo fundamental. Dentre

estas células, observadas em aumentos histológicos maiores, foi possível visualizar fibroblastos, fibrócitos e macrófagos (Figuras 9 e 10).

No grupo SF, aos 30 dias, o implante biológico mostrava contornos irregulares, bem como era notória a presença de um processo inflamatório moderado (Figura 11 e 12). Ademais, se notou a ocorrência de infiltrado linfoplasmocitário moderado, formado de células inflamatórias mononucleares. Destacaram-se linfócitos, fibroblastos, fibrócitos e macrófagos.

Neste grupo SF de 30 dias de pós-cirurgia, as dimensões do implante de MCL já apareceram menores do que no grupo SF 15 dias (Figura 4 e Tabela 1). Indícios de neoangiogênese foram também visíveis em ambas as figuras destacadas (Figuras 13 e 14).

Aos 45 dias do pós-implante de moldes de MCL, no grupo de SF, verificou-se a continuidade do processo inflamatório, porém ele foi menos intenso do que aquele notado nos grupos de SF de 15 e 30 dias do experimento (Figuras 13 e 14).

Em aumentos maiores de ML, notaram-se raras células inflamatórias mononucleares (linfócitos). Observaram-se, também, fragmentos menores da membrana biológica implantada, acompanhada de discreta quantidade de fibroblastos e fibras colágenas (Figuras 11 e 12).

Quando aplicado o teste de Tukey a 5% de probabilidade aos resultados nos dois grupos experimentais, pode-se observar que: considerando as avaliações, aos 15 dias não se mostraram estatisticamente significantes, ao se utilizar Aloe Vera. Entretanto aos 30 e 45 dias, a diferença foi significativa ($P < 0,05$).

Em relação ao grupo SF, as duas primeiras avaliações, 15 e 30 dias, não se mostraram estatisticamente significantes. Porém aos 45 dias a diferença foi significativa ($P < 0,05$).

Tabela 1. Valores das médias e erro padrão das espessuras (μm) das matrizes liofilizadas de colágeno (MCL), em ratos tratados com Aloe vera (AV) e Solução Fisiológica 0,9% (SF), em função do tempo de implante no tecido subcutâneo do dorso torácico de ratos Wistar.

DIAS PÓS-IMPLANTE	ALOE VERA	SOLUÇÃO FISIOLÓGICA 0,9%
15	2272,9 \pm 20,94 aA	2176,6 \pm 13,77 aA
30	1929,7 \pm 10,89 bB	2048,4 \pm 17,19 aA
45	314,9 \pm 12,12 cB	1429,8 \pm 16,85 bA
	1505,8 B	1884,9 A

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

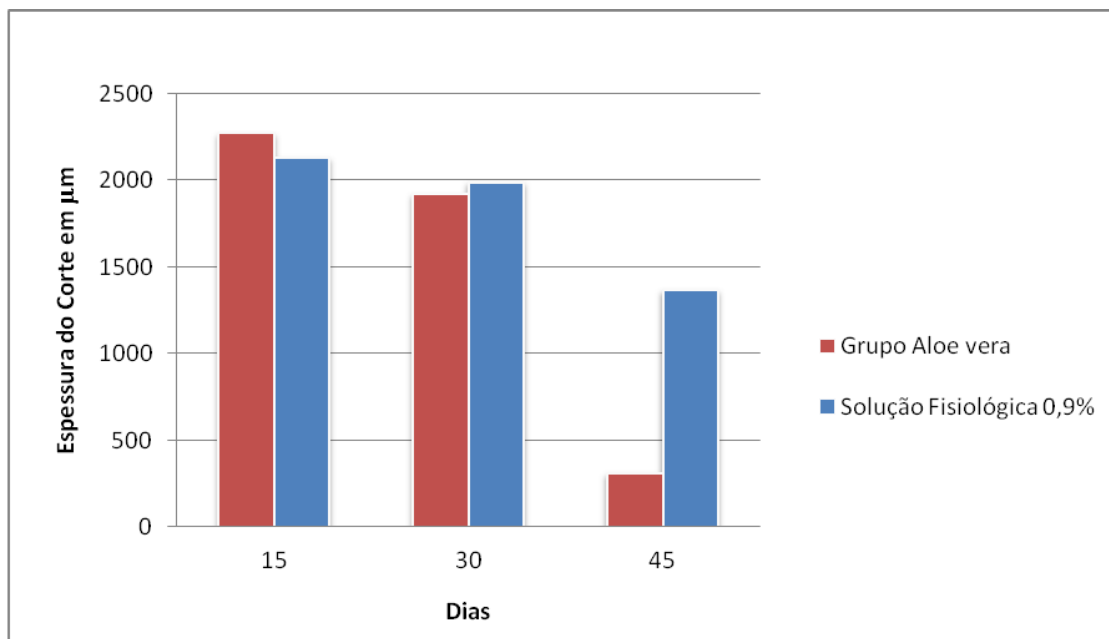


Figura 4. Representação gráfica comparativa das médias das alturas (espessuras em μm), das matrizes liofilizadas de colágeno (MCL) em relação ao tempo, nos grupos *Aloe vera* (AV) e solução fisiológica 0,9% (SF), aos 15, 30 e 45 dias de implante no tecido subcutâneo do dorso torácico de ratos Wistar.

Durante o processo de cicatrização, neste trabalho, não se observou a presença de exsudado e de odor, tendo o mesmo sido observado nos resultados obtidos por Semenoff-Segundo *et al.* (2007).

Ao nível subcutâneo, com os moldes implantados de MCL, não se registraram respostas patológicas evidentes como infecções, necroses teciduais e calcificações (HADDAD-FILHO *et al.*, 2004 ;ROSSA *et al.*, 2005; BENGTON *et al.*, 2006).

Após a utilização do gel de *Aloe vera*, pode observar-se que os animais tentavam retirar-lo do local da ferida, provavelmente pela sua ação analgésica e antiinflamatória (MOURELLE *et al.*, 1996; ANTONIO, 2005).

É de consenso na cirurgia que a formação de uma crosta é um sinal positivo no reparo (YOUNG e HEATH, 2001), apresentando uma maior formação de vasos sanguíneos, infiltrado inflamatório e fibras colágenas. Observou-se, no presente trabalho, a formação de crostas, no entanto, diferente dos resultados observados por Oliveira (2000) e Semenoff-Segundo *et al.* (2007), não houve a necessidade da remoção das crostas aos sete dias de pós-operatório, pois as mesmas destacaram-se naturalmente sem a necessidade de remoção manual.

Este fato deve-se provavelmente à manutenção do meio úmido, o que proporcionou a viabilidade das células e permitiu que elas liberassem fatores de crescimento e estimulasse a sua produção (BLANES, 2004). Além disso, evitou a desidratação, acelerou a angiogênese, reduziu a dor e permitiu o desbridamento autolítico dos tecidos nos dois grupos.

O grupo tratado com gel de *Aloe vera* mostrou maior velocidade nos processos de inflamação aguda, o mesmo observado no trabalho de Pagnano (2005), e de bioincorporação dos moldes, provavelmente porque além de se valer dos mecanismos intrínsecos da via clássica de reparo tecidual, também foi favorecida por substâncias cicatrizantes próprias do gel de *Aloe vera*. O mesmo sendo observado por Dorneles *et al.* (2003), ao relatar uma maior contração das feridas cirúrgicas e uma melhor epitelização ao se utilizar derivados de *Aloe vera*, quando comparados ao grupo controle. Além do que se considerou anteriormente, no grupo de AV de 45 dias foi notória a diminuição dos valores médios de espessuras dos moldes implantados de MCL (Tabela 1).

Isso poderia significar uma melhor incorporação e histocompatibilização do molde de MCL junto aos tecidos dérmicos e subcutâneo, adjacentes à pele do dorso cutâneo dos ratos submetidos aos implantes de MCL e tratados com gel de *Aloe vera*.

O *Aloe vera* foi utilizado com o intuito de ser um elemento potencializador ou co-adjuvante (ALONSO, 1998), na resolução do processo inflamatório decorrente do implante de MCL, o que acabou sendo observado aos 45 dias de pós-cirúrgico. Isso vem ao encontro ao que foi relatado por Kiliç (2007), sobre os dados clínicos do processo de cicatrização na presença de *Aloe vera*. Este autor observou que este agente produziu uma melhora três vezes superior ao processo de cicatrização de cirurgias na cavidade abdominal. Essa ação poderia ter favorecido a “biocompatibilidade” dos moldes de MCL durante a fase inflamatória aguda do processo.

Dentre as substâncias que podem ter contribuído efetivamente no processo de cicatrização e incorporação das matrizes liofilizadas de colágeno no presente trabalho, podem destacar os derivados antraquinóicos como a aloína (MOURELLE *et al.*, 1996), ácidos orgânicos, vitaminas A, B e C, aminoácidos, polissacarídeos e glicoproteínas com atividade antitumoral e antiinflamatória (ROIG, 1988; SURJUSHE *et al.*, 2008).

Estes componentes fitoquímicos presentes no gel de *Aloe vera* poderiam explicar o processo inflamatório agudo mais brando, observado no grupo *Aloe vera* e a menor sensibilidade nos primeiros dias de tratamento. Mourelle *et al.* (1996), relataram em seu trabalho a ação analgésica da *Aloe vera* em testes de sensibilidade dolorosa.

Outras substâncias cicatrizantes e antiinflamatórias presentes no gel de *Aloe vera*, podem ter contribuído para o abrandamento do processo inflamatório no grupo AV, destacando-se os eucosanóides e terpenóides, e também substâncias “fito-ativas” como giberelina e auxina, que estimulam produção local de anticorpos, além de vários íons inorgânicos, presentes no gel *Aloe vera*, que atuam, igualmente, como fatores essenciais no processo de reparação tecidual (MOTYKIE *et al.*, 2004).

Os animais do grupo tratado com solução fisiológica a 0,9% apresentaram bons resultados, porém inferiores ao grupo tratado com *Aloe vera* em relação à cicatrização da pele. O mesmo foi observado por Silva (2004), em seu trabalho sobre a cicatrização da pele de ratos quando utilizou três agentes de limpeza para as feridas, sendo que a solução fisiológica apresentou menor percentual de cicatrização.

Comprovou-se em todos os grupos estudados, com o implante de MCL, que o tecido de granulação era rico em capilares sanguíneos. Todavia, no grupo tratado com

Aloe vera, houve um incremento na neoangiogênese local, provavelmente, pela sua ação antiinflamatória que, por sua vez, contribuiu efetivamente com a diapedese de leucócitos imunocompetentes ao local do implante (MODOLIN e BEVILACQUA, 1985; YOUNG e HEATH, 2001).

Em relação à matriz de colágeno liofilizada, utilizada neste experimento, Vulcani *et al.* (2008a) relataram que ela é constituída basicamente de colágeno tipo I, e por ser absorvível, não requer posterior remoção, vantagem observada por Yamatogi *et al.* (2005) em relação às membranas não absorvíveis, que necessitam de uma segunda intervenção cirúrgica para sua retirada.

Outro fato relevante é que uma membrana deve permanecer estruturalmente e funcionalmente íntegra para permitir a migração de células do tecido hospedeiro e promover a regeneração do tecido original lesado. No presente experimento foi observada aos 45 dias após os implantes de matriz de colágeno liofilizada, uma migração de células mais efetiva no grupo AV onde se observou também, um estágio mais avançado de reparação com a substituição por tecido característico da área. Este dado também foi observado por Bengtson *et al.* (2006), após o término do período experimental de seu trabalho com implantes de proteína morfogenética de osso no tecido subcutâneo de ratos.

O tipo de resposta orgânica, obtida no presente experimento, vem de encontro com as considerações de Franke (2003) sobre os moldes dotados de boa “biocompatibilidade”, evidenciando que a MCL, certamente, está entre estes tipos de moldes compatíveis.

A possibilidade de ocorrer um processo inflamatório crônico e formação de granulomas como respostas biológicas também se ressaltam (SILVER e MASS, 1994). Entretanto, esse tipo de resposta não ocorreu no presente trabalho com os implantes de MCL, quando os moldes foram veiculados em *Aloe vera* ou quando foram tratados com solução fisiológica.

Efetivamente, o organismo apresenta mecanismos de resposta inespecífica à invasão de um agente estranho (YOUNG e HEATH, 2001), a exemplo de um biomolde implantado, sendo esta resposta denominada “inflamação”, a qual pode ser aguda ou crônica. Mas, o tipo de resposta inflamatória notada com o bioimplante de MCL, no

subcutâneo do dorso dos ratos, foi predominantemente do tipo agudo, caracterizando-se pela ocorrência de alterações vasculares, maior fluxo sanguíneo e produção de exsudato inflamatório rico em fibrina no local do implante, estando de acordo com as observações feitas por Rossa *et al.* (2005) e Haddad Filho *et al.* (2004).

Posteriormente, os campos cirúrgicos implantados com MCL mostraram, ao nível histológico, a presença de leucócitos granulares e de macrófagos, bem como o aumento do número de fibroblastos presentes nas áreas operadas, o mesmo tem sido observado por Bengtson.(2006).

Embora na casuística do presente trabalho, a tendência foi a de se circunscrever os moldes, pelo tecido de granulação formado e, se possível, de expulsá-los, posto que fossem identificados como agentes invasores isto, efetivamente, não ocorreu. A tendência ao encapsulamento do material implantado, bem como a presença de processo inflamatório reparacional, também foi observado nos trabalhos de Haddad Filho *et al.* (2004) e Yamatogi *et al.* (2005).

Face ao exposto, o processo inflamatório tendeu, com o evoluir do tempo de pós-operatório, a ser substituído por tecido cicatricial decorrente da presença de colágeno de neoformação, segregado pelos fibroblastos ativados neste processo. Porém, na casuística desse trabalho, apesar da observação do tecido de granulação, da ocorrência de muitas células imunocompetentes e de fibroblastos circunscrevendo os moldes de MCL implantados, efetivamente não se observou o processo cicatrizante ao redor dos moldes, sendo estes bioincorporados de modo muito natural aos 45 dias de pós-operatório.

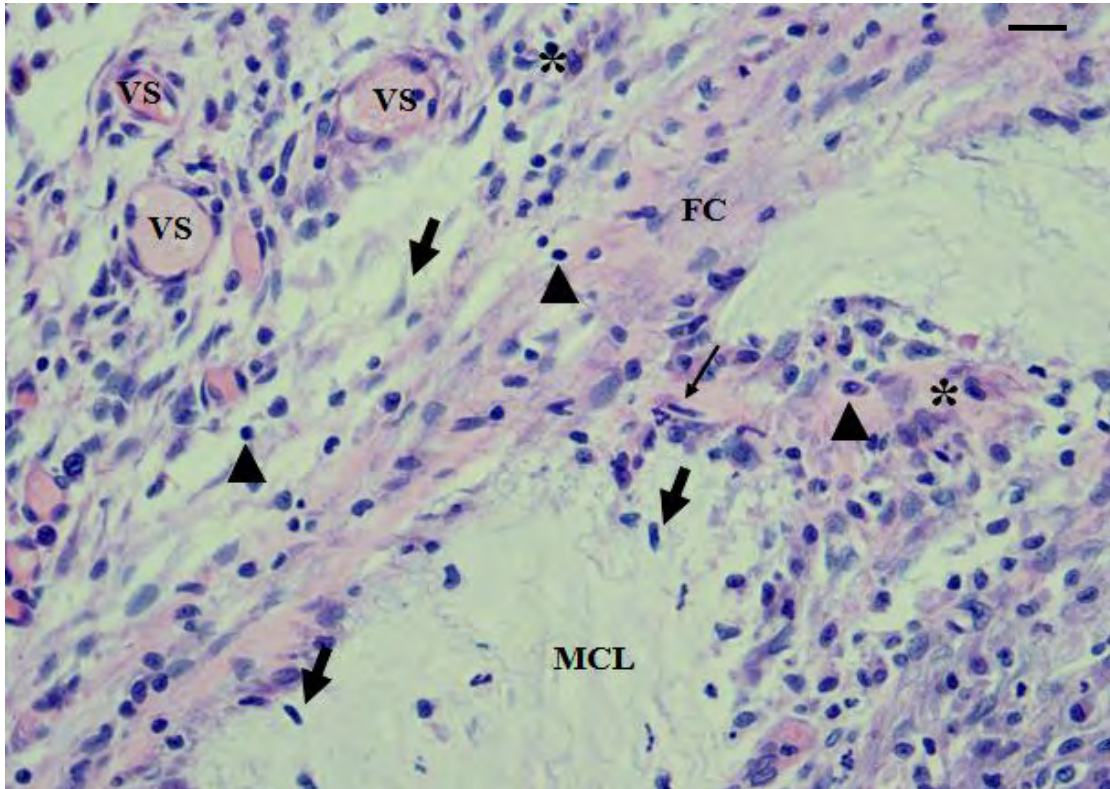


Figura 5: Corte histológico da pele de rato Wistar com implantes de matriz de colágeno liofilizada (MCL), correspondendo ao grupo AV 15 dias: região da derme - Vasos Sanguíneos (VS), Fibroblastos (seta Cheia) Infiltrado de células mononucleares (Cabeça de Seta), Macrófagos (asterisco), Fibras Colágenas (FC) H.E., 40x
— 20 μ m.

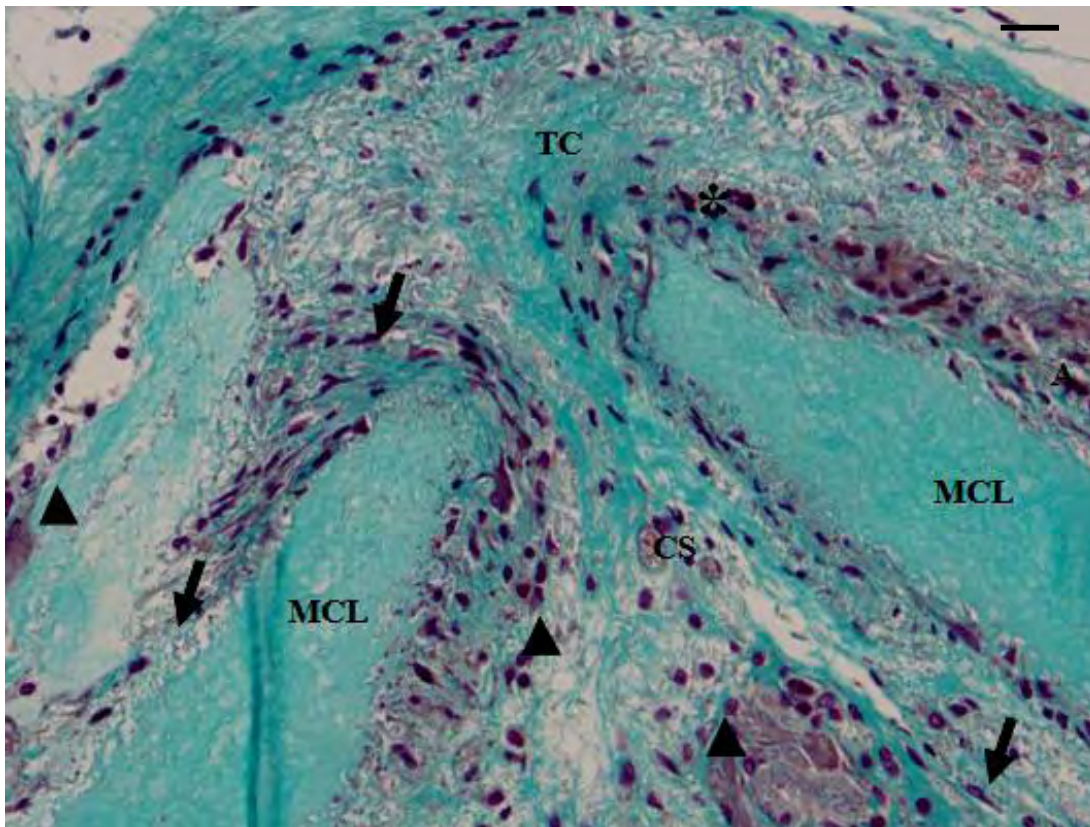


Figura 6: Corte histológico da pele de rato Wistar com implantes de matriz de colágeno liofilizada (MCL), correspondendo ao grupo AV 30 dias: região da derme – Matriz de colágeno liofilizada (MCL), Tecido Conjuntivo (TC), Capilares Sanguíneos (CS), Fibroblastos (Seta Cheia), Macrófago (asterisco). Infiltrado de células mononucleares (Cabeça de Seta), Masson, 40x, — 20 μm .

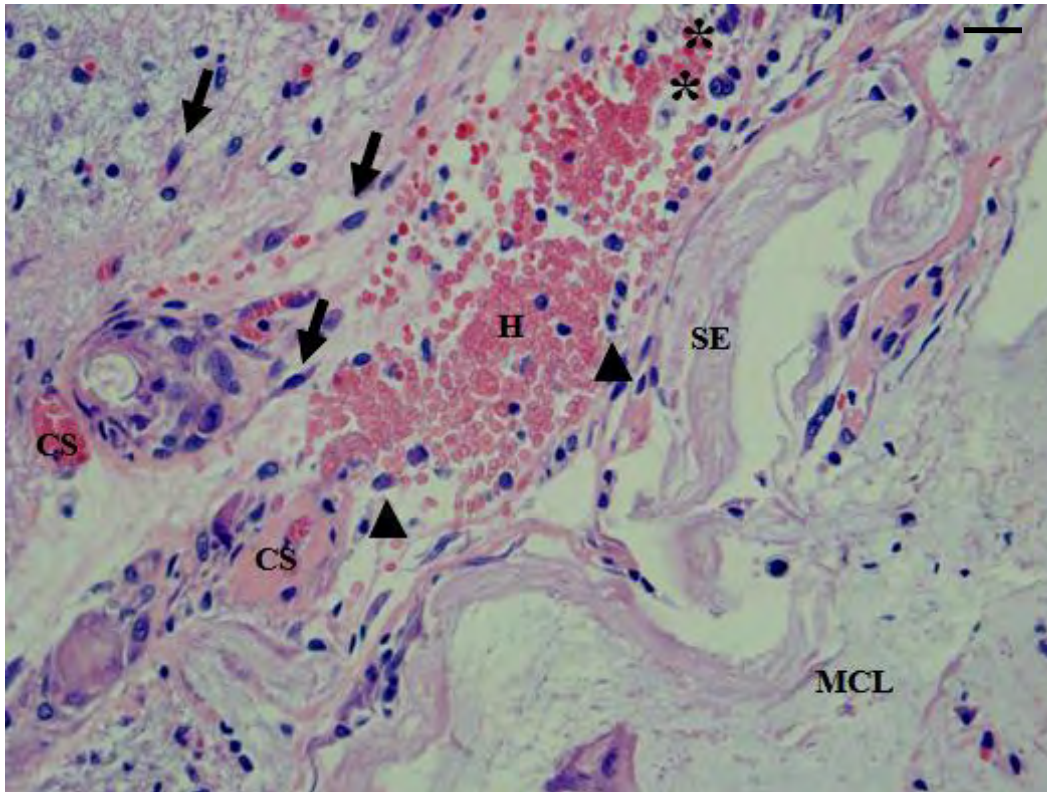


Figura 7: Corte histológico da pele de rato Wistar com implantes de matriz de colágeno liofilizada (MCL), correspondendo ao grupo AV 30 dias: região da derme – Matriz de colágeno liofilizada (MCL), Secreção Eosinofílica (SE), Capilares Sanguíneos (CS), Fibroblastos (seta cheia), Infiltrado de células mononucleares (cabeça de seta), Hemácias (H), Macrófagos (asterisco) H.E., 40x, — 20µm.

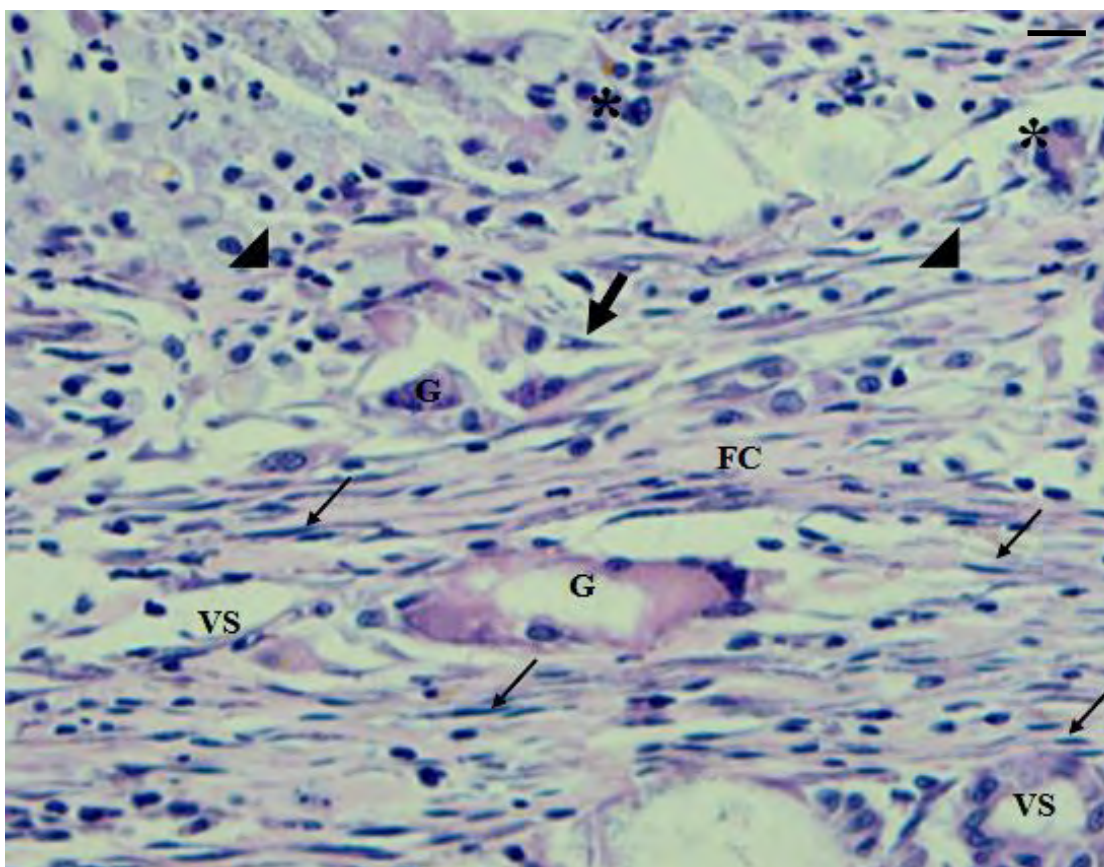


Figura 8: Corte histológico da pele de rato Wistar com implantes de matriz de colágeno liofilizada (MCL), correspondendo ao grupo AV 45 dias: região da derme – Fibras Colágenas (FC) Fibroblastos (seta cheia), Fibrócitos (seta fina), Macrófagos (asterisco), Células Mononucleares Linfocitárias (cabeça de seta), Células Gigantes (G), Vasos Sanguíneos (VS), H.E., 40x, ─── 20µm.

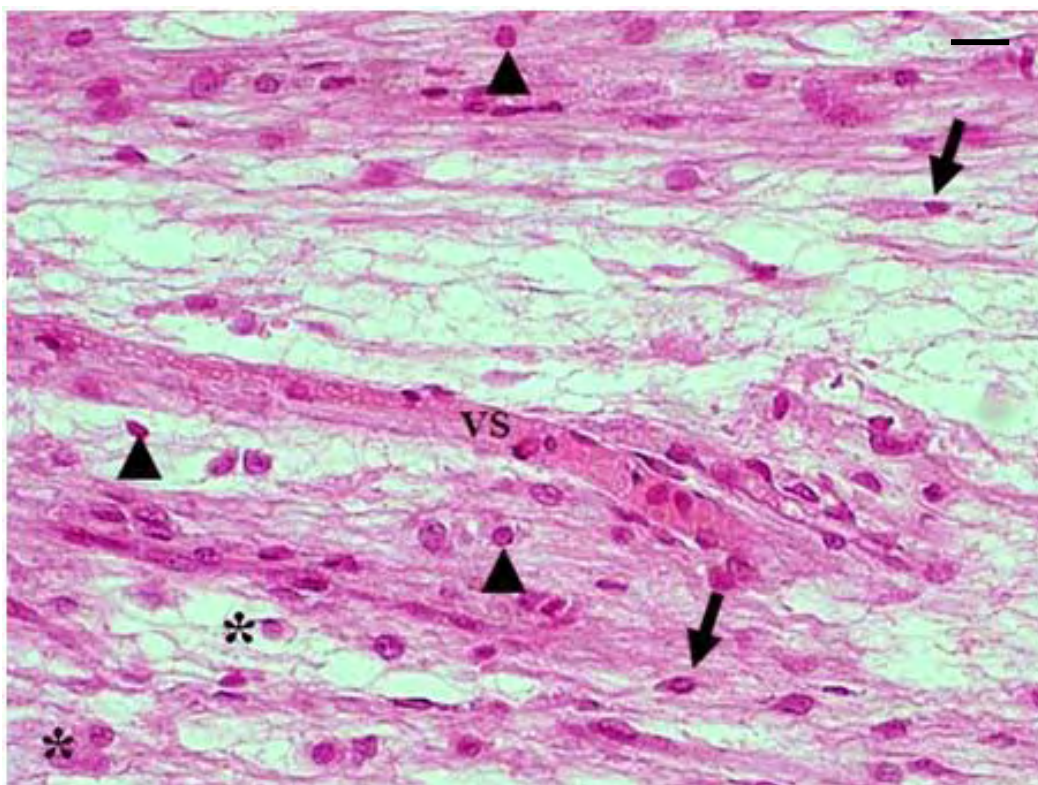


Figura 9. Corte histológico da pele de rato Wistar com implante de matriz de colágeno liofilizada (MCL), correspondendo ao grupo SF 15 dias: região da derme - Vaso Sanguíneo (VS), Fibroblastos (seta cheia), Linfócitos (cabeça de seta), Macrófagos (asterisco), H.E., 40x, — 20 μ m.

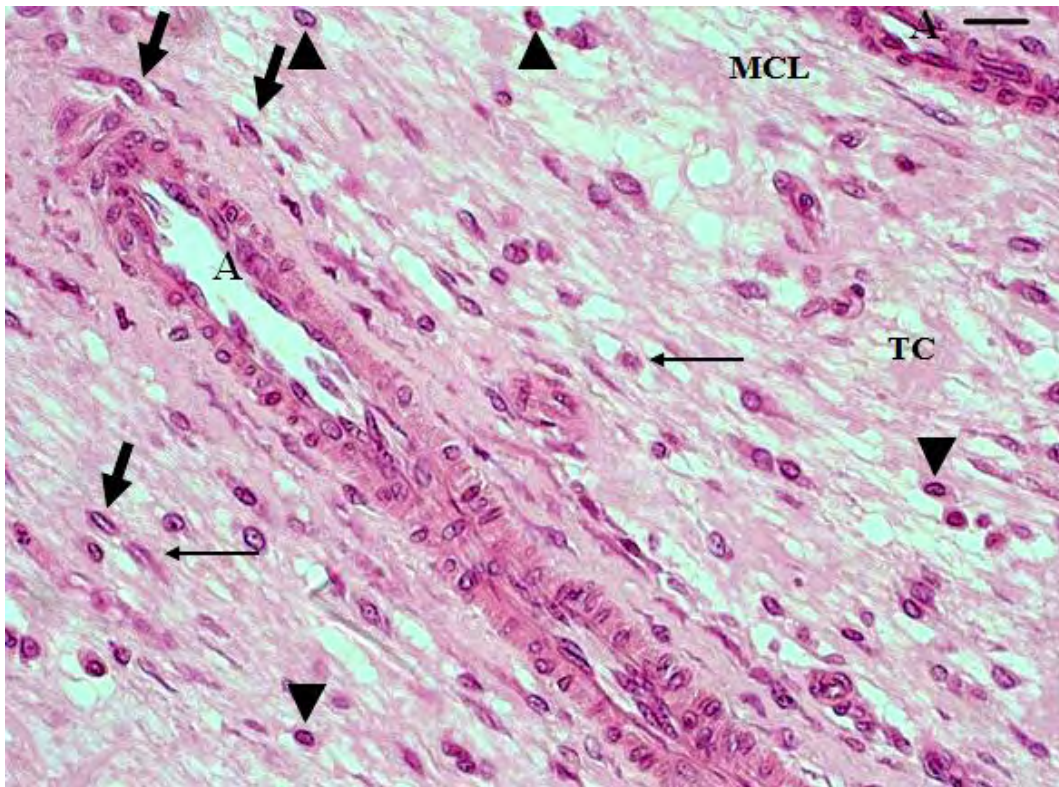


Figura 10. Corte histológico da pele de rato Wistar com implante de matriz de colágeno liofilizada (MCL), correspondendo ao grupo SF 15 dias: região da derme – Tecido conjuntivo (TC), Matriz de colágeno liofilizada (MCL), Arteríolas (A), Fibroblastos (seta cheia), Fibrócitos (seta fina), Linfócitos (cabeça de seta), H.E., 40x, — 20µm.

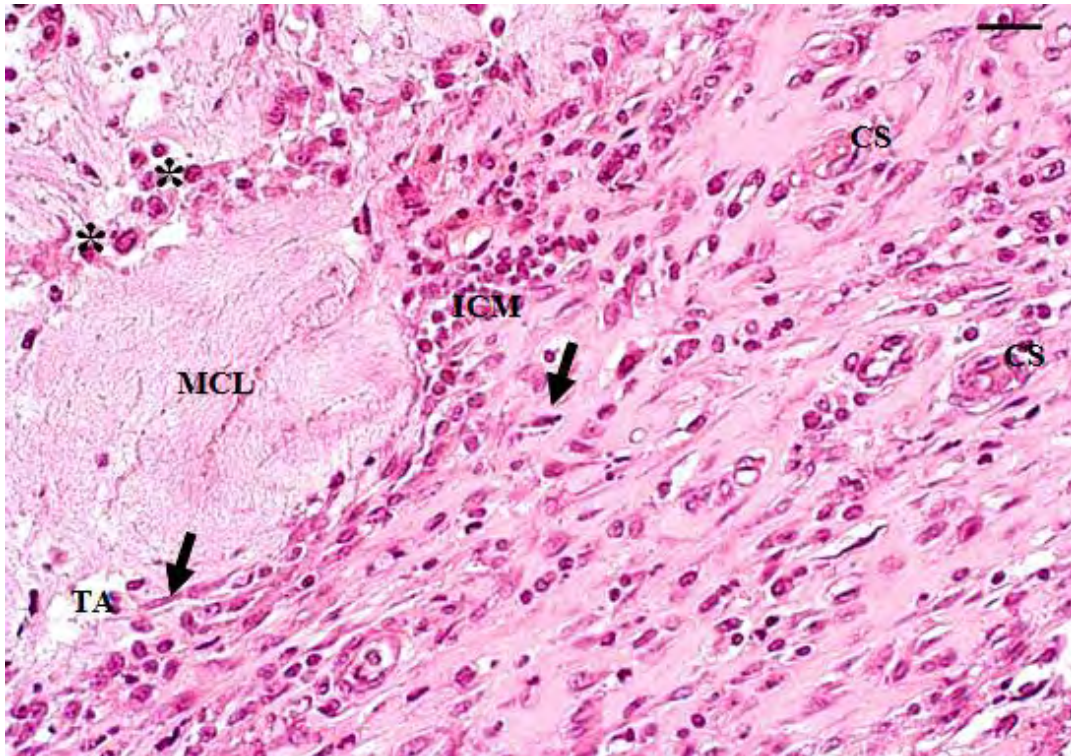


Figura 11. Corte histológico da pele de rato Wistar com implante de matriz de colágeno liofilizada (MCL), correspondendo ao grupo SF 30 dias: região da derme – Matriz de colágeno liofilizada (MCL), Capilares Sanguíneos (CS), Tecido Adiposo (TA), Fibroblastos (Seta Cheia), Macrófagos (asterisco), Infiltrado de células mononucleares (ICM), H.E., 40x, ───20µm.

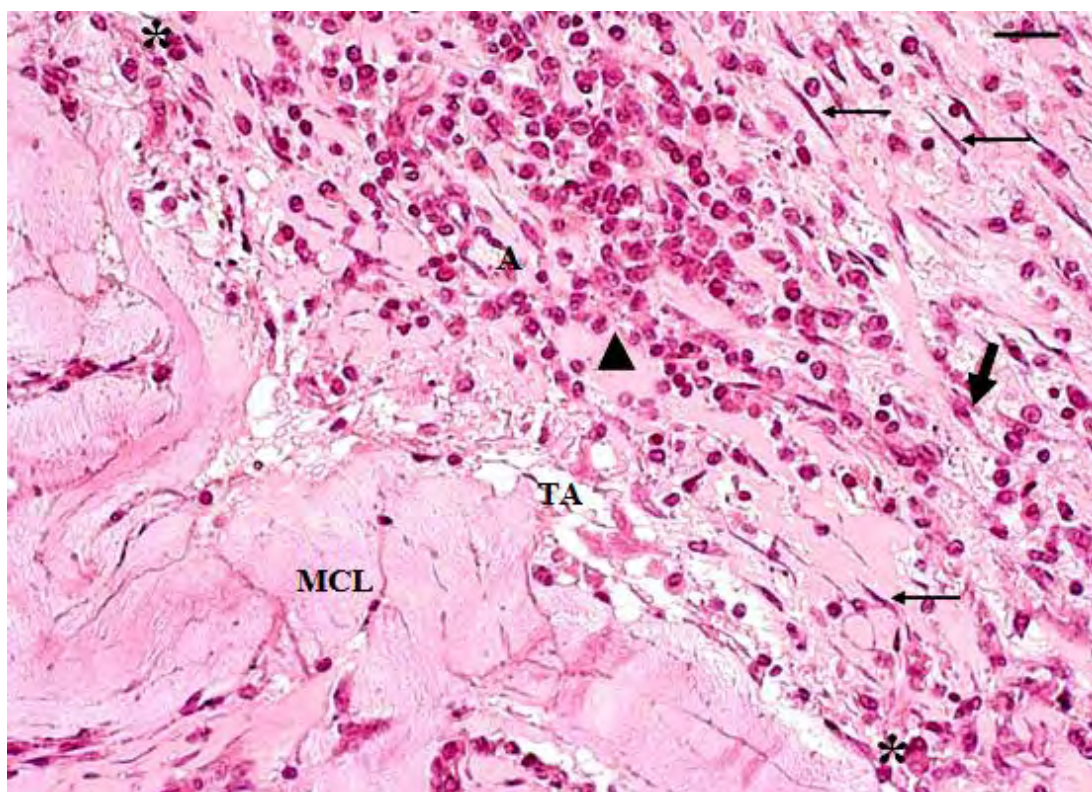


Figura 12: Corte histológico da pele de rato Wistar com implante de matriz de colágeno liofilizada (MCL), correspondendo ao grupo SF 30 dias: região da derme – Matriz de colágeno liofilizada (MCL), Arteríolas (A), Fibroblastos (seta cheia), Fibrócitos (seta fina), Macrófagos (asterisco), Linfócitos (cabeça de seta), H.E., 40x, **—**20 μ m.

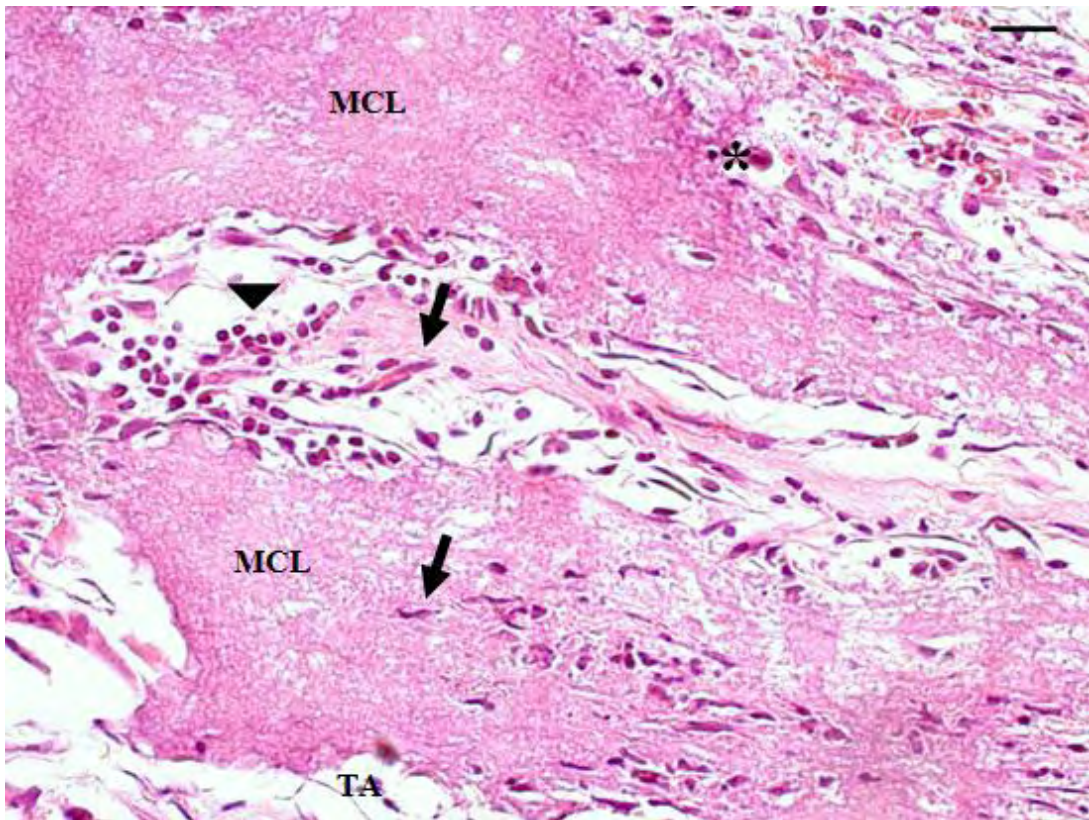


Figura 13. Corte histológico da pele de rato Wistar com implante de matriz de colágeno liofilizada (MCL), correspondendo ao grupo SF 45 dias: região da derme – Matriz de colágeno liofilizada (MCL), Tecido Adiposo (TA) Fibroblastos (seta cheia), Macrófago (asterisco), Infiltrado de células mononucleares (cabeça de seta), H.E., 40x, — 20µm.

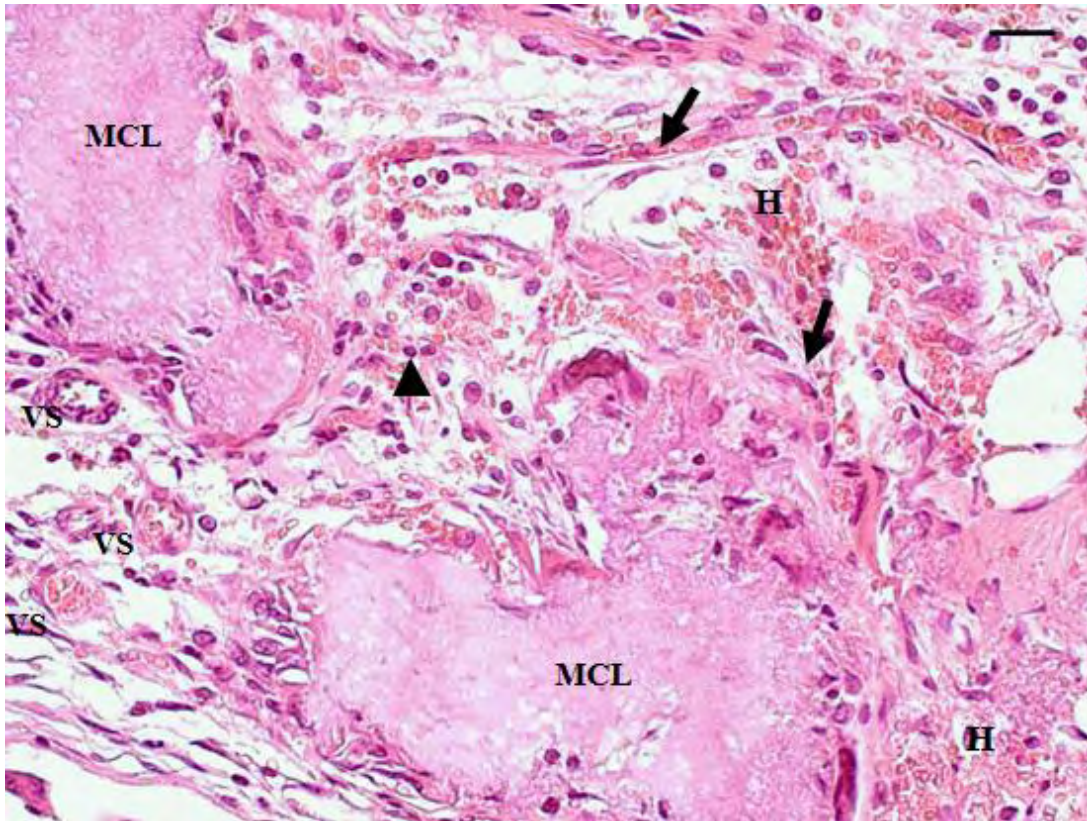


Figura 14. Corte histológico da pele de rato Wistar com implante de matriz de colágeno liofilizada (MCL), correspondendo ao grupo SF 45 dias: região da derme – Matriz de colágeno liofilizada (MCL), Vasos Sanguíneos (VS), Fibroblastos (Seta Cheia), Infiltrado de células mononucleares (cabeça de seta), Hemácias (H), H.E. 40x, — 20µm.

6. CONCLUSÃO

Dentro das condições experimentais observadas neste trabalho, pode-se concluir que:

- 1- A matriz de colágeno liofilizada (MCL) cumpre em termos de biocompatibilidade, o papel de um bom implante biológico, pois não promoveu necrose no tecido hospedeiro ou a formação de abscessos.
- 2- No decorrer do período de observação, até os 45 dias, não se evidenciou sinal de infecção ou reação de corpo estranho significativa das matrizes.
- 3- A matriz de colágeno liofilizada permitiu o crescimento de tecido conjuntivo neoformado e bem vascularizado no interior das matrizes de colágeno.
- 4- O gel de *Aloe vera* acelerou o processo de cicatrização das feridas cirúrgicas e propiciou melhor incorporação das matrizes de colágeno liofilizadas no tecido subcutâneo dos ratos.
- 5- Recomenda-se, portanto, a utilização de matrizes de colágeno liofilizadas associada ao uso concomitante de *Aloe vera* nos procedimentos cirúrgicos de reparação tecidual.

7. REFERÊNCIAS

ABLA, L.EF. & ISHIZUKA, M.M.A. 1995. Fisiologia das feridas. In FERREIRA, L.M. **Manual de cirurgia plástica**. São Paulo: Atheneu. p. 5-11.

ALONSO, T. 1998. **Tratado de Fitomedicina: Bases Clínicas y Farmacológicas**. Buenos Aires: Isis Ediciones. v. 1, p. 327-331.

ALVARENGA, J. 1992. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em glicerina. In: DALECK, C.R. **Tópicos em cirurgias de cães e gatos**. Jaboticabal: FUNEP-UNESP. p. 33-42.

ANDRADE, M.N.B. 1992. Curativos. **Rev. Méd. Minas**. v.2(4), p. 228-236.

ANDREWS, J.M. 1988. Biomateriais em cirurgia plástica. In: MELEGA, J.M., ZANINI A.S. e PSILLACKS, J.M. (eds.). 1988. **Cirurgia plástica reparadora e estética**. 3ed. Rio de Janeiro: MEDSI: Editora Médica Científica. v. 1, p.111-118.

ANTELL, D.E. & SMITH, J.W. 1991. Implantation of materials. In: SMITH J.W., ASTON S. and SMITH G. (ed.). **Plastic surgery**. Boston: Little Brown. v. 1, 4^o ed., p.107-125.

ANTONIO, F.I. 2005. **Aspectos macroscópicos e microscópicos da reparação de feridas cutâneas de camundongos (SWISS-VALÉE) tratadas com creme de *Hyptis suaveolens* e *Croton urucurana baill.*** (Dissertação – Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais. 49p.

ARNOLD JUNIOR., H.L. 1994. A pele: estrutura básica e função. Doenças básica da pele de Andrews: Dermatologia Clínica. p. 1-14.

ATHERTON, P. 1998. Aloe vera: magic or medicine? **Nurs. Stand**. v. 12, p. 49-54.

BANKS, W. J. 1992. **Histologia veterinária aplicada**. 2ª ed. São Paulo: Manole, p. 391-424.

BARBANTI, S.H.; ZAVAGLIA, C.A.C.; DUEK, E.A.R. 2005. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 15, n. 1, p-13-21.

BARTEK, I.T. 1974. Frame mounted tissue heart valves techniques of reconstruction. **Thorax**, v. 29, p. 51-55.

BLANES, L. 2004. Tratamento de feridas. Baptista-Silva J.C.C. ed. **Cirurgia vascular: guia ilustrado**. São Paulo. [citado 2008 Março 08] Disponível em: URL: [http:// www.bapbaptista.com](http://www.bapbaptista.com).

BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS, A.G. 2003. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Manole, 239p.

BENGTSON, A.L. 2006. Implante de proteína morfogenética do osso (RHBMP-2) em arcabouço de osso inorgânico no tecido subcutâneo de rato. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.13, n.2, p. 137-144.

BENSKY D. 1993. Chinese herbal medicine: material medica. **Seattle, Wash.: Eastland Press**. 556p.

BIAGINI, G. 1991. Wound management with n-carboxybutyl chitosan. **Biomaterials**, v.12, n.3, p.281-286.

BORETOS, J. W. e EDEN, M. 1984. Contemporary biomaterials: material and host response: clinical application. In: **New Technology and Legal Aspects**. 1984. Park Ridge, NJ: Noyes Med. Public.

BRENDA, E. 1995. Action of papain, sugar, minoxidil and glucan on excisional wounds of rats. **Curr. Therap. Res.**, v. 56, p. 1285-1297.

BRITO, N.M. et al. 1999. Aspectos microscópicos da cicatrização de feridas cutâneas abertas tratadas com óleo de Copaíba em ratos. **Rev. Paul. Med.**, São Paulo, v. 13, p. 12-17.

BRUN, M.V. et al. 2004. Solução hiper-saturada de sal ou glicerina a 98%, como conservantes de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos Wistar. **Ciên. Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 147-153.

CARDOSO, C.R.B. 2003. **Influência da administração tópica dos ácidos graxos essenciais $\omega 3$ e $\omega 6$ e do não essencial $\omega 9$ na cicatrização de feridas cutâneas induzidas cirurgicamente.** Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. Uberlândia, Minas Gerais.

CHAMBERLAIN, L.J.; YANNAS, I.V.; ARRIZABALAGA, A.; HSU, H.P.; NORREGAARD, T.V.; SPECTOR, M. 1998. Early peripheral nerve healing in collagen and silicone tube implants: Myofibroblasts and the cellular response. **Biomaterials**, v. 19, p. 1393-1403.

CHVAPIL, M. 1980. **Biology of Collagen.** vol.1, Viidik, A.; Vuust, J., Ed. Academic Press, London, p. 313.

COCKBILL, S.M.E. and TURNER, T.D. 1995. Management of veterinary wounds. **Vet. Rec.**, New York, v. 136, p. 362-365.

CUNHA, A.P. 2006. Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes ativos e fitoterapia [citado 2006 Abril 06] Disponível em: http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/aspectos_historicos.pdf

DANHOF, I. 1993. Potential reversal of chronological and photo-aging of the skin by topical application of natural substances. **Phytotherapy Reserch.** v. 7, p. 53-56.

DAVIS, R. H.; KABBANI, J.M.; MARO, N.P. 1986. Wound healing and antinflammatory activity of *Aloe vera*. **Proc. Pensylv. Acad. Sci.**, Philadelphia, v. 60, p. 67-70.

DAVIS, R. H.; LEITNEIR, M. G.; RUSSO, J.M. 1988. *Aloe vera*, a natural approach to treating wounds, edema and pain in diabetes. **J. Amer. Pediatric. Med. Assoc.**, New York, v.70, p.60-68.

DAVIS, R. H. *et al.* 1989. Processed *Aloe vera* administered topically inhibits inflammation. **J. Amer. Pediatric. Med. Assoc.** v.79, p. 397.

DEALEY, C. 1996. **Cuidando de feridas: um guia para enfermeiras.** São Paulo: Atheneu, p.1-21.

DIEGELMANN, R.F. *et al.* 1981. The role of macrophages in wound repair: a review. **Plast. Reconstr. Surg.** v.68, p.107.

DOILLON, C. J. *et al.*1985. Collagen fiber formation in repair tissue. Development of strength and toughness. **Collagen Rel. Res.** v.5, p.481.

DORNELES, D. ; WOUK, A.F.; PONTAROLO, R.; OLIVEIRA, A.B. 2003. Efeito de *Aloe vera* LINNÉ sobre a cicatrização de feridas de pele em coelhos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.4, n.1, p. 39-41.

DOUGHTY, D.B. 1992. Principles of wound healing and wound managemant. Cap. 2. In: Bryant R.A. Acute and chronic wounds: nursing management. St. Louis: Mosby, p.31-68.

EURIDES, D. 1996. Morfologia e Morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas, tratadas com solução de barbatimão (*Stsyphenodendron barbatiman* (Martius)). **Rev. Fac. Zootec. Vet. Agr. Uruguaiana**, v. 2/3, p.37-42.

EURIDES, D. 1998. Morfologia, morfometria e histologia da reparação de feridas cutâneas, tratadas com óleo de Copaíba (*Copaífera langsdorffii*). **Vet. Not.** v.4, p. 77-82.

FAZIO, M.J. 2000. Cicatrização de feridas. In: COLEMAN III *et al.* Cirurgia cosmetic. Princípios e técnicas. 2ed. Rio de Janeiro: Revinter. p. 23-28.

FRANDSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAIL, A. D. 2005. **Anatomia e Fisiologia dos Animais de Fazenda**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 454p.

FRANKE, M. 2003. **Biomateriais**. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina: Apresentação - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Disponível em: <http://www.materiais.ufsc.br/Disciplinas/BIOMAT/BIOMAT_%20gal.pdf>. Acesso em: 15 maio. 2007.

FREDEL, M.C.; BARRA, G. 2004 **Tópicos Especiais: Biomateriais**. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos (ed.).

FUJITA, I.; TERADAIRA, R.; NAGTSU, T. 1996. Bradykininase activity of Aloe sp.extract. **Biochem. Pharmacol.**, v. 25, p-205.

GHAZANFAR, S.A. 1994. **Handbook of Arabian medicinal plants**. Boca Rato: CRC Press, 256p.

GRIMM, M.; EYBL, E.; GRABENWÖGER, M.; SPREITZER, H.; JÄGER, W.; GRIMM, G.; BÖCK, P.; MÜLLER, M.M.; WOLNER, E. 1992. Glutaraldehyde affects biocompatibility of bioprosthetic heart valves. **Surgery**, v.111, p.78.

GRINDLAY, D. & REYNOLDS, T. 1986. The Aloe vera phenomenon: a review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. **J. Ethnopharmacol.** v. 16, p. 117-119.

HADDAD FILHO, D.; MARQUES, A.; KAFEJIAN-HADDAD, A.P.; ZVEIBEL, D.K. 2004. Estudo comparativo das reações teciduais ao implante de pericárdio bovino e a inclusão de “politetrafluoroetileno” expandido em ratos. **Acta Cirúr. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 19, p. 131-135.

HALLER, J. 1990. A drug for all seasons: medical and pharmacological history of aloe. **Bull NY Acad. Sci.** p.66.

HOLMES, R.E. 1990. Alloplastic implants. In: McCarthy, J.C. (ed.). 1990. **Plastic Surgery**. Philadelphia: Saunders. p. 698-731. 4th ed.

JUNQUEIRA & CARNEIRO. 2004. **Histologia Básica**. 10^a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 359-370.

KILIÇ, N. 2007. The effect of *Aloe vera* gel on experimentally induced peritoneal adhesions in rats. **The Revue de Medicine Veterinaire**, v.156, p. 409-413.

LIMA, D. R. 1994. Medicamentos: passado, presente e futuro. In: Lima, D.R. ed. **Manual de Farmacologia Clínica, Terapêutica e Toxicologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 13.

LOPES, H. S.; CAMBERROS, L.O.; OCAMPO, A. 1989. Evaluación de la mezela propoleo zabila com cicatrizantes comerciales. **Vet. México**, v.20, p. 407-414.

MANDELBAUM, S.H. ; SANTIS, E.P.D.; MANDELBAUM, M.H.S. 2003. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **An. bras. Dermatol.** Rio de Janeiro. vol. 78(4), p. 393-410.

MARQUES, A.F. 1984. **Pericárdio bovino na reparação da parede abdominal de cães** (Dissertação – Mestrado). Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.

MASTRANTÔNIO, E.C. 2002. Morfometria e histologia de feridas cutâneas de camundongos tratadas com própolis e calêndula (*Calendula officinalis*). **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.24, p.35-38.

MARQUES, A.F. 1989. Biomateriais usados na substituição de tecidos moles. **Acta Cirúr. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 158-167.

MELLO, J.F. 1980. Plants in traditional medicine in Brasil. **Journal of Natural Products**, v.2, n.1, p. 49-55.

MELLO, J.P.; PERTET, F.; NAHRSTET, A. 1995. Prorobimetidins from *Stsyphnodedron adstringens*. **Phytochemistry**, v.42, p. 857-862.

MODOLIN, M.; BEVILACQUA, R.G. 1985. Cicatrização das feridas. Síntese das aquisições recentes. **Rev. Bras. Clin. Ter.**, v.14, n.6, p. 208-213.

MOORE, K.L. & PERSAUD, T.V.N. 2000. **Embriologia Básica**. 5ª ed., Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.406-409.

MOTYKIE, G. D.; OBENG, M.K.; HEGGERS, J. P. 2004. *Aloe vera* in wound healing. In: Reynolds, T. (ed.). **Aloe: the genus "Aloe"**. London: CRC Press. v. 1, pp. 139-205.

MOURELLE, J.A.F.; RODRÍGUEZ F.M.; GUTIÉRREZ. 1996. Acción analgesica de un extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera L.* em ratones. **Rev. Cubana Plant. Med.**, 1(2), p.15-17.

MUZZARELLI, R.A.A. 1994. Stimulatory effect on bone formation exerted by a modified chitosan. **Biomaterials**, v.15, p.1075-1081.

NIMNI, M.E. 1997. Polypeptide growth factors: targeted delivery systems. **Biomaterials**, v.18. n.18. p. 51-63.

NOORMOHAMED, S.E., KUMAR, V., MIN, D.I. 1994. Evaluation of tradicional African medicine "compound R" for the treatment of thermal burn wounds in fuzzy rats. **Journal of Burn Care & Rehabilitation**, v.15, n.6, p.519-522.

OLIVEIRA, S.T.; LEME, S.C.; PIPI, N.L.; RAISER, A.G.; MAFRON, N.P. 2000. Formulações de Confrei (*Symphytum officinale L.*) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, 7/8, 61-65.

ORSI, A. M. 1993. **Considerações anatômicas e histológicas sobre o sistema tegumentar**. São Paulo: Pró-Reitoria de Pós-graduação e Pesquisa da UNESP. 1993. In: Comunicações: Anais do 3º Simpósio de Pós-graduação e Pesquisa da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Atibaia, SP, v. 1, p. 201.

PAGNANO, L.O. *et al.* , 2008. Morfologia de fibroblastos e fibrócitos, durante o processo cicatricial, na pele de coelhos da raça Nova Zelândia Brancos tratados com calêndula. **Cien. Rural**, v.38, p. 1622-1666.

PRISTA, L.N. 1990. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. 3 ed. Lisboa: Fundação Calouse, v.2, 508p.

RAO, K.P.; JOSEPH, T. 1988. Collagen graft copolymers and their biomedical applications. In: Collagen. vol. III, NIMNI, M. E., Ed., CRC Press. Boca Raton, p.63.

ROIG, J.T. 1988. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas en Cuba. **La Havana: Editorial Científico-Técnica**, p.819-822.

ROSSA, R.; SANTOS, J.F.F.; CARVALHO, J.C.M.; MATTOS, B.S.C.; SABÓIA, A.C.L. *et al.* 2005. Reações teciduais às inclusões subcutâneas do polietileno poroso em ratos. **RPG Rev. Pós Grad.** Vol.12(3), p.323-329.

SAGE, H. 1982. Collagens of basement membranes. **Journal of Investigation Dermatology**, v.79, n.1, p. 515-595

SANHES-NETO, R.; BARONE B.; TEVES, D.C.; SIMÕES, M.J. 1993. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas em ratos com e sem solução de papaína a 2%. **Acta Cirúrg. Bras.**, v.8, p. 18-23.

SANTOS M.F.S.; CZECZKO, N.G.; NASSIF, P. A. N.; RIBAS-FILHO, J.M.; ALENCAR, B.L.F.; MALAFAIA, O.; RIBAS, C. A. P. M.; TRAUTWEIN, V. M.; HENRIQUES, G. S.; MAIA, J.M.A.; BITTENCOURT, R.C.A. 2006. Avaliação do uso do extrato bruto de *Jatropha gossypifolia* L. na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Acta Cirúrg. Bras.** v. 21, Supl.3, p.2-7.

SCALES, J. 1953. Tissue reaction to synthetic materials. **Proc. Royal Soc. Med.**, v. 1: p. 466-647.

SEMENOFF-SEGUNDO, A. 2007. Influência do *Aloe vera* e própolis na contração de feridas em dorso de ratos. **Periodontia.** v. 17, n.1, p. 5-10.

SHENOY, V.; ROSEMBLATT, J. 1995. Diffusion of Macromolecules in Collagen and Hyaluronic Acid, Rigid-Rod-Flexible Polymer, Composite Matrixes. **Macromol.** v. 29, p. 8751- 8758.

SHENTON, R.M., 1991. Its chemical and therapeutic properties. **Int. J. Dermatol.** v.30. p.679-683.

SILVA, M.T. 2004. **Análise da cicatrização após o uso de três diferentes agentes para a limpeza de feridas infectadas. Estudo experimental.** (Dissertação – Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.

SILVER, F.H. & MASS, C.S. 1994. Biology of synthetic facial implant materials. **Facial Plast. Surg. Clin. North Amer.**, New York v. 2, p.241-253.

SOARES, R.O.A; FERNANDEZ-FERREIRA E.; GIBALDI, D; STUTZ, C.M., SANTOS, R.R.; BARBI, N.S., XAVIER, C.D., TORMASSINI, T.C.B. Avaliação da capacidade antineoplásica de extratos de erva-de-passarinho *Struthantus sp.* **XV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Àguas de Lindóia, Brasil, 1998.

STEGMAN, S.J. *et al.* 1982. **Cosmetic Dermatologic Surgery** In: **Basies of dermatological surgery**. St. Louis: Mosby.

SURJUSHE A.; VASANI, R.; SAPLE, D.G. 2008. Aloe vera: A short review. **Indian J. Dermatol.** v. 56, 163-167.

TERKELTAUB, R.A; GINSBERG, M.H. 1998. Platelets and response to injury. In: CLARK, R.A.F. *et al.* editors: **The molecular and cellular biology of wound repair**. New York: Plenum Press.

TEVES, D.C.; SIMÕES, J.M.; MARTINS, D.M.F.S., MARCHINI, F.B. 2001. Aspectos morfológicos dos processos de cicatrização em ratos sob ação das colagenases. **Folha Médica**, v.98, n.1, p.191-194.

TONHI, E.; PLEPIS, A.M.G. Obtenção e caracterização de blendas colágeno-quitosana. **Química Nova**, v. 25, n.6, p.943-948.

55

VERT, M.; LI, S.M.; SPENLEHAUER, G.; GUERIN, P. 1992. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters **J. Mater. Sci.**, v.3, p. 432-446.

VULCANI, V.A.S.; MACORIS, D.G.; PLEPIS, A.M.G; MARTINS, V.C.A.; LAPENA, M.H. 2008a. Obtenção, caracterização e aplicação cirúrgica de matrizes de colágeno na parede abdominal de eqüinos. **Ciênc. Anim. Bras.**, v. 9, p. 778-785.

VULCANI, V.A.S.; MACORIS, D.G.; PLEPIS, A.M.G. 2008b. Membranas biológicas homólogas preservadas em solução alcalina seguida de liofilização, glicerina a 98% e por liofilização para implantação em eqüinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n.5, p.1329-1334.

WILLIAMS. 1987. apud in: SILVER, F.H. e MASS, C.S. 1994. Biology of synthetic facial implant materials. **Facial Plast. Surg. Clin. North Amer.**, New York v. 2, p.241-253.

YAMATOJI, R.S. RAHAL, S. C.; GRANJEIRO, J.M.; TAGA, LIMA, R. T. M. C.. A. F.M. 2005. Histologia da associação de membranas biológicas de origem bovina, implantadas no tecido subcutâneo de ratos. **Ciênc. Rural**, Santa Maria, v. 35, p.837-842.

YAMADA, B.F.A. 1999. Terapia tópica de feridas: limpeza e desbridamento. **Rev. Esc. Enf. USP**, vol. 33, p.133-140.

YANNAS, I.V. 1980. Design of an artificial skin. I. Basic design principles. **Collagen**. v. III, NIMMI, M.E. Ed., Boca Raton: CRC Press. p. 87.

YOUNG, B.; HEATH, J.W. 2001. Sistema imune. In: YOUNG, B. e HEATH, J.W. (eds.) 2001. **Wheater: Histologia Funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p.193-222. 3ª ed.