



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DOUTORADO EM CIRURGIA

FERNANDA MOSSUMEZ FERNANDES TEIXEIRA

**FILME ESPONJOSO DE POLISSACARIDEO DE MELAÇO DE
CANA DE AÇÚCAR COMO AUXILIAR NA CICATRIZAÇÃO
EM UM MODELO DE ÚLCERA AFTOSA EM COELHOS**

RECIFE

2012

FERNANDA MOSSUMEZ FERNANDES TEIXEIRA

**FILME ESPONJOSO DE POLISSACARIDEO DE MELAÇO DE
CANA DE AÇÚCAR COMO AUXILIAR NA CICATRIZAÇÃO
EM UM MODELO DE ÚLCERA AFTOSA EM COELHOS**

Tese apresentada ao Colegiado do Curso de Doutorado em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em cirurgia.

Linha de pesquisa: Biomateriais

Orientador: **Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar**

RECIFE

2012

Catálogo na fonte

T266f Teixeira, Fernanda Mossumez Fernandes.

Filme esponjoso de exopolissacarídeo de melaço de cana de açúcar como auxiliar na cicatrização em um modelo de úlcera aftosa em coelhos / Fernanda Mossumez Fernandes Teixeira. – Recife: O Autor, 2012.

73 f.: il., fig., tab.

Tese (Doutorado em Cirurgia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

Orientador: Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar.

1. Filme esponjoso de cana de açúcar. 2. Cicatrização. 3. Úlcera aftosa. I. Aguiar, José Lamartine de Andrade. II. Título.

CDU 616.31-002



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. José Thadeu Pinheiro

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DIRETOR SUPERINTENDENTE**

Prof. George da Silva Telles

**DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
CHEFE**

Prof. Salvador Vilar Correia Lima

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA
NÍVEL MESTRADO E DOUTORADO**

COORDENADOR

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

VICE-COORDENADOR

Prof. Jose Lamartine de Andrade Aguiar

CORPO DOCENTE

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

Prof. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Claudio Moura Lacerda de Melo

Prof. Edmundo Machado Ferraz

Prof. Fabio de Oliveira Vilar

Prof. Fernando Ribeiro de Moraes Neto

Prof. Jose Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Josemberg Marins Campos

Profa. Magdala de Araújo Novaes

Prof. Salvador Vilar Correia Lima

Prof. Silvio Caldas Neto

“FILME ESPONJOSO DE EXOPOLOSSACARÍDEO DE MELAÇO DE CANA DE AÇÚCAR COMO AUXILIAR NA CICATRIZAÇÃO DA ESTOMATITE AFTOSA EM COELHOS”

FERNANDA MOSSUMÉZ FERNANDES TEIXEIRA

APROVADA EM: 29/03/2012

ORIENTADOR INTERNO: JOSÉ LAMARTINE DE ANDRADE AGUIAR

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. SALVADOR VILAR CORREIA LIMA – CCS/UFPE

Prof. Dr. SILVIO DA SILVA CALDAS NETO – CCS/UFPE

Prof. Dr. FERNANDO RIBEIRO DE MORAES NETO – CCS/UFPE

Prof. Dr. EUCLIDES DIAS MARTINS FILHO – CCS/UFPE

Prof. Dr. CLAUDIO HELIOMAR VICENTE DA SILVA – CCS/UFPE

Aos meus pais, Telma e Cláudio, que me apoiaram e estiveram ao meu lado em todas as fases de meu processo de educação acadêmica e de vida, com quem tenho o privilégio de estarem comigo hoje presentes;

À minha irmã Daniela, que me ajudou muito sem saber, com sua sabedoria sobre a realidade da vida;

E a todos que me acompanharam e ajudaram de forma sincera no meu crescimento pessoal e superação envolvida neste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar, pela sua ajuda inestimável para a elaboração deste trabalho; de quem com certeza lembrarei sempre quando estiver seguindo minha carreira acadêmica;

Ao Professor Nélon Caldas, que me recebeu de braços abertos nesta instituição a fim de me auxiliar no meu aperfeiçoamento acadêmico;

A Dra. Adriana Ferreira Cruz, médica veterinária responsável pelo biotério de pequenos animais do Núcleo de Cirurgia Experimental, por ter se mostrado disposta desde o início a me ajudar, mesmo sem me conhecer e ter abraçado o projeto para que sua execução fosse realizada de maneira impecável.

Ao Professor Dr. Renato Dornelas Câmara, vice-coordenador do Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco, pela ajuda e incentivo a manter-me firme no meu ideal;

À Professora Márcia Figueiredo, do Departamento de Patologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela ajuda espontânea numa fase essencial do trabalho;

Ao Professor Rinaldo Mota, do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco que prontamente se disponibilizou em ajudar, colocando o laboratório de microbiologia à disposição para o projeto.

À técnica de histologia Sylvania, que se mostrou parceira, amiga e disponível, conseguindo através de sua experiência viabilizar o projeto de forma exemplar.

Aos estudantes Nara e Guilherme, que compareceram sempre em todas as etapas com disposição sincera em ajudar.

Aos funcionários do Núcleo de Cirurgia Experimental, Maria Auxiliadora, Maria de Lourdes, Paulo Silva e Antônio, por terem estado sempre solícitos durante a execução deste projeto.

RESUMO

A estomatite aftóide recorrente (EAR) é uma afecção crônica, a qual se caracteriza por episódios recorrentes de lesões ulcerativas em qualquer região da mucosa oral não queratinizada, como língua, assoalho de boca, mucosa labial, jugal, palato mole e orofaringe. As úlceras podem variar em número, dimensão e localização. O tratamento é controverso, devido à incerteza da etiopatogenia da doença. Com o objetivo de analisar a resposta cicatricial de úlceras jugais à barreira mecânica com um curativo de filme esponjoso de exopolissacarídeo de melado de cana de açúcar (FEEMCA) foi elaborado um estudo experimental, analítico, comparativo e prospectivo, induzindo-se úlceras na mucosa jugal de 20 coelhos adultos, sadios, entre 2,5kg e 3,9kg, divididos em grupo experimental, coelhos que receberam tratamento com o FEEMCA e grupo controle, coelhos que não receberam tratamento. As úlceras foram induzidas por excisão cirúrgica e avaliadas no 3º, 7º e 11º dias após o tratamento, D3, D7 e D11. A avaliação foi feita por meio da curva ponderal, evolução temporal da área de cicatrização, estudo histológico e análise bacteriológica das úlceras. A curva ponderal e o tempo de cicatrização das úlceras não apresentaram diferença estatística significativa entre os dois grupos. No estudo bacteriológico do leito das úlceras, como na cicatrização das úlceras, não houve diferença estatística significativa entre as médias dos grupos. No estudo histopatológico do grupo experimental, observou-se hiperplasia epitelial desde o D3 do tratamento, por outro lado, no grupo controle, houve uma maior desorganização celular desde o D3 até o último dia do acompanhamento do tratamento (D11). Observou-se assim que o filme esponjoso de exopolissacarídeo de melado de cana de açúcar permanece no leito da úlcera funcionando como uma barreira mecânica e pode ser utilizado como auxiliar na cicatrização no tratamento sintomático das lesões ulceradas de mucosa oral, associando-se sua biocompatibilidade ao baixo custo e simplicidade de aplicação.

Palavras-chave: Filme esponjoso de cana de açúcar. Cicatrização. Úlcera aftosa.

ABSTRACT

The recurrent aphthous stomatitis (RAS) is a chronic disease, which is characterized by recurrent episodes of ulcerative lesions in any region of non-keratinized oral mucosa, like tongue, floor of mouth, labial mucosa, buccal, soft palate and oropharynx. The ulcers vary in number, size and location. The treatment is controversial because of the uncertainty of the pathogenesis of the disease. In order to examine the wound healing of ulcers using a mechanical barrier with a dressing film of exopolysaccharide spongy molasses from sugar cane (FEEMCA) was developed an experimental, analytical, comparative, prospective study, leading to ulcers in the buccal mucosa of 20 healthy adult rabbits, between 2.5 kg and 3.9 kg, were divided into experimental group, rabbits that were treated with FEEMCA and control group, rabbits that received no treatment. Ulcers were induced by surgical excision and were evaluated at 3, 7 and 11 days after treatment, D3, D7 and D11. The evaluation was made through the weight curve, the temporal evolution of the healing area, histological and bacteriological examination of the ulcers. The weight curve and the healing time of ulcers showed no statistically significant difference between the two groups. In the bacteriological study of the bed of the ulcers as ulcer healing, no significant difference between group means. In the histopathology in the experimental group was observed from the epithelial hyperplasia D3 treatment, on the other hand, in the control group there was a greater clutter cell from D3 to the last day of follow-up treatment (D11). It was observed that the film thus spongy exopolysaccharide of sugar cane molasses remains in the ulcer layer operating as a mechanical barrier and can be used as an aid in healing at the symptomatic treatment of ulcerative lesions of the oral mucosa, associated to its biocompatibility low cost and simplicity of application.

Key words: Film spongy sugar cane. Healing. Aphthous ulcer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Apresentação do filme esponjoso de exopolissacarídeo de melaço de cana de açúcar em embalagem original.	36
Figura 2	Localização e excisão da mucosa jugal para indução da úlcera.	38
Figura 3	Fase final da excisão para indução da úlcera.	39
Figura 4	Fixação do FEEMCA em mucosa jugal coelho.	40
Figura 5	Gráfico do peso dos coelhos grupo experimental e grupo controle segundo o tempo de análise.	46
Figura 6	Gráfico de comparação de médias da área (cm ²) no grupo experimental e grupo controle segundo o tempo de análise.	48
Figura 7	Aspecto macroscópico da ulceração no grupo experimental no D3 do tratamento.	50
Figura 8	Aspecto macroscópico da ulceração no grupo experimental no D7 do tratamento	51
Figura 9	Aspecto macroscópico da ulceração no grupo experimental no D11 do tratamento	51
Figura 10	Aspecto macroscópico da ulceração no grupo controle no D3 do tratamento	52
Figura 11	Aspecto macroscópico da ulceração no grupo controle no D7 do tratamento	53
Figura 11	Aspecto macroscópico da ulceração no grupo controle no D11 do tratamento	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Análise quantitativa dos parâmetros inflamatórios.	42
Tabela 2	Escore do processo inflamatório.	42
Tabela 3	Médias do peso (em gramas) dos coelhos submetidos ao tratamento de ferimento na mucosa segundo o grupo de pesquisa e o tempo de tratamento.	44
Tabela 4	Distribuição de frequência dos coelhos avaliados segundo a faixa de peso, fase de análise e grupo de tratamento.	44
Tabela 5	Análise descritiva da área da lesão (em cm ²) na mucosa dos coelhos grupo experimental segundo a época da realização da medição.	46
Tabela 6	Análise descritiva da área da lesão (em cm ²) na mucosa dos coelhos grupo controle segundo a época da realização da medição.	46
Tabela 7	Médias da área (em cm ²) do ferimento na mucosa dos coelhos segundo o grupo de análise e o tempo (em dias) de tratamento.	47
Tabela 8	Distribuição do grau de cicatrização do ferimento da mucosa nos coelhos segundo o tempo e o grupo de tratamento.	48
Tabela 9	Distribuição de frequência dos coelhos segundo a intensidade dos parâmetros inflamatórios, época de estudo e grupo de tratamento.	49
Tabela 10	Média dos escores dos parâmetros inflamatórios avaliados segundo a fase de estudo e o grupo de tratamento.	49
Tabela 11	Distribuição dos microorganismos presentes na mucosa oral no grupo experimental de acordo com o dia de tratamento.	55
Tabela 12	Distribuição dos microorganismos presentes na mucosa oral no grupo controle de acordo com o dia de tratamento.	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos específicos	18
3 LITERATURA	19
3.1 Mucosa oral	19
3.2 Cicatrização	20
3.3 Estomatite aftosa recorrente	23
3.3.1 Etiologia	23
3.3.2 Fatores predisponentes	24
3.3.2.1 <i>Genética</i>	24
3.3.2.2 <i>Trauma</i>	24
3.3.2.3 <i>Tabaco</i>	24
3.3.2.4 <i>Drogas</i>	25
3.3.2.5 <i>Deficiência hematinica</i>	25
3.3.2.6 <i>Enteropatia sensível ao glúten / doença celíaca, doença inflamatória intestinal</i>	25
3.3.2.7 <i>Estresse</i>	25
3.3.2.8 <i>Bactérias/ vírus</i>	26
3.3.2.9 <i>Papel do fator de necrose tumoral alfa na EAR</i>	26
3.3.2.10 <i>Imunoglobulinas na EAR</i>	27
3.3.3 Classificação clínica	27
3.3.4 Diagnóstico	28
3.3.5 Quadro clínico	28
3.3.6 Achados histopatológicos	29

3.3.8 Tratamento	29
3.4 Biopolímero de cana de açúcar	31
4 MÉTODO	34
4.1 População de estudo	34
4.2 Tipo de estudo	34
4.3 Desenho do estudo	34
4.4 Variáveis	35
4.5 Procedimentos	35
4.5.1 Filme esponjoso de Exopolissacarídeo de melaço: produto empregado no estudo	35
4.5.2 Procedimento anestésico	36
4.5.3 Procedimento cirúrgico	37
4.5.3.1 <i>Realização da indução da úlcera em mucosa jugal (Padronização do local da indução da úlcera)</i>	37
4.5.3.2 <i>D0 tratamento</i>	39
4.5.3.3 <i>D3 tratamento</i>	40
4.5.3.4 <i>D7 tratamento</i>	40
4.5.3.5 <i>D11 tratamento</i>	41
4.5.4 Preparo do material para histologia	41
4.6 Estudo histológico	41
4.7 Caracterização e descrição da amostra	43
4.8 Aspectos éticos.	43
5 RESULTADOS	45
5.1 Curva ponderal dos coelhos	45
5.2 Evolução temporal da área de cicatrização das úlceras em mucosa jugal	46
5.3 Histologia: parâmetros quantitativos de cicatrização	48
5.4 Histologia: parâmetros qualitativos de cicatrização	50

5.4.1 Macroscopia	54
5.4.2 Microscopia	54
	54
5.5 Estudo bacteriológico das úlceras	
6 DISCUSSÃO	56
7 CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS	67
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética do Centro de Ciências biológicas da UFPE	73

1. INTRODUÇÃO

Ulcerações bucais são lesões de fácil diagnóstico e podem representar manifestações de doenças locais ou sistêmicas de etiologias infecciosas, imunológicas, neoplásicas, traumáticas ou como resultados de distúrbios genéticos ou metabólicos. A história do paciente facilmente determinará a clínica das lesões, se são agudas ou crônicas, únicas ou múltiplas, primárias ou recorrentes.^{1,2}

Na estomatite aftóide recorrente (EAR), as lesões ulcerativas estão em qualquer localização da mucosa oral não queratinizada, como língua, assoalho de boca, mucosa labial, jugal, palato mole e orofaringe, de forma crônica e caráter recorrente, sendo bastante frequente no dia-a-dia do otorrinolaringologista e de outros profissionais que se dedicam ao estudo da cavidade oral.^{3,4,5}

Embora seu curso clínico seja benigno, causa dor e desconforto, dificuldades mastigatórias e alterações ganglionares, com comprometimento da qualidade de vida. Como reaparecem em diversos episódios ao longo da vida, além de debilitantes, constantemente tornam-se motivo de ansiedade para os pacientes.^{6,7,8}

Sua incidência varia de acordo com as características sociais e populacionais, em média acomete 20% da população em geral. A primeira manifestação clínica pode ocorrer nos primeiros meses de vida, com mais frequência nos indivíduos entre dez e vinte anos de idade e em crianças são bastante comuns na faixa etária de 1 a 3 anos de idade, prevalecendo o sexo feminino numa proporção de 2:1 em relação ao sexo masculino. O tipo clínico mais frequente é a EAR minor, sendo os indivíduos de cor branca e não fumantes mais propensos a manifestar a doença. Vários são os fatores associados a sua etiopatogenia, entretanto pouco é claramente conhecido.^{4,5,7}

A EAR tem sido descrita em três diferentes variantes clínicas, conforme classificado por Stanley em 1972: *Afta de Mikulicz e Kümmel ou úlcera aftosa minor*, *Periadenite mucosa necrótica recorrente, doença de Sutton ou úlcera aftosa major e afta herpetiforme ou úlcera aftosa herpetiforme*. Em todas, há exposição do tecido

conjuntivo, que é rico em vasos e nervos, o que provoca dor. Além disso, o quadro pode ser agravado por infecções causadas por microrganismos da flora local.^{8,9,10}

O tratamento da EAR é um capítulo ainda controverso na literatura médica. Diversos medicamentos e substâncias já foram utilizados, porém nenhum apresentou real eficácia devido à incerteza quanto ao mecanismo etiológico exato da doença. O sucesso é alcançado quando se consegue uma boa acurácia diagnóstica, identificação e controle dos fatores contribuintes.^{3,7}

Desta forma, não existe tratamento que seja eficaz para todos os portadores de aftas. O tratamento sintomático tem como vantagem reduzir o tempo do ciclo de evolução da úlcera e aumentar o intervalo de aparecimento entre uma lesão e outra, prevenir o paciente de infecções bacterianas ou micóticas e também proporcionar um alívio momentâneo da dor, sendo útil principalmente antes das refeições para diminuir a sensação dolorosa, auxiliando em uma nutrição adequada.^{5,9}

Dentre o tratamento de feridas, o açúcar tem sido usado no desde a antiguidade. Seu efeito é atribuído aos efeitos bactericida ou bacteriostático, à oferta de nutrientes às células lesadas, à diminuição do edema local, pela estimulação dos macrófagos e à formação rápida do tecido de granulação. Este achado segundo Bergman et al., em 1983, deve-se ao baixo pH e a hipertonicidade provocada no meio, que inibe o crescimento bacteriano. A cicatrização também é acelerada nas fases iniciais do processo, com menor índice de contaminação bacteriana e a formação do tecido de granulação precoce. Com base nesse princípio, Coelho et al. 2002 publicou sua experiência no tratamento tópico de feridas cutâneas de animais domésticos com membranas *in natura* do exopolissacarídeo de melaço de cana de açúcar. De acordo com os resultados alcançados neste trabalho com o uso das membranas *in natura*, o grupo de pesquisa Biopolímero de Cana de Açúcar e posteriormente a POLISA, empresa incubada pela UFRPE, passaram a investigar novas vias de produção e aplicação do exopolissacarídeo, obtendo diferentes produtos entre os quais um filme esponjoso que apresenta alta adesividade a superfícies cruentas, como as abrasões.

Os produtos do exopolissacarídeo de melaço vêm sendo aplicados experimentalmente em diferentes ensaios e modelos com resultados satisfatórios como,

por exemplo, tela reparadora da parede abdominal, enxertos em artérias e veias e substituto da fáscia do músculo temporal nas miringoplastias em chinchilas.^{11,12} Os resultados obtidos estão relacionados com a sua composição química constituída exclusivamente de açúcares e ácido glicurônico e por ser um produto puro, atóxico e biocompatível.^{13,14}

Devido à elevada distribuição e frequência aliada à diminuição da qualidade de vida gerada pela EAR, foi realizado este ensaio com o objetivo de avaliar os resultados da utilização de um filme esponjoso de polissacarídeo de melaço da cana de açúcar (FEPMCA) como auxiliar no processo cicatrização pelo efeito de condução celular promovendo redução no tempo de cicatrização e do alívio da dor pelo isolamento dos terminais nervosos expostos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Induzir ulceração de mucosa jugal em um modelo experimental em coelhos e analisar a resposta cicatricial do tratamento da mesma com o uso do FEPMCA.

2.2. OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

2.2.1. Analisar a curva ponderal do grupo de coelhos com ulcerações em mucosa jugal sem tratamento e do grupo de coelhos com ulcerações em mucosa jugal tratadas com o FEPMCA.

2.2.2. Analisar a evolução temporal e intensidade da área de cicatrização do grupo de coelhos com ulcerações em mucosa jugal sem tratamento e do grupo de coelhos com ulcerações em mucosa jugal tratadas com o FEPMCA.

2.2.3. Analisar os parâmetros histológicos quantitativos e qualitativos da cicatrização do grupo de coelhos com ulcerações em mucosa jugal sem tratamento e do grupo de coelhos com ulcerações em mucosa jugal tratadas com o FEPMCA.

2.2.4 Analisar o comportamento bacteriológico das úlceras através cultivo, isolamento e identificação bacteriana do grupo de coelhos com ulcerações em mucosa jugal sem tratamento e do grupo de coelhos com ulcerações em mucosa jugal tratadas com o FEEMCA.

3. LITERATURA

3.1. MUCOSA ORAL

Membranas mucosas são estruturas que forram superfícies úmidas das cavidades do corpo, sendo constituídas pela associação de epitélio mais tecido conjuntivo. De acordo com a região considerada, apresenta características estruturais diferentes, pois se adapta frente às agressões funcionais e sofre modificações reversíveis em resposta a função e ao uso.¹⁵

A estrutura tecidual que reveste a boca vive constantemente úmida devido à presença de saliva e desempenha diversas funções, tais como: proteção (pois evita a penetração de qualquer agente externo que possa comprometer a sua saúde), sensibilidade, secreção e regulação térmica.^{1,2}

O epitélio da mucosa oral divide-se em três tipos teciduais: mastigatório, especializado e de revestimento. Este último recobre o assoalho da boca, as bochechas, os lábios e o palato mole; sendo maleável e não queratinizado, com tecido epitelial espesso, papilas conjuntivas rasas e escassas e lamina própria bem fina de tecido conjuntivo frouxo com fibras colágenas, além de grande predomínio de fibras elásticas, as quais unem a mucosa aos planos profundos (músculo bucinador), promovendo maior elasticidade durante o seu funcionamento. Acredita-se que esta elasticidade impeça o excessivo plegueamento da mucosa, a qual poderia ficar sujeita à lesão durante a mastigação caso tais dobras ficassem presas entre os dentes. Na submucosa estão presentes cordões de tecido conjuntivo denso, tecido adiposo e glândulas mistas. É uma região ricamente vascularizada e innervada.^{2,15}

A mucosa oral sofre renovação contínua a fim de manter sua integridade funcional, pois está exposta a forças mecânicas intensas durante a mastigação. Sua taxa de renovação é de 5 a 7 dias, duas vezes mais rápida que a pele.¹⁵

Há um grupo de células que não sofre queratinização, chamadas de células claras ou não queratinócitos. São elas: melanócitos (melanossomas), células de Merckel (receptores mecânicos) e células de Langherans (componente periférico do sistema imunológico). Estas, macrófagos intra-epiteliais, são uma exceção à maior

parte dos componentes imunológicos do organismo que não interagem com o tecido epitelial de forma direta.^{9,15}

Ainda em relação ao sistema imunológico, o mediador humoral mais importante para a proteção das mucosas na cavidade oral é a IgA secretória por apresentar maior resistência à degradação proteolítica que as outras imunoglobulinas e localizar-se especialmente nos tratos digestórios e respiratório, que estão em íntimo contato com o meio ambiente. Tal fato impede a absorção de uma vasta quantidade de antígenos e previne uma sobrecarga do sistema imunológico.¹⁶

3.2. CICATRIZAÇÃO

A regeneração é um processo complexo, porém essencial. Envolve ações integradas das células, matriz e mensageiros químicos e visa restaurar a integridade do tecido o mais rápido possível. É um mecanismo homeostático o qual restaura o equilíbrio fisiológico e pode ser iniciada como resultado da perda de comunicação entre células adjacentes, entre células e seu suporte ou por morte celular. Pode ser descrita em termos de multiplicação e diferenciação celular, onde ocorre uma série de eventos complexos, envolvendo a migração das células originárias do tecido vascular e conjuntivo para o local da lesão. Esse processo é governado por substâncias quimiotáticas liberadas no local.^{15,18}

A neutralização de agentes agressores leva à desorganização e destruição tecidual, tornando-se necessária uma segunda etapa dos mecanismos de defesa, caracterizada pela reorganização da área lesada. O reparo consiste na substituição das células e tecidos alterados por um tecido neoformado parênquima e/ou estroma do local injuriado.¹⁸

Quando a reparação é feita principalmente pelos elementos parenquimatosos, uma reconstrução igual à original pode acontecer (REGENERAÇÃO), mas se for realizada em grande parte pelo estroma, um tecido fibroso não especializado será formado (CICATRIZ). Um ou ambos os processos poderão ocorrer na dependência da capacidade dos elementos do parênquima se regenerar e da extensão da lesão. No caso das células epiteliais, junto com as hematopoiéticas e linfóides, são consideradas

lábeis, ou seja, continuam a se multiplicar durante toda a vida, fato este que permite uma reconstrução original da área lesada.¹⁸

Na regeneração, a área lesada é restituída à completa normalidade, tanto morfológica quanto funcional. Já na cicatrização, há a substituição do tecido lesado por tecido conjuntivo fibroso. Para que a cicatrização se efetue é necessária a eliminação do agente agressor, a ativa manutenção do potencial de proliferação das células, complementadas pela irrigação e nutrição suficientes. Como na cicatrização, o tecido fibroso é constituído por um tecido mais simples e primitivo do que ela substitui, há uma perda permanente da função fisiológica da área acometida. As cicatrizes, via de regra, hialinizam-se e perdem a elasticidade devido à pobreza de fibras elásticas.¹⁸

Cicatrização por segunda intenção:

Ocorre quando a área lesada é mais extensa e as bordas não podem ser coaptadas por sutura, como nos casos de úlceras, abscessos ou devido à contaminação de uma ferida cirúrgica. O tecido de granulação vai se proliferando à medida que a área vai sendo limpa. Inevitavelmente ocorre formação de grande quantidade de tecido cicatricial.¹⁸

Tecido de granulação:

A resposta dos tecidos à injúria é um acúmulo de células inflamatórias na região atingida produzida imediatamente quando ocorre uma lesão tecidual e terá a duração de 24 a 48 horas, tendo como característica o calor, rubor, edema e dor, podendo haver perda de função. Nesta fase ocorre a limpeza e/ou defesa da área lesada. Na lesão tecidual, com o rompimento de vasos ocorre uma vasoconstrição por influência da norepinefrina de poucos minutos de duração, levando a uma aderência das paredes dos vasos. Por influência da serotonina, ADP, cálcio e trombina ocorre vasoconstrição secundária. Em seguida, ocorre uma vasodilatação secundária, aumentando a permeabilidade de vênulas, por influência da histamina, prostaglandina e peróxido de hidrogênio. A bradicinina atua sobre os vasos aumentando sua permeabilidade, liberando proteínas plasmáticas e auxiliando a geração de coágulo extracelular. Também há produção de prostaglandinas praticamente em todas as células lesadas após uma lesão, em decorrência da alteração do conteúdo de fosfolípido das paredes

celulares. Certos tipos de prostaglandinas têm ações pró-inflamatórias e aumentam a permeabilidade vascular, atraindo leucócitos ao local da lesão, sendo sensibilizadoras da dor (nociceptores). Após, os leucócitos polimorfos nucleares atravessam as paredes dos vasos por ação amebóide, e atuam na fagocitose dos corpos estranhos e células mortas, limpando a área de lesão. Posteriormente, os macrófagos tornam-se mais numerosos, e, por volta do terceiro dia, os fibroblastos começam a proliferar. Novos capilares avançam para a zona lesada, enquanto material extracelular, produzido pelos fibroblastos começa a se acumular. Este conjunto de células, material extracelular (fibras e componentes da substância fundamental) e vasos neoformados constituem o tecido de granulação jovem. Este se caracteriza macroscopicamente pelo aspecto róseo granular, e microscopicamente pela proliferação de vasos e fibroblastos.^{17,18}

Com o passar do tempo, este tecido de granulação modifica-se paulatinamente, tornando-se maduro e adquirindo aspectos e funções diferentes daqueles dos primeiros dias. Inicialmente, além da fibrina, predominam neutrófilos, macrófagos e posteriormente fibroblastos. À medida que aumenta a quantidade de colágeno, diminui o número de células e vasos. O colágeno inicialmente formado é do tipo III, que é substituído pelo tipo I. Ocorre a contração centrípeta da ferida, reduzindo seu diâmetro e facilitando sua cicatrização. Neste período, o tecido colágeno tem pouca resistência tênsil (colágeno imaturo). As fibras reorientam-se ao longo das linhas de tensão, resultando em maior resistência tênsil. Com a deposição de mais colágeno, a resistência das fibras à ruptura aumenta gradativamente, atingindo 20% do normal após 21 dias.^{17,18}

A fase de remodelamento/maturação da cura é um processo a longo prazo. Esta fase se caracteriza por um realinhamento ou remodelamento das fibras de colágeno que compõem o tecido cicatricial de acordo com as forças de tensão, às quais a cicatriz é submetida. Com a ocorrência da queda e da síntese de colágeno, há um constante aumento da resistência à tração na matriz cicatricial. Estando a tensão e a tração aumentadas, as fibras de colágeno serão realinhadas em uma posição de eficiência máxima, paralelamente às linhas de tensão. O tecido assume gradualmente aparência e função normal, embora a cicatriz seja poucas vezes tão forte quanto o tecido normal lesado. Em geral, ao final de aproximadamente três semanas, aparece uma cicatriz

firme, forte, resistente e não vascularizada. A fase de maturação regenerativa pode exigir vários anos para ser totalmente completada.^{17,18}

Fatores que exercem influência na reparação dos tecidos:

- Idade: a idade avançada parece ser um fator de atraso à fibrose e à colagenização.
- Nutrição: a desnutrição protéica apresenta um efeito deletério sobre a reparação, uma vez que a própria síntese de colágeno se inibe.
- Corticosteróides: inibem o processo reparador ao suprimirem o processo inflamatório, ou através da estabilização das membranas lisossomais, bloqueando a liberação de enzimas proteolíticas, ou através de fatores de permeabilidade necessários para a resposta inflamatória.
- Diabetes: a insulina parece interferir no desenvolvimento da resposta inflamatória pela sua capacidade de diminuir a imunidade celular. Estes indivíduos são mais vulneráveis à invasão bacteriana e a retardos da cicatrização.
- A deficiência de vitamina C retarda a reparação devido às alterações na síntese de fibras colágenas, ficando retardada nos pacientes com deficiência de zinco.

Na boca, a reparação ocorre rapidamente, talvez devido à participação da saliva, que umedecendo a superfície da lesão não permite a formação de crosta. Desta forma, a cicatrização da mucosa bucal está condicionada a outros fatores, onde, nem sempre, as complicações da pele podem ser relacionadas.^{17,18,19}

3.3. ESTOMATITE AFTOSA RECORRENTE

3.3.1. ETIOLOGIA

O termo úlcera deve ser reservado a lesões de superfície sem tendência à reparação depois de duas semanas, enquanto a palavra ulceração pode ser aplicada àquelas lesões com tendência ao reparo, como acontece com as aftas bucais.⁹

Estudos comprovam que há associação entre o surgimento das ulcerações com a ingestão de alimentos como tomates, morangos, nozes, chocolate, glúten, mentolados, melão, agrião, bem como alimentos condimentados ou embutidos.⁵

Contudo, diversos fatores envolvidos na gênese dessa doença foram aventados, porém os mecanismos etiológicos ainda não foram totalmente elucidados. As evidências apontam para a participação do sistema imunológico, através da mediação dos linfócitos T, que culmina na lise das células epiteliais da mucosa oral.³

3.3.2. FATORES PREDISPONETES

3.3.2.1. Genética

A predisposição genética para o desenvolvimento da EAR é fortemente sugerida. 40% dos pacientes têm história familiar, desenvolvendo úlceras mais cedo e de natureza mais grave. Várias associações com antígenos HLA e RAS foram relatadas. Estas associações específicas variam de acordo com origens raciais e étnicas. 10

3.3.2.2. Trauma

Se houver micro ulcerações por traumatismos na mucosa bucal (injeções de anestésicos locais, dente afiado, tratamentos dentários e lesões por escova de dente), o sistema imunológico reconhecerá que algumas células epiteliais, agora francamente expostas, deverão ser atacadas, por possuírem componentes estranhos na sua superfície, sofrerão uma reação de autoimunidade cruzada, morrendo e a ulceração se ampliará, formando-se assim a afta bucal. 9,10 O processo cessará quando, depois de alguns dias, o sistema imunológico reconhecer, de forma mais refinada e molecular, que de fato as proteínas das células epiteliais da mucosa são semelhantes, mas não iguais, às das bactérias e não deveriam ter sido destruídas. Depois de 3 a 5 dias as aftas iniciarão um processo de reparação⁹

3.3.2.3. Tabaco

Vários estudos revelam associação negativa entre o tabaco e a EAR. As explicações possíveis incluem o aumento da queratinização da mucosa; que serve

como uma barreira mecânica e de proteção contra o trauma e micróbios. A nicotina é considerada fator de proteção tal, pois estimula a produção de esteróides adrenais por sua ação sobre o eixo hipotálamo adrenal e reduz a produção de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucinas 1 e 6 (IL-1 and IL-6). Terapia de substituição de nicotina tem sido sugerida como tratamento para pacientes que desenvolvem EAR após a cessação do hábito de fumar.^{9,10}

3.3.2.4. Drogas

Certas drogas têm sido associadas com o desenvolvimento da EAR: captopril, angiotensina, sais de ouro, nicorandil, fenindiona, fenobarbital, hipoclorito de sódio e AINEs, tais como diclofenaco, piroxicam.¹⁰

3.3.2.5 Deficiência Hematinica

Os pacientes com deficiência nutricional de vitamina B e de ferro apresentam anemia, pois estes são cofatores importantes na proliferação das células na medula óssea produtora de hemácias. Junto com a medula óssea, o revestimento epitelial da boca representa um dos tecidos mais proliferantes e renovados do nosso organismo, especialmente o dorso lingual. Da mesma forma que a carência nutricional desses dois fatores influencia na medula óssea, resultando em anemia, há atrofia na mucosa oral. Assim, muitos pacientes anêmicos apresentam grande número de aftas bucais, pois, com a mucosa fragilizada, os microtraumatismos são mais frequentes.⁹

3.3.2.6. Enteropatia sensível ao glúten / doença celíaca, doença inflamatória intestinal.

Enteropatia sensível ao glúten é uma doença inflamatória autoimune do intestino delgado, que é precipitada pela ingestão de glúten, uma proteína do trigo em indivíduos suscetíveis. É caracterizada por desnutrição grave, anemia, dor abdominal, diarreia, úlceras orais aftosas, glossite e estomatite. EAR pode ser a única manifestação da doença. A utilização de dieta isenta de glúten na melhoria da EAR é considerada incerta.¹⁰

3.3.2.7. Estresse

O estresse tem sido enfatizado como um fator causal na EAR. Foi proposto que o estresse pode induzir trauma para os tecidos moles por hábitos, como morder os lábios ou bochecha, o que pode predispor à ulceração. 10 Além disto, no estresse celular, há os mediadores produzidos pela glândula adrenal. O nível alterado desses mediadores altera o equilíbrio de tolerância e reatividade do sistema imunológico. Em condições de normalidade, o sistema imunológico não reconhece as células epiteliais bucais como estranhas nos microtraumatismos, mas em condições de estresse passa a fazê-lo, determinando o aparecimento das aftas bucais. 9

3.3.3.8. Bactérias/ Vírus

Algumas bactérias, especialmente estreptococos podem apresentar componentes protéicos em suas membranas externas que se assemelham estruturalmente às proteínas das células epiteliais da mucosa bucal de algumas pessoas. Diariamente, o sistema imunológico produz mediadores, anticorpos e células sensibilizadas contra os componentes bacterianos. Estas podem ser reconhecidas como estranhas pelo sistema imunológico e quando este reconhece que existem proteínas “bacterianas”, ou melhor parecidas com as das bactérias, nas células epiteliais da mucosa, é desencadeado um mecanismo de autoimunidade cruzada para destruí-las. Dessa forma, pontos focais da mucosa ficarão sem revestimento epitelial e as aftas aparecerão. 9

Os estreptococos orais, implicados como microrganismos diretamente envolvidos na patogênese das lesões ou como estímulos antigénicos, provocam a produção de anticorpos que reagem de forma cruzada com a mucosa oral ; assim como o *H. pylori*, uma bactéria Gram-negativa, bactéria em forma de S associada à gastrite e em úlceras duodenais cronicamente infectadas; presente em alta densidade na placa dental. 10

3.3.3.9. Papel do fator de necrose tumoral alfa na EAR

Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) é uma citocina pró-inflamatória e uma das mais importantes implicadas no desenvolvimento de novas úlceras aftosas. Por esta razão, imunomoduladores tais como talidomida e pentoxifilina têm sido eficazes no

tratamento da EAR. A talidomida reduz a atividade de TNF- α por degradar o RNA mensageiro e a pentoxifilina inibe a produção de TNF- α . 10

3.3.3.10. Imunoglobulinas na EAR

As imunoglobulinas salivares mostram-se como um excelente indicador do sistema imune da mucosa bucal. A deficiência de IgA é o defeito imune humoral mais comum em humanos, tendo algum efeito regulador sobre o desenvolvimento das EAR, pois o esperado é que esta imunoglobulina forneça proteção.¹⁶

3.3.4. CLASSIFICAÇÃO CLÍNICA

As úlceras aftosas recorrentes, clinicamente, apresentam-se em três subtipos:

a) *Afta de Mikulicz e Kümmel, úlcera aftosa minor ou afta vulgar*

É a forma mais comum da lesão, correspondendo 80% a 90% dos casos. Apresentam-se como ulcerações erosivas superficiais, dolorosas, circulares ou ovóides, recobertas por uma membrana amarelo-acinzentada, circundada por um halo eritematoso; única ou múltiplas, com diâmetro geralmente menor do que 10 mm, situando-se sempre na porção não queratinizada da mucosa bucal. A reparação tecidual inicia-se entre 4 e 7 dias a partir do aparecimento clínico da lesão e, em geral, completa-se entre 10 e 14 dias, sem evidências de cicatrização, com recorrência média de 2 a 3 vezes no ano. Têm uma prevalência geral de 5-25% na população geral^{8,20}

b) *Periadenite mucosa necrótica recorrente, doença de Sutton ou úlcera aftosa major*

Considerada uma forma mais agressiva, não pode ser diferenciada da afta minor por critérios histológicos, imunológicos ou por microscopia eletrônica. São menos comuns (10% a 15% de todas EAR). Clinicamente são maiores do que 10 mm, mais dolorosas e mais profundas. Muitas vezes, apresentam-se crateriformes, de contorno irregular, com bordas às vezes elevadas, eritema ao redor e exsudato acinzentado ou amarelado no centro. São mais proeminentes e podem estender-se a mucosa mais queratinizada, persistindo por três a oito semanas. Evoluem para cicatrização e deixam como sequela

uma fibrose da mucosa bucal. Os locais em que aparecem mais frequentemente são: lábios, língua, palato mole, istmos das fauces e causam dor importante e disfagia. São frequentemente encontradas em pacientes infectados pelo HIV provavelmente pelo desequilíbrio imunológico local secundário à doença.^{8,20}

c) Afta herpetiforme ou úlcera aftosa herpetiforme

É a forma menos comum, acometendo 5% a 10% dos pacientes com EAR. É uma ulceração rasa, de pequeno tamanho, com cerca de 3 mm de diâmetro e múltiplas (variando de 10 a 100 lesões), mas podem confluir produzindo placas irregulares de dimensão maior. Repara-se entre 7 e 30 dias, ocasionalmente com cicatrização. Clinicamente, assemelham-se às lesões bucais do herpes simples, ocorrendo, contudo, em qualquer região da mucosa bucal inclusive aquela não queratinizada. O nome deve-se à semelhança da lesão herpética, mas ao contrário destas, não são precedidas por vesículas e não contêm vírus de células infectadas. São mais comuns em mulheres e têm uma idade de início mais tarde do que outras variantes clínicas.^{8,20}

3.3.5. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico das EAR é puramente clínico, levando em conta suas características semiológicas e história evolutiva. Fatores a serem levados em consideração são o padrão das lesões, local e tamanho das úlceras e sua duração. A relação com traumatismo, estresse e outros fatores externos deve ser igualmente levada em consideração, juntamente com a história familiar.^{10,16}

Outras causas de ulceração oral recorrente devem ser descartadas, portanto é evidente a importância da obtenção de uma história detalhada no atendimento, essencial para identificar qualquer doença sistêmica subjacente. Os pacientes devem ser questionados especificamente a respeito de problemas dermatológicos ou intestinais e hematológicos, como história de anemia. A dieta deve ser perquirida, bem como se o uso de colutórios ou outros medicamentos são eficazes no controle das lesões.²¹

3.3.6. QUADRO CLÍNICO

Manifesta-se clinicamente com discreto desconforto local, caracterizado por sensação pruriginosa, dor e aspereza da mucosa que dura de 24 a 48 horas e é considerado como período prodrômico.^{3,5}

Logo após, surgem lesões avermelhadas e circunscritas, com discreta elevação e de consistência dura, podendo ser única ou múltipla, com uma membrana superficial circular, halo eritematoso e dor na qual varia a intensidade de paciente para paciente. Segue-se necrose local, dor intensa, que culmina do aparecimento de úlcera arredondada com limites bem definidos, sua membrana torna-se esbranquiçada e necrótica. Sobre o assoalho da úlcera forma-se um exsudato fibrinoso, branco-amarelado, o halo eritematoso persiste e a lesão assume aspecto crateriforme.^{3,5}

A forma menor evolui por cerca de 7 a 10 dias sem deixar cicatriz. A forma maior leva mais tempo para cicatrizar e deixa sequelas na mucosa. A forma herpetiforme apresenta tempo de cicatrização variável, na dependência no número e gravidade das lesões. O estágio de reparação ocorre espontaneamente por um período em menos de 21 (vinte e um) dias, porém apresentam recidivas.^{3,5}

3.3.7. ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS

Macroscopicamente, a membrana mucosa da úlcera aftosa mostra necrose do tecido superficial com uma membrana fibrinopurulenta cobrindo a ulceração. A imagem microscópica é inespecífica. O estudo histopatológico dessas ulcerações é necessário apenas quando o diagnóstico é duvidoso, para eliminar o que não é afta. 8,10,16

As lesões da fase pré-ulcerativa revelam um infiltrado de células mononucleares, linfócitos T4 helper e mastócitos. Nas ulcerações, há acúmulo de um infiltrado de linfócitos T8 citotóxicos, eritrócitos aparecem na região central e nas margens da lesão, com neutrófilos que são as células predominantes. Leucócitos polimorfonucleares estão reduzidos nos estágios mais avançados provavelmente pela degranulação ou destruição dos mesmos.⁸

3.3.8. TRATAMENTO

A ausência de um consenso sobre a etiologia da EAR dificulta o estabelecimento de um tratamento completamente eficaz. A terapia é essencialmente dirigida para

proporcionar alívio sintomático de redução da dor, acelerar a cicatrização da úlcera e controlar possíveis infecções secundárias. Como o tratamento é estabelecido pela observação, não há um protocolo terapêutico estabelecido que vise à cura das lesões. É importante esclarecer ao paciente que o tratamento é paliativo e empírico.^{5,8,10,21}

A escolha da terapêutica a ser utilizada deve ser conduzida de acordo com a gravidade e frequência em que se apresentam as lesões visto que podem ocorrer alterações nutricionais decorrentes da sintomatologia.⁸

A associação com doença sistêmica deve ser descartada, especialmente em casos em que haja desenvolvimento súbito de ulceração na idade adulta. As investigações laboratoriais, como hemograma completo, glóbulos vermelhos, os níveis de ferritina sérica e vitamina B12 é recomendada. Estes indivíduos devem ser submetidos à criteriosa avaliação estomatológica para descartar outras doenças de natureza sistêmica, tais como: doenças Infecciosas – estomatite herpética, herpes zoster, herpangina, mononucleose infecciosa, infecção pelo vírus HIV, tuberculose, sífilis e infecções fúngicas profundas; doenças dermatológicas – líquen plano, pêfigo vulgar, penfigóide, eritema multiforme, dermatite herpetiforme, epidermólise bolhosa, estomatite ulcerativa crônica; discrasias sanguíneas – anemia, leucemia, neutropenia; doenças gastrointestinais – doença celíaca, doença de Crohn, colite ulcerativa e uso de drogas que contenham agentes citotóxicos.^{10,17}

Inúmeras drogas têm sido utilizadas para o tratamento da afta recorrente. Entretanto, até o presente, faltam resultados consistentes que indiquem um medicamento efetivo e seguro, principalmente no que se refere à sua prevenção. Dentre estas medicações, está o levamisol, um eficiente restaurador da resposta imunológica celular. É um anti-helmíntico que quando empregado, por dois a três dias em concentrações baixas, estimula ou restaura a imunidade celular.⁶ A remoção cirúrgica das EAR geralmente é inefetiva.²¹

A utilização de cáusticos como o nitrato de prata, fenol ou o ácido tricloroacético tem sido reportada como opções de tratamento para conversão da úlcera em feridas. No entanto, são contra-indicadas por vários autores, os quais argumentam que os cáusticos devem ser evitados pelo aumento de infecção bacteriana secundária e pela demora na cicatrização das lesões.³

Em caso do estresse ser cofator importante, um profissional da área comportamental (psiquiatra ou psicólogo) deve ser consultado. Neste caso, a terapia tópica concomitante pode ajudar a diminuir o desconforto deste pacientes, auxiliando assim, indiretamente, a terapêutica comportamental.²¹

3.4. BIOPOLÍMERO DE CANA DE AÇÚCAR

Os biopolímeros tiveram sua primeira aparição na história em 1923. O microbiologista Maurice Lemoigne obteve a primeira composição registrada de PHA através de uma bactéria (*Bacillus megaterium*). Na segunda metade do século 19, a celulose foi à descoberta mais pesquisada. Contudo, com o início do século 20 e das guerras mundiais, o foco de pesquisa das grandes nações foram os polímeros oriundos do petróleo, o “ouro negro” .²²

O desenvolvimento de novos produtos que possuíssem pelo menos as mesmas características de biocompatibilidade, disponibilidade, versatilidade, baixa toxicidade e custo, mas com menos complicações que as próteses já existentes no mercado, geraram diversas frentes de pesquisa. Nesse contexto, as poliuretanas de origem vegetal preenchem muitos destes requisitos, como a processabilidade, flexibilidade de formulação e versatilidade, além de fácil obtenção em países agrícolas como o Brasil.²³

Na área médica, a utilização e os estudos de biopolímeros têm evoluído significativamente nas últimas décadas. Dentre os mais conhecidos e empregados atualmente estão o polimetilmetacrilato, o polietileno e o silicone, amplamente utilizados. Cada um deles apresenta características peculiares, adequadas a um tipo determinado de uso, mas nenhum está inteiramente isento de complicações.²⁴ Por esta razão, observa-se neste direcionamento um crescente interesse na produção de polissacarídeos obtidos por processos fermentativos, utilizando-se microrganismos capazes de converter determinados substratos em gomas que formam géis e soluções viscosas em meio aquoso.²³

Produtos como a glicose e sacarose são usadas como fontes de carbono preferenciais para a produção de biopolímeros, porém, outras fontes alternativas, de menor custo têm sido sugeridas, tais como melaço, resíduo da indústria de soja, soro

de leite entre outros. O melaço é um subproduto do processo de produção de açúcar, sendo definido como um xarope que escoo do estágio final do processo de cristalização. É uma das fontes de carbono mais econômicas na indústria biotecnológica, sendo usado como substrato nas fermentações.²³

No Brasil, somente na década de 90, foram iniciadas as pesquisas sobre biopolímeros através de processos fermentativos. Em relação às matérias-primas aqui disponíveis no Brasil, a cana-de-açúcar possui uma vantagem competitiva bastante grande em face de seu custo de produção ser inferior a de outros países, além do aproveitamento de bagaço e palha para geração de energia.²²

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) começou em 1990 estudos com o biopolímero de cana-de-açúcar, quando foi observado que uma bactéria competindo com o processo de fermentação do melaço para a síntese de etanol, produzia formações gomosas. A bactéria foi isolada e identificada no Departamento de Antibióticos da UFPE. A composição do polímero, analisada, revelou uma pureza absoluta, constituída apenas de açúcares. As suas características físicas de elasticidade, flexibilidade e ponto de fusão associadas despertaram nos pesquisadores as possibilidades de uso desse material nas áreas de Saúde, Física, Química Industrial e Farmacologia.¹ O processo de síntese foi padronizado, obtendo-se uma taxa de conversão de 50%. A importância se dá à transformação de um produto de baixo valor agregado, como o melaço de cana, em outro de alto valor, como material para uso médico e cirúrgico.²⁴

A citotoxicidade *in vitro* do biopolímero foi avaliada e comparada com o politetrafluoretileno expandido, e-PTFE, não havendo resposta tóxica para as células em cultura, apresentando alta biocompatibilidade *in vitro*. Os estudos de aplicação *in vivo* em três espécies animais diferentes demonstraram excelente biocompatibilidade.²⁵

A primeira referência local da aplicação clínica deste produto como material biocompatível foi em um estudo experimental, quando foram utilizadas membranas de biopolímero *in natura* como curativos para o tratamento de feridas acidentais em cães. Os curativos não desenvolveram toxicidade e apresentaram boa biocompatibilidade. A conduta resultou no aumento de tecido de granulação, controle da infecção e diminuição do tempo de cicatrização.²⁶ Desde então, tem sido utilizado em diversas

áreas da cirurgia experimental: na cicatrização de feridas cutâneas; na reconstrução uretral; como substituto da membrana timpânica; entre outros²⁷ No entanto, não há relato de estudos do seu comportamento na mucosa oral.

4.1. POPULAÇÃO DE ESTUDO

A população de estudo foi composta de 20 coelhos adultos, sadios, (classe *Mammalia*, ordem *Lagomorpha*, família *Leporidae*, gênero *Oryctolagus* e espécie *Oryctolagus cuniculus*), da linhagem Nova Zelândia, com idade média de 90 dias, procedentes de um criatório privado. Os animais foram mantidos, no biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE, em gaiolas individuais, apropriadas para a espécie, distribuídas em estantes em um espaço único, em temperatura ambiente com exaustão forçada, livre de ruídos, respeitando os ciclos diurno e noturno de 12 horas e alimentados com ração marca purina® para coelhos e água potável *ad libitum* em todo o período dos experimentos. Os coelhos foram incluídos nos experimentos após uma avaliação clínica veterinária e com um desenvolvimento ponderal para a faixa etária entre 2,5kg e 3,9kg. Optou-se pelo coelho como animal de experimentação por uma questão de facilidade técnica em relação à cavidade oral. Houve perda de três animais durante o estudo, de causa desconhecida, não associada ao experimento. A conduta com os animais em todos os tempos do experimento atendeu os princípios que regem o Código de Ética Experimental e as leis de proteção aos animais seguindo as normas vigentes no Brasil, e os princípios éticos da Experimentação Animal elaborado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

4.2. TIPO DE ESTUDO

Experimental. Analítico, comparativo e prospectivo.

4.3. DESENHO DO ESTUDO

Os animais foram divididos em dois grupos, totalizando 10 animais em cada grupo, sendo um denominado **grupo controle** e o outro denominado **grupo experimental**. Cada um dos dois grupos foi submetido aos mesmos procedimentos: Indução da úlcera em mucosa jugal. O tempo D0 corresponde ao início do tratamento. Os tempos D3, D7 e D11 correspondem aos períodos de avaliação das úlceras, em dias, tanto no **grupo controle** como no **grupo experimental**.

Grupo experimental: Coelhos que receberam tratamento com FEEMCA.

Grupo controle: Coelhos que não receberam tratamento.

4.4. VARIÁVEIS

4.4.1. Variáveis independentes:

- a) Procedimento cirúrgico de indução das úlceras
- b) Curativos cirúrgicos com FEEMCA

4.4.2. Variáveis dependentes:

- a) Áreas das úlceras, medidas por meio de cm^2 para avaliar a evolução do processo de cicatrização, restauração do epitélio nas áreas das lesões.
- b) Parâmetros histológicos: Número de neutrófilos, edema, congestão, mononuclear, grau de neovascularização e grau de fibrose.
- c) Determinação histopatológica das úlceras.
- d) Descrição macroscópica anatopatológica das úlceras.

4.5. PROCEDIMENTOS

Os procedimentos experimentais foram desenvolvidos por um único profissional, a autora sob a supervisão do orientador, com o apoio voluntário de estudantes bolsistas do CNPq (Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica- PIBIC), que receberam treinamento para participarem dos procedimentos metodológicos da pesquisa e pela assistência do veterinário responsável, pelo biotério de pequenos animais do Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco, entre Dezembro de 2011 e Janeiro de 2012.

4.5.1 Filme esponjoso de Exopolissacarídeo de melão: produto empregado no estudo.

Os FEEMCA utilizados nos experimentos, foram produzidos pelo Grupo de Pesquisa Biopolímero de Cana-de-açúcar no Laboratório de Biopolímeros da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os filmes fornecidos para o desenvolvimento do estudo são constituídos exclusivamente de polissacarídeo com

concentração de 1,0% . Foram utilizados filmes nas dimensões de 1,0cm² e espessura de 2,0mm. Os filmes eram acondicionados em envelopes, tipo grau cirúrgico e esterilizados, nos envelopes, com irradiação gama no Laboratório de Metrologia do Departamento de Engenharia Nuclear da UFPE. Essas amostras foram obtidas de um único lote, cortadas em fragmentos e embaladas.



Fig.1 Apresentação do filme esponjoso de exopolissacarídeo de melaço de cana de açúcar em embalagem original

4.5.2 Procedimento anestésico

O procedimento anestésico foi realizado pela médica veterinária do NCE da UFPE. Os animais permaneciam por um período de jejum de 12 horas antes de serem submetidos ao procedimento anestésico. Dez minutos antes do início da anestesia, foi aplicado sulfato de atropina por via intramuscular na dose de 0,44mg/Kg. Para anestesiá-los os animais era constituída uma solução com 5mg de cloridrato de cetamina, ketamina® e 2mg de cloridrato de xilazina. A solução assim constituída era aplicada

para cada 100g de peso do animal. O nível de anestesia foi determinado pela observação dos reflexos palpebrais, movimentos respiratórios e estímulos cutâneos e era considerado anestesiado o animal com respiração regular e com ausência de reflexos a estímulos. Essa conduta permitiu uma anestesia satisfatória para o tempo necessário à realização do procedimento cirúrgico. Durante o procedimento cirúrgico e no pós-operatório não foi anestésico a administrado oxigênio.

4.5.3 Procedimento cirúrgico

Após a administração da anestesia, os animais foram levados à sala de cirurgia e devidamente posicionados na mesa operatória, com fixação dos membros em extensão com fita cardíaca. Em seguida, em condições de assepsia e antissepsia realizou-se a aposição de campos cirúrgicos, posicionamento na boca de um espéculo nasal longo, para exposição da mucosa jugal. Repetiu-se o mesmo procedimento em todas as fases do experimento nos dois grupos, controle e experimental.

4.5.3.1. Realização da indução da úlcera em mucosa jugal (Padronização do local da indução da úlcera):

Após a exposição da cavidade oral do animal, foi colhido material para bacteriologia, através de swab estéril com meio de cultura (swart). Então, procedeu-se à infiltração local de 0,2ml de xilocaína a 2% com vasoconstrictor. Removeram-se as papilas localizadas na mucosa jugal do coelho com o auxílio de uma pinça hemostática delicada e foi realizada uma excisão longitudinal, quadrangular, do lado direito nos animais do grupo experimental e do lado esquerdo nos animais do grupo controle, com o uso de bisturi frio lâmina 15 sob visão direta e iluminação com um fotóforo (figura 2).

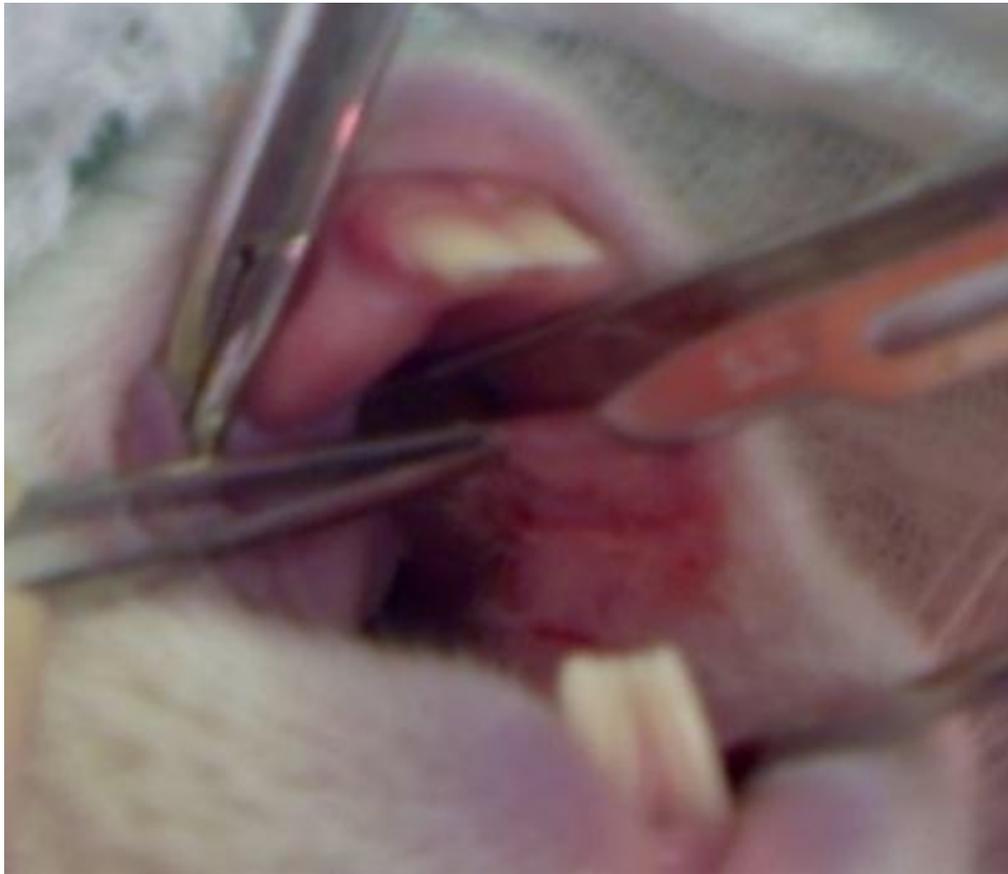


Figura 2- Localização e excisão da mucosa jugal para indução da úlcera.

Como ponto de referência, utilizou-se a rima labial, distando desta 0,5cm. A incisão realizada foi de 1 cm² com remoção de camada mucosa e submucosa, colocando-se após um cotonete embebido em água oxigenada a 10% no local da lesão, com a finalidade de hemostasia (figura 3). As lesões não foram suturadas e a cicatrização ocorreu por segunda intenção.

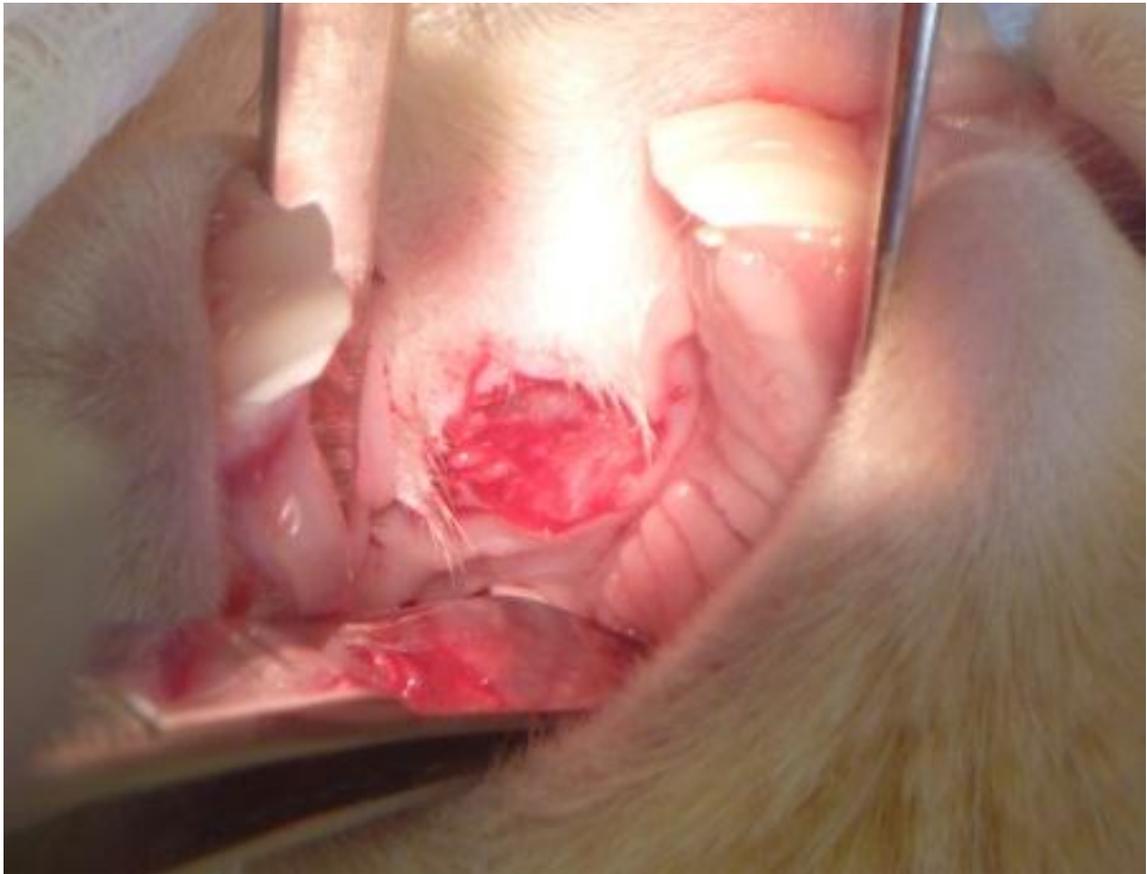


Figura 3- Fase final da excisão para indução da úlcera.

4.5.3.2. D0 tratamento

No terceiro dia após a indução da úlcera, foi colhido material para bacteriologia, através de swab estéril com meio de swart e documentação fotográfica da lesão. Após infiltração local com solução anestésica de 0,2mL de xilocaína a 2% com vasoconstrictor, foi realizada biópsia de forma transversal, interessando o centro e a margem da lesão para a definição histopatológica das lesões, seguida de curetagem com lâmina de bisturi frio nº15 no fundo da lesão, a fim de promover um leito cruento. No grupo experimental, foi colocado um fragmento da FEEMCA, ocupando todo o espaço da lesão, sendo fixado apenas por compressão digital (figura 4), enquanto o grupo controle não recebeu tratamento e a lesão cicatrizou por segunda intenção.



Figura 4- Fixação do FEEMCA em mucosa jugal coelho

4.5.3.3. D3 tratamento

Em todos os animais foi feita a documentação fotográfica da lesão. Após infiltração local com solução anestésica de 0,2mL de xilocaína a 2% com vasoconstrictor, foi realizada biópsia no mesmo local e profundidade de forma transversal interessando o centro e a margem da lesão para definição histopatológica da fase aguda das lesões.

4.5.3.4. D7 tratamento

Neste dia, em todos os animais, foi colhido material para bacteriologia, através de swab estéril com meio de swart e feita a documentação fotográfica das lesões.

4.5.3.5. D11 tratamento

No décimo primeiro dia após o tratamento, foi novamente realizada documentação fotográfica e realizada biópsia de forma transversal com o centro e a margem da lesão para a definição histopatológica da fase crônica das lesões, após infiltração local com solução anestésica de 0,2ml de xilocaína a 2% com vasoconstrictor.

Em todas as etapas do experimento, após o procedimento cirúrgico-anestésico, foi administrado oxigênio (0,5ml/minuto) através de máscara por 10 minutos, onde sob visão direta do pesquisador os animais permaneciam até que começassem a se movimentar e aí eram encaminhados para recuperação, em gaiolas individuais, onde permaneceram e foram acompanhados diariamente após o último dia do experimento por mais sete dias para avaliação pós-operatória (através do nível de atividade), sendo posteriormente doados para criadores independentes.

4.5.4. Preparo do material para histologia

Após a remoção do fragmento da mucosa, o material para análise histológica era colocado sob uma superfície de papel e imerso em formol tamponado a 10% por 48 horas até os procedimentos técnicos das preparações histológicas para estudo histopatológico.

4.5. ESTUDO HISTOLÓGICO

Para o estudo histológico os blocos foram cortados com espessura de 5 μ m. Os cortes foram feitos no sentido transversal da superfície da mucosa jugal para a profundidade da lesão, incluiu as camadas de mucosa jugal sadia e da úlcera. As preparações histológicas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE). A análise histológica foi realizado no Laboratório de Patologia da Universidade Rural Federal de

Pernambuco. O estudo foi sistematizado para avaliação histológica qualitativa com objetivo de analisar a resposta cicatricial da úlcera induzida em mucosa jugal de coelhos tratados com FEEMCA e, quantitativo, realizada a leitura das lâminas através da microscopia óptica por um observador único.

Avaliou-se a quantidade de células predominantes na reação inflamatória (infiltrados poli e monomorfonucleares), a presença de edema intersticial, de congestão vascular, o grau de formação de tecido de granulação e de fibroplasia, microabcessos e necrose.

Classificaram-se os dados em: acentuado, moderado, discreto e ausente, de acordo com a intensidade em que se encontravam nos campos de análise.

Transformaram-se estes dados em variáveis quantitativas atribuindo-se índices aos achados histológicos. O edema, a congestão e o exsudato polimorfonuclear, a neovascularização e a fibrose indicavam processo inflamatório crônico (Tabela 1 e Tabela 2).

Tabela 1- Análise quantitativa dos parâmetros inflamatórios

PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS	INTENSIDADE			
	ACENTUADA	MODERADA	DISCRETA	AUSENTE
Neutrófilos	-3	-2	-1	0
Edema	-3	-2	-1	0
Congestão	-3	-2	-1	0
Monomorfonuclear	+3	+2	+1	0
Neovascularização	+3	+2	+1	0
Fibrose	+3	+2	+1	0

Fonte: Vizzoto Jr. et col.

Tabela 2- Escore do processo inflamatório

FASE DO PROCESSO INFLAMATÓRIO	ESCORE FINAL
AGUDO	-9 a -3
SUBAGUDO	-3,1 a +3

CRÔNICO

+3,1 a +9

Fonte: Vizzoto Jr. et col.

4.6 CARACTERIZAÇÃO E DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Os coelhos foram analisados através de sua variação de peso usando balança digital. A evolução do fechamento das úlceras tratadas com FEEMCA e as do grupo controle foram examinadas através no seu aspecto macroscópico por documentação fotográfica com câmara CANON digital com uso de tripé fixo para garantir uma distância padrão de 20 cm, afim de que não houvesse alteração e nem influencia na medição, através do programa IMAGE-J. Foi calculada inicialmente a distância de um bordo a outro da lesão através do paquímetro digital em PIXEL. Posteriormente, através do conversor de unidade: [http://www.translatorscafe.com/cafe/units-converter/typography/calculator/pixel-\(X\)-to-centimeter-\[cm\]](http://www.translatorscafe.com/cafe/units-converter/typography/calculator/pixel-(X)-to-centimeter-[cm]) / foi realizada sua conversão em cm e posteriormente o cálculo da área em elipse em cm^2 foi calculado através do conversor <http://www.webcalc.com.br/frame.asp?pag=http://www.webcalc.com.br/matematica/elipse.html>.

Para análise dos dados foi construído um banco de dados na planilha Microsoft Excel. O banco foi exportado para o software SPSS versão 13.0 onde foi realizada a verificação dos dados. Para análise das variáveis qualitativas foram calculadas as frequências percentuais e construídas as tabelas de distribuição de frequência. Para as variáveis quantitativas foram calculadas as estatísticas: mínimo, máximo, média, mediana e desvio padrão. Ainda, foi calculado o intervalo de confiança para as médias estimadas. A fim de comparar a média do peso (em gramas) dos coelhos observados nos dois grupos em estudo, foi utilizado o teste t-student. Antes da aplicação do teste de comparação de médias foi avaliada a normalidade das variáveis da análise através do teste Kolmogorov-Sminorv. Em todas as conclusões foi considerado o nível de significância de 5%.

4.7. ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto, aprovado pelos Membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, processo nº 23076.043729/2011-53, respeitou as normas vigentes no Brasil, Lei nº 9605 (art. 32) e o Decreto 3179 (art.17), que regulamentam o uso de animais para fins científicos (ANEXO A).

5.RESULTADOS

5.1. CURVA PONDERAL DOS COELHOS

Os 20 coelhos submetidos à indução de úlcera em mucosa jugal com o objetivo de analisar a resposta cicatricial das úlceras tratadas com FEEMCA toleraram bem aos experimentos, não apresentaram alteração do comportamento e do quadro clínico durante todas as fases do estudo, mantendo a curva ponderal para a espécie, segundo os grupos experimental e controle (tabelas 3 e 4).

Tabela 3. Médias do peso (em gramas) dos coelhos submetidos ao tratamento de ferimento na mucosa segundo o grupo de pesquisa e o tempo de tratamento

Grupo	Realização da úlcera	Tempo (em dias)				Total
		D0	D3	D7	D11	
Experimental	3148±344	3110±348	3096±367	3071±432	3151±441	3115±374
Controle	3118±384	3134±357	3094±407	3098±461	3106±546	3110±419
p-valor¹	0,854	0,881	0,993	0,894	0,841	0,947

¹p-valor do teste t-student

Tabela 4. Distribuição de frequência dos coelhos avaliados segundo a faixa de peso, fase de análise e grupo de tratamento

Peso (em gramas)	Realização da úlcera*		D0*		D3*		D7*		D11*	
	Experimental	Controle	Experimental	Controle	Experimental	Controle	Experimental	Controle	Experimental	Controle
2500 a 3000	3	4	4	3	4	3	4	3	5	3
3001 a 3500	6	5	5	6	5	6	5	6	4	5
3501 a 4000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2

A análise dos pesos dos animais entre os dois grupos não indicou diferença em seus valores em todos os tempos do experimento, figura 5.

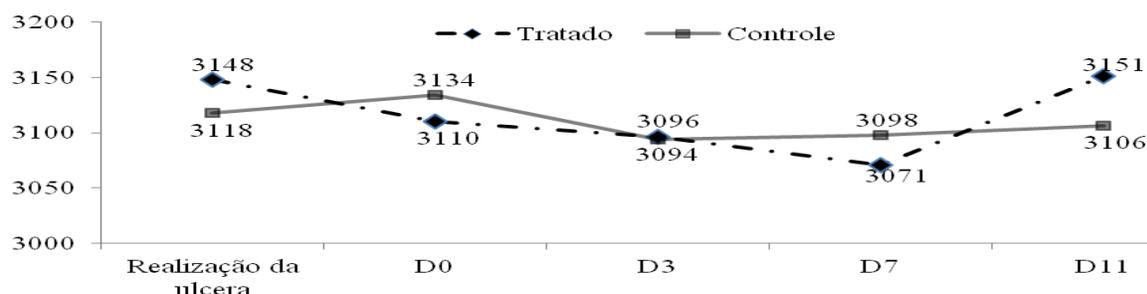


Figura 5. Gráfico do peso dos coelhos grupo experimental e grupo controle segundo o tempo de análise

5.2. EVOLUÇÃO TEMPORAL DA ÁREA DE CICATRIZAÇÃO DAS ÚLCERAS EM MUCOSA JUGAL

Na tabela 5 temos a análise descritiva da área da lesão (em cm²) na mucosa dos coelhos do grupo experimental segundo a época da realização da medição (D3, D7 e D11).

Tabela 5. Análise descritiva da área da lesão (em cm²) na mucosa dos coelhos grupo experimental segundo a época da realização da medição

Época de análise	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	Desvio Padrão	IC (95%)
D3	0,43	1,30	0,91	0,88	0,30	0,69 – 1,13
D7	0,61	1,23	0,94	0,95	0,17	0,82 – 1,06
D11	0,30	0,90	0,49	0,44	0,17	0,37 – 0,61

Na tabela 6 encontra-se a análise descritiva da área da lesão (em cm²) na mucosa dos coelhos grupo controle segundo a época da realização da medição (D3, D7 e D11).

Tabela 6. Análise descritiva da área da lesão (em cm²) na mucosa dos coelhos grupo controle segundo a época da realização da medição

Época de análise	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	Desvio Padrão	IC (95%)
D3	0,48	1,36	0,98	1,05	0,36	0,72 – 1,23
D7	0,35	1,31	0,82	0,75	0,31	0,60 – 1,05
D11	0,22	0,68	0,42	0,40	0,14	0,32 – 0,52

Na tabela 7 encontra-se a análise descritiva da área (em cm²) do ferimento na mucosa jugal dos coelhos segundo o grupo de análise (experimental/ controle) e o tempo (em dias) de tratamento.

Tabela 7. Médias da área (em cm²) do ferimento na mucosa dos coelhos segundo o grupo de análise e o tempo (em dias) de tratamento

Grupo	Tempo (em dias)			Total
	D3	D7	D11	
Experimental	0,91±0,30	0,94±0,17	0,49±0,17	0,78±0,3
Controle	0,98±0,36	0,82±0,31	0,42±0,14	0,74±0,4
p-valor¹	0,664	0,315	0,342	0,650

¹p-valor do teste t-student

Na figura 6 observa-se a representação gráfica da comparação das médias da área (em cm²) do ferimento na mucosa dos coelhos segundo o grupo de análise e o tempo (em dias) de tratamento.

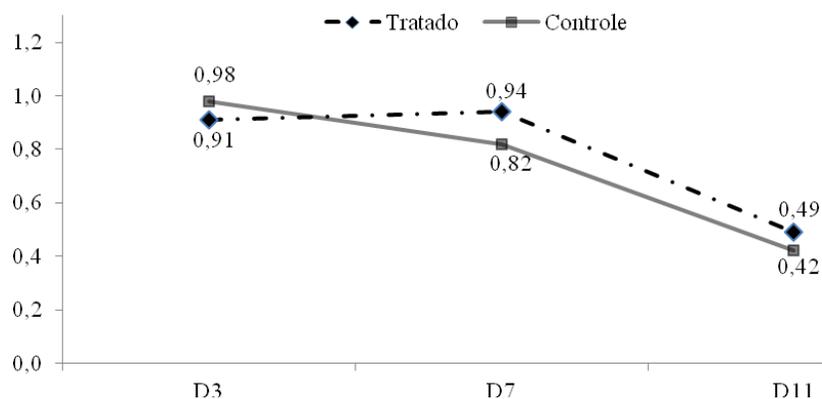


Figura 6 Gráfico de comparação de médias da área (cm²) no grupo experimental e grupo controle segundo o tempo de análise

Na tabela 8, encontra-se a distribuição de frequência dos coelhos avaliados segundo o grau de fechamento da cicatriz, fase de análise e grupo de tratamento.

Tabela 8. Distribuição do grau de cicatrização do ferimento da mucosa nos coelhos segundo o tempo e o grupo de tratamento

Grau de cicatrização	D3 n		D7 n		D11 n	
	Experimental	Controle	Experimental	Controle	Experimental	Controle
Leve (área de 0,9 a 0,6 cm ²)	9	8	10	7	2	2
Moderado (área de 0,59 a 0,3cm ²)	1	2	0	3	8	6
Intensa (inferior a 0,3 cm ²)	0	0	0	0	0	2

5.3. HISTOLOGIA – PARÂMETROS QUANTITATIVOS DE CICATRIZAÇÃO

Na tabela 09, **encontra-se** a distribuição de frequência dos coelhos segundo a intensidade dos parâmetros inflamatórios, época de estudo e grupo de tratamento.

Tabela 09. Distribuição de frequência dos coelhos segundo a intensidade dos parâmetros inflamatórios, época de estudo e grupo de tratamento

Parâmetros inflamatórios	D3		D7		D11	
	Experimental	Controle	Experimental	Controle	Experimental	Controle
Neutrófilos						
Acentuada	0	1	0	0	0	0
Moderada	0	3	0	2	0	0
Discreta	0	4	0	3	2	1
Ausente	10	2	10	5	8	9
Edema						
Acentuada	2	4	1	4	4	0
Moderada	3	4	2	6	2	1
Discreta	3	1	6	0	1	9
Ausente	2	1	1	0	3	0
Congestão						
Acentuada	1	5	1	1	1	2
Moderada	5	4	1	7	3	4
Discreta	2	0	5	1	5	4
Ausente	2	1	3	1	1	0
Monomorfonuclear						
Acentuada	1	1	2	2	0	1
Moderada	4	2	4	1	2	3
Discreta	3	6	3	7	1	3
Ausente	2	1	1	0	7	3
Neovascularização						
Acentuada	2	3	1	3	0	1
Moderada	2	3	3	4	2	2
Discreta	2	3	5	3	2	6
Ausente	4	1	1	0	6	1
Fibrose						
Acentuada	3	1	5	2	1	1
Moderada	2	3	4	7	0	1
Discreta	3	5	0	1	3	5
Ausente	2	1	1	0	6	3

Na tabela 10 **encontra-se** a análise histológica dos ferimentos avaliados nos coelhos através da média dos escores dos parâmetros inflamatórios **obtidos** em cada fase da pesquisa e o grupo de tratamento.

Tabela 10. Média dos escores dos parâmetros inflamatórios avaliados segundo a fase de estudo e o grupo de tratamento

Parâmetros inflamatórios	D3		D7		D11	
	Experimental	Controle	Experimental	Controle	Experimental	Controle
Neutrófilos	0,00	-1,30	0,00	-0,70	-0,10	-0,20
Edema	-1,50	-2,10	-1,30	-2,40	-1,70	-1,10

Congestão	-1,50	-2,30	-1,00	-1,80	-1,40	-1,80
Monomorfonuclear	1,40	1,30	1,70	1,50	0,50	1,20
Neovascularização	1,20	1,80	1,40	2,00	0,60	1,30
Fibrose	1,60	1,40	2,30	2,10	0,60	1,00

5.4. HISTOLOGIA – PARÂMETROS QUALITATIVOS DE CICATRIZAÇÃO

5.4.1. MACROSCOPIA

No grupo experimental, no D3 do tratamento, observou-se a presença do FEEMCA fixada em todas as lesões (figura 07).



Figura 07 –

macroscópico da ulceração no grupo experimental no D3 do tratamento.

Aspecto



Figura 08 – Aspecto macroscópico da ulceração no grupo experimental no D7 do tratamento.



Figura 09– Aspecto macroscópico da ulceração no grupo experimental no D11 do tratamento.



Figura 10 – Aspecto macroscópico da ulceração no grupo controle no D03 do tratamento

Neste mesmo grupo, no D7 do tratamento, em cada animal, foi observado que o FEEMCA permanecia fixo na lesão com evolução do processo cicatricial sem sinais de infecção (Fig. 08). No D11 do tratamento, a lesão encontrava-se com o fundo da úlcera totalmente epitelizado e as bordas elevadas (Fig. 09).

No grupo controle, no D3 do tratamento, observou-se a presença de fibrina, lesão úmida em processo de cicatrização (Fig. 10).



Figura 11 – Aspecto macroscópico da ulceração no grupo controle no D07 do tratamento



Figura 12 – Aspecto macroscópico da ulceração no grupo controlel no D11 do tratamento

Neste mesmo grupo, no D7 do tratamento, em cada animal, foi observada evolução centrípeta do processo cicatricial sem sinais de infecção (Fig. 11). No D11 do tratamento, a lesão encontrava-se ainda com o fundo da úlcera com tecido de granulação e as bordas elevadas, porém não totalmente epitelizada (Fig. 12).

5.4.2. MICROSCOPIA

A avaliação histológica demonstrou em todas as laminas analisadas dos animais dos dois grupos, experimental e controle, a caracterização de úlcera demonstrada à microscopia por ausência de epitélio, submucosa constituída por tecido conjuntivo, feixes de musculo, glândulas mucosas e serosas, corpúsculos nervosos e na extremidade oposta do fragmento, mucosa com papilas.

No D7 do tratamento, no grupo experimental todos os animais apresentaram epitélio estratificado hiperplásico com crostas de debris celulares sobre tecido conjuntivo reativo (neovascularização, fibrose), feixes musculares, glândulas mucosas, papilas e glândulas serosas e área necrótica com muitos macrófagos. No D11, houve um predomínio de hiperplasia epitelial moderada.

No grupo controle, no D7 do tratamento, houve hiperplasia epitelial moderada, esponjose (edema intercelular epitelial), exocitose ao lado de necrólise epitelial (área de ulceração) e disqueratose em todos os animais. No D11, ainda foi observado um predomínio de hiperplasia epitelial intensa, disqueratose, esponjose, hiperqueratose e exocitose.

5.5. ESTUDO BACTERIOLÓGICO DAS ÚLCERAS

No estudo bacteriológico, houve uma tendência de menor aparecimento dos microorganismos no D7 já existentes na úlcera no D0 no grupo experimental (tabela 11 e tabela 12).

Tabela 11- Distribuição dos microorganismos presentes na mucosa oral no grupo experimental de acordo com o dia de tratamento

Animais	D0					D7				
	E	C	S	B	M	E	C	S	B	M
Coelho 1	x	x					x			
Coelho 2	x		x				x			
Coelho 3	x				x		x			
Coelho 4	x	x				X	x			
Coelho 5		x					x			
Coelho 6	x					X				
Coelho 7		x	x			X	x			
Coelho 8		x			X		x			
Coelho 9	x		x			X	x			
Coelho10	x					X				

Legenda: E= *Enterobacter spp.* C= cocobacilos Gram negativos S= *Staphylococcus spp.* B= bacilos Gram negativos M= *Micrococcus spp.*

Tabela 12- Distribuição dos microorganismos presentes na mucosa oral no grupo controle de acordo com o dia de tratamento

Animais	D0					D7				
	E	C	S	B	M	E	C	S	B	M
Coelho 11		x			X		X			X
Coelho 12		x	X		X		X			
Coelho 13		x	X			x	X			
Coelho 14		x	X		X		X			
Coelho 15	X	x			X	x	X			
Coelho 16	X	x					X			
Coelho 17	X	X					X			
Coelho 18	X		X				X			X
Coelho 19		x	X			x				
Coelho 20	X		X							X

Legenda: E= *Enterobacter spp.* C= cocobacilos Gram negativos S= *Staphylococcus spp.* B= bacilos Gram negativos M= *Micrococcus spp.*

O tratamento da EAR é um capítulo ainda controverso na literatura médica. Diversos medicamentos e substâncias já foram utilizados, porém nenhum apresentou real eficácia devido à incerteza quanto ao mecanismo etiológico exato da doença.

Lima em 2005 relata que dentre os tratamentos sintomáticos, os corticosteróides promovem alívio dos sintomas inflamatórios, bem como redução da evolução clínica, por supressão da resposta inflamatória, reduzindo significativamente a dor, mas não as recorrências. Esta supressão é dada, pois impede a formação da enzima fosfolipase A2, que é responsável pela ativação do ácido araquidônico (metabolizador ciclooxigenase e a lipooxigenase), que, por sua vez, originam outros mediadores químicos (prostaglandinas, prostaciclina, leucotrienos) intrinsecamente ligados ao processo inflamatório. O efeito dos corticosteróides torna-se maior, quanto maior for o período de contato com o tecido lesado. Logo é imprescindível que o paciente, ao aplicar este medicamento na mucosa lesada, o mantenha o maior tempo possível, e que sempre o faça após a escovação. Além disso, as preparações utilizadas para aplicação oral devem estar na forma de orabase, ou seja, uma formulação de carboximetilcelulose, polietileno e óleo mineral, que conferem maior adesão à mucosa e resistência à dissolução e deslocamento.

O mesmo autor ressalta o uso do própolis, substância resinosa produzida pelas abelhas, como uma medicação eficiente farmacologicamente sobre o processo inflamatório, acelerando o reparo em lesões ulceradas de mucosa bucal; e de preparações farmacêuticas contendo o extrato de malva que também possuem grande relevância nesta terapêutica, podendo ser utilizadas por um período de 7 dias, com 2 a 3 aplicações diárias.

Relata ainda que o uso de colutórios e enxagüatórios bucais além de auxiliar na higienização, pode facilitar no reparo das lesões, uma vez que tais preparações contenham princípios ativos adequados. Nestes podem ser usadas as tetraciclina as quais inibem as bactérias produtoras de proteinases destruidoras de tecidos, como colagenases e gelatinases, existentes em processos inflamatórios, provavelmente adicionam à ação antibacteriana esse efeito estabilizador do colágeno, promovendo a cicatrização das lesões.

Gazel em 2005 ressalta que todos estes agentes com ação antiinflamatória devem ser administrados durante a fase inicial do desenvolvimento da lesão em que a atividade linfocitária se apresenta evidente. A aplicação destas substâncias deve ser acompanhada de agentes facilitadores da aderência, já que essas medicações são facilmente removidas, tornando difícil o estabelecimento de uma disponibilidade efetiva na superfície mucosa.

Tubaro, Redaelli, Loggia em 1984 e Miller et al. em 1996 relataram que a camomila apresenta efeitos antioxidantes, antibacterianos e antiinflamatórios devido a uma inibição de prostaglandinas e leucotrienos, sendo composta de uma série de ingredientes (bisabolóides, matricina, camazuleno, flavonóides e cumarinas), fato que auxiliaria na cicatrização das lesões, não apresentando qualquer contra-indicação do ponto de vista carcinogênico ou alergênico.

Ximenes em 2001 lembra que agentes protetores de mucosa como o leite de magnésia e os cianoacrilatos têm sido usados para diminuir a sensação dolorosa. Outro protetor de mucosa que foi testado em estudo realizado na Itália foi o Sucralfate, com bons resultados. Bochechos com clorhexedina a 2% parecem prevenir infecções secundárias. O mecanismo de atuação destas substâncias se deve à formação de uma película protetora no fundo da úlcera, evitando traumas e aumento da dor. Bochechos com solução aquosa de novacaína a 1% para alívio da dor têm sido descritos na literatura.

Amorim em 2009, no seu estudo constata que na Otorrinolaringologia, já foram realizados estudos sobre a viabilidade do uso da celulose bacteriana em regiões mucosas, como septo nasal, cornetos e substituições de membranas timpânicas com resultados promissores.

Procurou-se neste estudo analisar a resposta cicatricial de úlceras jugais à barreira mecânica com um curativo de FEEMCA, induzindo úlceras em mucosa jugal de coelhos.

A curva ponderal dos animais é um dos parâmetros usados para avaliar de forma indireta a dor no sitio da lesão, pois esta dificultaria a ingesta alimentar e conseqüentemente a perda de peso no grupo estudado. Vários estudos de tratamento

sintomático da lesão foram realizados mostrando que houve melhora do quadro de dor onde foram usados.

Martin em 2008 descreve um estudo randomizado e duplo-cego de um adesivo com medicação intra-oral (extrato de raiz Glycyrrhiza - alcaçuz) para o tratamento da EAR. Os participantes foram randomicamente designados. O tamanho da lesão e a dor foram avaliados em intervalos. Ao oitavo dia, o tamanho da úlcera para o grupo de tratamento ativo foi significativamente menor ($p < 0,05$).

Moghadamnia, Motallebnedja, Khanian em 2009 também avaliou a eficácia de gel bioadesivos de alcaçuz para controlar a dor e reduzir o tempo de cicatrização da EAR através de uma escala visual analógica (método subjetivo de avaliação de dor através de figuras onde são atribuídas notas para a dor) e observou que houve uma redução significativa do diâmetro do halo inflamatório e centro necrótico das úlceras quando comparado com o grupo placebo ($p = 0,03$). Mostrando que o bioadesivo de alcaçuz pode ser eficaz na redução da dor de úlceras aftosas.

Kutcher em 2001 também avaliou formulações de adesivo 2-octil cianoacrilato (cola de grau médico, não tóxica e menos irritante para o tecido da pele). Os resultados encontrados foram seguros e sem efeitos adversos significativos, apresentando estatisticamente significativa redução da dor.

Babae em 2010 realizou um estudo controlado randomizado a fim de avaliar a eficácia de uma pasta contendo Myrtus communis (Murta) na gestão de estomatites recorrentes. Murta é uma erva especial usada em algumas culturas, como tratamento para feridas na boca. Cinco parâmetros (mudança de tamanho, escala de dor, eritema e nível de exsudação, impacto na saúde oral e avaliação global do paciente do seu tratamento) foram registrados, mostrando que a murta revelou-se eficaz na redução do tamanho das úlceras, intensidade da dor e do nível de eritema e exsudação, melhorando a qualidade de vida nos pacientes com EAR.

A proposta foi usar o FEEMCA como tratamento sintomático no alívio da dor, atuando como um curativo biológico e protegendo a lesão. Desta forma, esperava-se que o grupo experimental apresentasse uma menor perda de peso.

Na tabela 3 temos a análise descritiva do peso (em gramas) dos coelhos segundo o grupo experimental e controle e o tempo (em dias) de tratamento. Através

dela verifica-se que os coelhos do experimental apresentaram uma média de peso maior que a do grupo controle no início da pesquisa (3148 gramas e 3118 gramas, respectivamente). No entanto, ao avaliar o teste de comparação de médias não foi significativo (p -valor = 0,854), indicando que o peso médio dos coelhos no início do tratamento são os mesmos.

Os parâmetros de equilíbrio biológico entre os animais como alimentação e reprodução só são modificados quando o nível de estresse for acentuado. Assim, a diferença que não atingiu o nível de significância determinado ($p \leq 0,05$) pode ser atribuído que a dor não controlada no grupo controle não foi intensa a promover um estresse que resultasse em perda de peso significativa.

Ainda na tabela 1 temos a média do peso dos coelhos nas fases D0, D3, D7 e D11. Em D0 os coelhos que iriam receber o tratamento apresentaram uma redução de peso enquanto que os coelhos do grupo controle, em média, ganharam peso (média de peso igual a 3110 gramas e 3134 gramas, respectivamente). Da mesma forma que foi observada na época da realização da úlcera, o teste de comparação de média foi p -valor = 0,881, indicando que a média de peso dos coelhos dos dois grupos eram iguais nesta fase de estudo.

Em D3, o peso médio dos coelhos do grupo experimental e do grupo controle foi praticamente o mesmo (3096 gramas e 3094 gramas, respectivamente).

Na época D7, o grupo experimental apresentou média de peso menor que a do grupo controle (3071 gramas e 3098 gramas, respectivamente), porém, em D11 essa situação foi invertida em que o grupo experimental voltou a ter média de peso maior que a do grupo controle (média igual a 3151 gramas e 3106 gramas, respectivamente).

Tanto em D3 como D7 e D11 o p -valor do teste de comparação de média, assim como nos dois primeiros momentos da pesquisa (RU e D0), não foi significativo indicando que a média de peso do grupo tratado e controle foram iguais em toda a fase do estudo.

Na tabela 4, encontra-se a distribuição de frequência dos coelhos avaliados segundo a faixa de peso, fase de análise do tempo de tratamento e grupo experimental e controle. Verifica-se que o percentual de coelhos que estavam na faixa de peso 2500

a 3000, 3001 a 3500 e 3501 a 4000 gramas praticamente não se alteraram com o passar das fases de análise, tanto no grupo controle como no grupo tratado.

A técnica cirúrgica mostrou-se adequada e de fácil realização quanto à realização da úlcera em mucosa jugal nos coelhos. Entretanto, por o animal estar classificado na classe de ruminantes, existe uma mucosa queratinizada e com papilas mecânicas que o auxiliam nesta função, mas não houve comprometimento da pesquisa e nem do resultado final, permitindo caracterizar a evolução do modelo de ulcerações induzidas na mucosa jugal por meio de estudo bacteriológico.

Nas análises realizadas: cultivo, isolamento e identificação bacteriana de swabs da cavidade oral dos coelhos, no laboratório de microbiologia veterinária do departamento de medicina veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco no dia inicial da realização da úlcera em mucosa oral e no D7 de tratamento nos grupos experimental e controle, não houve uma caracterização de padrão microbiano em nenhum dos dois grupos, provavelmente pela flora bacteriana da mucosa oral normal ser muito diversificada não permitindo este tipo de identificação. Entretanto, observa-se uma tendência a uma diminuição do aparecimento dos microrganismos maior no grupo tratado com o biopolímero, podendo fornecer uma medida indireta de que o mesmo atue como um agente que diminui o crescimento bacteriano, conforme observado no estudo de Coelho et al. em 2002, onde a película de cana-de-açúcar provavelmente determinou o controle da infecção através do efeito bacteriostático ou bactericida sobre os microrganismos.

Com o objetivo de analisar a evolução temporal da área de cicatrização das úlceras em mucosa jugal, foi realizada a documentação fotográfica e medição da área das mesmas em cm^2 . Para a análise do grau de cicatrização, o fechamento da área da lesão foi classificado em leve (0,9 a 0,6 cm^2), moderado (0,59 a 0,3 cm^2) e intenso ($\leq 0,29 \text{ cm}^2$).

A área da lesão mínima observada no grupo experimental na época D3 foi de $0,43\text{cm}^2$ e a máxima foi de $1,30\text{cm}^2$. Ao final do estudo, no D11, a lesão mínima apresentava uma área de $0,30\text{cm}^2$ e a máxima foi de $0,90\text{cm}^2$. A média da área de lesão no grupo experimental foi de $0,91\text{cm}^2$ no início do estudo e passou para $0,49\text{cm}^2$ ao final da pesquisa.

A área da lesão mínima observada no grupo controle na época D3 foi de 0,48cm² e a máxima foi de 1,36cm². Ao final do estudo, no D11, a lesão mínima apresentava uma área de 0,22cm² e a maior tinha 0,68cm². A média da área de lesão no grupo não tratado foi de 0,98cm² no início do estudo e passou para 0,42cm² ao fim da pesquisa.

Os coelhos do grupo experimental apresentaram área da lesão menor que a do grupo controle na época D3, porém, mesmo sendo observada essa diferença na área média de lesão, o teste de comparação de médias não foi significativo (p-valor = 0,664). Na época D7 a média da área do ferimento da mucosa no grupo experimental apresentou-se maior que a do grupo controle, porém, o teste não foi significativo (p-valor = 0,315) indicando que as médias da área da lesão nos dois grupos são iguais. Na época D11 a média da área de ferimento do grupo tratado voltou a ser maior que a média de área de ferimento no grupo controle (0,49 cm² e 0,42 cm², respectivamente) e, ainda, o teste foi não significativo (p-valor = 0,342) indicando que essas médias são iguais.

O percentual de coelhos do grupo experimental que apresentaram fechamento leve foi praticamente o mesmo nas fases D3 e D7 do estudo (90% e 100%, respectivamente), porém, na fase D11 esse percentual diminuiu sendo mais frequente neste momento o fechamento moderado da cicatriz (80%).

Quanto ao grupo controle, o percentual de fechamento leve da cicatriz foi muito parecido nas duas primeiras fases – D3 e D7 – (80% e 70%, respectivamente) já na terceira fase (D11) o nível de fechamento da cicatriz mais frequente foi a moderada (60% dos casos) e 20% destes coelhos nesta última fase apresentaram fechamento intenso da cicatriz.

Vizzoto Jr descreve que a microscopia ótica é um método de avaliação da evolução do processo de cicatrização utilizado com frequência em estudos experimentais. Seu valor em geral é subestimado, pois este método permite avaliação de todos os passos do processo cicatricial. O processo de reparação pode ser avaliado em cortes histológicos corados com hematoxilina-eosina (HE) por diferentes indicadores, tais como: congestão vascular, necrose da mucosa, deposição de fibrina, edema intersticial, exsudato neutrofílico, necrose transmural, atividade regenerativa da mucosa, neoformação vascular, infiltrado monomorfonuclear, proliferação fibroblástica e

fibrose intersticial. O inconveniente consta no fato de que este método é subjetivo. Noronha afirma, no entanto, que em mãos experientes, que analisem de maneira imparcial, é possível extrair dados passíveis de quantificação, fundamentais para avaliação e comparação do processo de cicatrização. Por esta razão, optou-se por adotar o escore estabelecido por ele no presente estudo, o qual permitiu uma avaliação quantitativa dos parâmetros qualitativos analisados nas lâminas.

O infiltrado neutrofílico é o principal achado histológico na fase aguda do processo cicatricial. A quantidade de neutrófilos no leito da ferida tem íntima relação com o processo de proliferação, ativação e movimentação celular, bem como, a produção de citocinas, que são as proteínas mediadoras do processo inflamatório. Os outros achados do processo inflamatório agudo, como edema intersticial e congestão vascular, têm ligação menos estreita com o processo de proliferação celular. Já o processo inflamatório crônico está associado à presença de infiltrado mononuclear, tecido de granulação e fibrose.

Ikeuchi em 2010 propôs que a fase inicial do processo cicatricial terminaria por volta do quarto dia do pós-operatório e, desta forma, a partir do quinto dia de pós-operatório, seria esperado que o infiltrado polimorfonuclear (neutrofílico) fosse menos intenso, dando lugar ao infiltrado mononuclear e aos fibroblastos.

Neste trabalho, procurou-se analisar os parâmetros histológicos quantitativos e qualitativos da cicatrização das úlceras na mucosa jugal dos coelhos por meio da quantificação da neoformação vascular, presença de neutrófilos, edema, congestão, mononuclear e fibrose.

Os dados foram classificados em acentuado, moderado, discreto e ausente, de acordo com a intensidade em que foram encontrados, e transformados em variáveis quantitativas através da atribuição de índice aos achados histológicos. O edema, a congestão e o exsudato neutrofílico foram indicativos de processo inflamatório agudo, e o tecido de granulação, a fibrose e o exsudato mononuclear foram indicativos de processo inflamatório crônico. Aos índices do processo inflamatório agudo foi atribuído sinal negativo, e aos do processo inflamatório crônico, sinal positivo. Após a atribuição dos índices, procedeu-se à somatória destes, de maneira que cada grupo de animais

teve um escore final, permitindo assim a classificação dos grupos em três fases do processo inflamatório.

Os coelhos do grupo controle apresentaram maior intensidade de neutrófilos, edema e congestão do que coelhos do grupo tratados em todas as fases do estudo, exceto no D11 em que a média do escore do edema no grupo controle foi maior que a do grupo experimental. Ainda, a presença de exsudato monomorfonuclear e a fibrose foram mais intensas no grupo experimental do que o grupo controle nas duas primeiras fases do estudo e apenas na terceira essa situação foi inversa. Com relação à neovascularização, o escore médio do grupo experimental foi maior que o do grupo tratado em todas as fases de estudo indicando que o grupo controle teve maior intensidade neste parâmetro.

A presença de processo inflamatório representa a participação das células no processo de reparação dos tecidos. Houve sinais de resposta inflamatória maior nos animais que receberam a colocação do FEEMCA do que naqueles não receberam grupo controle. No grupo experimental, observou-se a formação de um processo inflamatório à custa de polimorfonucleares, com presença de hiperplasia epitelial desde o D3 do tratamento, observando-se em contrapartida uma maior desorganização celular desde o D3 até o último dia do acompanhamento do tratamento (D11) no grupo controle.

Em relação à macroscopia das lesões, observou-se que no grupo experimental, na fase inicial uma área cruenta, com fibrina e neovascularização e a presença do biopolímero. No D7, a lesão tende a se apresentar menos úmida, fechando de forma centrípeta como o esperado, com a presença da esponja do melação de cana de açúcar. No D11, houve uma completa cicatrização da lesão com bordos elevados da úlcera e o leito da mesma completamente reepitelizado.

No grupo controle, no D3 a lesão assemelha-se macroscopicamente ao grupo experimental, no entanto, no D7 a mesma apresenta-se discretamente mais úmida e no D11, apesar de também apresentar uma tendência à cicatrização completa, pode ser observada a presença de tecido cruento discreto ainda no fundo da úlcera, fato este que corrobora com os achados microscópicos da histopatologia.

A este fato pode ser atribuída uma inferência indireta que a esponja de biopolímero contribua como um curativo biológico, acelerando o processo cicatricial, já que diminui a superfície de contato da mucosa em cicatrização com o meio externo, principalmente no caso da mucosa oral que está permanentemente exposta a traumas mecânicos, seja pela mastigação dos alimentos, no caso dos animais, como pela escovação dos dentes no caso de humanos. Coelho et. al. em 2002, observou que o biopolímero de cana-de-açúcar forma uma película estável, a qual, quando em contato com os fluidos da ferida, libera uma quantidade de açúcar capaz de concentrar o meio e ocasionar uma hiperosmolaridade, a qual é considerada como irritante e como fator positivo para o processo cicatricial por estimular a granulação. Neste estudo, verificou-se o crescimento acelerado do tecido de granulação na sua fase inicial da reepitelização ocorrendo, em média, no quinto dia após o início do tratamento com o preenchimento de todo o espaço da ferida.

Uma das preocupações do estudo era se o material permaneceria fixo no local da lesão e se exerceria sua função de curativo biológico no local da úlcera jugal. Na literatura observa-se a grande dificuldade de materiais que consigam se manter por tempo suficiente aderidos à mucosa oral, principalmente em função das características próprias das mesmas.

Vários estudos com sistemas bioadesivos para mucosa oral têm sido desenvolvidos. Wypych em 2009 descreve que muito se têm estudado para melhorar problemas de biodisponibilidade como aqueles no qual a forma farmacêutica fica por um período muito curto no sítio de absorção. As vantagens dos bioadesivos consistem na liberação controlada, sustentada e prolongada do fármaco; aumento do tempo de residência do fármaco; redução de alguns efeitos adversos e efeito de primeira passagem, além de poderem ser aplicados e removidos diretamente pelo próprio paciente.

Diante de todas estas evidências, é importante ressaltar que pode ser evidenciada a presença do biopolímero no D3 e no D7 do tratamento, enquanto ainda não havia tido a completa cicatrização da mucosa, mesmo no animal que tem por característica da espécie ser um ruminante, o que devido ao aumento do período de mastigação poderia levar uma maior mobilização do material empregado. Este fato é

de extrema importância haja vista que um dos grandes problemas no tratamento sintomático das EAR é a fixação do medicamento na lesão por tempo suficiente, já que devido ao clearance salivar, movimentos mastigatórios e a fala torna-se muito difícil o emprego de uma substância eficaz por tempo suficiente na mucosa oral. Outra vantagem da esponja de biopolímero é que esta permite a incorporação de outros medicamentos em sua composição que pode acelerar mais ainda o processo de cicatrização e alívio da dor, tendo em vista que esta é o que mais compromete a qualidade de vida do paciente.

A esponja de polissacarídeo usada neste estudo não contém medicação e funciona especificamente como uma barreira mecânica. Este estudo é importante pois mostrou a permanência da esponja de polissacarídeo na ulceração no D3 e no D7 do tratamento, justificando seu uso como uma barreira mecânica. Como também é possível adicionar drogas a este material, também pode ser usado como um sistema de “carregamento de medicação”. Neste estudo, também devemos levar em consideração que os coelhos são ruminantes, aumentando o efeito mecânico da mastigação. Este fato é extremamente importante, levando em consideração que o maior problema do tratamento sintomático da EAR é a fixação da medicação por período suficiente por conta da diluição com a saliva, os movimentos mastigatórios e da fala. Outra vantagem da esponja de polissacarídeo de melaço de cana de açúcar é que a incorporação de muitas drogas na sua composição pode acelerar o processo de cicatrização e melhora da dor, considerando que este é o aspecto que mais afeta a qualidade de vida dos pacientes.

CONCLUSÃO:

O FEEMCA pode ser utilizado como auxiliar na cicatrização do tratamento sintomático das lesões ulceradas da mucosa oral, pelo seu efeito na redução do tempo de cicatrização e isolamento dos terminais nervosos expostos.

REFERÊNCIAS

- 1.LIMA, A.A.S; GRÉGRIO A.M.T.; TANAKA, O.; MACHADO M.A.N.; FRANÇA B.H.S. Tratamento das ulcerações traumáticas bucais causadas por aparelhos ortodônticos. **Rev. Dent. Pressione Ortodon. Ortop. Facial.**; v.10 (5), p.30-36, 2005.
2. ARRUDA, E.P. **Avaliação citológica das células epteliais da mucosa bucal em contato com o aparelho ortodôntico em humanos.** 2006. Tese (Mestrado Odontologia) Universidade Católica do Paraná, Curitiba.
- 3.XIMENES FILHO, J.A.; MIZIARA, I.D.M. Estomatite Aftóide Recorrente: Atualização no tratamento. **Arquivos internacionais de otorrinolaringologia**, v. 5 (4), p.167-69,2001.
- 4.FRAIHA,P.M.;BITTENCOURT,P.G.;CELESTINO,L. Estomatite aftosa recorrente Revisão bibliográfica **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v.68, p.571-78, 2002.
5. COELHO, K.; ARAÚJO, C.S.A. Tratamento de ulcerações aftosas recorrentes: uma revisão bibliográfica. **UEPG Ci. Biol. Saúde, Ponta Grossa**, v.11 (3/4), p.39-45, 2005.
- 6.WECKY, L.L.M.; HIRATA, C.H.W.; ABREU, A.A.M.M.; FILLIZOLLA, V.C.; SILVA, O.M.P. Levamisol não previne lesões de estomatite aftosa recorrente: um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.55 (2), p.132-138,2009.
- 7.WEHBA, C.; FERNANDES, F.; OPPI, E.C. Aplicação de pomada a base de extrato de camomila* como coadjuvante na redução de sintomatologia dolorosa das lesões ulceradas de mucosa oral. **[RBM rev. bras. med.](#)**, v.65(5), p.129-132,2008.

8.GAZEL, M., FRAZÃO, M.S.V.; AVELAR, B.M.; RODRIGUEZ, T.N. Aftas orais, 2005, em http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3210, acesso em 03 jan.2012.

9.CONSQLARO A., CONSOLARO M. F. Aftas após instalação de aparelhos ortodônticos: porque isso ocorre e protocolo de orientações e condutas. **Dental Press Ortodon Ortop Facial**, v. 14(1), p.18-24, 2009.

10.PREETI,L.;MAGASH,K.T.;RAJKUMAR, K.; KARTHIK, K. Recurrent aphthous stomatitis. **J Oral Maxillofc Pathol.** , v.15, p. 252-6, 2011.

11.RANGEL, A.E.O.; AGUIAR, J.L.A.; LIMA, S.V.C.; VILAR, F. A new biomaterial for the Treatment of Vesicoureteral Reflux: Experimental Study. In: XXVIII Congreso de la Confederacion Americana de Urologia - CAU, 2006, Recife-PE. **International Brazilian Journal of Urology**. Editorial an Graphic Composition, v. 32, p.184, 2006.

12.VILAR, F.O.; LIMA, S.V.C.; AGUIAR, J.L.A. Um Novo Material para Tratamento da Incontinência Urinaria: Estudo em Ratos. In: IX Cogresso Nacional de Cirurgia Experimental, 2005, Natal. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, p.319, 2005.

13.PATERSON-BEEDLE, M.; KNENEDY, J.F.; MELO, F.A.; D. LLOYD, L.L. MEDEIROS, V. A Cellulosic Exopolysaccharide Produced from Sugarcane Molasses by a *Zoogloea sp.* **Carbohydrate Polymers**, v.42, p.375-383, 2000.

14. CASTRO, C.M.M.B.; AGUIAR, J.L.A.; MELO, F.A.D.; SILVA, W.T.F.; MARQUES, E.; SILVA, D.B. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. **An. Fac. Med. Univ. Fed. Pernamb.** Recife, v.49(2), p.119-123, 2004.

15.UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. SÃO PAULO. Em: http://www.foar.unesp.br/Atlas/Res_mucosa_bucal.htm. Acesso em: 03 jan. 2012.

16.MARTINEZ, K.O; MENDES, L. L., ALVES, J.B. Imunoglobulina A secretora, proteínas totais e fluxo de saliva nas ulcerações aftosas recorrentes., **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v.73 (3), p.323-328, 2007.

17.LIMA, K.S.; PRESSI, S. **O uso da microgalvanopuntura no tratamento de estrias atróficas: análise comparativa do trauma mecânico e da microcorrente.** 2005. Tese (Monografia para grau de Fisioterapeuta). Faculdade de Educação Física e Fisioterapia da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.

18.UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. CAMPINAS. PATOLOGIA GERAL - DB-301, UNIDADE II, FOP/UNICAMP/ ÁREA DE PATOLOGIA- SEMIOLOGIA, em: http://www.fop.unicamp.br/ddo/patologia/downloads/db301_un4_Reparacao.pdf. Acesso em 03 jan. 2012.

19.PIAZZA, J.L.; SANT'ANA, M. Estudo comparativo entre técnicas de sutura em mucosa oral de coelhos. **R. Fac Odontol.**, v.42(1), p. 3-8, 2001.

20.COELHO, M.C.O.C.; CARRAZONI, P.G.; MONTEIRO, V.L.C.; MELO, F.A.D.; MOTA, R.; TENÓRIO FILHO, F. Biopolímero produzido a partir da cana-de-açúcar para cicatrização cutânea. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.17(1), p.1-7, 2002.

21.FAVARO, DM.; MARTINS, G. Ulceração aftosa recorrente em crianças: revisão. **Rev. de Clín. Pesq. Odontol.**, v.1(3), p 43-9, 2005.

22.ZANATTA, D.; MELLER, G.T.; GALVAN ,J.M.; VITOR, R. **Polímeros Biodegradáveis.** 2008. Monografia. Centro tecnológico- Departamento de engenharia química e engenharia de alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina/ Florianópolis.

23. BERWANG, A.L.S.; SCAMPARINI, A.R.S.; DOMINGUES, N.M.; VANZO, L.N.; TREICHE, H.; PADILHA, F.F. Produção de biopolímero sintetizado por *shingomonas*

capsulata a partir de meios industriais. **Ciênc. agrotec. Lavras.** v.31(1), p.177-183, 2007.

24. BARSAN, M.F.; BITAR, R.C.; MAZZER, N.; BARBIERE, C.H.; NETO, J.B. Reação tecidual induzida pelos implantes de silicone e de polímero da mamona usados como espaçadores de tendão: estudo experimental comparativo. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 38 (5), p.291-300,2003.

25. AGUIAR, J.L.A.; LINS, E.M.; MARQUES, S.R.B.; COELHO, A.R.B.; ROSSITER, R.O.; MELO, R.J.V. Membrana de biopolímero de cana-de-açúcar como remendo em arterioplastias femorais de cães. **Acta Cir. Bras.**, v.22, supl 1, p.77-81, 2007.

26.FALCÃO, S.C.; EVÊNCIO NETO, J.; COELHO, A.R. Incorporation by host tissue of two biomaterials used as repair of defects produced in abdominal wall of rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.23, p.78-83, 2008.

27.MARQUES, S.R.B. **Um novo substituto vascular: Estudo experimental com biopolímero da cana-de-açúcar.** 2006. Tese (Professor Titular), Universidade Federal de Pernambuco - Centro de Ciências da Saúde- Departamento de Cirurgia, Recife..

28.TUBARO, [A.](#); [ZILLI, C.](#); [REDAELLI, C.](#); [LOGGIA, R.D.](#) Evaluation of antiinflammatory activity of a chamomile extract after topical application. **Planta Med.**, v.50(4), p.359,1984.

29.MILLER, T.; WITTSTOCK, U.; LINDEQUIST, U.; TEUSCHER, E. Effects of some components of the essential oil chamomila of *Chamomilla recutita*, on histamine release from rat mast cells. **Planta Med.**, v.62(1), p. 60-61,1996.

30. AMORIN, W.L.; COSTA, H.O.; SOUSA, F.C.; CASTRO, M.G.; SILVA L. Estudo experimental da resposta tecidual à presença de celulose produzida por *Acetobacter*

xylinum no dorso nasal de coelhos. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v.75 (2), p.200-07, 2009

31.MARTIN, M.D.; SHERMAN J .; VAN DER VEM, P.; BURGESS J. A controlled trial of a dissolving oral patch concerning glycyrrhiza (licorice) herbal extract for the treatment of aphthous ulcers. **Gen Dent.**, v.56 (2), p.206-10, 2008.

32.MOGHADAMNIA A.A., MOTALLEBNEJAD M., KHANIAN M. The efficacy of the bioadhesive patches containing licorice extract in the management of recurrent aphthous stomatitis. **Phytother Res.**, v.23(2), p.246-50, 2009.

33.KUTCHER,[M.J.](#); LUDLOW,[J.B.](#); SAMUELSON,[A.D.](#); CAMPBELL,[T.](#); [PUSEK,S.N.](#) . Evaluation of a bioadhesive device for the management of aphthous ulcers. [Am Dent Assoc.](#), v.132 (3), p.368-76, 2001.

34.BABAEE,N.; MANSOURIANM,U.M.;MOMEN-HEVARIM,F.; MOGHADAMIA,U.M.; MOMEN-BEITOLLAHI,J. The efficacy of a paste containing *Myrtus communis* (Myrtle) in the management of recurrent aphthous stomatitis: a randomized controlled trial. [Clin Oral Investig.](#), v14 (1), p.65-70, 2009.

35.VIZOTTO JR, A.O.; NORONHA, L.; SCHEFFEL, D.L.H., CAMPOS, A.C.L. Influência da cisplatina administrada no pré e no pós-operatório sobre uma cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. **J. Bras. Patol. Med. Laboratório**, v.39(2), p.143-149, 2003.

36.IKEUCHI [D](#) , ONODERA,[H.](#); [AUNG, T.](#); [KAN, S.](#); KAWAMOTO,[K.](#) ; [MAETANI, S.](#) . Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomosis. **Dig. Surg.**, v.16, p. 478-85, 1999.

37.WYPYCH, T.C. **Desenvolvimento e avaliação de sistemas bucoadesivos contendo diclofenaco sódico.** 2009. Tese (Mestre Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8940 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Recife, 20 de outubro de 2011.

Ofício nº 410/11

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Profª. Fernanda Mossumez Fernandes Teixeira**
Departamento de Cirurgia Experimental
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.043729/2011-53

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **“Uso membrana do bioplímero de cana de açúcar como auxiliar no tratamento sintomático da estomatite aftosa recorrente-Estudo experimental”**.

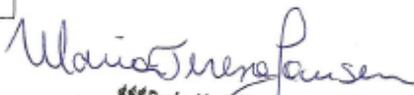
Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Associação pernambucana dos criadores de coelho; Animais: Coelhos; Linhagem: Nova Zelândia; Sexo: Machos; Idade: Adultos jovens; Peso: 2,5 a 3 Kg; Número de animais previsto no protocolo: 20 animais.

Atenciosamente,


Prof. Maria Teresa Jansen
Presidente da CEUA
UFPE