

UNIVERSIDADE DE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EFEITOS DA APLICAÇÃO TÓPICA DO ÓLEO DE AVESTRUZ (*Struthio camelus*,
Linnaeus, 1758) E ÓLEO DE AVESTRUZ OZONIZADO NO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS DA LINHAGEM *Wistar***

BRUNO ANDREATTA MARINO

VILA VELHA - ES
MAIO / 2013

UNIVERSIDADE DE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EFEITOS DA APLICAÇÃO TÓPICA DO ÓLEO DE AVESTRUZ (*Struthio camelus*,
Linnaeus, 1758) E ÓLEO DE AVESTRUZ OZONIZADO NO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS DA LINHAGEM *Wistar***

Dissertação apresentada à
Universidade de Vila Velha, como
pré-requisito do Programa de Pós-
graduação em Ciências
Farmacêuticas, para a obtenção do
título de Mestre em Ciências
Farmacêuticas.

BRUNO ANDREATTA MARINO

VILA VELHA – ES
MAIO / 2013

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

M339e Marino, Bruno Andreatta.

Efeitos da aplicação tópica do óleo de avestruz (*Struthio camelus*, Linnaeus, 1758) e óleo de avestruz ozonizado no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos da linhagem Wistar / Bruno Andreatta Marino. – 2013.

74 f. : il.

Orientador: Vinícius Ricardo Cuña de Souza.

Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Vila Velha, 2013.

Inclui bibliografias.

1. Cicatrização de feridas. 2. Ozônio. 3. Óleos e gorduras – uso terapêutico. I. Souza, Vinícius Ricardo Cuña de. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 615.53

BRUNO ANDREATTA MARINO

EFEITOS DA APLICAÇÃO TÓPICA DO ÓLEO DE AVESTRUZ (*Struthio camelus*,
Linnaeus, 1758) E ÓLEO DE AVESTRUZ OZONIZADO NO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS DA LINHAGEM WISTAR

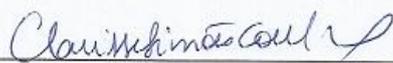
Dissertação apresentada à
Universidade de Vila Velha, como
pré-requisito do Programa de Pós-
graduação em Ciências
Farmacêuticas, para a obtenção do
título de Mestre em Ciências
Farmacêuticas.

Aprovada em 29 de maio de 2013

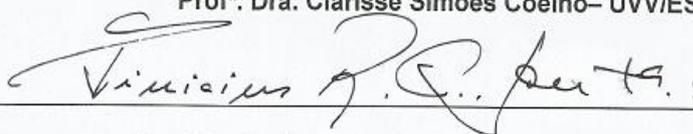
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Dominik Lenz – UVV/ES



Prof.ª. Dra. Clarisse Simões Coelho – UVV/ES



Prof. Dr. Vinícius Ricardo Cuña de Souza – UVV/ES
Orientador

A **Deus** que deu me deu força e equilíbrio para concluir mais essa etapa importante na minha formação profissional.

A meus pais, **Itamar e Ângela** por sempre acreditar em mim e me incentivar a lograr os meus objetivos mesmo diante das dificuldades.

Aos meus **Avós**, em especial ao “**vovô Ivo**” que mesmo muito enfermo demonstra sabedoria, perseverança e luta pela vida. Tenha força e confie em Deus que tudo vai dar certo!

A minha esposa, **Daniela** pelo companheirismo, carinho e compreensão para confecção deste trabalho tão importante para minha carreira acadêmica.

AGRADECIMENTO

Ao professor orientador **Prof.Dr. Vinicius Ricardo Cuña de Souza** e sua esposa **Prof^a. Dra. Clárisse Simões Coelho** pelo apoio, paciência, confiança, ensino, atenção e ajuda durante todo o período do experimento. Muito obrigado, e que Deus possa abençoar você e sua família!

A **Prof^a. Mayra Cunha Flecher**, pela imensa ajuda na leitura das lâminas. Agradeço de coração.

Aos **professores do mestrado** pelo ensinamento e orientação nesta nova etapa acadêmica.

Aos **colegas do mestrado**, pela compreensão e ajuda nos momentos difíceis da vida.

Ao meu amigo **Rogério Zucolloto**, pelo incentivo e apoio nesta caminhada.

Ao funcionário do biotério da Universidade Vila Velha **Mário Sérgio Wanzeller** pela amizade e ajuda no cuidado os animais.

Ao funcionário do laboratório da patologia veterinária, **Carlos Roberto Marcos** pela confecção das lâminas da biópsia.

Aos meus coordenadores do curso de medicina **Prof. Dr. Rogério Rezende e Prof. Dr. Anabel Rodrigues** que me incentivaram no ingresso do curso de mestrado.

Ao aluno do curso de veterinária **Gabriel de Carvalho Vicente** pela sua disponibilidade em ajudar no experimento.

A aluna do curso de veterinária **Jéssica Miranda Costa** pela a sua atenção e envolvimento no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao secretário do mestrado **Edson Rodrigues Pereira Filho** sempre pronto ajudar!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Estrutura da pele e seus anexos.....	17
Figura 2:	A epiderme e suas subcamadas.....	19
Figura 3:	Fotomicrografia da pele grossa da região plantar do pé.....	20
Figura 4:	Esquema da migração dos leucócitos.....	22
Figura 5:	Etapas da cicatrização de feridas por primeira e segunda intenção.....	24
Figura 6:	Distribuição das ratitas.....	26
Figura 7:	Imagens fotográficas da amostra do óleo de avestruz ozonizado.....	28
Figura 8:	Produção e destruição catalítica do ozônio	31
Figura 9:	Posição da Camada de ozônio na atmosfera	32
Figura 10:	Ações biológicas do ozônio	33
Figura 11:	Imagens fotográficas do grupo controle (GC) nos dia 3, 7, 14 e 21	46
Figura 12:	Imagens fotográficas do grupo óleo de Avestruz Puro (GP) nos dia 3, 7, 14 e 21.....	46

Figura 13:	Imagens fotográficas do grupo óleo de Avestruz ozonizado (GO) nos dia 3, 7, 14 e 21.....	46
Figura 14:	Imagens fotográficas ilustrando os cortes histológicos das biópsias das feridas tratadas com solução fisiológica (NaCl 0,9%) (A) e com óleo de avestruz puro (B), óleo de avestruz ozonizado (C) no 7º dia.....	49
Figura 15:	Imagens fotográficas ilustrando os cortes histológicos das biópsias das feridas tratadas com solução fisiológica (NaCl 0,9%) (A) e com óleo de avestruz puro (B), óleo de avestruz ozonizado (C) no 14º dia.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 2:	Valores médios e desvios-padrão das áreas de cicatrização entre feridas do grupo controles (GC), grupo óleo de avestruz puro (GP) e do grupo óleo avestruz ozonizado (GO) induzidas experimentalmente em ratos.....	48
------------------	---	----

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

km	Quilômetro
cm	Centímetro
mm²	Milímetro quadrado
mL	Militro
mg	Miligrama
kg	Quilograma
L	Litro
A	Área
R	Raio maior
r	Raio menor
g	Gramma
DP	Desvio padrão
H&E	Hematoxilina- eosina
μL	Micro litro
O	Átomo de oxigênio

mm	Milímetro
O₃	Ozônio
O₂	Oxigênio
Redox	Reação de oxigênio e redução
NaCl	Cloreto de sódio
°C	Grau Celsius
®	Marca registrada
%	Porcentagem
ppm	Parte por milhão
h	Hora
+-	Desvio padrão
π	Pi
ABOZ	Associação Brasileira de Ozonoterapia
CEUA	Comissão de Ética, Bioética e Bem Estar Animal
CIO	Centro de Investigaciones del ozonio
LAE	Laboratório de Acompanhamento Experimental
SBI	Sociedade Brasileira de Infectologia

SUS Sistema Único de Saúde

UVV Universidade Vila Velha

RESUMO

MARINO, Bruno, M.Sc., Universidade Vila Velha - ES, maio de 2013. **Efeitos da Aplicação Tópica do Óleo de Avestruz (*Struthio camelus*, Linnaeus, 1758) e Óleo de Avestruz Ozonizado no Processo de Cicatrização de Feridas Cutâneas em Ratos da Linhagem Wistar.** Orientador: Vinícius Ricardo Cuña de Souza.

O Avestruz é uma das espécies animais ainda viva mais antiga em nosso planeta. Dados recentes nos dão conta que sua relação com o homem data mais de 5.500 a.C. Algumas civilizações antigas, já utilizavam o óleo de avestruz no tratamento de várias afecções dermatológicas. O presente trabalho avaliou o processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos machos da linhagem Wistar após tratamento tópico com óleo de avestruz (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) e óleo de avestruz ozonizado. Para tal, foram confeccionadas feridas cirúrgicas no dorso de 24 ratos com idade entre 16-20 semanas, divididos em 3 grupos: grupo controle (CG), tratado com solução fisiológica (NaCl 0,9%); grupo óleo puro (GP), tratado com 500 µL óleo de avestruz, e grupo óleo ozonizado (GO), tratados com 500 µL óleo de avestruz ozonizado. Logo, as feridas foram tratadas e acompanhadas diariamente durante 21 dias e nos dias 3, 7, 14 e 21 foram feitas avaliações macroscópicas com mensuração de área e a seguir extraíram-se fragmentos de tecidos para análise histopatológica. Os resultados demonstraram uma redução significativa da área da ferida para os grupos controle e experimentais ($p < 0,0001$). Na comparação entre os momentos para os diferentes tratamentos, ocorreram diferenças significativas na área das feridas no sétimo dia ($p = 0,0011$) e no 14º dia de avaliação ($p < 0,0001$). Nos demais momentos não ocorreram diferenças significativas, $p = 0,2297$ no dia 3 e $p > 0,9999$ no 21º dia. Além disso, o grau de contração registrado nas feridas de todos os grupos foi de 100%. Já a avaliação histológica evidenciou maior tecido de granulação e neoformação conjuntiva nos grupos óleo de avestruz puro e principalmente no ozonizado. Portanto, diante dos resultados encontrados nos permite concluir que uso tópico do óleo de avestruz e óleo de avestruz ozonizado demonstrou ser satisfatório no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos.

Palavras chaves: Pele, cicatrização, óleo de avestruz, oxigênio/ozônio terapia.

ABSTRACT

MARINO, Bruno, M.Sc., University of Vila Velha - ES, may of 2013. **Effects of Topical Application of Ostrich (*Struthio camelus linnaeus*, 1758) oil and Ostrich Ozonized Oil on the Healing Process of Cutaneous Wounds in *Wistar* Rats Line.** Professor for guidance: Vinícius Ricardo Cuña de Souza.

The Ostrich is a species of animals still alive oldest on our planet. Recent data realize that his relationship with the man data over 5.500 BC. Some ancient civilizations have used the ostrich oil in the treatment of various skin disorders. This study evaluated the healing of skin wounds in male *Wistar* rats after topical treatment with ostrich oil (*Struthio camelus Linnaeus*, 1758) and ozonated ostrich oil. To this end, surgical wounds were made on the back of 24 rats aged 16-20 weeks, divided into 3 groups: control groups (CG), treated with saline (0,9 % NaCl); pure oil ostrich groups (GP), treated with 500 µL ostrich oil and ozonated oil group (GO), treated with 500 µL ostrich oil ozonated. Soon, the wounds were treated and monitored daily for 21 days and days 3, 7, 14 e 21 were evaluated macroscopic with measurement area and then extracted fragments of tissue for histopathological analysis. The results demonstrated a significant reduction in the wound area for control and experimental groups ($p < 0, 0001$). Comparing the times for the different treatments, significant differences in the wound area on the seventh day ($p = 0, 0011$) and day 14 evaluation ($p < 0, 0001$). In other moments, there were no significant differences, $p = 0, 2297$ at day and $p > 0, 9999$ on day 21. Furthermore, the degree of contraction recorded in the wounds of all groups was 100%. As for histological evaluation showed greater newly formed granulation tissue and conjunctiva groups ostrich oil pure and especially in ozonated. Therefore, before the results allows us to conclude that topical oil ostrich and ostrich oil ozonated proved satisfactory healing of skin wounds in rats.

Keywords: skin, scarring, ostrich oil, oxygen / ozone therapy

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELA

LISTA DE ABREVIações & SIGLAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 A pele.....	17
2.1.1. Anatomia da pele	17
2.1.2 Etiopatogênese geral das Lesões.....	20
2.1.4 Resposta inflamatória.....	20
2.1.4 Ferida.....	22
2.1.5 Cicatrização de feridas.....	23
2.2 O Avestruz.....	25
2.2.1 História do Avestruz.....	25
2.2.2 Características gerais.....	25
2.2.3 Comercialização.....	27
2.2.4 O óleo de Avestruz.....	28
2.3 O ozônio.....	29
2.3.1 História do ozônio.....	29
2.3.2 Propriedades física químicas.....	30
2.3.3 Ozonioterapia.....	32
3. OBJETIVOS.....	35
3.1 Objetivo geral.....	35
3.2 Objetivos específicos.....	35
4. ENCARTE DE PUBLICAÇÃO.....	36
5. CONCLUSÃO.....	57
6. REFERÊNCIAS.....	57
ANEXOS	

1. INTRODUÇÃO

A compreensão do processo de cicatrização e o desenvolvimento de novas alternativas no tratamento de feridas cutâneas são de suma importância na medicina veterinária, em função da alta frequência de atendimento a animais acometidos por lesões de diferentes tipos e origens. (SIMAS, 2010)

Logo, a definição de uma conduta terapêutica depende de uma avaliação criteriosa da ferida a fim de determinar sua natureza, localização, extensão e profundidade da lesão, bem como os fatores intrínsecos e extrínsecos. (DEALEY, 2008) Além disso, reavaliações periódicas se fazem necessárias, visto que o tratamento das feridas cutâneas é dinâmico e depende, a cada momento, da evolução das fases de cicatrização. (BRYANT, 1992; DEALEY, 2008)

A cicatrização é um processo complexo caracterizado por uma seqüência de eventos que se inicia com o trauma e termina com o fechamento completo e organizado da ferida com tecido cicatricial. (SCEMONS et al, 2011) Do ponto de vista morfológico identificam-se na cicatrização três fases consecutivas e/ou simultâneas, como a inflamação, proliferação, formação e remodelamento dos tecidos. (GOLDMAN; AUSIELLO; CECIL, 2009)

Entretanto, alguns fatores podem afetar o processo de reparação tissular, de forma a retardar a resolução deste. Esses fatores se dividem em sistêmicos como a idade, hábitos de vida, estado nutricional, mobilidade, medicações, vasculopatias, outras doenças de base; e locais como a presença de infecção, tecido necrótico, local do ferimento entre outros. (DEALY, 2008; BRASILEIRO, 2011)

Em virtude disso, desde os primórdios da humanidade, o homem sempre tem buscado alternativas para tratamento de suas feridas cutâneas. Diversos produtos e terapias têm sido empregados ao longo dos séculos objetivando melhorar os resultados cicatriciais em menor tempo possível. (DEALEY, 2008)

Atualmente, várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de validar cientificamente a utilização de plantas medicinais e outros produtos naturais no tratamento de feridas cutâneas, visto que estes são aplicadas de forma empírica, baseada apenas no conhecimento popular. (BRASIL, 2009)

O óleo de girassol, por exemplo, muito utilizado no tratamento de feridas cutâneas vem sendo alvos de vários estudos, e se tem comprovado cientificamente o seu grande valor no processo de cicatrização como demonstrou Marques et al (2004) e Rocha et al (2004) em seus experimentos com ovelhas e ratos, respectivamente.

Em outra pesquisa, Whitehouse et al (1998), verificou que o óleo de Emu, ave do grupo das Ratitas, muito utilizado pelos aborígenas na Austrália no tratamento de feridas cutâneas, apresenta excelente ação cicatrizante e anti inflamatória.

Já Zimmer et al (2006) ,demonstrou que o óleo extraído a partir das glândulas retais de grilos muito utilizado na medicina chinesa apresenta um importante papel cicatrizante.

Além disso, na atualidade há também uma crescente utilização do ozônio medicinal no tratamento de diversas patologias. Em se tratando de feridas cutâneas, o ozônio tópico tem se mostrado o meio mais adequado, visto sua facilidade de armazenamento e manipulação, além de manter suas propriedades germicidas, reguladoras do metabolismo, moduladoras do sistema imune, angiogênicas entre outras. (BOCCI et. al, 2011; CEPERO et al., 2008)

Algumas pesquisas apontam que o óleo extraído de plantas quando ozonizado tem mostrado bons resultados no processo de cicatrização de feridas. (Amany et al, 2011; SCEMONS et al, 2011) Um estudo realizado por KIM et al referem o uso do óleo de oliva ozonizado no tratamento de ferida e relata que obteve um resultado rápido e eficaz com a ozonioterapia.

O Avestruz (*Struthio Camelus sp.*) é uma ave natural do continente africano pertencentes ao grupo das Ratitas.(PORTELA, 2005) Há séculos, o seu óleo tem sido utilizado de forma empírica pelos egípcios, romanos e africanos no tratamento de várias afecções dermatológicas. (WHITEHOUSE et al, 1998; PALANISAMY et al, 2011)

Porém, são poucos as pesquisas científicas envolvendo o óleo de avestruz com intuito de se comprovam sua ação antiinflamatória, antimicrobiana, analgésica e cicatrizante (WHITEHOUSE et al, 1998; PALANISAMY et al, 2011). Além disso, no

que se referem a este óleo quando ozonizado são mais raros ainda os estudos na literatura pesquisada que respaldam essa terapia.

Logo, este presente estudo teve por objetivo avaliar o processo de cicatrização de feridas cutâneas induzidos em ratos da linhagem *Wistar* após tratamento tópico com óleo de avestruz puro e óleo de avestruz ozonizado

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A pele

2.1.1. Anatomia da pele

A pele, *cútis* (lat. *cutis*) ou tegumento, representa 15% do peso corpóreo, forma o revestimento e confere proteção ao organismo contra agentes biológicos, físicos e químicos (PORTO, 2009; GENESER, 2000). Está em perfeita harmonia com todo o organismo, servindo como um excelente indicador de saúde geral de um indivíduo (MOORE & DALLEY, 2007). Sua função primordial é a proteção, entretanto, ela tem várias outras funções como de barreira contra perda de água, termorregulação, resposta imunológicas, secreção de resíduos e sensação (GOLDMAN; AUSIELLO; CECIL, 2009).

A pele é formada por duas porções bem distintas: uma porção epitelial de origem ectodérmica, a epiderme, e uma porção conjuntiva de origem mesodérmica, a derme. Logo abaixo, esta a hipoderme que apesar da mesma origem embriológica que esta última, não faz parte da pele, servindo apenas como suporte e união com os órgãos subjacentes (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008) Figura 1.

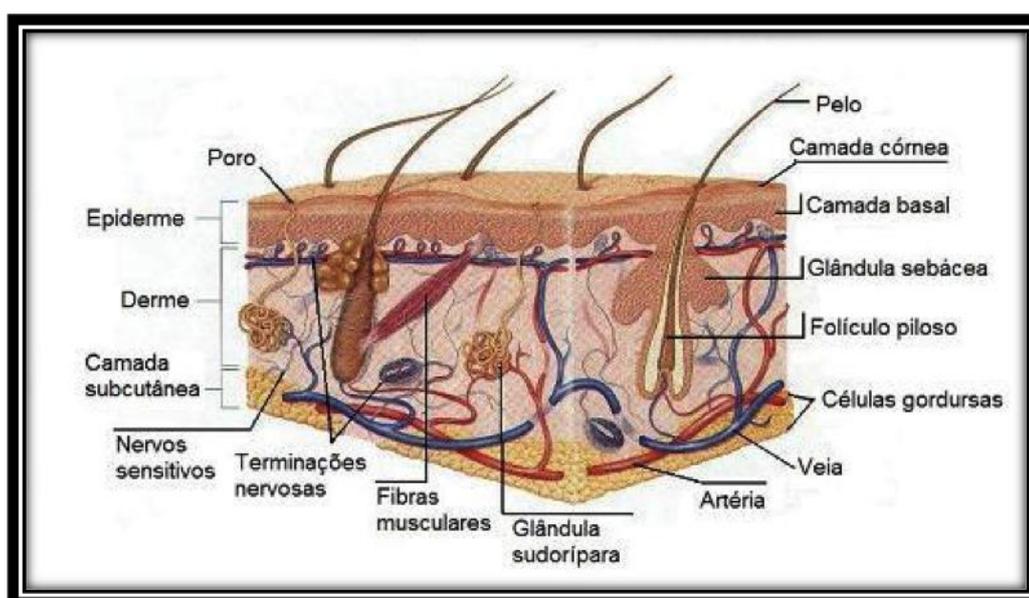


Figura 1. Estrutura da pele e seus anexos. Fonte: JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008.

A epiderme (lat. *e*pi, sobre; gr. *derma*,pele), a porção mais externa da pele, é constituída por um epitélio pavimentoso queratinizado cuja função principal é conferir proteção contra ação lesiva do meio, assim como a perda de líquidos (GENESER, 2000). Nela estão presentes várias células com características e funções diferentes. Os queratinócitos, por exemplo, são as células mais abundantes e importantes da epiderme que possuem em seu interior filamentos protéicos de queratina (lat. *queras*, corno) e sofrem diferenciação epidérmica. Os melanócitos ou células claras de Masson são células dendríticas que produzem e secretam o pigmento melanina (gr. *melas*, negro), conferindo a coloração da pele, além de exercer também uma importante função protetora contra os raios ultravioleta (PORTO, 2009; GENESER, 2000; GOLDMAM; AUSIELLO; CECIL, 2009). As células de Langerhans são células dendríticas apresentadoras de antígenos que fazem parte do sistema imunitário. Por fim, as células de Merkel são células sensitivas envolvidas no processo de mecanoreceptor (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008; PORTO, 2009).

Além disso, a epiderme pode ser subdividida em cinco camadas bem distintas: (1) A camada basal ou germinativa, constituída por células cubóides ou prismáticas situando-se sobre uma membrana basal que separa a epiderme da derme. Apresenta intensa atividade mitótica, sendo, portanto a principal responsável pela proliferação celular; (2) camada espinhosa, formada por células poliédricas que se unem através de finos filamentos – o desmossoma, tendo uma função na manutenção da coesão da epiderme e na sua resistência ao atrito; (3) camada granulosa, constituída por células poligonais achatadas, com núcleo central e grânulos de querato-hialina e substância fosfolipídicas, que tem por função a impermeabilização da água e contribui para resistência; (4) camada lúcida, constituída por uma fina camada de células achatadas, eosinófilas, cujas estruturas do seu interior sofreram um processo enzimático e desapareceram e; (5) camada córnea, formada por células achatadas, mortas e sem núcleo; localizando-se na superfície da pele e tendo como função evitar a perda de água para o meio, assim como resistir a penetração de organismos e toxinas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008; PORTO, 2009) (Figura 2).

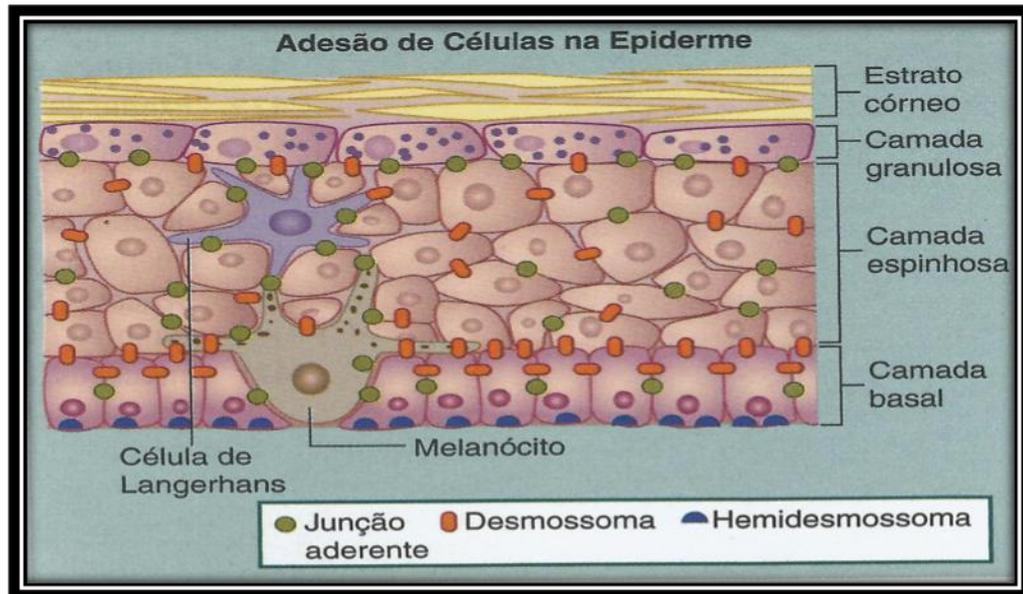


Figura 2. Epiderme. Fonte: GOLDMAN, et al ,2009.

A derme (gr. *derma*, pele) corresponde a um tecido conjuntivo composto por proteína e mucopolissacarídeos, que se localiza abaixo da epiderme. Possui uma superfície externa irregular, onde se observam saliências que acompanham as reentrâncias da epiderme. Essas saliências são chamadas de papilas dérmicas e tem por função aumentar a área de contato com a epiderme e assim, trazer maior resistência a zonas de alta pressão ou atritos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008; GENESER, 2000).

A derme é também subdividida em duas camadas bem distintas: a camada papilar, mais delgada e corresponde a porção mais externa, formada por tecido conjuntivo frouxo rico em fibrilas de colágeno (Tipo III) e que tem função de prender a derme à epiderme; e a reticular, que é mais espessa, sendo formado por um tecido conjuntivo denso rico em fibrilas elásticas e grossas fibras colágenas (Tipo I) (Figura 3). Além disso, na derme são encontrados vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, pêlos, unha, glândulas sebáceas e sudoríparas, bem como, diferentes tipos de células, incluindo mastócitos, fibroblastos e fibrócitos, macrófagos e leucócitos, particularmente neutrófilos, eosinófilos, monócitos e linfócitos. Ela tem várias funções como: fornecer suporte, resistência, oxigênio e sangue a pele (GENESER, 2000).

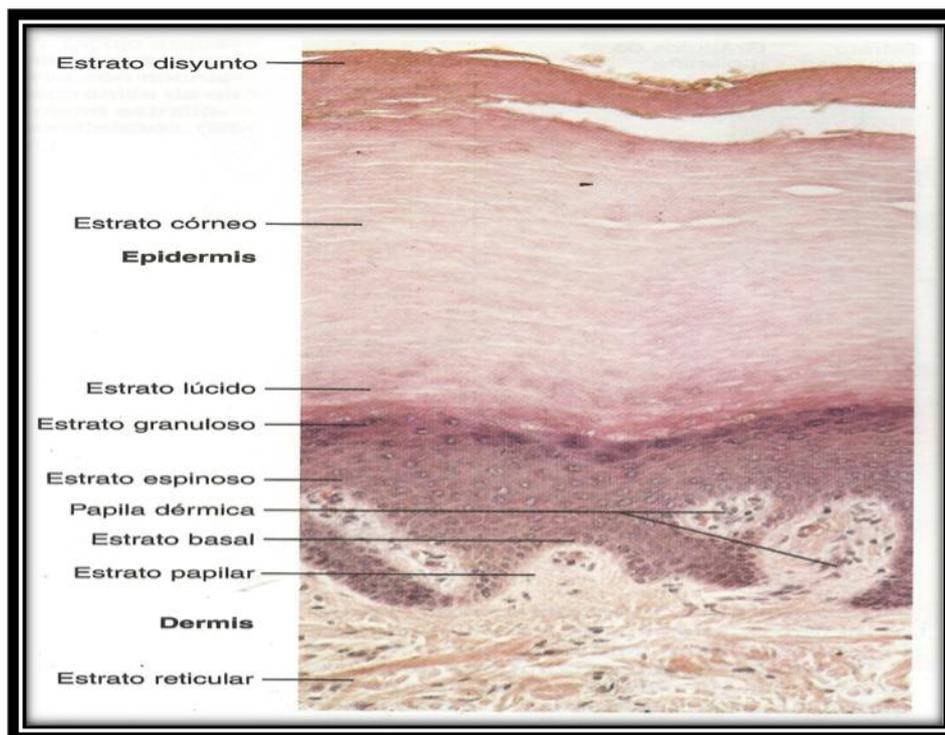


Figura 3. Fotomicrografia da pele grossa da região plantar do pé.
Fonte: GENESER, 2000.

2. 1. 2 Etiopatogênese geral das lesões cutâneas

As lesões celulares podem ser causadas por diversos fatores como agentes físicos, químicos, biológicos, resposta imunológicas, distúrbios genéticos, desequilíbrio nutricionais entre outros. Além disso, elas podem ser reversíveis ou irreversíveis. Isso irá depender da natureza do estímulo, sua intensidade, tempo de ação bem como a capacidade de reagir do organismo (BRASILEIRO, 2011).

2.1.3 Resposta inflamatória

Inflamação ou flogose (do latim *inflamare* e do grego *phlogos*, que significa pegar fogo) consiste em uma reação dos tecidos ante um agente agressor caracterizada pelo extravasamento de líquidos e de células do sangue para o interstício. Seus principais sinais e sintomas são calor, rubor, tumor, dor e perda da função (BRASILEIRO, 2011).

De acordo com BRASILEIRO (2011), a inflamação pode ser dividida em vários fenômenos (irritativos, vasculares, exsudativos, alterativos, resolutivos e reparativos) que ocorrem de modo sucessivo e/ou simultâneo. Sendo assim, esse processo se inicia quando o agente inflamatório carrega ou promove a síntese de PAMP

(pathogen associated molecular pattern) ou induz o tecido a liberar moléculas sinalizadoras de agressão (alarminas), as quais induzem a liberação de outras moléculas (mediadores da inflamação). Em seguida em consequência da liberação destes mediadores inflamatórios (ação curta – serotonina e histamina e de ação prolongada - prostaglandina, leucotaxina, bradicinina), ocorrem modificações hemodinâmicas (vasodilatação arteriolar e venoconstrição) e reológicas da microcirculação. Logo, com essas alterações vasculares, ocorre aumento da permeabilidade vascular e, por conseguinte saída de plasma que pode ser pobre ou rico em proteínas (inflamações serosas e fibrinosas, respectivamente) e de células fagocitárias como polimorfonucleares (neutrófilos e eosinófilos - primeiros a chegarem e atingem pico máximo após 24 a 48 horas do trauma) e posteriormente os mononucleares (monócitos que posteriormente se transformam em macrófagos no tecido) durante 2º e 3º dia. A seguir, os macrófagos presentes ativam os elementos celulares como fibroblastos e células endoteliais. Vale ressaltar, que esse processo de migração celular do sangue para o tecido (diapedese) se deve a vários fatores quimiotáticos que as atraem e induzem mudanças em suas estruturas celulares (Figura 4). Portanto, o mecanismo migratório é de fundamental importância nesta fase da inflamação, pois os fagócitos são células altamente especializadas em fagocitose, digestão intracelular e capacidade em eliminar células e microrganismo. A continuar, alterações (degenerações e necrose) teciduais ocasionadas por ação direta ou indireta do agente inflamatório podem aparecer tanto no início como no transcorrer de uma inflamação. Além disso, desde o início do processo inflamatório surgem os mecanismos anti-inflamatórios naturais locais (apoptose de células do exsudato e alteração comportamental desta como agente anti-inflamatório quando não ocorrem modificações nos receptores das células do exsudado e do tecido, geração local de mediadores anti-inflamatório - resolvinas, lipoxinas dentre outros) e sistêmicos (ACTH, endorfinas, glicocorticoides entre outros) que neutralizam o efeito dos fatores pró-inflamatórias e que irão determinar a progressão para cura com a restituição integralidade anatômica e funcional, cicatrização, encistamento e calcificação ou cronificação (BRASILEIRO, 2011; ROBBINS & COTRAN, 2010).

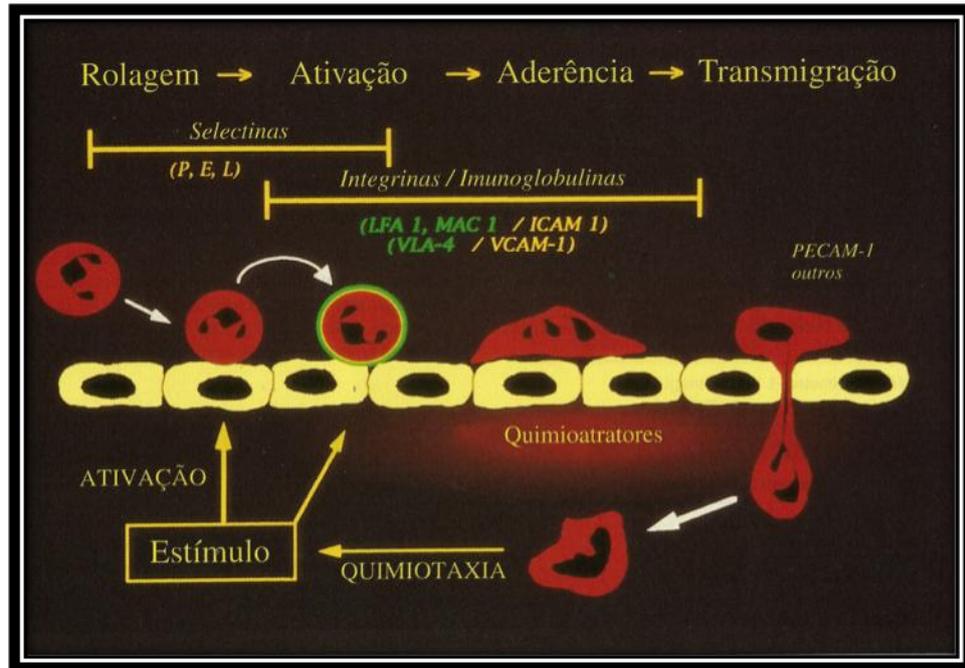


Figura 4. Esquema da migração (diapedese) dos leucócitos (neutrófilos).
Fonte: ROBBINS & COTRAN, 2010.

Do ponto de vista cronológico, a inflamação pode ser aguda, ou seja, quando o processo de eliminação da causa e do mecanismo de resolução não ultrapassa 12 semanas, e crônica quando o organismo não consegue eliminar a causa e a inflamação perdura por mais de 6 meses. Neste último caso, ocorre infiltrado de células mononucleares (macrófagos, plasmócitos e linfócitos), destruição tecidual e reparo da área lesada com tecido conjuntivo e proliferação de pequenos vasos sanguíneos. Além disso, ela pode variar de acordo com sua extensão, podendo ser local ou sistêmica (BRASILEIRO, 2011).

2. 1. 4 Ferida

Ferida (lat. *Ferire*) consiste no rompimento da estrutura e da função anatômica normal do tegumento (SCMONS et al., 2011). Elas podem ser classificadas de acordo com suas causas (GOMES et al., 2005; DEALEY, 2008):

- Feridas Ulcerativas: são lesões circunscritas, escavadas, com perda de tecido decorrente de traumas ou doenças que interferem no suprimento de sangue. Por exemplo; são aquelas que ocorrem em consequência de:
 - Diabetes Mellitus;
 - Insuficiência Venosa Crônica;
 - Lúpus Eritematoso;

- Feridas Traumáticas: são lesões provocadas de forma acidental por agentes:
 - Mecânicos (Cortes, perfurações etc.)
 - Físicos (Frio, Calor, etc.)
 - Químicos (Ácidos, Iodo, etc.)
- Feridas Operatórias: são lesões provocadas de forma intencional. E podem ser:
 - Incisa: não tem perda de tecido e as bordas são de fácil sutura;
 - Excisa: ocorre remoção de uma área de pele;
 - Cirurgias e procedimentos diagnóstico-terapêutico.

Quanto à microbiota, as feridas podem ser classificadas como:

- Limpa: condições assépticas, ou seja, sem microorganismo;
- Limpas – contaminadas: lesão inferior a 6 horas e sem contaminação significativa;
- Contaminadas: lesão ocorrida com tempo maior que 6 horas, presença de contaminação e sem sinal de infecção;
- Infectadas: presença de agente infeccioso no local e lesão com evidência de intensa reação inflamatória e destruição de tecidos

Para SCEMONS et al. (2011), as feridas também podem ser divididas de acordo com sua extensão:

- Feridas de espessura parcial: é quando a ruptura da estrutura e da função tegumentar normal atinge somente a epiderme e a derme.
- Feridas de espessura total: é quando a ruptura da estrutura e da função tegumentar normal atinge a derme e o tecido subcutâneo, podendo atingir tendões, músculos e ossos.

2.1.5 Cicatrização de feridas

O processo de cicatrização dos tecidos consiste em uma sequência complexa de eventos que se inicia com o trauma e termina com o fechamento completo e organizado da ferida com tecido cicatricial (SCEMONS et al., 2011).

De acordo com o comprometimento do tecido, a cicatrização de feridas pode ocorrer por primeira intenção, ou seja, quando não há perda tecidual e as bordas se mantêm justapostas; ou por segunda intenção quando há perda de tecidual e bordas da pele estão bem afastadas (DEALY, 2008; BRASILEIRO, 2011) (Figura 5).

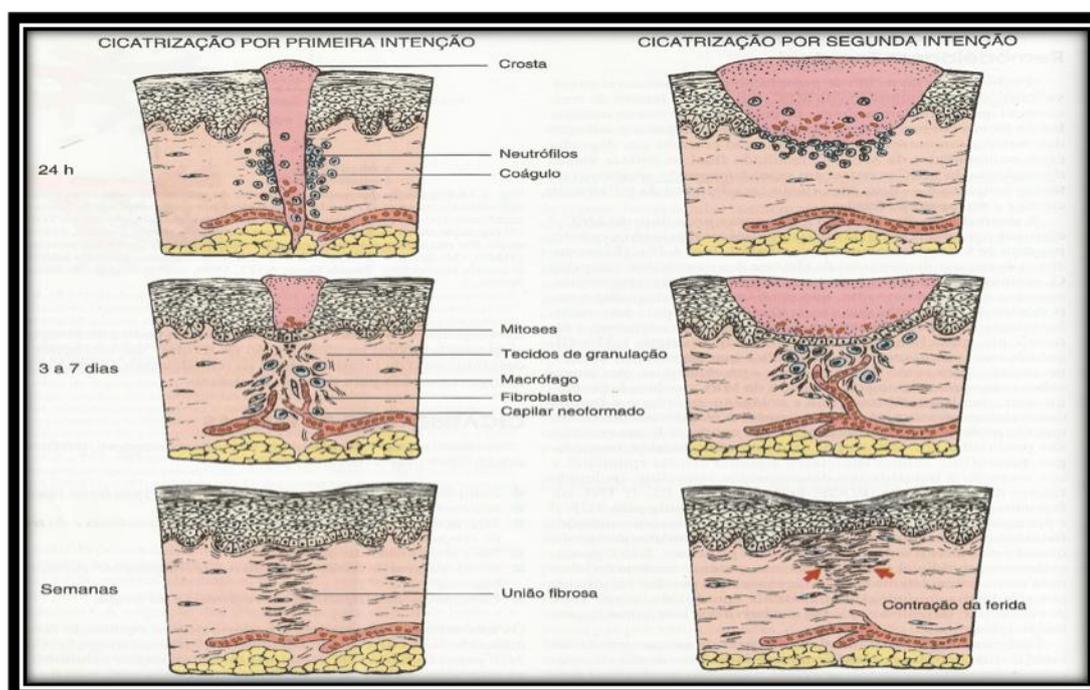


Figura 5. Etapas da cicatrização de feridas por primeira e segunda intenção.
Fonte: ROBBINS & COTRAN, 2010.

Segundo DEALY (2008) e ROBBINS & COTRAN (2010), o processo de cicatrização de uma ferida consiste em uma série de estágios altamente complexos, interdependentes e sobrepostos. A inflamação, fase inicial e normal da cicatrização, tem duração de 4 a 5 dias desde a lesão inicial. Caracteriza-se por sinais e sintomas inflamatório como rubor, calor, edema e dor. Tem por objetivo diminuir os efeitos da lesão. Dentro de 1 ou 2 dias, após a lesão, tem-se o início do processo de reconstrução. Este, considerado como o segundo evento, inicia-se geralmente no terceiro dia da lesão e se caracteriza pelo desenvolvimento de tecido de granulação (tecido conjuntivo frouxo rico em capilares sanguíneos, leucócitos e matriz extracelular formando por fibras colágenas tipo III, ácido hialurônico e proteoglicano). Os macrófagos são de suma importância nesta fase, pois são responsáveis pela remoção de restos extracelulares (limpeza) e juntamente com as plaquetas, células endoteliais e outras células inflamatórias produzem fatores de crescimento (fatores de crescimento de fibroblastos, fatores de crescimento derivado de plaquetas, fator

de crescimento transformador β , interleucinas, entre outras) que atraem fibroblastos e os estimulam a sua multiplicação e a síntese de fibras colágenas. Alguns desses fibroblastos adquirem ainda uma propriedade de contração (miofibroblastos), reduzindo a área da ferida aberta. Além disso, os fatores de crescimento principalmente o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), tem ação sobre as células endoteliais participando também no processo de angiogênese. Concomitante a reconstrução, ocorre proliferação e migração das células epiteliais (epitelização). Este evento acontece devido aos fatores de crescimento epidérmicos liberados principalmente por macrófagos e células endoteliais. Passado algumas semanas, tem-se início maturação, em que há diminuição da vascularização, substituição de fibras colágena tipo III (finas) por I (grossas) e reorganização das mesmas ao longo das linhas de estresse conferindo aumento da resistência do leito danificado.

Além disso, o processo de cicatrização pode ter seu curso alterado por diversos fatores tanto locais (presença de infecção, corpos estranhos, tamanho, local e tipo de ferida); como sistêmicos (estado metabólico e nutricional, alterações vasculares e hormonais) (ROBBINS & COTRAN, 2010).

2.2 O Avestruz

2. 2. 1 História do Avestruz

O Avestruz é uma das espécies animais ainda viva mais antiga em nosso planeta; cuja origem data no período cretáceo. Textos antigos sugerem que várias civilizações utilizavam a casca do ovo como utensílio doméstico assim como o couro na confecção de vestimenta. Os antigos egípcios utilizavam suas plumas como adorno em leques. Na Roma antiga, o avestruz era usado para puxar carros de corrida, e suas plumas na decoração de capacetes dos generais como forma de distinção e liderança (CARRER & KORNFIELD, 1999).

2. 2. 2 Características gerais

O Avestruz (*Struthio Camelus sp.*) é uma ave bastante rústica, muito resistente à doenças e de fácil adaptação. Seu corpo tem aspecto singular, com pernas e pescoço longos, cabeça pequena, olhos grandes e ainda, dois grandes dedos em cada pata. Mede até 2,75 metros de altura e pesa cerca de 150 kg. A expectativa de

vida é de 50 anos em média, podendo variar de 30 a 70 anos (DEEMING et al., 1999; FIOCRUZ, 2012).

Considerado como a maior ave na atualidade, o avestruz assim como outras aves do grupo das Ratitas (do latim Ratis = jangada - Ema, Emu, Kiwi, Casuar), não possuem a capacidade de voar (Figura 6). A ausência de crista do osso esterno em forma de quilha ou carena, como na maioria das aves voadoras, resulta em uma conformação incompatível com a capacidade de voar. Aliado a isso, soma-se ao fato do avestruz possuir pequenas asas vestigiais e músculos peitorais pouco desenvolvidos para seu tamanho corporal (DEEMING et al., 1999; SOUZA, 2004; PORTELA, 2005).

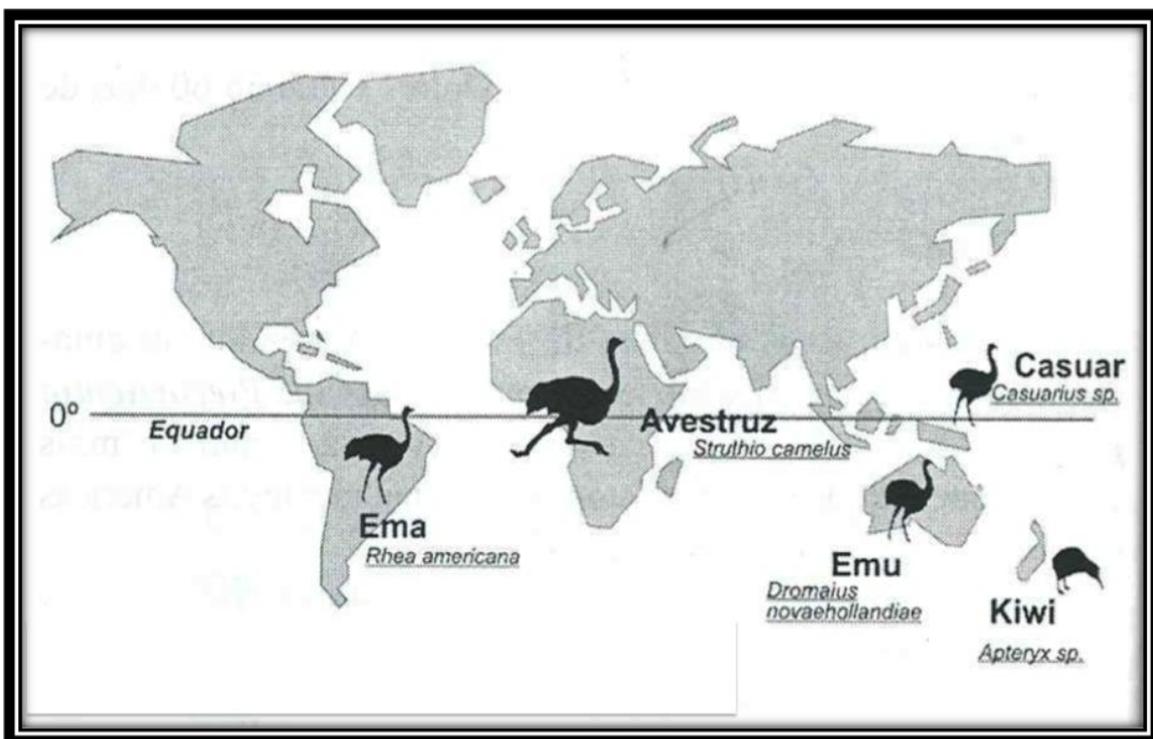


Figura 6. Distribuição das ratitas. Fonte: HOSKEN & SILVEIRA, 2001.

Apresenta um esterno com uma espessura considerável, alojando e protegendo órgãos vitais como coração, pulmão e fígado durante brigas e possibilita que os mesmos, deitem sobre a areia quente do deserto. Além disso, suas plumas são macias e servem como isolante térmico (FOWLER, 1991; MACDONALD et al., 1991).

Com uma musculatura nos membros posteriores bem desenvolvidas, esta ave é uma excelente corredora podendo alcançar velocidades de até 70km/h. Durante momentos de fuga possuem a capacidade de realizar mudança brusca na direção em plena corrida (tipo zigue-zague), abrindo e balançando as asas (CARRER & KORNFIELD, 1999; DEEMING et al., 1996 ; FOWLER, 1991 ; MACDONALD et al., 1991).

O avestruz assim como as aves de sua ordem (Struthioniformes) possuem algumas características anatômicas diferentes das demais aves como: a excreção das fezes que se fazem separada da urina, ausência da glândula uropigiana e uretra, clavícula ausente ou pouco desenvolvida e cloaca marcada com uma mancha escura (CARRER & KORNFIELD, 1999; DEEMING et al., 1999; HUCHZEMEYER, 2000; MACDONALD et al., 1991).

2. 2. 3 Comercialização

No passado, os avestruzes eram caçados de forma indiscriminada devido a sua plumagem, que serviam como peças ornamentais em chapéus de mulheres e em outros acessórios. Além disso, sua pele também era muito valorizada para confecção de couros finos. Entretanto, foi durante o século XIX, em virtude do crescente mercado de penas, que eles quase foram extintos. Porém, a partir da domesticação e sua criação em cativeiro, tem garantido a preservação da espécie assim como, a sua comercialização de forma sustentável (KREIBICH & SOMMER, 1995; MACDONALD et al., 1991).

Na atualidade são comercializados vários produtos derivados do avestruz. Sendo que os principais são:

- Carne: descrito como uma carne vermelha de excelente sabor e alto valor nutricional, bem como baixo teor calórico (PORTELA, 2005);
- Óleos: esses são amplamente utilizados na produção de cremes hidratantes, loção para o corpo, sabonetes e pomadas contra o envelhecimento precoce (SOUZA, 2004);
- Pele: é uma matéria-prima na produção de produtos de couro de luxo como bolsas, sapatos, cintos entre outros (PORTELA, 2005);

- Plumas: são utilizadas na indústria da moda, automobilística e do entretenimento (SOUZA, 2004),
- Ovos: além de serem materiais de reprodução de valor, eles são utilizados no artesanato, consumo humano e na indústria de alimentos (AMANY et al., 2011).

2. 2. 4 O óleo de Avestruz

Há séculos, o óleo de avestruz (Figura 7) tem sido utilizado pelos egípcios, romanos e africanos no tratamento de várias afecções dermatológicas (eczemas, psoríase, queimaduras, entre outras). Nos dias atuais, os óleos de Ratistas (inclusive o avestruz) vêm sendo muito utilizado na produção de cosméticos e medicamentos. Estudos recentes comprovaram que esses óleos, além de serem excelentes hidratantes para pele, são também produtos com ação anti-inflamatória, analgésica e cicatrizante (WHITEHOUSE et al., 1998; PALANISAMY et al., 2011).



Figura 7. Óleo de Avestruz. Fonte: Arquivo pessoal.

O óleo de avestruz é rico em ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido oléico ou ômega 9 (40%), ácido linoléico ou ômega 6 (17%) e o linolênico ou ômega 3 (0,4%), além de possuir aminoácidos e vitamina E e D. Estes dois últimos ácidos, também são chamados de ácidos graxos essenciais, pois não podem ser

sintetizados pelos mamíferos, visto que não possuem a enzima delta-9-dessaturase, e devem ser obtidas obrigatoriamente a partir da dieta. Pesquisas atuais têm revelado que esses ácidos são fundamentais na manutenção e integridade da membrana celular, além de atuarem como precursores para a síntese de eicosanóides como as leucotrienos, prostaglandinas e tromboxanos, que contribuem na regulação dos sistemas nervoso central, cardíaco e imunológico (PALANISAMY et al., 2011; MANHEZI et al., 2008; CARDOSO et al., 2004; AMANY et al., 2011).

O ácido linoléico (Ômega 6) é um ácido graxo poli-insaturado encontrado principalmente em óleos vegetais, cereais e ovos. São importantes na regulação do metabolismo, fortalecimento do sistema imunológico e ajudam o organismo na contínua síntese de substâncias anti-inflamatória. Já o ácido linolênico (Ômega 3) também é um ácido graxo poli-insaturado presente principalmente em peixes, camarões e avestruzes. São importantes na regulação da pressão arterial, melhora das funções cerebrais e tem ação anti-inflamatória. Enquanto o ácido oléico (ômega 9) é uma ácido graxo monoinsaturado, de cadeia longa encontrada principalmente em óleos e gorduras, tendo importância na síntese de hormônios (PALANISAMY et al., 2011; MANHEZI et al., 2008; CARDOSO et al. 2004).

2. 3 O ozônio

2. 3.1 História do ozônio

Apesar de ter sido detectado pela primeira vez pelo físico alemão Martin Von Marum em 1785, ao se notar um cheiro que se gerava próxima às máquinas a base de eletricidade, o ozônio, palavra de origem grega “Ozeon” que significa odor, foi reconhecido como uma substância química somente em 1840 por Christian Friedrich Schobein na Suíça (CEPERO et al., 2008).

No ano de 1857, o engenheiro e inventor Werner Von Siemens, desenvolveu o primeiro de tubo de indução para a destruição de microorganismos utilizando ozônio. Além disso, no final do século XIX esse gás começou a ser utilizado no tratamento de água em algumas cidades europeias (BOCCI, 2006).

Mas foi durante a Primeira Guerra Mundial, que o médico alemão Christian Friedrich Schonbein utilizou o ozônio pela primeira vez para fins terapêuticos no tratamento de

feridas dos soldados e obteve ótimos resultados. Outro médico alemão Albert Wolf escreveu em 1915, um livro sobre o uso do ozônio na medicina. Durante, mais de 50 anos, a ozonioterapia ficou praticamente restrita à Alemanha e à Áustria (ABOZ, 2012).

Na década de 50, Joachim Hansler construiu o primeiro gerador de ozônio para uso médico. Este aparelho foi de suma importância para utilização do ozônio para fins terapêuticos pois, com ele era possível dosar o ozônio em misturas de oxigênio, impedindo a peroxidação excessiva e, assim, evitar possíveis danos às membranas celulares. Entretanto, foi a partir da década de 70, com o desenvolvimento de novas técnicas de geração e manipulação do ozônio e sua aplicabilidade em diversas enfermidades, que a ozonioterapia se difundiu para vários países (GERARD & SUNNEN, 2005).

Atualmente, a ozonioterapia é uma técnica reconhecida pelo sistema de saúde de muitos países, como a Itália, França, Alemanha, Cuba, Estados Unidos, Europa Oriental (Rússia, Ucrânia) entre outros. Além disso, várias pesquisas revelam que, nos países que o seu uso é reconhecido, houve redução do uso de antibióticos e analgésicos (SBI, 2012; BOCCI et al., 2011).

No Brasil, a prática da ozonioterapia começou em 1975 e na década de 1980, despertou o interesse de várias instituições de ensino superior do país. Porém, foi a partir do ano 2000, que essa prática se tornou mais visível. Em 2004, Santo André (SP) sediou a Primeira Conferência Internacional sobre Uso Medicinal do Ozônio. Em abril de 2006, Belo Horizonte, realizou o primeiro congresso internacional de Ozonioterapia. Além de atualizar informações, os médicos brasileiros aproveitaram para lançar as bases da Associação Brasileira de Ozonioterapia (ABOZ, 2012).

2. 3. 2 Propriedades físicas químicas

O ozônio é uma variedade alotrópica do elemento oxigênio, composto por três átomos (O_3). É um gás instável, que não poder ser armazenado, solúvel em compostos orgânicos e água, de odor penetrante, meia vida de 40 minutos e levemente azulado em temperatura ambiente ($20^\circ C$). Tem ainda a característica de ser um oxidante muito forte. Sua formação ocorre quando moléculas de oxigênio se rompem, através de descargas elétricas, em átomos livres e estes reagem com

outras moléculas de oxigênio (BOCCI, 2006 & 2011; BULIES et al., 2005; CEPERO et al., 2008; ELKTA et al., 2011) (Figura 8).

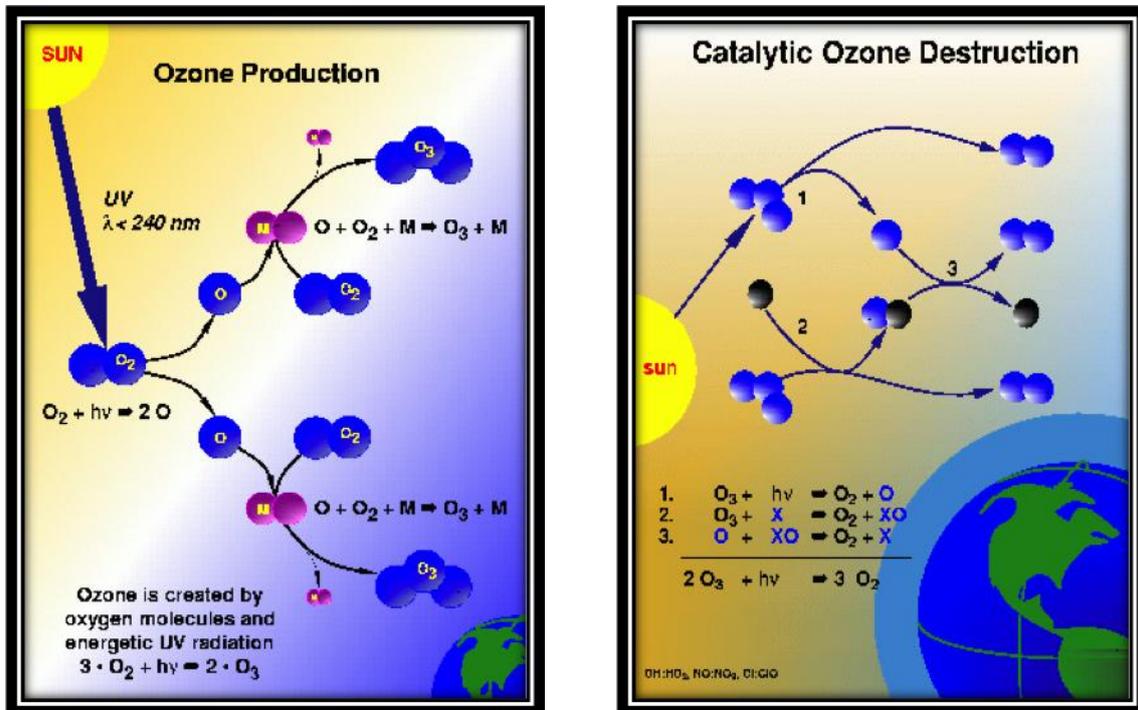


Figura 8. Produção e destruição catalítica do ozônio. Fonte: <http://www.espo.nasa.gov/solvell/implement.html>

Na atmosfera, o gás ozônio é produzido naturalmente na estratosfera pela ação fotoquímica da radiação ultravioletas do sol sobre o oxigênio atmosférico (Figura 9). Este é um processo dinâmico que atua não só na sua formação como também na sua decomposição. Essa camada protetora é denominada “camada de ozônio” e esta situada entre 15-55 km acima da superfície terrestre em uma concentração de cerca de 10 ppm (partes por milhão). Sua função é proteger a terra da radiação ultravioleta proveniente do sol (Figura 9) (CEPERO et al., 2008; EKTA et al., 2011).

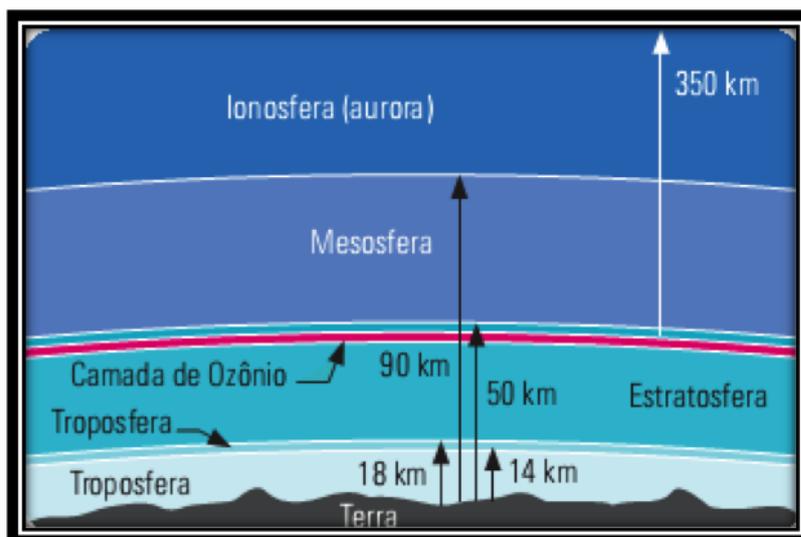


Figura 9: Posição da Camada de ozônio na atmosfera.

Fonte: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ozonio_miolo.pdf

No campo medicinal, o ozônio é produzido por um equipamento chamado gerador de ozônio medicinal. Este é capaz de gerar uma descarga elétrica de até 15KV sobre oxigênio puro resultando na formação do ozônio medicinal, uma mistura gasosa, que tem 5% de ozônio e 95% de oxigênio (BOCCI, 2006; CEPERO et al., 2008).

Segundo BOCCI (2006), para a aplicação segura do ozônio medicinal, todo gerador deve ter um fotômetro que permita determinar a concentração do gás em tempo real e desta forma, evitar possível toxicidade. Além disso, ser também capaz de eliminar todo ozônio residual.

2. 3. 3 Ozonioterapia

É uma técnica em que se utiliza o ozônio como agente terapêutico no tratamento de diversas enfermidades (BOCCI et al, 2011).

Atualmente, existem diversas modalidades de aplicação do ozônio medicinal, entretanto, este pode ser empregado de forma isolada ou veiculado com outras substâncias. Sendo assim, as principais técnicas de aplicação são:

- Sob a forma de gás – auto-hemoterapia, Insuflação retal, intra-articular, subcutâneo, intramuscular, intracavitário (espaços peritoneal e pleural), intravaginal, intrauretral, bolsas entre outros;

- Veiculado com outras substâncias – água ozonizado e óleos ozonizados (BOCCI et al., 2011; CEPERO et al., 2008).

Como é sabido, o ozônio possui várias ações biológicas e propriedades terapêuticas importantes. Por ser um gás instável e com alto poder de oxidação, sua ação se faz através de produtos secundários, gerados por uma reação seletiva do ozônio com as duplas ligações entre os átomos de carbonos dos componentes orgânicos presentes no plasma e membrana celular. Logo, esses produtos gerados (peróxidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, ozonídios e aldeídos) em quantidades adequadas e controlados, podem exercer diferentes ações biológicas conferindo o ozônio uma série de propriedades terapêuticas (CEPERO et al., 2008) (Figura 10).

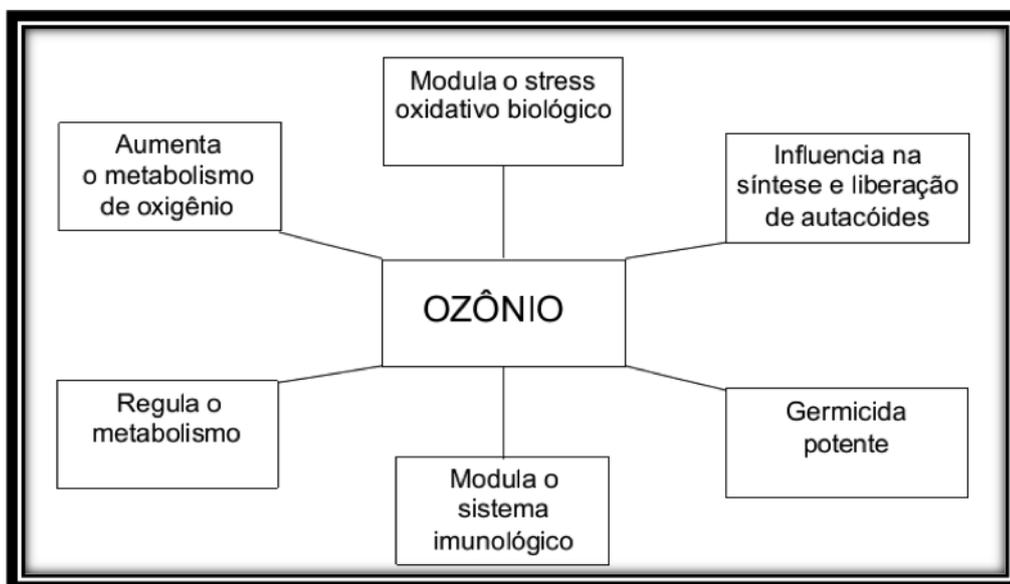


Figura 10: Ações biológicas do ozônio. Fonte: CEPERO et al., 2008.

No tratamento de feridas, o ozônio tópico associado à água ou óleo tem se mostrado o meio mais adequado, devido a sua facilidade de armazenamento e manipulação. Quando em contato com a pele, ele reage com ácidos graxos poli-insaturados e traços de água presentes na camada superior da derme gerando espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies de lipídeos oxidante (LOP), entre os quais está o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Apesar deste último também ser neutralizado pelo sistema de antioxidantes do organismo, a presença, mesmo que transitória, do peróxido de hidrogênio é capaz de disparar um sinal intracelular nos leucócitos, que ativa a tiroxina quinase e esta fosforiliza o Fator de Transcrição Nuclear e em consequência, há síntese de várias proteínas (citocinas) importante na ativação do

sistema imune (antimicrobiano). Além disso, ele atua nos eritrócitos, através da ativação da glicólise promovendo síntese de ATP e assim liberação de oxigênio para os tecidos com hipóxia, nas plaquetas, mediante a liberação de fatores de crescimento (reparação tecidual) e nas células endoteliais (neo angiogênese e vasodilatação) entre outras (BOCCI et. al., 2011; CEPERO et al., 2008).

Portanto, diante da variedade de efeitos gerados pelo ozônio, esta terapia complementar vem sendo utilizada no tratamento de diversos processos patológicos, tais como: doenças hematológicas, renais, vasculares e isquêmicas, ortopédicas, dermatológicas, infecciosas, pulmonares, neurodegenerativas, hematológicas e auto-ímmunes (BOCCI, 2006).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral:

- Avaliar o processo de cicatrização de feridas cutâneas induzidos em ratos da linhagem *Wistar* após tratamento tópico com óleo de Avestruz puro e óleo de Avestruz ozonizado.

3.2. Objetivos específicos:

- Descrever o efeito terapêutico do óleo de Avestruz ozonizado no processo de cicatrização de feridas cutâneas agudas em ratos da linhagem *Wistar*.
- Analisar histologicamente o efeito terapêutico do óleo de avestruz puro e óleo Avestruz ozonizado no processo de cicatrização de feridas cutâneas agudas em ratos da linhagem *Wistar*.

4. ENCARTE DE PUBLICAÇÃO

MANUSCRITO A (EFEITOS DA APLICAÇÃO TÓPICA DO ÓLEO DE AVESTRUZ (*Struthio camelus, linnaeus, 1758*) E ÓLEO DE AVESTRUZ OZONIZADO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EXPERIMENTALMENTE INDUZIDAS EM RATOS DA LINHAGEM *Wistar*

Manuscrito foi submetido à Revista de Saúde Pública classificada como B2 pelo Qualis Farmácia 2012.

EFEITOS DA APLICAÇÃO TÓPICA DO ÓLEO DE AVESTRUZ (*Struthio camelus*, Linnaeus, 1758) E ÓLEO DE AVESTRUZ OZONIZADO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EXPERIMENTALMENTE INDUZIDAS EM RATOS DA LINHAGEM *Wistar*

EFFECTS OF TOPICAL APPLICATION OF OSTRICH (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) OIL AND OSTRICH OZONIZED OIL ON THE HEALING PROCESS OF EXPERIMENTALLY INDUCED CUTANEOUS WOUNDS IN *Wistar* RATS LINE

Bruno Andreatta Marino¹, Jéssica Miranda Cota², Gabriel de Carvalho Vicente², Mayra Cunha Flecher³, Vinicius Ricardo Cuña de Souza^{4}.*

¹Médico e aluno do Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Vila Velha (PPGCF - UVV)

²Aluno do curso de graduação do curso de Medicina Veterinária da Universidade Vila Velha (UVV)

³Professora Mestre do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Vila Velha (UVV)

⁴Professor Doutor do curso de graduação e pós-graduação da Universidade Vila Velha (UVV)

* Autor para correspondência

Autor correspondente:

Vinicius Ricardo Cuña de Souza, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Vila Velha, Rua Comissário José Dantas de Melo, nº21, Boa Vista, CEP 29102-770, Vila Velha, ES, Brasil.
Telefax: 55-27- 3421-2001 E-mail: vinicius.souza@uvv.br

RESUMO

Objetivos: O presente trabalho avaliou o processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos machos da linhagem *Wistar* após tratamento tópico com óleo de avestruz (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) e óleo de avestruz ozonizado. **Métodos:** Para tal, foram confeccionadas feridas cirúrgicas no dorso de 24 ratos com idade entre 16-20 semanas, divididos em 3 grupos: grupo controle (CG), tratado com solução fisiológica (NaCl 0,9%); grupo óleo puro (GP), tratado com 500 µL óleo de avestruz, e grupo óleo ozonizado (GO), tratados com 500 µL óleo de avestruz ozonizado. Logo, as feridas foram tratadas e acompanhadas diariamente durante 21 dias e nos dias 3, 7, 14, 21 foram feitas avaliações macroscópicas com mensuração de área e a seguir extraíram-se fragmentos de tecidos para análise histopatológica. **Resultados:** Os resultados demonstraram uma redução significativa da área da ferida para os grupos controle e experimentais ($p < 0,0001$). Na comparação entre os momentos para os diferentes tratamentos, ocorreram

diferenças significativas na área das feridas no sétimo dia ($p = 0,0011$) e no 14º dia de avaliação ($p < 0,0001$). Nos demais momentos não ocorreram diferenças significativas, $p = 0,2297$ no dia 3 e $p > 0,9999$ no 21º dia. Além disso, o grau de contração registrado nas feridas de todos os grupos foi de 100%. Já a avaliação histológica evidenciou maior tecido de granulação e neoformação conjuntiva nos grupos óleo de avestruz puro e principalmente no ozonizado. **Conclusão:** Portanto, diante dos resultados encontrados nos permite concluir que uso tópico do óleo de avestruz e óleo de avestruz ozonizado demonstrou ser satisfatório no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos.

Palavras chaves: Pele, cicatrização, óleo de avestruz, oxigênio/ozônio terapia.

ABSTRACT

Objective: This study evaluated the healing of skin wounds in male *Wistar* rats after topical treatment with ostrich oil (*Struthio camelus Linnaeus, 1758*) and ozonated ostrich oil. **Methods :** To this end, surgical wounds were made on the back of 24 rats aged 16-20 weeks, divided into 3 groups: control groups (CG), treated with saline (0,9 % NaCl); pure oil ostrich groups (GP), treated with 500 μ L ostrich oil and ozonated oil group (GO), treated with 500 μ L ostrich oil ozonated. Soon, the wounds were treated and monitored daily for 21 days and days 3, 7, 14 e 21 were evaluated macroscopic with measurement area and then extracted fragments of tissue for histopathological analysis. **Results:** The results demonstrated a significant reduction in the wound area for control and experimental groups ($p < 0, 0001$). Comparing the times for the different treatments, significant differences in the wound area on the seventh day ($p = 0, 0011$) and day 14 evaluation ($p < 0, 0001$). In other moments, there were no significant differences, $p = 0, 2297$ at day and $p > 0, 9999$ on day 21. Furthermore, the degree of contraction recorded in the wounds of all groups was 100%. As for histological evaluation showed greater newly formed granulation tissue and conjunctiva groups ostrich oil pure and especially in ozonated. **Conclusion:** Therefore, before the results allows us to conclude that topical oil ostrich and ostrich oil ozonated proved satisfactory healing of skin wounds in rats.

Keywords: skin, scarring, ostrich oil, oxygen / ozone therapy

INTRODUÇÃO

A compreensão do processo de cicatrização e o desenvolvimento de novas alternativas no tratamento de feridas cutâneas são de suma importância na medicina veterinária, em função da alta frequência de atendimento a animais acometidos por lesões de diferentes tipos e origens.²⁸

Logo, a definição de uma conduta terapêutica depende de uma avaliação criteriosa da ferida a fim de determinar sua natureza, localização, extensão e profundidade da lesão, bem como os fatores intrínsecos e extrínsecos.¹⁴ Além disso, reavaliações periódicas se fazem necessárias, visto que o tratamento das feridas cutâneas é dinâmico e depende, a cada momento, da evolução das fases de cicatrização.^{10,14}

A cicatrização é um processo complexo caracterizado por uma seqüência de eventos que se inicia com o trauma e termina com o fechamento completo e organizado da ferida com tecido cicatricial.²⁷ Do ponto de vista morfológico identificam-se na cicatrização três fases consecutivas e/ou simultâneas, como a inflamação, proliferação, formação e remodelamento dos tecidos.¹⁶

Entretanto, alguns fatores podem afetar o processo de reparação tissular, de forma a retardar a resolução deste. Esses fatores se dividem em sistêmicos como a idade, hábitos de vida, estado nutricional, mobilidade, medicações, vasculopatias, outras doenças de base; e locais como a presença de infecção, tecido necrótico, local do ferimento entre outros.^{8,14}

Em virtude disso, desde os primórdios da humanidade, o homem sempre tem buscado alternativas para tratamento de suas feridas cutâneas. Diversos produtos e terapias têm sido empregados ao longo dos séculos objetivando melhorar os resultados cicatriciais em menor tempo possível.¹⁴

Atualmente, várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de validar cientificamente a utilização de plantas medicinais e outros produtos naturais no tratamento de feridas cutâneas, visto que estes são aplicadas de forma empírica, baseada apenas no conhecimento popular.⁷

O óleo de girassol, por exemplo, muito utilizado no tratamento de feridas cutâneas vem sendo alvos de vários estudos, e se tem comprovado cientificamente o seu

grande valor no processo de cicatrização como demonstrou Marques et al²² (2004) e Rocha et al²⁶ (2004) em seus experimentos com ovelhas e ratos, respectivamente.

Em outra pesquisa, Whitehouse et al³¹ (1998), verificou que o óleo de Emu, ave do grupo das Ratitas, muito utilizado pelos aborígenas na Austrália no tratamento de feridas cutâneas, apresenta excelente ação cicatrizante e anti inflamatória.

Já Zimmer et al³² (2006) demonstrou que o óleo extraído a partir das glândulas retais de grilos muito utilizado na medicina chinesa apresenta um importante papel cicatrizante.

Além disso, na atualidade há também uma crescente utilização do ozônio medicinal no tratamento de diversas patologias. Em se tratando de feridas cutâneas, o ozônio tópico tem se mostrado o meio mais adequado, visto sua facilidade de armazenamento e manipulação, além de manter suas propriedades germicidas, reguladoras do metabolismo, moduladoras do sistema imune, angiogênicas entre outras.^{4, 5,13}

Algumas pesquisas apontam que o óleo extraído de plantas quando ozonizado tem mostrado bons resultados no processo de cicatrização de feridas^{2,15,27}. Um estudo realizado por KIM et al¹⁸ referem o uso do óleo de oliva ozonizado no tratamento de ferida e relata que obteve um resultado rápido e eficaz com a ozonioterapia.

O Avestruz (*Struthio Camelus sp.*) é uma ave natural do continente africano pertencentes ao grupo das Ratitas.²⁵ Há séculos, o seu óleo tem sido utilizado de forma empírica pelos egípcios, romanos e africanos no tratamento de várias afecções dermatológicas.^{24,31}

Porém, são poucos as pesquisas científicas envolvendo o óleo de avestruz com intuito de se comprovam sua ação antiinflamatória, antimicrobiana, analgésica e cicatrizante^{24,31}. Além disso, no que se referem a este óleo quando ozonizado são mais raros ainda os estudos na literatura pesquisada que respaldam essa terapia.

Logo, este presente estudo teve por objetivo avaliar o processo de cicatrização de feridas cutâneas induzidos em ratos da linhagem *Wistar* após tratamento tópico com óleo de avestruz puro e óleo de avestruz ozonizado.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética, Bioética e Bem Estar Animal (CEUA) da Universidade Vila Velha (UVV) - Vila Velha- ES, sob o parecer nº 234/2012, e realizado no Laboratório de Acompanhamento Experimental desta instituição.

Para tal experimento, foram selecionados no Laboratório de Acompanhamento Experimental (LAE) da Universidade Vila Velha (UVV), 24 ratos albinos machos (*Rattus norvegicus*) da linhagem *Wistar* com idade de 16-20 semanas e peso de 276-504 gramas.

Para aclimação, os animais foram dispostos aleatoriamente em gaiolas individuais de polipropileno autoclaváveis apropriadas para espécie, uma semana (sete dias) antes do início do experimento. Além disso, durante todo o estudo eles foram mantidos em ciclo circadiano e com acesso livre a ração e à água *ad libitum*.

Após aclimação, foram realizadas quatro (4) feridas cutâneas circulares no sentido craniocaudal na linha mediana do dorso de cada animal utilizando-se um punch estéril de 8 mm .Para tal procedimento, foi necessário jejum alimentar dos animais por oito horas. A seguir, iniciou-se a sedação dos mesmos com a utilização de cetamina (30,0 mg/kg) em associação com Cloridrato de xilazina (1,0 mg/kg), aplicado via intraperitoneal. Logo, com os animais já anestesiados, foi realizada a tricotomia de uma área na região dorsal de cada animal e em seguida a antisepsia deste local com polivinilpirrolidona iodo a 1% (PVPI). Com a utilização de materiais esterilizados como pinças (Kelly e anatômica), tesoura, punch de 8 mm e campo cirúrgico, iniciou-se a demarcação da pele do animal e posterior retirada deste tecido. Em continuação, fez-se hemostasia por compressão digital utilizando gazes estéreis. Além disso, todas as feridas foram limpas com uma gaze estéril umedecida com solução fisiológica (NaCl 0,9%) e secas com outra gaze limpa também estéril.

O óleo de avestruz foi comprado da DFX Agroindústria e Logística LTDA, situada no município de Três Rios, estado do Rio de Janeiro. A análise da amostra do óleo de avestruz puro fornecido pela Microbial (2012) apresenta índice de acidez, peróxido, saponificação e de iodo respectivamente de 082,mgKOH/g, 3,9 mgKOH/g, 199,7

mgKOH/g e 74,7 mgKOH/g. (Valores expresso em /100 g, mEq/Kg, em mg de KOH por g de óleo).

A perfusão de ozônio no óleo de avestruz foi feita por meio de um gerador de ozônio (Ozone&Life[®] modelo O&L 3.0 RM). Para tal, este equipamento foi suprido por uma fonte de oxigênio através de cilindro de oxigênio medicinal. Além disso, ele possui um dispositivo que regula o fluxo de oxigênio permitindo somente variações de fluxo de 0 a 1,0L/min. É sabido que, quanto maior o fluxo de oxigênio menor a concentração de ozônio.

Assim, colocou-se 300 mL de óleo de avestruz puro em uma proveta de vidro graduada (1000 mL), com um fluxo 0,3L/mL, concentração 25mg e dosador 9 por um período de tempo de 02h30min, e através do borbulhamento, obteve-se o óleo de avestruz ozonizado, com 1.125 mg ou de massa de ozônio.

Com o óleo ozonizado pronto, este foi aliqotado, lacrado, rotulado e armazenado em geladeira a 4°C.

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos (oito animais em cada grupo, n=8) e 24 horas depois do procedimento, iniciou-se o tratamento por 21 dias seguidos, conforme descrito a seguir. O grupo I foi realizado somente à limpeza com solução fisiológica (NaCl 0,9%) e posterior secagem com gaze em todo o tratamento. O grupo II foi realizado a limpeza com solução fisiológica (NaCl 0,9%) secagem com gaze e posteriormente aplicado 500 µL de óleo de avestruz. O grupo III foi realizado a limpeza com solução fisiológica (NaCl 0,9%) secagem com gaze e posteriormente e 500 µL óleo de avestruz ozonizado. Vale ressaltar, que no dia 0 foi utilizado somente solução fisiológica (NaCl 0,9%) em todas as feridas.

Os animais foram acompanhados diariamente. Nos dias 3, 7, 14 e 21, foram feitas avaliações macroscópicas, registro de imagens fotográficas e microscópicas das lesões. A avaliação macroscópica inclui a observação da presença de edema, hiperemia, exsudação, tecido de granulação e crostas.

A mensuração da área da ferida foi realizada com paquímetro [Vernier Calipers 150 X 0.02 MM (6" X 1/1000 IN) CLA 006] e os seus resultados foram utilizados para estimar a área da ferida através de uma equação matemática , $A = \pi \times R \times r$, onde A

representa a área, R representa o eixo maior e r representa o eixo menor (Prata et al.,1988)²⁷. Além disso, mensurou-se o grau de contração da ferida, através da equação matemática proposta por Ramsey et al (2000): $100 \times (W_o - W_i) / W_o = M \pm DP$, onde W_o é a área inicial da ferida; W_i , a área final no dia da biópsia (0, 3, 7, 14 e 21 dias), M a média e DP o desvio padrão.

Foi utilizado uma câmera digital Sony CyberShot H9 com aumento 100x e 400x e com uma distância de 30 cm para obtenção dos dados fotográficos logo após o procedimento cirúrgico no dia 0, e nos dias 3, 7, 14 e 21.

Os fragmentos de tecidos para biópsia foram obtidos no dia 0 (no procedimento cirúrgico) e dias 3, 7,14 e 21 dias, através da utilização de um “punch” de seis mm. Foram retirados materiais compreendendo o tecido íntegro e os limites da lesão. Ressaltando que no dia do procedimento, todos os animais estavam anestesiados, segundo protocolo descrito anteriormente.

Cada uma das quatro lesões foram biopsiadas em uma região específica e em momentos diferentes obedecendo ao sentido crâneo-caudal, ou seja, a ferida mais próximo a região cefálica dia 3, a segunda dia 7, a terceira dia 14 e a quarta dia 21, para uma menor interferência no processo de cicatrização das feridas subsequentes. Logo, os fragmentos de pele biopsiados, foram inseridos em um cassete identificado com o dia da retirada, número do animal e subsequente imersão em frascos de vidro de boca larga contendo formol a 10% por período mínimo de 24 horas. A seguir, foram encaminhados ao Laboratório de Patologia Veterinária da UVV para confecção das lâminas. Estas foram mantidas em estufa para secagem, confecção dos cortes e posteriormente submetidos à coloração por Hematoxilina & Eosina (HE).

No vigésimo primeiro dia de experimento os animais foram eutanasiados, para retirada de órgãos como: pele, rins, fígado, baço, e pulmão, para análise macroscópica e histológica, a fim de avaliar possíveis alterações e/ou toxicidade que pudessem vir a ocorrer em virtude da aplicação do óleo de avestruz puro e ozonizado nos animais testados. O procedimento realizado para extração dos fragmentos dos órgãos é o mesmo já descrito anteriormente com fragmento da pele,

entretanto, utilizou-se uma dose letal de anestésico (Tiopental® 40mg/Kg de massa corpórea) via intraperitoneal.

A leitura das lâminas ocorreu no Laboratório de Microscopia na Universidade Vila Velha (UVV) – Espírito Santo, utilizando um microscópio da marca LEICA DMLS 00111 5 com objetiva de 100X e foi realizada por patologista, sem conhecimento prévio da divisão dos grupos. Logo, foram feitas observações quanto à repitelização, proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno, angiogênese e presença ou ausência de células inflamatória. Além disso, para padronização e posterior análise igualitária dos dados, foi utilizado a seguinte classificação para o grau de intensidade: discreto, leve, moderado e acentuado.

Todos os resultados encontrados foram submetidos à análise utilizando os testes paramétricos: Teste de Tukey, Regressão Linear Simples e a Análise de variância – ANOVA. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando um programa estatístico GRAPHPAD INSTAT® com limite de confiança ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Durante todo o experimento, os animais foram avaliados e pesados diariamente, e observou-se que os mesmos apresentaram um ganho de peso médio de 14g (peso inicial médio 389g e peso final médio 403g), mas, não houve nenhuma alteração de comportamento, hábitos alimentares e eliminações fisiológicas.

Além disso, as feridas dos animais foram tratadas e avaliadas diariamente e nos dias pré-estabelecidos para coleta da biópsia, as feridas foram mensuradas e observações de cada lesão foram registradas.

As figuras 11, 12 e 13 demonstram a evolução das feridas no decorrer dos dias. Pode-se observar que no 21º dia todas elas, independente do tratamento estavam cicatrizadas.

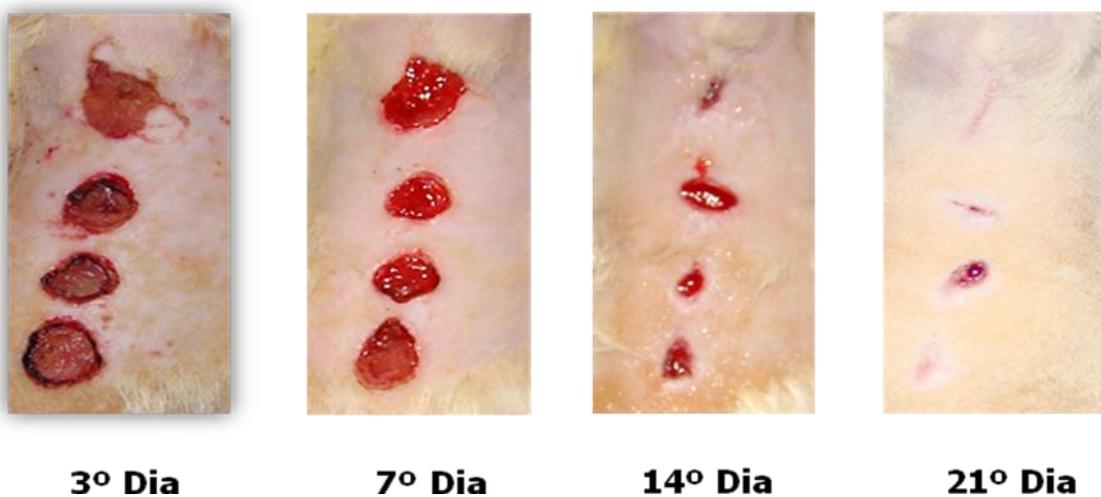


Figura 11- Imagens fotográficas do grupo controle (GC) nos dia 3, 7, 14 e 21.



Figura 12- Imagens fotográficas do grupo óleo de Avestruz Puro (GP) nos dias 3, 7, 14 e 21.



Figura 13- Imagens fotográficas do grupo óleo de Avestruz ozonizado (GO) nos dias 3, 7, 14 e 21.

No terceiro dia de tratamento foi observado que todas as trinta e duas (32) feridas do grupo CG (solução fisiológica - NaCl 0,9%), vinte e um (21) do grupo GP (Óleo de avestruz puro) e vinte sete (26) do grupo GO (Óleo de avestruz ozonizado), tiveram um aumento em sua área em relação ao tamanho. Além disso, apesar de todas as feridas apresentarem bordas regulares e elevadas, crostas e tecido de granulação, estas estavam mais evidentes nos grupos GP e GO. (Figura 11, 12 e 13)

Já no sétimo dia de tratamento, verificou-se que todas as feridas apresentaram bordas regulares, crostas e tecido de granulação, entretanto este último foi mais expressivo no GO (Figura 13).

No décimo quarto dia, enquanto as feridas do GC estavam em processo de cicatrização (Figura 11), as do GP e GO estavam cicatrizadas (Figura 12 e 13). Já no vigésimo primeiro dia, todos os animais que participaram do experimento apresentavam apenas a ferida da biópsia.

Além disso, pode-se observar que os animais tratados tanto com óleo de avestruz puro como ozonizado não apresentaram nenhuma irritação dermatológica nas áreas tratadas e que todas as feridas (independente do tratamento) a partir do terceiro dia, tiveram um decréscimo ao longo dos 21 dias de tratamento.

Na Tabela 2 estão apresentados os valores médios e desvios-padrão das feridas realizadas cirurgicamente nos animais ao longo do período experimental, onde é possível observar a redução significativa da área da ferida para os grupos controle e experimentais ($p < 0,0001$). Na comparação entre os momentos para os diferentes tratamentos, ocorreram diferenças significativas na área das feridas no dia 7 ($p = 0,0011$) e no 14º dia de avaliação ($p < 0,0001$). Nos demais momentos não ocorreram diferenças significativas, $p = 0,2297$ no 3º dia e $p > 0,9999$ no 21º dia. O grau de contração registrado nas feridas de todos os grupos foi de 100%.

Tabela 2. Valores médios e desvios-padrão das áreas de cicatrização entre feridas do grupo controles (GC), grupo óleo de avestruz puro (GP) e do grupo óleo avestruz ozonizado (GO) induzidas experimentalmente em ratos.

	Dia 0	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
GC	2,01 ± 0,00 ^a	3,12 ± 0,77 ^{bA}	2,19 ± 0,43 ^{aB}	0,53 ± 0,29 ^{cB}	0,00 ± 0,13 ^{cd}
GP	2,01 ± 0,00 ^a	2,54 ± 0,77 ^{aA}	1,27 ± 0,56 ^{bA}	0 ± 0,15 ^{cA}	0 ^{cd}
GO	2,01 ± 0,00 ^a	2,54 ± 0,72 ^{aA}	1,32 ± 0,41 ^{bA}	0 ± 0,05 ^{cA}	0 ^{cd}

* Letras minúsculas diferentes na mesma linha denotam diferença estatística significativa entre as medias ($p < 0,05$) obtido pelo teste Tukey. / Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna denotam diferença estatística significativa entre as medias ($p < 0,05$) obtido pelo Tukey.

Na avaliação histológica das biopsias de pele das feridas cutâneas em região dorsal dos ratos da linhagem *Wistar*, tratados com solução fisiológica (NaCl 0,9%), (GC), óleo de Avestruz puro (GP) e óleo de Avestruz ozonizado (GO) foram observados que na lâmina do dia zero (sem tratamento) todos os animais apresentavam uma pele com estrutura normal, folículos pilosos e glândulas sebáceas.

No terceiro dia, apresentava necrose e tecido de granulação ligeiramente mais expressivo no GO. Já no dia sétimo dia, a proliferação de fibroblastos, bem como a neovascularização, síntese de colágeno e a presença de células mono e polimorfonucleares estão mais evidentes no grupo óleos, principalmente no GO (Figura 14) Enquanto no décimo quarto dia há tecido remodelação e cicatriz no GP e GO, e fase final granulação no GC (Figura 15). E no vigésimo primeiro dia, tecido de remodelação e cicatriz.

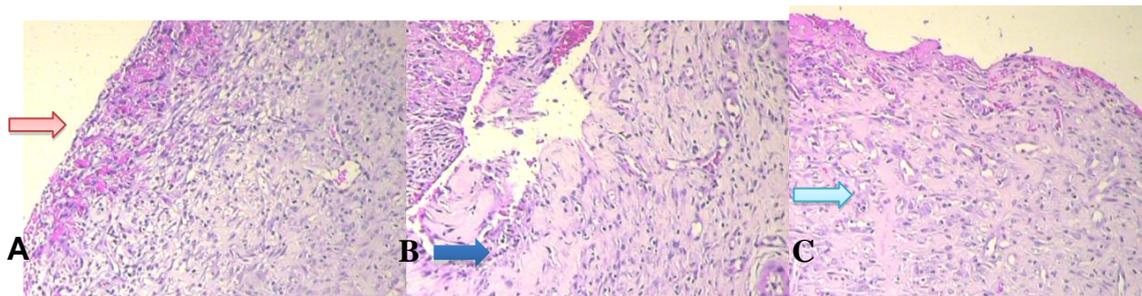


Figura 14. Imagens fotográficas ilustrando os cortes histológicos das biópsias das feridas tratadas com solução fisiológica (NaCl 0,9%) (A) e com óleo de eucalipto puro (B), óleo de eucalipto ozonizado (C) no 7º dia. Destaca-se epiteliação incompleta com hemorragia superficial (seta vermelho claro) e colagenização moderada a acentuada respectivamente (seta azul escuro e claro).H&E (Aumento 100X).

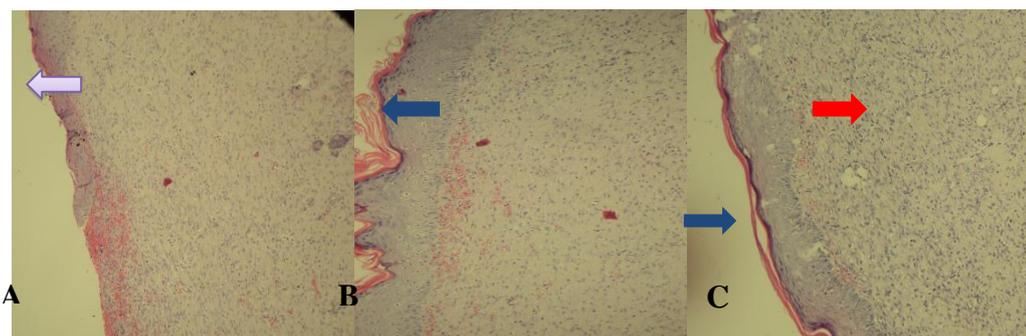


Figura 15- Imagens fotográficas ilustrando os cortes histológicos das biópsias das feridas tratadas com solução fisiológica (NaCl 0,9%) (A) e com óleo de eucalipto puro (B), óleo de eucalipto ozonizado (C) no 14º dia. Destaca-se a epiteliação incompleta com hemorragia superficial (seta roxo), epiteliação completa (seta azul escuro) e colagenização acentuada (seta vermelha).H&E (Aumento 10X- A e C, 40X- B).

Na análise histológica dos fragmentos do fígado, pulmão, rins e baço dos animais testados, não foram encontrados alterações. Indicando que o uso do óleo de eucalipto e óleo de eucalipto ozonizado usado durante o experimento não foi capaz de causar modificações a estes órgãos.

DISCUSSÃO

Em busca de novas estratégias terapêuticas, os óleos vegetais têm sido amplamente empregados em várias pesquisas quando nos referimos à cicatrização de feridas cutâneas^{9,11,14,18-23}. Muitos estudos atribuem esses efeitos cicatriciais positivos aos ácidos graxos essenciais presentes nestes óleos, em especial o ácido linoléico.^{20, 22,26}

De acordo com Wendt³⁰, o ácido linoleico estimula a proliferação celular e a quimiotaxia dos neutrófilos para o local da lesão. Além disso, algumas pesquisas sugerem que esse composto também tem ação antimicrobiana²² e que atua na produção de alguns fatores de crescimento.¹⁵

Com propriedades físico químicas semelhantes aos compostos de origem vegetal, os óleos de Rastistas (inclusive o avestruz) têm sido utilizados há séculos por várias civilizações para tratamento de inúmeras afecções dermatológicas, baseando-se apenas no conhecimento popular¹². Hoje é sabido que estes óleos são ricos em ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido oleico ou ômega 9 (40%), ácido linoleico ou ômega 6 (18%) e o linolênico ou ômega 3 (1%), além de possuir aminoácidos e vitamina E e D.² Whitehouse et al.³¹, comprovou que o óleo de Emu, muito aplicado na medicina indígena da Austrália (Aborígenas) apresenta ação anti-inflamatórias, analgésicas e cicatrizantes.

O emprego do ozônio veiculado em óleo ou em água, ou seja, sua forma tópica vem sendo amplamente demonstrada por vários estudos como uma forma eficaz no tratamento de feridas cutâneas.^{1,4,5,6,13}. Quando ozonizado em concentrações ideais, o óleo gera compostos ozonizados e peróxidos com ações biológicas e terapêuticas importantes no processo de cicatrização de feridas^{1,4,13}.

Bocci e colaboradores^{4,5,6}, tem demonstrado em seus estudos que o ozônio e seus produtos, além de contribuir na desinfecção das feridas, eles atuam também no processo de reparo através da liberação dos fatores de crescimento e óxido nítrico, regulação de oxigenases e do sistema antioxidante, ativação das citocinas e síntese de ATP. Entretanto, os efeitos do ozônio estão em função de sua concentração, ou seja, doses baixas ou altas podem ter uma ação inerte ou deletéria respectivamente.

Para executar tal experimento, foram selecionados vinte quatro ratos da linhagem Wistar como modelo experimental, por estes serem animais de pequeno porte, fácil aquisição e manipulação, bem como sua padronização quanto à alimentação e acomodação²¹. Além disso, esses animais são muito resistentes às agressões cirúrgicas, aos processos infecciosos e com baixa mortalidade²¹. Todos os ratos selecionados são machos, pois, segundo Teves et al.²⁹ variações dos ciclos hormonais das fêmeas poderiam interferir no mecanismo do processo de reparação tecidual.

Logo, com a utilização de um punch de oito mm, confeccionou-se quatro feridas cutâneas circulares no dorso de cada animal estando em concordância com modelo experimental de KIM et al.¹⁸. Entretanto neste último, a disposição das feridas e a metodologia de tratamento foram diferentes. Vale ressaltar que modelos com mais de uma feridas por animal, como a de Marques et al.²² com ovelhas, Kim et al.¹⁸ e este presente estudo em se utilizou ratos, permitem uma menor interferência durante as biopsias das outras feridas bem como, facilita a mensuração das áreas e o cálculo posterior do grau de retração das feridas. Quanto a profundidade da lesão criada, esta envolveu a pele e o tecido celular subcutâneo, procedimento semelhante à descrita por Kim et al.¹⁸ e Rocha et al.²⁶, que se utilizaram ratos em suas pesquisas, e Marques et al.²² utilizando ovelhas.

No terceiro dia de tratamento, observou-se que todas as trinta e duas (32) feridas do grupo GC (solução fisiológica - NaCl 0,9%) , vinte e um (21) do grupo GP (Óleo de avestruz puro) e vinte sete (26) do grupo GO (Óleo de avestruz ozonizado), tiveram um aumento em sua área neste período em relação ao tamanho inicial. Sendo assim, este estudo esta de acordo com o experimento de Brito et al. testando o óleo de andiroba na cicatrização de ratos, quando demonstrou-se que neste período também houve aumento na área de algumas feridas dos três grupos. A seguir iniciou-se a contração da lesão em todos os grupos, visto que, este um processo importante para o fechamento da lesão³.

Uma das possíveis explicações para tais achados, segundo Oliveira et al.²³ citando (CROSS et al., 1995; TEO & NAYLOR, 1995), a medida da área inicial da ferida em relação à área do molde aumentou devido perda de aderência à fáscia profunda e

movilidade da pele do rato bem como a retração centrífuga sofrida pelas bordas das feridas em virtude a tensão elástica da pele circunjacente.

Além disso, pode-se notar que neste dia as feridas de todos os grupos apresentaram crostas e tecido de granulação. Entretanto o grupo GO, ou seja, óleo de avestruz ozonizado apresentou uma maior quantidade de tecido de granulação bem como proliferação de fibroblastos. A presença do ácido linoleico neste óleo facilita a formação deste tecido.²²

De acordo com Isaac et al¹⁷, passado a inflamação, fase inicial e normal da cicatrização, tem-se início a fase proliferativa. Esta geralmente se inicia no terceiro dia da lesão podendo durar até 3 semanas, e caracteriza-se por fibroplasia, angiogênese e reepitelização.

No sétimo dia de tratamento, as feridas do grupo óleo de avestruz ozonizado apresentaram uma fibroplasia, angiogênese e reepitelização mais acentuado do que as feridas do grupo óleo de avestruz puro e solução fisiológica (GO>GP>GC). Logo, estes resultados estão em concordância com o experimento de Kim et al¹⁸, onde demonstrou-se que a aplicação do óleo de oliva ozonizado, acelerou o processo de cicatrização cutânea através da promoção da síntese de colágeno e proliferação de fibroblastos no local da lesão em decorrência do aumento na expressão de fatores de crescimento (PDGF, TGF-B e VEGF).

Neste dia, pode-se observar também uma importante retração nas áreas das feridas iniciais, principalmente nos grupos GP e GO, em que houve uma diminuição na área de vinte e uma (21) e vinte e três (23) feridas respectivamente, de um total de 24. Já no grupo GC, somente dez feridas tiveram uma redução de sua área em relação ao ferimento inicial. A contração é um fenômeno importante no processo de cicatrização e esta relacionado à ligação dos miofibroblastos com as fibras colágenas de maior diâmetro (tipo I), que as tracionam estimulados por fatores de crescimento TGF- β e PDGF.³

Logo, estes achados no que refere ao aumento na velocidade de cicatrização, bem como a formação de tecido de granulação e grau de contração obtidos na presente pesquisa, foram semelhantes ao experimento de Marques et al.²² quando se avaliou os aspectos clínicos e histopatológicos da aplicação cutânea de óleo de girassol

com alta concentração de ácido linoléico (65%) na cicatrização de feridas abertas criadas cirurgicamente em ovelhas, onde pode-se demonstrar que as feridas tratadas com o óleo apresentaram uma aceleração no processo de cicatrização, com redução da área da ferida e contração mais rápida das bordas, bem como o surgimento do tecido de granulação de uma forma mais precoce nas feridas tratadas quando comparada às controles. Em continuação, este autor verificou que o grau de contração foi de 93,02% para as feridas controle e de 97,74% para as feridas tratadas com o óleo após 21 dias de terapia. Já na presente pesquisa, todas as feridas independentes do tratamento regrediram 100% nestes 21 dias de experimento.

Ao décimo quarto dia de tratamento, os animais do grupo GP (Óleo de avestruz puro) e GO (Óleo de avestruz ozonizado) tiveram todas as feridas cicatrizadas. Enquanto o grupo GC (solução fisiológica - NaCl 0,9%), todas feridas ainda estavam em processo de cicatrização. Já no vigésimo primeiro dia todas as feridas estavam cicatrizadas

Zimmer et al ³² (2006), averiguando o efeito de um remédio cicatrizante de feridas, tradicionalmente fabricado pelos farmacêuticos alemães e chineses, um óleo rico em ácido linoleico preparado do extrato de grilos (glândulas retais) destas regiões, concluiu que quando utilizado tais extratos, as feridas da orelha dos ratos fecharam de forma mais precoce. A cicatrização foi aproximadamente de 12,7 e 13,2 dias, respectivamente ou 3,6 (22%), e 3,1 dias (19%) mais rápido quando comparado ao grupo controle (16,3 dias). Tais resultados veem corroborar com o presente estudo, pois se observou que a partir do sétimo dia de tratamento, as feridas tratadas tanto com óleo de avestruz puro como ozonizado, cicatrizaram de forma mais precoce, ou seja, 14 dias quando comparado as feridas do grupo controle com 21 dias.

Além disso, do ponto de vista macroscópico pode-se ver que os animais tratados tanto com óleo de avestruz puro como ozonizado não apresentaram nenhuma irritação dermatológica nas áreas tratadas e que todas as feridas (independente do tratamento) dos animais tiveram um decréscimo ao longo dos 21 dias de tratamento.

CONCLUSÃO

Após análise dos resultados encontrados nesta pesquisa nos permitiram concluir que:

1. A aplicação tópica do óleo de Avestruz mostrou-se eficiente no processo de cicatrização das feridas cutâneas experimentalmente induzidas em ratos.
2. Não houve diferença significativa no processo de cicatrização entre os grupos em que se utilizaram óleo de Avestruz puro e óleo de Avestruz ozonizado.

Logo, o óleo de avestruz puro foi suficientemente bom para o tratamento tópico de feridas cutâneas experimentalmente induzidas. Já as feridas tratadas com óleo de avestruz ozonizado, este não se mostrou beneficiar mais a cicatrização. Portanto, faz-se necessário que novas pesquisas sejam realizadas com óleo de avestruz ozonizada, com doses e concentrações diferentes a que foi utilizada neste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ABOZ - Associação Brasileira de Ozonioterapia. Disponível em: <http://www.aboz.org.br/Web/secoes_site.asp?id=1>. Acesso em: 24 dez. 2012.
- 2- Amany, M M. ;Basuny; Shaker, M.;Arafat and Shereen, L. Nasef. Utilization of ostrich oil in foods. *International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics* Vol. 2(8) pp. 199-208, September 2011. Disponível em< <http://www.interesjournals.org/IRJBB> >, Acesso em: 20 nov. 2012.
- 3- Berry DP, Harding KG, Stanton MR, Jasani B, Ehrlich HP. Human wound contraction: collagen organization, fibroblasts and myofibroblasts. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102:124-31.
- 4- Bocci V, Zanardi L, Travagli,V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. *Medical Gas Research* 2011 ,1:6 .Disponível em <<http://www.medicalgasresearch.com/content/1/1/6>> , Acesso em: 11 jan 2013
- 5- Bocci, V, Travagli, V, Zanardi, L. Ozone: a new therapeutic agente in vascular diseases. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. v.11. n.2 (March-April 2011):p73. From *Academic One File*. .Disponível em<<http://adisonline.com/cardiovascular/pages/aboutthejournal.aspx>>, Acesso em 12 dez. 2012.

- 6- Bocci, AV. Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of the Art. Review article Department of Physiology, *Archives of Medical Research University of: Siena: Italy*, 2006; 37: 425±435.
- 7- Brasil. Ministério da saúde. Programa Nacional de plantas medicinais e fitoterápico. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Brasília: DF, 2009
- 8- Brasileiro- Filho, G. *Bogliolo- Patologia* , 8ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011
- 9- Brito NMB, Silva PRF, Silva GCF, Casella, SFM, Sampaio ARS. A avaliação macroscópica de feridas cutâneas abertas, em ratos, tratadas com óleo de andiroba. *Revista Paraense de Medicina*, 2001; 15 (2): 17-22.
- 10-Bryant R.A. Acute and chronic wounds: nursing managment. 2ª ed. St Louis: Mosby; 1992. p.105-63.
- 11-Cardoso CRB, Souza MA, Ferro EAV, Favoreto JS, Pena, JDO. Influence of topical administration of n-3 and n-6 essential and n-9 nonessential fatty acids on the healing of cutaneous wounds. *Wound Repair Regener* 2004; 12(2): 235-43.
- 12-Carrer CC, Kornfeld ME. (Org.) A criação de Avestruzes no Brasil. Pirassununga/SP. 1999.
- 13-Cepero SAM, Alvarez RG, Lozano OEL, Rosales FAH, Fernandez OSL, Gomez MFD. Ozono: aspectos básicos y aplicaciones clínicas. Centro de investigaciones del ozono. 1. Ed. Ciudad de la habana: Cenic, 2008.
- 14-Dealey C. Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras. 3 ed São Paulo: Atheneu, 2008.
- 15-Glasgow WC, Eling GT. Epidermal growth factor simulates linoleic acid metabolic in BAB/C 3T3 fibroblast. *Molecular Pharmacology*, v. 38, p. 503-510, 1990.
- 16-Goldman L, Ausiello D, Cecil, RL. Cecil tratado de medicina interna. 23 ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2009.
- 17-Isaac C, Ladeira PRS, Rego FMP, Aldunate JCB, Ferreira MC. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. *Rev Med (São Paulo)*. 2010 jul.-dez.;89(3/4):125-31
- 18-Kim SH, Noh YSH, Kim HK Kim, HK. Kim, HO. YOUNG, M. P Therapeutic Effects of Topical Application of Ozone on Acute Cutaneous Wound Healing *J Korean Med Sci*; 2009; 24(3): 368-74.

- 19-Magalhães MSF, Fachine FV, Macedo R.N, Monteiro DLS, Oliveira CC, Brito GAC, Moraes MEA, Moraes MO. Effect of a combination of medium chain triglycerides, linoleic acid, soy lecithin and vitamins A and E on wound healing in rats. *Acta Cir. Bras.*, v. 23, n. 3, p. 262-269, 2008.
- 20-Manhezi AC, Bachion MM, Pereira AL. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. *Rev. Bras. Enferm.* [online] v.61, n.5, p. 620-628, 2008.
- 21-Marchini FB, Martins DMFS, Teves DC, Simões MJ. Efeito do óleo de rosa mosqueta na cicatrização de feridas abertas. *Revista Paulista de Medicina* 106: 356. 1998.
- 22-Marques S R, Peixoto P A, Messias JB, Albuquerque A R., Silva Junior V A. Efeitos da aplicação tópica de óleo de sementes de girassol em feridas cutâneas, em carneiros. *Acta Cirúrgica Brasileira*, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 1-13, maio/jun. 2004.
- 23-Oliveira ST, Leme MC, Pippi NL, Raiser AG, Manfron, MP, Formulações de confrei (*symphytum officinale* L.) Na cicatrização de feridas cutâneas de ratos, *Revista da FZVA Uruguaiana*, v. 7/8, n.1, p. 65-74. 2000/2001.
- 24-Palanisamy et al. An Effective Ostrich Oil Bleaching Technique Using Peroxide Value as an Indicator. *Journal Molecules* 2011, 16, 5709-5719 Disponível em <<http://www.mdpi.com/journal/molecules>>.
- 25-Portella, RB (2005/06).O Avestruz no mundo e no Brasil. *Anuário da Estrutocultura Brasileira*, edição histórica e comemorativa:1-19.
- 26-Rocha RP, Rocha ELP, Hames R L, Sposeto TB. Estudo comparativo do processo de cicatrização com o uso do óleo de semente de girassol e triglicérides de cadeia-média: modelo experimental em ratos. *Sci. Med.*, v. 14, n. 3, p. 203-208, 2004.
- 27-Scemons D, Elston D. Nurse to nurse : cuidados com feridas em enfermagem.1.ed. Porto Alegre: AMGH, 2011.
- 28-Simas SM. Tratamento de feridas cutâneas em cães e gatos.Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, UFRS.2010.
- 29-Teves DC, Cabral ACV, Simões MJ & Kulay JRL. Biologia das reparações teciduais. *Jornal Brasileiro de Medicina* 50: 39-44. 1986.
- 30-Wendt SBT. Comparação da eficácia da calêndula e do óleo de girassol na cicatrização por segunda intenção de feridas em pequenos animais.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná. 85p. 2005.

- 31-Whitehouse MW, Turner AG, Davis CK, Roberts MS. Emu oil(s): A source of non-toxic transdermal anti-inflammatory agents in aboriginal medicine. *Inflammopharmacology* 1998, 6, 1-8.
- 32-Zimmer MM, Frank J, Barker JH, Becker H. Effect of extracts from the Chinese and European mole cricket on wound epithelization and neovascularization: in vivo studies in the hairless mouse ear wound model. *Wound Repair and Regeneration*. 2006;14:142-51

5. CONCLUSÃO

Após análise dos resultados encontrados nesta pesquisa nos permitiram concluir que:

1. A aplicação tópica do óleo de Avestruz mostrou-se eficiente no processo de cicatrização das feridas cutâneas experimentalmente induzidas em ratos.
2. Não houve diferença significativa no processo de cicatrização entre os grupos em que se utilizaram óleo de Avestruz puro e óleo de Avestruz ozonizado.

Logo, o óleo de avestruz puro foi suficientemente bom para o tratamento tópico de feridas cutâneas experimentalmente induzidas. Já as feridas tratadas com óleo de avestruz ozonizado, este não se mostrou beneficiar mais a cicatrização. Portanto, faz-se necessário que novas pesquisas sejam realizadas com óleo de avestruz ozonizada, com doses e concentrações diferentes a que foi utilizada neste estudo.

6. REFERÊNCIAS

ABOZ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE OZONIOTERAPIA. Disponível em: <http://www.aboz.org.br/Web/secoes_site.asp?id=1>. Acesso em: 24 de dez. 2012.

AMANY, M. M. B.; SHAKER, M. A.; SHEREEN, L. N. Utilization of ostrich oil in foods. **International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics** Vol. 2(8) pp.

199-208 , September 2011. Disponível em < <http://www.interesjournals.org/IRJBB> > .Acesso 20 nov. 2012.

BERRY D.P; HARDING K.G; STANTON M.R; JASANI B.; EHRLICH H.P. Human wound contraction: collagen organization, fibroblasts and myofibroblasts. **Plast Reconstr Surg**. 102:124-31,1998.

BOCCI, V.; ZANARDI, L.; TRAVAGLI, V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. **Medical Gas Research** 2011 ,1:6 .Disponível em <<http://www.medicalgasresearch.com/content/1/1/6>> , Acesso em: 11 jan 2013.

BOCCI, V.; TRAVAGLI, V.; ZANARDI, L. Ozone: a new therapeutic agente in vascular diseases. **American Journal of Cardiovascular Drugs**. v.11. n.2 (March-April 2011):p73. From *Academic One File*. Disponível em <<http://adisonline.com/cardiovascular/pages/aboutthejournal.aspx>>, Acesso em 12 dez. 2012.

BOCCI, V. Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of the Art. Review article **Department of Physiology, Archives of Medical Research University of** :Siena: Italy, v. 37, p. 425–435, 2006.

BRASILEIRO- FILHO, G. BOGLIOLO- **Patologia**, 8ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

BRITO, N. M. B.; SILVA, P. R. F.; SILVA, G. C. F.; CASELLA, S. F. M.; SAMPAIO, A. R. S. A avaliação macroscópica de feridas cutâneas abertas, em ratos, tratadas com óleo de andiroba. **Revista Paraense de Medicina**, v. 15 n.2 p. 17-22, 2001.

BRYANT, R.A. **Acute and chronic wounds: nursing managment**. 2ª ed. St Louis: Mosby; p.105-63.1992.

BROUGHTON, G.; JANIS J.E.; ATTINGER, C.E. The basic science of wound healing. **Plast Reconstr Surg**.117 (7 Suppl):12S-34S, 2006.

BULIÉS, J. C. E. Oxígeno-ozonoterapia como coadyuvante en el tratamiento de las infecciones óseas. **Rev. Cubana Ortop Traumatol**, Cuba, v.19, n.1 p. 4-9, 2005.

CARDOSO C.R.B.; SOUZA M.A.; FERRO E.A.V.; FAVORETO J.S.; PENA, J.D.O. Influence of topical administration of n-3 and n-6 essential and n-9 nonessential fatty acids on the healing of cutaneous wounds. *Wound Repair Regener* .12(2): 235-43, 2004.

CARRER, C.C; KORNFELD, M.E. (Org.) **A criação de Avestruzes no Brasil**. Pirassununga/SP. 1999.

CEPERO, S.A.M; ALVAREZ, R.G.; LOZANO, O.E.L; ROSALES, F.A.H; FERNANDEZ, O.S.L; GOMEZ, M.F.D. **Ozono: aspectos básicos y aplicaciones clínicas**. Centro de investigaciones del ozono. 1. Ed. Ciudad de la habana: Cenic, 2008.

DAVIDSON, E. B. **Managing wound in dogs and cats - Part 1**. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, Louisiana, v. 20, n. 7, p. 811-20, 1998.

DEALEY, C. **Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras**. 3 ed São Paulo: Atheneu, 2008.

DEEMING, D. C. **The Ostrich: biology, production, health**. CABI Publishing. Wallingfor Oxon (UK) and New York (USA), 1999, 360p.

EKTA, J.; ELVIS, A. Ozone therapy: A clinical review. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine** v.2 n.1 (January-June 2011): p66. From Academic OneFile.

FIOCRUZ- FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/infantil/avestruz.htm>> Acesso em: 20 de dez. 2012.

FOWLER, M. E. Comparative clinical anatomy of ratites. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 22, n. 2, p. 204 - 227. 1991.

GENESER, F. **Histología: sobre bases biomoleculares**. 3 ed. Buenos Aires: Panamericana, 2000.

GERARD, V.; SUNNEN, M. D. Ozone in medicine: overview and future directions. **Journal of advancement in medicine**. New York v.1, n. 3, p. 159-174, 1988.

GLASGOW, W. C; ELING, G. T. Epidermal growth factor simulates linoleic acid metabolic in BAB/C 3T3 fibroblast. **Molecular Pharmacology**, v. 38, p. 503- 510, 1990.

GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D; CECIL, R.L. **Cecil tratado de medicina interna**. 23 ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2009.

GOMES F. V. L.; COSTA, M. R. C.; MARIANO, L. A. A. **Manual de Curativos. Comissão de controle de infecção hospitalar serviço de controle de infecção hospitalar. Central de Curativo**. 2005.

HOSKEN, F. M.; SILVEIRA, A. C. **Criação de avestruz**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2001.

HUCHZERMAYER, F. W. **Doenças de avestruzes e outras ratites**. Funep, p. 392. Jaboticabal, SP. 2000.

ISAAC, C.; LADEIRA, P.R.S.; REGO F.M.P.; ALDUNATE, J.C.B.; FERREIRA, M.C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Rev Med** (São Paulo). 89(3/4):125-31. jul.- dez. 2010.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KIM, S.H., NOH, Y. S.H; KIM, H. K.; KIM, H. K. KIM, H. O. YOUNG, M. P Therapeutic Effects of Topical Application of Ozone on Acute Cutaneous Wound Healing **J Korean Med Sci**; v.24 n.3, p. 368-74, 2009.

KREIBICH, A.; SOMMER, M. **Ostrich Farm Management**. Germany. 1995.

KUMAN, V, ROBBINS, S. S., CONTRAN, R. S. **Robbins & Cotran: patologia: bases patológicas das doenças** 8. ed. Rio de Janeiro - RJ : Elsevier, 2010.

MACDONALD, D.; BONNER, W. N.; CHARLES-DOMINIQUE, P. **El avestruz y especies emparentadas. Animales del mundo**. Andrômeda Oxford, Universidad de Oxford. p. 26 - 33. 1991.

MAGALHÃES, M.S.F.; FECHINE, F. V.; MACEDO, R. N.; MONTEIRO, D. L. S.; OLIVEIRA, C. C.; BRITO, G. A. C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. Effect of a combination of medium chain triglycerides, linoleic acid, soy lecithin and vitamins A and E on wound healing in rats. **Acta Cir. Bras.**, v. 23, n. 3, p. 262-269, 2008.

MANHEZI, A. C.; BACHION, M. M.; PEREIRA, A. L. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. **Rev. Bras. Enferm.**[online] v.61, n.5, p. 620-628, 2008.

MARCHINI, F.B.; MARTINS, D.M.F.S.; TEVES, D.C.; SIMÕES, M.J. Efeito do óleo de rosa mosqueta na cicatrização de feridas abertas. **Revista Paulista de Medicina**. 106: 356. 1998.

MARQUES, S. R.; PEIXOTO, P. A.; MESSIAS, J. B.; ALBUQUERQUE, A. R.; SILVA JUNIOR, V. A. Efeitos da aplicação tópica de óleo de sementes de girassol em feridas cutâneas, em carneiros. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 1-13, maio/jun. 2004.

MOORE, K. L.; DALLEY, A. F. **Anatomia orientada para a clínica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

OLIVEIRA, S.T; LEME, M.C; PIPPI, N.L; RAISER, A.G; MANFRON, M.P, Formulações de confrei (*symphytum officinale* L.) Na cicatrização de feridas cutâneas de ratos, **Revista da FZVA Uruguaiana**, v. 7/8, n.1, p. 65-74. 2000/2001.

PALANISAMY, U.D; SIVANATHAN, M.; RADHAKRISHNAN, A.K.; HALEAGRAHARA, N.; SUBRAMANIAM, T.; CHIEW. G.S. An Effective Ostrich Oil Bleaching Technique Using Peroxide Value as an Indicator. **Journal Molecules** 5709-5719 16. 2011. Disponível em. <<http://www.mdpi.com/journal/molecules>.

PORTELLA, R.B. O Avestruz no mundo e no Brasil. **Anuário da Estruticultura Brasileira: edição histórica e comemorativa**: 2005/2006, 1-19.

PORTO, C. C. **Semiologia médica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

PRATA, M.; HADDAD, C.; GONDENBERG, S. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea: estudo experimental em ratos. **Acta Cir Bras** v. 3, p.43-8, 1988.

ROCHA, R. P.; ROCHA, E. L. P.; HAMES, R. L.; SPOSETO, T. B. Estudo comparativo do processo de cicatrização com o uso do óleo de semente de girassol e triglicérides de cadeia-média: modelo experimental em ratos. **Sci. Med.**, v. 14, n. 3, p. 203-208, 2004.

SBI. SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA. Ozonioterapia pode reduzir custos de tratamentos e diminuir a aplicação de antibióticos e analgésicos. Disponível em: <<http://www.infectologia.org.br/default.asp>>. Acesso em: 11 abr 2012.

SCEMONS, D.; ELSTON, D. **Nurse to nurse : cuidados com feridas em enfermagem**.1.ed. Porto Alegre: AMGH, 2011.

SOUZA. J. D. S. **Criação de avestruz**. Viçosa: Aprendendo Fácil, 2004.

TEVES, D.C.; CABRAL, A.C.V.; SIMÕES, M.J.; KULAY, J.R.L. Biologia das reparações teciduais. **Jornal Brasileiro de Medicina** 50: 39-44. 1986.

WENDT, S.B.T. Comparação da eficácia da calêndula e do óleo de girassol na cicatrização por segunda intenção de feridas em pequenos animais. Curitiba: UFPR, 2005. Dissertação. Programa de Pós graduação em ciências veterinária UFPR, 2005.

WHITEHOUSE, M.W.; TURNER, A.G.; DAVIS, C.K.; ROBERTS, M.S. Emu oil(s): A source of non-toxic transdermal anti-inflammatory agents in aboriginal medicine. **Inflammopharmacology**, 6: 1-8,1998.

ZIMMER, M.M.; FRANK, J.; BARKER, J.H.; BECKER, H. Effect of extracts from the Chinese and European mole cricket on wound epithelization and neovascularization: in vivo studies in the hairless mouse ear wound model. **Wound Repair and Regeneration**.14:51-142, 2006

ANEXO A

MICROBIAL

LABORATÓRIO DE ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS LTDA.

CERTIFICADO DE ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

NÚMERO	ANO	SIF	NOME DO ESTABELECIMENTO	REG. NO LABORATÓRIO
	2007		DFX AGRO INDUSTRIAL E LOGÍSTICA LTDA	07.3690
ENDEREÇO			MUNICÍPIO/UF	CEP
ESTRADA DE SÃO JOAQUIM, S/Nº - KM 9 - BEMPOSTA			TRÊS RIOS / RJ	25.840-000
PRODUTO			MARCA	DATA DE FABRICAÇÃO
ÓLEO DE AVESTRUZ - AMOSTRA A			-	-
TEMPERATURA NA COLETA	DATA/HORA DA COLETA	DATA DE REMESSA	ASS. E CARIMBO DO RESPONSÁVEL PELA COLETA	
-	19/10/07	19/10/07		
CÓDIGO(S) DA(S) ANÁLISE(S) REQUERIDA(S)			DATA/HORA DE RECEBIMENTO DA AMOSTRA	TEMPERATURA NO RECEBIMENTO
102 - Índice de Acidez - Índice de Iodo - Índice de Saponificação - Composição de ácidos graxos			24/10/07 - 11:00 h	Ambiente
DATA DE INÍCIO DA ANÁLISE	DATA DE FINAL DA ANÁLISE	OBSERVAÇÕES		
26/10/07	12/11/07			

RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS

CÓD. PROVA	RESULTADO	CÓD. PROVA	RESULTADO
102	Índice de Saponificação: 199,7 mg de KOH/g amostra	102	Ác. Palmítico (C16:0): 27,65 g/100 g
102	Índice de Acidez: 0,82 mg de KOH/g amostra	102	Ác. Palmítico (C16:1): 6,45 g/100 g
102	Índice de Iodo: 74,7 g de iodo/100 g amostra	102	Ác. Esteárico (C18:0): 5,70 g/100 g
102	Extrato etéreo: 99,45 g/100 g	102	Ac. Oléico (C18:1n9c): 40,43 g/100 g
102	Gordura Monoinsaturadas: 47,06 g/100 g	102	Ác. Linoléico (C18:2n6c): 17,49 g/100 g
102	Gordura Pol-Insaturadas: 19,03 g/100 g	102	Ác. Linolênico (C18:3n3): 0,42 g/100 g
102	Gorduras Saturadas: 33,91 g/100 g	102	Ác. Gama Linolênico (C18:3n6): 1,12 g/100 g
102	Gordura Trans: Zero g/100 g	102	Ác. cis-Eicosenóico (C20:1): 0,19 g/100 g
102	Ác. Mirístico (C14:0): 0,56 g/100 g		

CÓDIGOS DE PROVAS ENCONTRAM-SE NO VERSO DESTES FORMULÁRIOS

OBSERVAÇÕES:

* Resultados referentes a amostra analisada

* Referência: ANVISA - Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos - Instituto Adolfo Lutz - 5ª. Edição

ASS. E CARIMBO DO RESPONSÁVEL PELA EMPRESA SOLICITANTE

RESPONSÁVEL PELO LABORATÓRIO

CÓPIAS: 1ª VIA: REMETENTE - 2ª VIA: ARQUIVO DO LABORATÓRIO - 3ª VIA: REMETENTE E 4ª VIA: SIPA/DFA

RUA SANTA ADÉLIA, 123 - CAMPINAS - S.P. - 13.070-272 - FONES (19) 3213-1503 E (19) 3241-1516

ANEXO B

**Universidade Vila Velha - ES****Comissão de Ética, Bioética e Bem Estar Animal (CEUA-UVV-ES)****PARECER CONSUBSTANCIADO**

Parecer Nº. 234/2012

Pesquisador (a) Responsável: Prof. Dr. Vinicius Ricardo Cuña de Souza

Tipo de Pesquisa: **Pesquisa**. Registro da CEUA: 234/2012

Instituição onde será desenvolvido: Biotério do Complexo Biopráticas da Universidade Vila Velha – UVV.

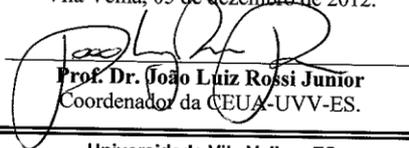
Situação: **APROVADO**

A Comissão de Ética, Bioética e Bem Estar Animal (CEUA) da Universidade Vila Velha –ES analisou na sessão do dia 05 de dezembro de 2012 o processo nº 234 - 2012, referente ao projeto de pesquisa: **“Efeito terapêutico do óleo de avestruz (*Struthio camelus*) ozonizado no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos da linhagem Wistar”**, tendo como pesquisador (a) responsável Prof. Dr. Vinicius Ricardo Cuña de Souza, considerou que o projeto se encontra adequado satisfatoriamente de acordo com as exigências das Resoluções que regem essa Comissão.

Assim, mediante a importância social e científica que o projeto apresenta a sua aplicabilidade e conformidade com os requisitos éticos, somos de parecer favorável à realização do projeto classificando-o como **APROVADO**, pois o mesmo atende aos Requisitos Fundamentais das Normas de Conduta para a Utilização de Animais no Ensino, Pesquisa e Extensão do Centro Universitário Vila Velha.

Solicita-se ao (à) pesquisador (a) o envio a esta CEUA, de relatórios parciais sempre quando houver alguma alteração no projeto, bem como o relatório final enviado em PDF.

Vila Velha, 05 de dezembro de 2012.



Prof. Dr. João Luiz Rossi Junior
Coordenador da CEUA-UVV-ES.

Universidade Vila Velha - ESRua Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista, Vila Velha-ES, CEP.: 29102-770
E-mail joao.rossi@uvv.br

ANEXO – Normas de Publicação

ISSN 0034-8910 *versão impressa*ISSN 1518-8787 *versão on-line*

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- Categorias de artigos
- Autoria
- Processo de julgamento dos manuscritos
- Preparo dos manuscritos
- Suplementos
- Conflito de interesses
- Documentos
- Taxa de Publicação

Categorias de Artigos**Artigos Originais**

Incluem estudos observacionais, estudos experimentais ou quase-experimentais, avaliação de programas, análises de custo-efetividade, análises de decisão e estudos sobre avaliação de desempenho de testes diagnósticos para triagem populacional. Cada artigo deve conter objetivos e hipóteses claras, desenho e métodos utilizados, resultados, discussão e conclusões.

Incluem também ensaios teóricos (críticas e formulação de conhecimentos teóricos relevantes) e artigos dedicados à apresentação e discussão de aspectos metodológicos e técnicas utilizadas na pesquisa em saúde pública. Neste caso, o texto deve ser organizado em tópicos para guiar os leitores quanto aos elementos essenciais do argumento desenvolvido.

Recomenda-se ao autor que antes de submeter seu artigo utilize o "checklist" correspondente:

- CONSORT checklist e fluxograma para ensaios controlados e randomizados
- STARD checklist e fluxograma para estudos de acurácia diagnóstica
- MOOSE checklist e fluxograma para meta-análise
- QUOROM checklist e fluxograma para revisões sistemáticas
- STROBE para estudos observacionais em epidemiologia

Informações complementares:

- Devem ter até 3.500 palavras, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências.
- As tabelas e figuras, limitadas a 5 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis, evitando-se tabelas muito longas. As figuras não devem

repetir dados já descritos em tabelas.

- As referências bibliográficas, limitadas a cerca de 35³⁵ devem incluir apenas aquelas estritamente pertinentes e relevantes à problemática abordada. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Citações de documentos não publicados e não indexados na literatura científica (teses, relatórios e outros) devem ser evitadas. Caso não possam ser substituídas por outras, não farão parte da lista de referências bibliográficas, devendo ser indicadas nos rodapés das páginas onde estão citadas.

Os resumos devem ser apresentados no *formato estruturado*, com até 300 palavras, contendo os itens: Objetivo, Métodos, Resultados e Conclusões. Excetuam-se os ensaios teóricos e os artigos sobre metodologia e técnicas usadas em pesquisas, cujos resumos são no formato narrativo, que, neste caso, terão limite de 150 palavras.

A estrutura dos artigos originais de pesquisa é a convencional: Introdução, Métodos, Resultados e Discussão, embora outros formatos possam ser aceitos. A Introdução deve ser curta, definindo o problema estudado, sintetizando sua importância e destacando as lacunas do conhecimento que serão abordadas no artigo. As fontes de dados, a população estudada, amostragem, critérios de seleção, procedimentos analíticos, dentre outros, devem ser descritos de forma compreensiva e completa, mas sem prolixidade. A seção de Resultados deve se limitar a descrever os resultados encontrados sem incluir interpretações/comparações. O texto deve complementar e não repetir o que está descrito em tabelas e figuras. A Discussão deve incluir a apreciação dos autores sobre as limitações do estudo, a comparação dos achados com a literatura, a interpretação dos autores sobre os resultados obtidos e sobre suas principais implicações e a eventual indicação de caminhos para novas pesquisas. Trabalhos de pesquisa qualitativa podem juntar as partes Resultados e Discussão, ou mesmo ter diferenças na nomeação das partes, mas respeitando a lógica da estrutura de artigos científicos.

Comunicações Breves - São relatos curtos de achados que apresentam interesse para a saúde pública, mas que não comportam uma análise mais abrangente e uma discussão de maior fôlego.

Informações complementares

- Devem ter até 1.500 palavras (excluindo resumos, tabelas, figuras e referências) *uma tabela ou figura* e até 5 referências.
- Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para artigos originais, exceto quanto ao resumo, que não deve ser estruturado e deve ter até 100 palavras.

ARTIGOS DE REVISÃO

Revisão sistemática e meta-análise - Por meio da síntese de resultados de estudos originais, quantitativos ou qualitativos, objetiva responder à pergunta específica e de relevância para a saúde pública. Descreve com pormenores o processo de busca dos estudos originais, os critérios utilizados para seleção daqueles que foram incluídos na revisão e os procedimentos empregados na síntese dos resultados obtidos pelos estudos revisados (que poderão ou não ser procedimentos de **meta-análise**).

Revisão narrativa/crítica - A revisão narrativa ou revisão crítica apresenta caráter descritivo-discursivo, dedicando-se à apresentação compreensiva e à discussão de temas de interesse científico no campo da Saúde Pública. Deve apresentar formulação clara de um objeto científico de interesse, argumentação lógica, crítica

teórico-metodológica dos trabalhos consultados e síntese conclusiva. Deve ser elaborada por pesquisadores com experiência no campo em questão ou por especialistas de reconhecido saber.

Informações complementares:

- Sua extensão é de até *4.000 palavras*.
- O formato dos resumos, a critério dos autores, será narrativo, com até 150 palavras. Ou estruturado, com até 300 palavras.
- Não há limite de referências.

COMENTÁRIOS

Visam a estimular a discussão, introduzir o debate e "oxigenar" controvérsias sobre aspectos relevantes da saúde pública. O texto deve ser organizado em tópicos ou subitens destacando na Introdução o assunto e sua importância. As referências citadas devem dar sustentação aos principais aspectos abordados no artigo.

Informações complementares:

- Sua extensão é de até *2.000 palavras*, excluindo resumos, tabelas, figuras e referências
- O formato do resumo é o narrativo, com até 150 palavras.
- As referências bibliográficas.

Publicam-se também Cartas Ao Editor com até 600 palavras e 5 referências.

Autoria

O conceito de autoria está baseado na contribuição substancial de cada uma das pessoas listadas como autores, no que se refere sobretudo à concepção do projeto de pesquisa, análise e interpretação dos dados, redação e revisão crítica. A contribuição de cada um dos autores deve ser explicitada em declaração para esta finalidade (ver modelo). Não se justifica a inclusão de nome de autores cuja contribuição não se enquadre nos critérios acima. A indicação dos nomes dos autores logo abaixo do título do artigo é *limitada a 12; acima deste número, os autores são listados no rodapé da página*.

Os manuscritos publicados são de propriedade da Revista, vedada tanto a reprodução, mesmo que parcial, em outros periódicos impressos. Resumos ou resenhas de artigos publicados poderão ser divulgados em outros periódicos com a indicação de *links* para o texto completo, sob consulta à Editoria da RSP. A tradução para outro idioma, em periódicos estrangeiros, em ambos os formatos, impresso ou eletrônico, somente poderá ser publicada com autorização do Editor Científico e desde que sejam fornecidos os respectivos créditos.

Processo de julgamento dos manuscritos

Os manuscritos submetidos que atenderem às "instruções aos autores" e que se coadunem com a sua política editorial são encaminhados para avaliação.

Para ser publicado, o manuscrito deve ser aprovado nas três seguintes fases:

Pré-análise: a avaliação é feita pelos Editores Científicos com base na originalidade, pertinência, qualidade acadêmica e relevância do manuscrito para a saúde pública.

Avaliação por pares externos: os manuscritos selecionados na pré-análise são submetidos à avaliação de especialistas na temática abordada. Os pareceres são analisados pelos editores, que propõem ao Editor Científico a aprovação ou não do manuscrito.

Redação/Estilo: A leitura técnica dos textos e a padronização ao estilo da Revista finalizam o processo de avaliação.

O anonimato é garantido durante todo o processo de julgamento.

Manuscritos recusados, mas com a possibilidade de reformulação, poderão retornar como novo trabalho, iniciando outro processo de julgamento.

Preparo dos manuscritos

Devem ser digitados em extensão .doc, .txt ou .rtf, com letras arial, corpo 12, página em tamanho A-4, incluindo resumos, agradecimentos, referências e tabelas. Todas as páginas devem ser numeradas.

Deve-se evitar no texto o uso indiscriminado de siglas, excetuando as já conhecidas.

Os **critérios éticos da pesquisa** devem ser respeitados. Para tanto os autores devem explicitar em Métodos que a pesquisa foi conduzida dentro dos padrões exigidos pela Declaração de Helsinque e aprovada pela comissão de ética da instituição onde a pesquisa foi realizada.

Idioma

Aceitam-se manuscritos nos idiomas português, espanhol e inglês. Para aqueles submetidos em português oferece-se a opção de tradução do texto completo para o inglês e a publicação adicional da versão em inglês em meio eletrônico. Independentemente do idioma empregado, todos manuscritos devem apresentar dois resumos, sendo um em português e outro em inglês. Quando o manuscrito for escrito em espanhol, deve ser acrescentado um terceiro resumo nesse idioma.

Dados de identificação

a) Título do artigo - deve ser conciso e completo, limitando-se a 93 caracteres, incluindo espaços. Deve ser apresentada a versão do título em **inglês**.

b) Título resumido - com até 45 caracteres, para fins de legenda nas páginas impressas.

c) Nome e sobrenome de cada autor, seguindo formato pelo qual é indexado.

d) Instituição a que cada autor está afiliado, acompanhado do respectivo endereço (uma instituição por autor).

e) Nome e endereço do autor responsável para troca de correspondência.

f) Se foi subvencionado, indicar o tipo de auxílio, o nome da agência financiadora e o respectivo número do processo.

g) Se foi baseado em tese, indicar o nome do autor, título, ano e instituição onde foi apresentada.

h) Se foi apresentado em reunião científica, indicar o nome do evento, local e data da realização.

Descritores - Devem ser indicados entre 3 e 10, extraídos do vocabulário "Descritores em Ciências da Saúde" (DeCS), quando acompanharem os resumos em português, e do Medical Subject Headings (MeSH), para os resumos em inglês. Se não forem encontrados descritores disponíveis para cobrirem a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos ou expressões de uso conhecido.

Agradecimentos - Devem ser mencionados nomes de pessoas que prestaram colaboração intelectual ao trabalho, desde que não preencham os requisitos para participar da autoria. Deve haver permissão expressa dos nomeados (ver documento Responsabilidade pelos Agradecimentos). Também podem constar desta parte agradecimentos a instituições quanto ao apoio financeiro ou logístico.

Referências - As referências devem ser ordenadas alfabeticamente, numeradas e normalizadas de acordo com o estilo Vancouver. Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, de acordo com o Index Medicus, e grafados no formato itálico. No caso de publicações com até 6 autores, citam-se todos; acima de 6, citam-se os seis primeiros, seguidos da expressão latina "et al".

Exemplos:

Fernandes LS, Peres MA. Associação entre atenção básica em saúde bucal e indicadores socioeconômicos municipais. *Rev Saude Publica*. 2005;39(6):930-6.

Forattini OP. Conceitos básicos de epidemiologia molecular. São Paulo: Edusp; 2005.

Karlsen S, Nazroo JY. Measuring and analyzing "race", racism, and racial discrimination. In: Oakes JM, Kaufman JS, editores. *Methods in social epidemiology*. San Francisco: Jossey-Bass; 2006. p. 86-111.

Yevich R, Logan J. An assessment of biofuel use and burning of agricultural waste in the developing world. *Global Biogeochem Cycles*. 2003;17(4):1095, DOI:10.1029/2002GB001952. 42p.

Zinn-Souza LC, Nagai R, Teixeira LR, Latorre MRDO, Roberts R, Cooper SP, et al. Fatores associados a sintomas depressivos em estudantes do ensino médio de São Paulo, Brasil. *Rev Saude Publica*. 2009; 42(1):34-40.

Para outros exemplos recomendamos consultar o documento "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Medical Publication" (<http://www.icmje.org>).

Comunicação pessoal, não é considerada referência bibliográfica. Quando essencial, pode ser citada no texto, explicitando em rodapé os dados necessários. Devem ser evitadas citações de documentos não indexados na literatura científica mundial e de difícil acesso aos leitores, em geral de divulgação circunscrita a uma instituição ou a um evento; quando relevantes, devem figurar no rodapé das páginas que as citam. Da mesma forma, informações citadas no texto, extraídas de documentos eletrônicos, não mantidas permanentemente em sites, não devem fazer parte da lista de referências, mas podem ser citadas no rodapé das páginas que as citam.

Citação no texto: Deve ser indicado em **expoente** o número correspondente à referência listada. Deve ser colocado após a pontuação, nos casos em que se aplique. Não devem ser utilizados parênteses, colchetes e similares. O número da citação pode ser acompanhado ou não do(s) nome(s) do(s) autor(es) e ano de publicação. Se forem citados dois autores, ambos são ligados pela conjunção "e"; se forem mais de dois, cita-se o primeiro autor seguido da expressão "et al".

Exemplos:

Segundo Lima et al⁹ (2006), a prevalência de transtornos mentais em estudantes de medicina é maior do que na população em geral.

Parece evidente o fracasso do movimento de saúde comunitária, artificial e distanciado do sistema de saúde predominante.^{12,15}

A exatidão das referências constantes da listagem e a correta citação no texto são de responsabilidade do(s) autor(es) do manuscrito.

Tabelas - Devem ser apresentadas separadas do texto, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. A cada uma deve-se atribuir um título breve, não se utilizando traços internos horizontais ou verticais. As notas explicativas devem ser colocadas no rodapé das tabelas e não no cabeçalho ou título. Se houver tabela extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar autorização da revista que a publicou, por escrito, para sua reprodução. Esta autorização deve acompanhar o manuscrito submetido à publicação

Quadros são identificados como Tabelas, seguindo uma única numeração em todo o texto.

Figuras - As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos, etc.), devem ser citadas

como figuras. Devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto; devem ser identificadas fora do texto, por número e título abreviado do trabalho; as legendas devem ser apresentadas ao final da figura; as ilustrações devem ser suficientemente claras para permitir sua reprodução, com resolução mínima de 300 dpi.. Não se permite que figuras representem os mesmos dados de Tabela. Não se aceitam gráficos apresentados com as linhas de grade, e os elementos (barras, círculos) não podem apresentar volume (3-D). Figuras coloridas são publicadas excepcionalmente.. Nas legendas das figuras, os símbolos, flechas, números, letras e outros sinais devem ser identificados e seu significado esclarecido. Se houver figura extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar autorização, por escrito, para sua reprodução. Estas autorizações devem acompanhar os manuscritos submetidos à publicação.

Submissão online

A entrada no sistema é feita pela página inicial do site da RSP (www.rsp.fsp.usp.br), no menu do lado esquerdo, selecionando-se a opção "submissão de artigo". Para submeter o manuscrito, o autor responsável pela comunicação com a Revista deverá cadastrar-se. Após efetuar o cadastro, o autor deve selecionar a opção "submissão de artigos" e preencher os campos com os dados do manuscrito. O processo de avaliação pode ser acompanhado pelo status do manuscrito na opção "consulta/ alteração dos artigos submetidos". Ao todo são oito situações possíveis:

- **Aguardando documentação:** Caso seja detectada qualquer falha ou pendência, inclusive se os documentos foram anexados e assinados, a secretaria entra em contato com o autor. Enquanto o manuscrito não estiver de acordo com as Instruções da RSP, o processo de avaliação não será iniciado.
- **Em avaliação na pré-análise:** A partir deste status, o autor não pode mais alterar o manuscrito submetido. Nesta fase, o editor pode recusar o manuscrito ou encaminhá-lo para a avaliação de relatores externos.
- **Em avaliação com relatores:** O manuscrito está em processo de avaliação pelos relatores externos, que emitem os pareceres e os enviam ao editor.
- **Em avaliação com Editoria:** O editor analisa os pareceres e encaminha o resultado da avaliação ao autor.
- **Manuscrito com o autor:** O autor recebe a comunicação da RSP para reformular o manuscrito e encaminhar uma nova versão.
- **Reformulação:** O editor faz a apreciação da nova versão, podendo solicitar novos esclarecimentos ao autor.
- **Aprovado**
- **Reprovado**

Além de acompanhar o processo de avaliação na página de "consulta/ alteração dos artigos submetidos", o autor tem acesso às seguintes funções:

"**Ver**": Acessar o manuscrito submetido, mas sem alterá-lo.

"**Alterar**": Corrigir alguma informação que se esqueceu ou que a secretaria da Revista solicitou. Esta opção funcionará somente enquanto o status do manuscrito estiver em "aguardando documentação".

"**Avaliações/comentários**": Acessar a decisão da Revista sobre o manuscrito.

"**Reformulação**": Enviar o manuscrito corrigido com um documento explicando cada correção efetuada e solicitado na opção anterior.

Verificação dos itens exigidos na submissão:

1. Nomes e instituição de afiliação dos autores, incluindo e-mail e telefone.

2. Título do manuscrito, em português e inglês, com até 93 caracteres, incluindo os espaços entre as palavras.
3. Título resumido com 45 caracteres, para fins de legenda em todas as páginas impressas.
4. Texto apresentado em letras arial, corpo 12, em formato Word ou similar (doc,txt,rtf).
5. Nomes da agência financiadora e números dos processos.
6. No caso de artigo baseado em tese/dissertação, indicar o nome da instituição e o ano de defesa.
7. Resumos estruturados para trabalhos originais de pesquisa, português e inglês, e em espanhol, no caso de manuscritos nesse idioma.
8. Resumos narrativos originais para manuscritos que não são de pesquisa nos idiomas português e inglês, ou em espanhol nos casos em que se aplique.
9. Declaração, com assinatura de cada autor, sobre a "responsabilidade de autoria"
10. Declaração assinada pelo primeiro autor do manuscrito sobre o consentimento das pessoas nomeadas em Agradecimentos.
11. Documento atestando a aprovação da pesquisa por comissão de ética, nos casos em que se aplica. Tabelas numeradas seqüencialmente, com título e notas, e no máximo com 12 colunas.
12. Figura no formato: pdf, ou tif, ou jpeg ou bmp, com resolução mínima 300 dpi; em se tratando de gráficos, devem estar em tons de cinza, sem linhas de grade e sem volume.
13. Tabelas e figuras não devem exceder a cinco, no conjunto.
14. Permissão de editores para reprodução de figuras ou tabelas já publicadas.
15. Referências normalizadas segundo estilo Vancouver, ordenadas alfabeticamente pelo primeiro autor e numeradas, e se todas estão citadas no texto.

Suplementos

Temas relevantes em saúde pública podem ser temas de suplementos. A Revista publica até dois suplementos por volume/ano, sob demanda.

Os suplementos são coordenados por, no mínimo, três editores. Um é obrigatoriamente da RSP, escolhido pelo Editor Científico. Dois outros editores-convidados podem ser sugeridos pelo proponente do suplemento.

Todos os artigos submetidos para publicação no suplemento serão avaliados por revisores externos, indicados pelos editores do suplemento. A decisão final sobre a publicação de cada artigo será tomada pelo Editor do suplemento que representar a RSP.

O suplemento poderá ser composto por artigos originais (incluindo ensaios teóricos), artigos de revisão, comunicações breves ou artigos no formato de comentários.

Os autores devem apresentar seus trabalhos de acordo com as instruções aos autores disponíveis no site da RSP.

Para serem indexados, tanto os autores dos artigos do suplemento, quanto seus editores devem esclarecer os possíveis conflitos de interesses envolvidos em sua publicação. As informações sobre conflitos de interesses que envolvem autores, editores e órgãos financiadores deverão constar em cada artigo e na contra-capá da Revista.

Conflito de interesses

A confiabilidade pública no processo de revisão por pares e a credibilidade de

artigos publicados dependem em parte de como os conflitos de interesses são administrados durante a redação, revisão por pares e tomada de decisões pelos editores.

Conflitos de interesses podem surgir quando autores, revisores ou editores possuem interesses que, aparentes ou não, podem influenciar a elaboração ou avaliação de manuscritos. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira.

Quando os autores submetem um manuscrito, eles são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado seu trabalho. Os autores devem reconhecer no manuscrito todo o apoio financeiro para o trabalho e outras conexões financeiras ou pessoais com relação à pesquisa. O relator deve revelar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influir em sua opinião sobre o manuscrito, e, quando couber, deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.

Se os autores não tiverem certos do que pode constituir um potencial conflito de interesses, devem contatar a secretaria editorial da Revista.

Documentos

Cada autor deve ler, assinar e anexar os documentos: Declaração de Responsabilidade e Transferência de Direitos Autorais (enviar este somente após a aprovação). Apenas a Declaração de responsabilidade pelos Agradecimentos deve ser assinada somente pelo primeiro autor (correspondente).

Documentos que devem ser anexados ao manuscrito no momento da submissão:

1. Declaração de responsabilidade
2. Agradecimentos

Documento que deve ser enviado à Secretaria da RSP somente na ocasião da aprovação do manuscrito para publicação:

3. Transferência de direitos autorais

1. Declaração de Responsabilidade

Segundo o critério de autoria do *International Committee of Medical Journal Editors*, autores devem contemplar todas as seguintes condições: (1) Contribuí substancialmente para a concepção e planejamento, ou análise e interpretação dos dados; (2) Contribuí significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo; e (3) Participei da aprovação da versão final do manuscrito.

No caso de grupo grande ou multicêntrico ter desenvolvido o trabalho, o grupo deve identificar os indivíduos que aceitam a responsabilidade direta pelo manuscrito. Esses indivíduos devem contemplar totalmente os critérios para autoria definidos acima e os editores solicitarão a eles as declarações exigidas na submissão de manuscritos. O autor correspondente deve indicar claramente a forma de citação preferida para o nome do grupo e identificar seus membros. Normalmente serão listados em rodapé na folha de rosto do artigo.

Aquisição de financiamento, coleta de dados, ou supervisão geral de grupos de pesquisa, somente, não justificam autoria.

Todas as pessoas relacionadas como autores devem assinar declaração de responsabilidade.

MODELO

Eu, (nome por extenso), certifico que participei da autoria do manuscrito intitulado (título) nos seguintes termos:

"Certifico que participei suficientemente do trabalho para tornar pública minha responsabilidade pelo seu conteúdo."

"Certifico que o manuscrito representa um trabalho original e que nem este manuscrito, em parte ou na íntegra, nem outro trabalho com conteúdo substancialmente similar, de minha autoria, foi publicado ou está sendo considerado para publicação em outra revista, quer seja no formato impresso ou no eletrônico."

"Atesto que, se solicitado, fornecerei ou cooperarei totalmente na obtenção e fornecimento de dados sobre os quais o manuscrito está baseado, para exame dos editores."

Contribuição:

Local, data

Assinatura

Documentos

2. Declaração de Responsabilidade pelos Agradecimentos

Os autores devem obter permissão por escrito de todos os indivíduos mencionados nos Agradecimentos, uma vez que o leitor pode inferir seu endosso em dados e conclusões. O autor responsável pela correspondência deve assinar uma declaração conforme modelo abaixo.

MODELO

Eu, (nome por extenso), autor responsável pelo manuscrito intitulado (título):

- Certifico que todas as pessoas que tenham contribuído substancialmente à realização deste manuscrito mas não preenchem os critérios de autoria, estão nomeados com suas contribuições específicas em Agradecimentos no manuscrito.
- Certifico que todas as pessoas mencionadas nos Agradecimentos me forneceram permissão por escrito para tal.
- Certifico que, se não incluí uma sessão de Agradecimentos, nenhuma pessoa fez qualquer contribuição substancial a este manuscrito.

Local, Data

Assinatura

3. Transferência de Direitos Autorais

Enviar o documento assinado **por todos os autores** na ocasião da aprovação do manuscrito.

A RSP não autoriza republicação de seus artigos, exceto em casos especiais. Resumos podem ser republicados em outros veículos impressos, desde que os créditos sejam devidamente explicitados, constando a referência ao artigo original. Todas as solicitações acima, assim como pedidos de inclusão de links para artigos da RSP na SciELO em sites, devem ser encaminhados à Editoria Científica da Revista de Saúde Pública.

MODELO

"Declaro que em caso de aceitação do artigo por parte da Revista de Saúde Pública concordo que os direitos autorais a ele referentes se tornarão propriedade exclusiva da Faculdade de Saúde Pública, vedado qualquer produção, total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e, se obtida, farei constar o competente agradecimento à Faculdade de Saúde Pública e os créditos correspondentes."

Autores:

Título:

Local, Data

Assinatura

Local, Data

Assinatura

Taxa de Publicação

A partir de Janeiro de 2012, a RSP instituirá uma taxa por artigo publicado. Esta taxa será paga por todos os autores que tiverem seus manuscritos aprovados para publicação, excetuadas situações excepcionais devidamente justificadas. Manuscritos submetidos antes de Janeiro de 2012 estarão isentos do pagamento da taxa. A taxa de publicação será utilizada para complementar os recursos públicos que a Revista obtém da Faculdade de Saúde Pública, da Universidade de São Paulo e de órgãos de apoio à pesquisa do Estado de São Paulo e do Brasil. Esta complementação é essencial para assegurar a qualidade, impacto e agilidade do periódico, em particular para manter várias melhorias introduzidas na RSP nos últimos anos, em particular seu novo sistema eletrônico de submissão e avaliação de manuscritos, a revisão da redação científica por especialistas com pós-graduação em Saúde Pública e a tradução para o Inglês de todos os manuscritos não submetidos originalmente naquele idioma. Este último procedimento permite a leitura no idioma Inglês de todos os artigos publicados pela RSP sem prejuízo da leitura em Português dos artigos originalmente submetidos neste idioma, os quais representam a maioria das contribuições divulgadas pela Revista. A taxa será de R\$ 1.500,00 (US\$ 850.00) para artigos Originais, Comentários e Revisões e de R\$ 1.000,00 (US\$ 570.00) para Comunicações Breves. Assim que o manuscrito for aprovado, o autor receberá instruções de como proceder para o pagamento da taxa, bem como para, quando couber, solicitar isenção da cobrança. A RSP fornecerá aos autores os documentos necessários para comprovar o pagamento da taxa perante suas instituições de origem, programas de pós-graduação ou órgãos de fomento à pesquisa.

Na submissão do manuscrito, após completar o cadastro, o autor deve ler e concordar com os termos de originalidade, relevância e qualidade, bem como sobre a cobrança da taxa. Ao indicar sua ciência desses itens, o manuscrito será registrado no sistema para avaliação.

Após a avaliação por relatores externos e aprovação pela Editoria, o autor receberá as instruções para realizar o pagamento da taxa. Esta deverá ser depositada no Banco Santander, Agência 0201, Conta 13004082-9, no nome do Centro Apoio à Faculdade de Saúde Pública da USP. Após efetuar o depósito, o comprovante deverá ser enviado por email (revsp@usp.br) ou fax (+55-11-3068-0539), informando o número do manuscrito aprovado e, caso necessite, o recibo a ser emitido pelo CEAP.

[\[Home\]](#) [\[Sobre a revista\]](#) [\[Corpo editorial\]](#) [\[Assinaturas\]](#)

Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma [Licença Creative Commons](#)

Avenida Dr. Arnaldo, 715
01246-904 São Paulo, SP Brasil
Tel./Fax: +55 11 3061-7985

revsp@org.us