

DÊNIS BÜRGER

**EFEITOS DA QUERCETINA NA CICATRIZAÇÃO DE
FERIDA CIRÚRGICA CONTAMINADA EM RATOS WISTAR**

**Trabalho apresentado à Universidade Federal
de Santa Catarina, como requisito para a
conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2006**

DÊNIS BÜRGER

**EFEITOS DA QUERCETINA NA CICATRIZAÇÃO DE
FERIDA CIRÚRGICA CONTAMINADA EM RATOS WISTAR**

**Trabalho apresentado à Universidade Federal
de Santa Catarina, como requisito para a
conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

**Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Maurício José Lopes Pereima
Professor Orientador: Prof. Dr. Armando José d'Acampora
Professor Co-Orientador: Prof. Dr. Ricardo Tramonte**

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2006**

Ao meu pai, Peter, pelo apoio e injeções de ânimo que sempre me fizeram tentar dar o melhor de mim.

AGRADECIMENTOS

Ao professor **Ricardo Tramonte**, pela orientação deste trabalho, agradeço não apenas pelo suporte a mim oferecido na condução deste projeto de pesquisa, mas pelos momentos agradáveis e intelectualmente instigantes que pude compartilhar. Exemplo de cientista, que se emociona verdadeiramente com a sublime beleza da investigação e questionamento da natureza das coisas.

Ao professor **Armando José d'Acampora** pela orientação e pela instrutiva leitura de sua obra intitulada “Investigação experimental – do planejamento à redação final”, onde aqui transcrevo trecho capital que me norteou durante esta caminhada: “A pesquisa, na realidade, é com um mineiro à procura de um filão de ouro. Pode estar na superfície e ser relativamente fácil para aquele que reconhece o ouro, mas pode estar onde geralmente está, na profundidade. Por este fato, exige sacrifício, persistência, paciência, tenacidade e, com certeza muito trabalho. É uma opção pelo perseguir um único objetivo: a descoberta de um novo fato.”

Ao professor **Marcos Túlio Silva**, pela orientação durante os passos iniciais do projeto, metodologia e detalhes fundamentais para seu bom andamento.

À professora **Vera Lúcia Cardoso Garcia Tramonte** pela atenção e cessão do Laboratório de Nutrição Experimental, assim como a **Gerson Luís Faccin**, técnico responsável que me auxiliou com a parte de infra-estrutura laboratorial para o perfeito andamento do experimento.

A **Luis Henrique Prazeres**, técnico responsável pelo Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, sempre receptivo e disposto a auxiliar-me, cedendo-me prontamente o material que fosse necessário.

Ao **Laboratório Médico Santa Luzia** pelo fornecimento dos inóculos bacterianos.

Ao professor **André Thaler Neto** pela realização da análise estatística dos dados obtidos e ao professor **Aury Nunes de Moraes** pelo fornecimento do protocolo de anestesia.

Aos funcionários do **Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia da UFSC**, pela ajuda na confecção das lâminas.

Aos meus colegas **Rodrigo Rodrigues da Silva** e **Marcos Duarte** pelo auxílio na condução do experimento.

A minha irmã **Betina Bürger** e especialmente à minha mãe **Marlene Bürger**, pelo amor incondicional.

RESUMO

Introdução: A maioria das complicações na cicatrização é devida à inflamação. Comprovou-se que flavonóides interagem com ampla variedade de sistemas enzimáticos e bioquímicos, exercendo atividade antioxidante, antiinflamatória e antibacteriana. Não há relatos sobre cicatrização cutânea em ratos com administração intraperitoneal do flavonóide quercetina associado a procedimento cirúrgico contaminado.

Objetivo: Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal de quercetina no processo cicatricial da pele em ratos Wistar associados à incisão cirúrgica contaminada com inóculo bacteriano padrão.

Métodos: Utilizou-se 30 ratos: Grupo 1 (controle): procedimento cirúrgico contaminado, sem quercetina. Grupo 2: quercetina 24 horas antes do procedimento cirúrgico contaminado. Grupo 3: quercetina 24 horas antes e 24 e 48 horas após o procedimento cirúrgico contaminado. Grupo 4: quercetina 24 horas antes e 24, 48 e 72 horas após o procedimento cirúrgico contaminado. Grupo 5 (*sham*): procedimento cirúrgico sem contaminação e sem quercetina. Macroscopicamente, analisou-se deiscência de sutura, necrose de borda e piodermite, mensurando-se a área do abscesso. Microscopicamente analisou-se: reepitelização, intensidade do infiltrado inflamatório e avaliação qualitativa da distância entre as fibras musculares subcutâneas.

Resultados: Os grupos com quercetina apresentaram menor área de abscesso ($p < 0,05$) em relação ao controle. Deiscência e necrose não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. Os grupos com quercetina apresentaram melhor reepitelização, celularidade compatível com fase mais avançada do processo cicatricial e menor quantidade de abscesso formado.

Conclusões: A administração de quercetina intraperitonealmente mostrou-se eficaz sobre o processo cicatricial cutâneo em ratos Wistar associado à incisão cirúrgica contaminada com inóculo bacteriano padrão.

Descritores: Quercetina, cicatrização, infecção, ratos Wistar.

ABSTRACT

Background: In most of the cases, complications in wound healing are due to inflammation. Flavonoids interact with a wide variety of biochemical and enzymatic systems, exerting antioxidant, antiinflammatory and anti-bacterial activity. There are no reports about cutaneous wound healing process in rats with intraperitoneal administration of quercetin associated with contaminated surgical procedure.

Objective: To evaluate the effects of the intraperitoneal administration of quercetin over cutaneous wound healing process in Wistar rats associated with contaminated surgical procedure with a standard bacterial inoculum.

Methods: Thirty rats: Group 1 (control): contaminated surgical procedure, without quercetin. Group 2: quercetin 24 hours before the contaminated surgical procedure. Group 3: quercetin 24 hours before and 24 and 48 hours after the contaminated surgical procedure. Group 4: quercetin 24 hours before and 24, 48 and 72 hours after the contaminated surgical procedure. Group 5 (sham): surgical procedure without contamination neither quercetin. Macroscopically, the suture dehiscence, wound edge necrosis and pyodermitis were analyzed. Microscopically: reepithelization, cellularity and qualitative evaluation of the distance between the subcutaneous muscular fibers.

Results: The groups treated with quercetin showed smaller area of abscess ($p < 0,05$) compared with Control. Dehiscence and necrosis did not showed significative difference ($p > 0,05$) among the groups. The ones with quercetin showed better reepithelization, cellularity compatible with a more advanced stage of wound healing and lesser quantity of formed abscess.

Conclusions: Intraperitoneal administration of quercetin improved the cutaneous wound healing process in Wistar rats associated with surgical procedure contaminated with a standard bacterial inoculum.

Keywords: Quercetin, wound healing, infection, Wistar rats.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fotografia mostrando os frascos com as cepas bacterianas para utilização individualizada	15
Figura 2 – Fotografias demonstrando o processo de preparação e administração da solução de quercetina. (A) Fotografia demonstrando o processo de pesagem da quercetina em balança de precisão.(B) Adição de soro fisiológico através de micropipeta automática.(C) Administração intraperitoneal da solução de quercetina	16
Figura 3 – Fotografia mostrando o aspecto do animal após o procedimento de anestesia, fixação e epilação	17
Figura 4 – Fotografia mostrando incisão de 3 cm no dorso do animal com as bordas suspensas formando cavidade onde o inóculo foi depositado	18
Figura 5 – Fotografias ilustrando o procedimento de síntese.(A) Agulha transpassando a borda direita da pele após a incisão cirúrgica. (B) Aspecto final após a realização de cinco pontos simples	19
Figura 6 – Fotografias mostrando a excisão da amostra de pele do dorso dos animais. (A) Fase inicial da retirada da amostra de pele, através de secção e divulsão com tesoura. (B) Amostra de pele já totalmente divulsionada	20
Figura 7 – Fotografias mostrando o tecido subcutâneo de amostras de pele com suas faces internas expostas. (A) Presença de abscesso visível, com tecido de aspecto escurecido e abaulado. (B) Nota-se, por transparência vasos presentes no subcutâneo e ausência de alteração na coloração ou abaulamento	21
Figura 8 – Fotografia mostrando, à direita da figura, o fragmento de pele com sua face de inclusão em parafina para realização dos cortes histológicos	22
Figura 9 – Médias da área do abscesso em cm ² , à análise macroscópica	24
Figura 10– Fotografias do dorso dos animais após 7 dias do procedimento experimental. (A) Presença de deiscência parcialmente cicatrizada no grupo 4. (B) Hiperemia compatível com piodermite no grupo 2. (C) Necrose da borda da ferida com escara no grupo 3	25
Figura 11– Médias da magnitude da deiscência, piodermite e necrose de borda à análise macroscópica	25
Figura 12– Fotomicrografia de corte histológico sobre a incisão na pele de animal do grupo 5, onde nota-se reepitelização (R) completa e ausência de infiltrado inflamatório na derme subjacente, onde é possível ver a região onde a incisão (I) foi realizada. (F): folículo piloso (40xHE).....	27

- Figura 13– Fotomicrografia de corte histológico da região sob a incisão do animal do grupo 1, onde nota-se a presença de intenso infiltrado inflamatório intradérmico (I) devido ao abscesso formado. (D): derme. (E):epitélio (40xHE) 27
- Figura 14– Fotomicrografia de corte histológico da região sob a incisão do animal do grupo 1, onde nota-se a presença de intenso infiltrado inflamatório com separação da camada muscular subcutânea (M), não sendo possível visualizar a outra extremidade do feixe muscular pela presença de infiltrado inflamatório (I) presente no abscesso formado. (S): tecido celular subcutâneo (40xHE) 28
- Figura 15– Fotomicrografia de corte histológico da região sob a incisão do animal do grupo 4, onde nota-se a presença do infiltrado inflamatório na derme e a separação do feixe muscular subcutâneo (M). Verifica-se um menor afastamento entre fibras musculares subcutâneas pelo infiltrado inflamatório (I) (40xHE) 28
- Figura 16– Fotomicrografia de corte histológico de animal do grupo 4, observar-se infiltrado inflamatório na derme com presença de celularidade contendo linfócitos (L) e fibroblastos (F) com deposição de fibras colágenas (C) (100xHE) 29
- Figura 17– Fotomicrografia de corte histológico de animal do grupo 1, com presença de infiltrado inflamatório contendo piócitos (P) e ausência de deposição de fibras colágenas (100xHE) 29

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVO	13
3 MÉTODOS	14
3.1 Amostra	14
3.2 Procedimentos experimentais	15
3.3. Análise Macroscópica	20
3.4. Avaliação Microscópica	22
3.5. Análise Estatística	23
4 RESULTADOS	24
5 DISCUSSÃO	30
6. CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS	36
NORMAS ADOTADAS	39
APÊNDICE	40
ANEXO	42

1 INTRODUÇÃO

Há apenas um século, a ocorrência da cicatrização complicada e incompleta após um ferimento era mais uma regra que a exceção. Os cirurgiões tinham pouca escolha, tendo que conviver com feridas purulentas e infecções invasivas. A evolução dos cuidados com feridas nos séculos 18 e 19 e a antissepsia mudaram a cirurgia tão dramaticamente quanto a descoberta da anestesia. Ainda assim, má cicatrização, infecção e cicatrização excessiva continuam sendo causas importantes de mortalidade e morbidade ¹.

O processo de cicatrização divide-se em três fases distintas: inflamação, proliferação e remodelamento. A fase inflamatória presente do quarto ao sexto dia é caracterizada pela hemostasia e inflamação. A exposição do colágeno subendotelial ativa a cascata de coagulação e a liberação de vasoconstrictores potentes como o tromboxano A₂ e a prostaglandina 2-alfa. O coágulo de fibrina formado funciona como um andaime para neutrófilos, monócitos, fibroblastos e células endoteliais que migram para a região lesada.

Segue-se então a fase proliferativa, do quarto ao décimo quarto dia, caracterizada por epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. Caso a membrana basal permaneça intacta, células epiteliais presentes nos anexos cutâneos migram e as camadas normais da epiderme restituem-se rapidamente. Já, se a membrana basal foi destruída, as células epiteliais presentes nas bordas da ferida começam a proliferar enviando projeções para restabelecer a barreira protetora. A parte final da fase proliferativa é a formação do tecido de granulação. Fibroblastos migram para a ferida a partir dos tecidos circunjacentes, são ativados, e começam a produzir colágeno e proliferar. Por último, vem a fase de maturação, e remodelamento, ocorrendo em média a partir do oitavo dia até um ano, considerada importante clinicamente. A principal característica desta fase é a deposição de colágeno em uma rede ordenada. Se o paciente tem deficiência (dietética ou patológica) na deposição de matriz, a força da ferida ficará comprometida. Pelo contrário, se houver deposição excessiva de colágeno, então uma cicatriz hipertrófica ou um quelóide sobrevirão ².

Na maioria dos casos, a complicação no processo cicatricial é devida à inflamação. A inflamação resulta na formação contínua de metabólitos reativos, como o radical superóxido e o não-radial peróxido de hidrogênio. Um desequilíbrio entre as formas de oxigênio e os mecanismos antioxidante de defesa da célula, levando a uma excessiva produção de metabólitos de oxigênio, leva a uma condição de estresse oxidativo. Este desequilíbrio resulta

em peroxidação de lipídeos, quebra de DNA, e inativação enzimática, incluindo de enzimas que eliminam de radicais livres. Evidências do potencial dos oxidantes em muitas doenças sugerem que os antioxidantes podem ter um uso terapêutico nessas condições. A quercetina impede a injúria oxidativa e morte celular eliminando radicais de oxigênio, protegendo contra a peroxidação lipídica interrompendo, assim, a reação em cadeia de formação de radicais livres, quelando íons metálicos para formar complexos inertes que não conseguem tomar parte na conversão de radicais superóxido e peróxido de hidrogênio em radicais hidroxila^{3,4,5}.

A quercetina pertence a um grupo de substâncias conhecidas como flavonóides, que se constituem de polifenóis (formados de mais de um anel aromático contendo substituintes hidroxilados e/ou seus derivados funcionais, como ésteres, metoxilas), presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários de vegetais, principalmente em se tratando de angiospermas⁶.

O mais abundante dos flavonóides encontrados na natureza é a quercetina. Os flavonóides foram considerados por longo tempo como inertes e não-essenciais à saúde humana, entretanto, nos últimos anos, tem se comprovado que estes compostos interagem com ampla variedade de sistemas biológicos em mamíferos, apresentando atividade antioxidante, antiinflamatória, antibacteriana, antiviral, antimutagênica e com efeitos anticarcinogênicos e antiproliferativos^{7,8,9}. Sua ação é atribuída à interação com diversos sistemas enzimáticos. A quercetina é abundante em cebolas (280 – 490 mg/kg), repolho crespo (110 mg/kg), brócolis (30 mg/kg) e feijão (45 – 60 mg/kg). Em frutas, é comum em maçãs (20 – 70 mg/kg), damasco (25 mg/kg). No vinho tinto, sua concentração varia de 5 a 15 mg/L, em chás escuros, 10 – 25 mg/L^{10,11}.

Vários possíveis antioxidantes são efetivos *in vitro*, mas não *in vivo*, em virtude de sua meia-vida reduzida. Entretanto, a quercetina demonstrou possuir meia-vida prolongada, de forma a acumular-se no plasma humano durante o dia, mediante a ingestão, tendo meia-vida de 24 horas^{12,13}.

Estudos com a aplicação tópica de componentes com propriedades de limpeza de radicais livres têm mostrado que estes melhoram significativamente o processo cicatricial e protegem o tecido do dano oxidativo³. Outros estudos indicam que a quercetina inibiu fortemente a proliferação de fibroblastos derivados de quelóides e cicatrizes hipertróficas, contração e produção de colágeno^{14,15,16,17}.

Assim sendo, o modo de aplicação de quercetina também é matéria de interesse, pois altas concentrações podem inclusive resultar em resposta tóxica na ferida¹⁸.

O flavonóide quercetina além de atividade antioxidante comprovada, demonstrou também efeito pró-oxidante reduzindo o catabolismo de bradicinina (a partir da alquilação da hidroxila na posição 7), potencializando sua ação. A maior disponibilidade de bradicinina significa a potencialização dos seus efeitos pró-inflamatórios. De fato, a quercetina favorece o extravasamento de plasma no cerebelo, córtex e bulbo olfatório, a partir da inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA) e endopeptidase neutra¹⁹.

As ações antiinflamatórias da quercetina foram estudadas através de modelos experimentais em camundongos, ratos e cobaias. A quercetina (50, 100 e 200 mg/Kg, p.o.) inibiu o edema de pata traseira induzido por diversos agentes flogísticos (carragenina, dextran, histamina, serotonina e bradicinina) de uma maneira dose dependente; e, 200 mg/Kg desta substância também inibiram o edema induzida por água quente (54 °C). A quercetina não mostrou nenhuma inibição significativa do eritema induzido por luz ultravioleta em cobaias nem aumento de permeabilidade vascular induzida por ácido acético em camundongos. Também não afetou a formação do granuloma em torno de um chumaço de algodão e o desenvolvimento de artrite secundária em ratos. Estes resultados indicam que a quercetina pode ter um efeito inibitório na inflamação aguda²⁰.

Os efeitos antiinflamatórios dos flavonóides isolados: 3-o-metil éter quercetina (1), quempferol (2) e quercetina (3) da *Rhamnus nakarai*; assim como antraquinona e frangulina B (4) da *Rhamnus formosana*; foram estimados *in vitro* determinando seus efeitos inibitórios em mediadores químicos liberados de mastócitos, neutrófilos, macrófagos e células microgliais. Os compostos 1 a 3 inibiram fortemente a liberação de beta-glicuronidase e lisozima de neutrófilos de ratos estimulados com citocalasina B (CB). O composto 1 inibiu fortemente a formação do ânion superóxido em neutrófilos de ratos estimulados com CB ou acetato de tetradecanoilforbol. O composto 1 exibiu potente efeito inibitório sobre a produção de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) em células RAW 264.7 estimuladas por lipopolissacarídeo (LPS) enquanto 1 e 4 mostraram potente efeito inibitório sobre a formação de TNF- α em células microgliais murinas da linhagem N9 estimuladas por LPS e interferon-gama. Também foi demonstrado que a quercetina é capaz de inibir a liberação de histamina, triptase e interleucinas 6 e 8^{21,22}.

Justifica-se este experimento pela dicotomia nos relatos da literatura entre os efeitos anti, pró-inflamatórios e antibacterianos da quercetina. A revisão realizada não apresentou nenhum trabalho que aborde esta questão baseando-se num método que utilize administração parenteral de quercetina, por via intraperitoneal, avaliando os efeitos desta substância sobre o processo cicatricial cutâneo após incisão cirúrgica contaminada com inóculo bacteriano.

2 OBJETIVO

Avaliar os efeitos *in vivo* da utilização de quercetina sobre o processo cicatricial cutâneo em região dorsal de ratos Wistar, associado à incisão cirúrgica contaminada com inóculo bacteriano padrão.

3 MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso dos Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, cadastrado sob os números 346/CEUA e 23080.011227/2005-56/UFSC.

Todos os procedimentos foram realizados no Laboratório de Nutrição Experimental em conjunto com o Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental e o Laboratório de Histologia da Universidade Federal de Santa Catarina em Florianópolis, SC.

3.1 Amostra

Foram utilizados 30 ratos da espécie *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, machos, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina, com idade de 60 dias e peso médio de 275 gramas. Os animais receberam alimentação *ad libitum*, de ração própria para a espécie e água durante todo o período experimental, mantidos em gaiolas plásticas individuais sob condições padronizadas de luminosidade, com ciclo dia-noite de 12 horas; com temperatura controlada de 24° Celsius e umidade relativa do ar de 65%.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos experimentais, com seis animais por grupo (n=6), sendo que cada grupo foi submetido aos seguintes tratamentos:

Grupo 1 (controle): os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico contaminado com inóculo padrão, sem administração de quercetina.

Grupo 2: os animais foram submetidos a um injeção intraperitoneal de quercetina na dose de 50 mg/Kg, 24 horas antes de serem submetidos ao procedimento cirúrgico contaminado com inóculo padrão.

Grupo 3: os animais foram submetidos a três injeções intraperitoneais de quercetina na dose de 50 mg/Kg cada uma. A primeira 24 horas antes e duas injeções consecutivas, 24 e 48 horas após serem submetidos ao procedimento cirúrgico contaminado com o inóculo padrão.

Grupo 4: os animais foram submetidos a quatro injeções intraperitoneais de quercetina, na dose de 50 mg/Kg cada uma. A primeira 24 horas antes e três injeções consecutivas, 24, 48 e 72 horas após serem submetidos ao procedimento cirúrgico contaminado com o inóculo padrão.

Grupo 5 (grupo sham): os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico sem contaminação e sem administração de quercetina.

3.2 Procedimentos Experimentais

Preparação do inóculo

O inóculo foi obtido do laboratório de análises clínicas Laboratório Médico Santa Luzia (Florianópolis/SC), a partir de colônias de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*, oriundas de exames microbiológicos realizados por aquele laboratório.

Estas culturas foram transferidas para meio de cultivo Miller-Hinton, depositado em placas de Petry e mantidas no laboratório por repiques sucessivos para a suspensão em solução aquosa de cloreto de sódio a 0,9%, na quantidade de 10^9 bactérias/mL de suspensão. Os inóculos foram obtidos em frascos individualizados com um mililitro de suspensão cada, congelados a -70°C (Figura 1). Foram descongelados à temperatura ambiente no pré-operatório imediato.



Figura 1 – Fotografia mostrando os frascos com as cepas bacterianas para utilização individualizada.

Preparação da solução de quercetina

Para a preparação da solução de quercetina foi utilizado dihidrato de quercetina ($C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$), procedente da Sigma-Aldrich do Brasil Ltda., diluída em temperatura ambiente com solvente dimetilsulfóxido P.A. procedente da Vetec Ltda., sendo acrescentada solução fisiológica em quantidade suficiente para perfazer o volume total para injeção intraperitoneal de 0,5 mL correspondendo a 50mg/Kg. (Figuras 2A, 2B e 2C).

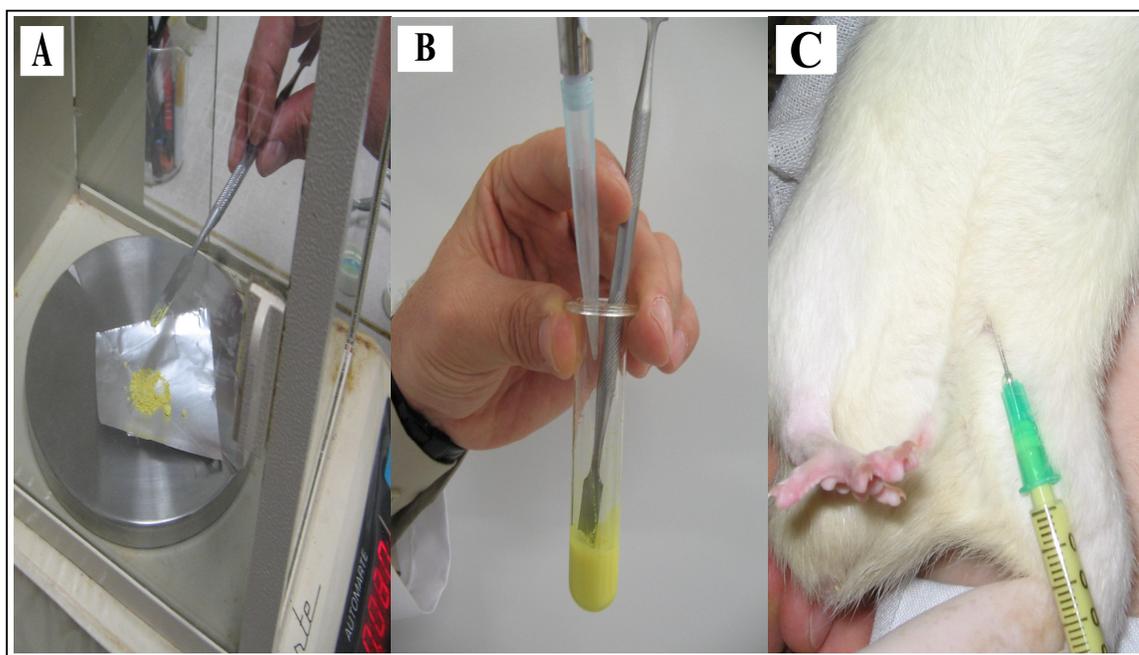


Figura 2 – Fotografias demonstrando o processo de preparação e administração da solução de quercetina.

(A) Fotografia demonstrando o processo de pesagem da quercetina em balança de precisão.

(B) Adição de soro fisiológico através de micropipeta automática.

(C) Administração intraperitoneal da solução de quercetina.

Anestesia

Foi realizada anestesia geral mediante o uso de cloridrato de ketamina (Ketalar®), quimicamente designado como 2-(o-clorofenil) - 2-(metil-amina) ciclo hexanona e cloridrato de 2-(2,6-xilidino) - 5,6 Dimidro - 4H - 1,3 Tiazina (Rompun®), nas doses de 100mg/kg e 10mg/kg, respectivamente, administrando-se 0,5 mL da solução anestésica por via intramuscular na face interna do membro posterior. Os animais foram considerados anestesiados após a percepção da ausência de reflexo córneo-palpebral e ausência de reação motora à prensão do coxim adiposo de qualquer um dos membros ²³.

Os animais foram pesados em balança digital tendo o peso corporal registrado.

Após a anestesia, os animais foram colocados em uma prancha de madeira de 30×35 cm e fixados pelos membros através de elásticos na posição de decúbito ventral horizontal. Foi realizada epilação na região dorsal do animal, numa área aproximada de 12 cm² (Figura 3)

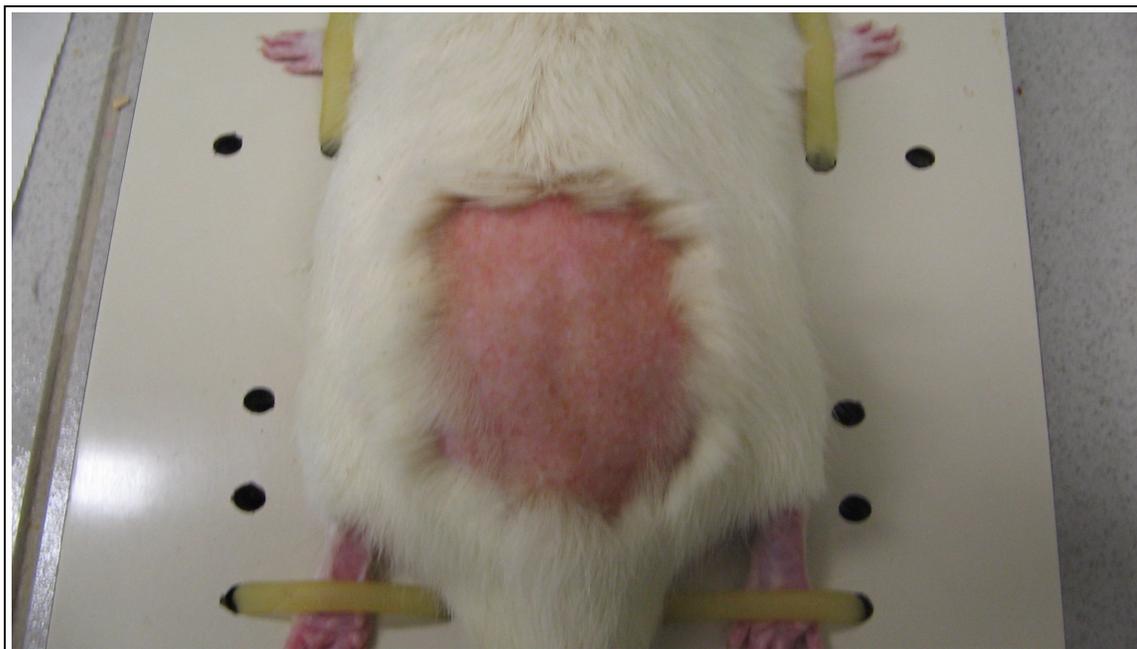


Figura 3 – Fotografia mostrando o aspecto do animal após o procedimento de anestesia, fixação e epilação

Diérese e contaminação

Cada animal foi submetido a uma incisão mediana dorsal de 3 cm de comprimento, seccionando a pele e tecido celular subcutâneo, sendo a ferida cirúrgica contaminada com 1 mL de cada inóculo: inicialmente *Staphylococcus aureus* e em seguida *Streptococcus pyogenes* (Figura 4). As mesmas cepas bacterianas foram utilizadas para todos os animais do presente experimento, sendo que estudos comprovaram que estes inóculos foram infectantes em 100% das feridas não tratadas após cinco dias^{24,25}.

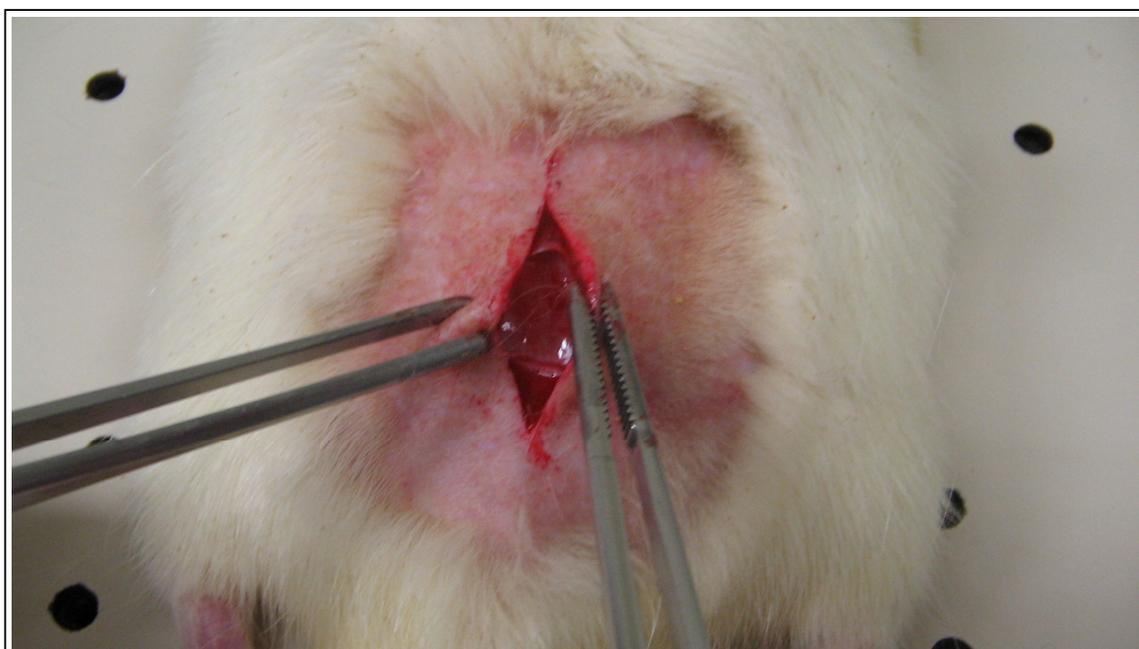


Figura 4 – Fotografia mostrando incisão de 3 cm no dorso do animal com as bordas suspensas formando cavidade onde o inóculo foi depositado.

Síntese

Descorridos 15 minutos da contaminação do ferimento, foi realizada síntese cirúrgica da ferida, utilizando-se fio Mononylon® 4-0 (monofilamento de nylon, com agulha cortante atraumática) com cinco pontos simples separados, em plano único abrangendo tecido celular subcutâneo e pele (Figuras 5A, 5B).

Não foram realizados curativos oclusivos e tampouco analgesia pós-operatória.

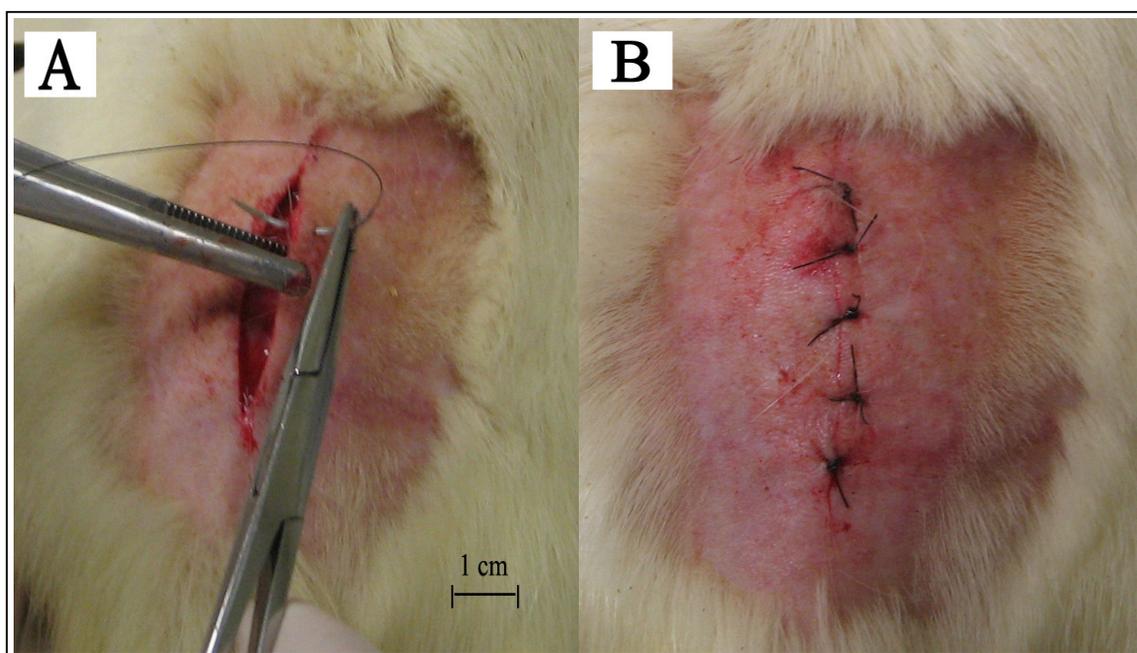


Figura 5 – Fotografias ilustrando o procedimento de síntese.

(A) Agulha transpassando a borda direita da pele após a incisão cirúrgica.

(B) Aspecto final após a realização de cinco pontos simples.

3.3 Análise Macroscópica

Nos sete dias subsequentes ao procedimento cirúrgico, foi realizado acompanhamento diário, a olho desarmado, com objetivo de registrar a evolução pós-operatória da incisão cirúrgica e superfície cutânea adjacente, buscando analisar a presença e a magnitude dos seguintes parâmetros:

- a) Deiscência na sutura da ferida operatória;
- b) Necrose das bordas da ferida operatória;
- c) Alteração visível na superfície da pele adjacente à ferida operatória, compatível com piodermite.

A magnitude de cada um destes parâmetros recebeu uma graduação variando de zero a três, de acordo com a porcentagem (0, 30, 60 e 90%, respectivamente) de comprometimento da ferida operatória e adjacências.

Ao final do sétimo dia os animais foram submetidos à eutanásia e novamente posicionados em decúbito ventral horizontal, em prancha de madeira, sendo excisada amostra de 2×4 cm da pele e tecido celular subcutâneo abrangendo a região onde foi realizada a incisão, através de divulsão com tesoura (Figuras 6A e 6B)

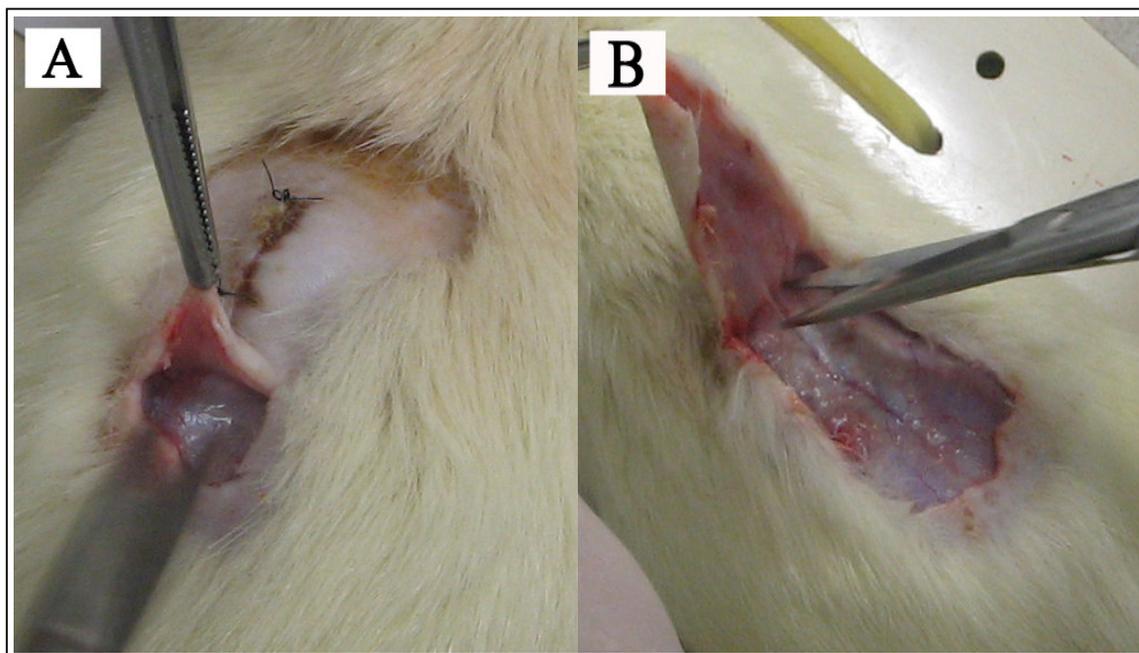


Figura 6 – Fotografias mostrando a excisão da amostra de pele do dorso dos animais.
(A) Fase inicial da retirada da amostra de pele, através de secção e divulsão com tesoura.
(B) Amostra de pele já totalmente divulsionada.

As amostras de pele foram dispostas com suas faces internas, expondo a região do tecido subcutâneo. Em cada amostra de pele, a mensuração da área do abscesso, quando presente, foi efetuada multiplicando-se a maior largura, pelo maior comprimento do abscesso visualizado (Figuras 7A e 7B).

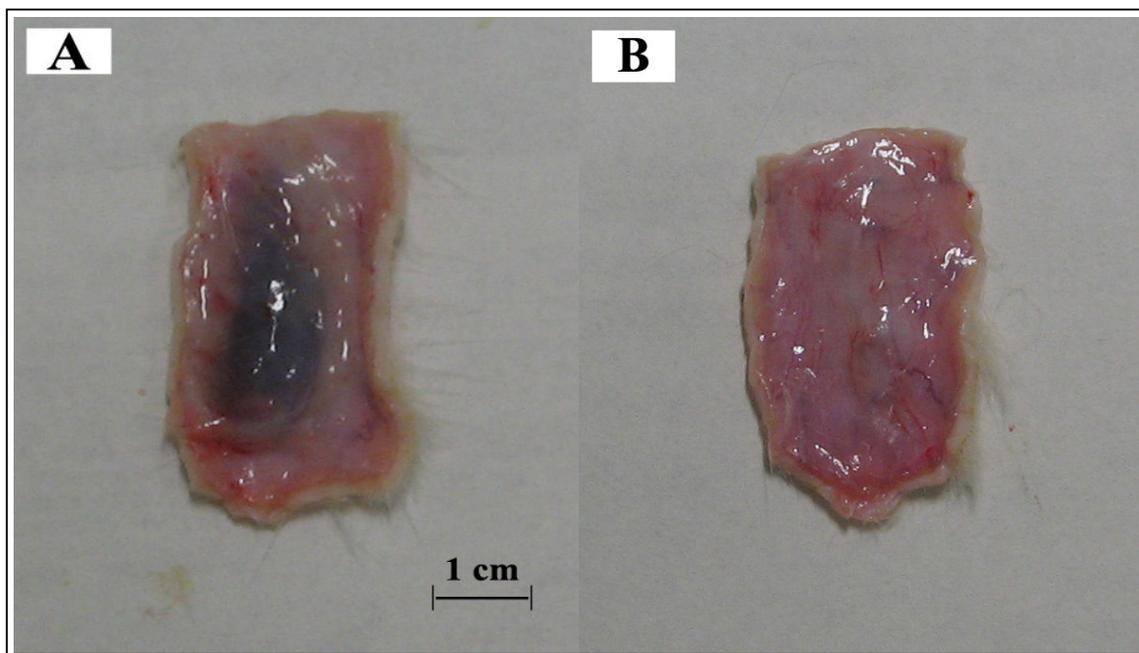


Figura 7 – Fotografias mostrando o tecido subcutâneo de amostras de pele com suas faces internas expostas
(A) Presença de abscesso visível, com tecido de aspecto escurecido e abaulado.
(B) Nota-se, por transparência vasos presentes no subcutâneo e ausência de alteração na coloração ou abaulamento.

Eutanásia

Os animais foram submetidos à eutanásia por inalação de dose letal de éter etílico, sendo as carcaças descartadas como lixo biológico.

3.4 Avaliação Microscópica

Da amostra de pele de cada animal, foram obtidos dois fragmentos, por secção transversal à incisão cirúrgica, com o cuidado de preservar margem de 1 cm de cada lado da incisão (Figura 8). Estes fragmentos foram imersos em solução aquosa de formaldeído a 10%, por um período de 48 horas, e enviados ao Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Após a fixação em formaldeído, os fragmentos foram submetidos á técnica de rotina, de inclusão em parafina, com tempos de desidratação e diafanização padronizados previamente, sendo os mesmos para todos os grupos experimentais.

Feita a inclusão em parafina, os blocos seguiram para secção em micrótomoto rotativo manual, para cinco cortes semi-seriados de 3 µm de espessura, segundo um mesmo plano de corte para todos os fragmentos. Os tempos de pescagem dos cortes foram padronizados para todos os grupos experimentais, a fim de se evitar alterações provocadas pelos procedimentos técnicos empregados na técnica histológica.

Os cortes foram então colocados em lâminas e corados pela técnica histológica da hematoxilina e eosina, sendo em seguida submetidos à análise microscópica, empregando-se microscópio óptico, acoplado a sistema digital de fotografia.

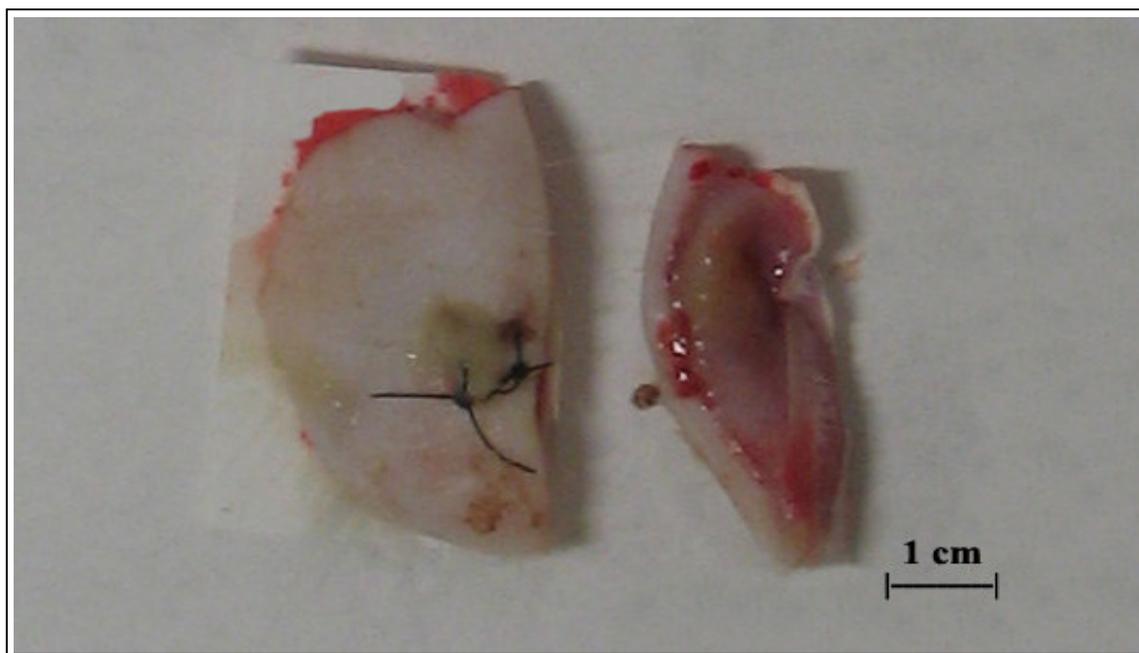


Figura 8 – Fotografia mostrando à direita da figura, o fragmento de pele com sua face de inclusão em parafina para realização dos cortes histológicos.

Os parâmetros utilizados para a avaliação microscópica foram os seguintes:

- a) Presença ou não de reepitelização.
- b) Verificação da presença ou ausência de infiltrado inflamatório e o tipo de celularidade.
- c) Avaliação qualitativa da distância entre as fibras musculares do tecido subcutâneo provocado pelo procedimento, ou seja, o tamanho do abscesso formado.

Após a análise das lâminas foram obtidas fotomicrografias digitais representativas das alterações histológicas provocadas pelos procedimentos experimentais.

3.5 Análise Estatística

Os dados obtidos foram tabulados em planilhas utilizando o programa Microsoft Excel 2003® e submetidos à análise estatística com o programa SAS System®, versão 8.0.

As diferenças entre as medidas da intensidade da deiscência, da necrose de borda da ferida e da piodermite, assim como a área ocupada pelo abscesso formado foram comparadas através do método do t de Student com nível de significância estabelecido em $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

Dos 30 animais utilizados no experimento, nenhum evoluiu para o óbito dentro dos sete dias após os procedimentos. As médias da área do abscesso observado à análise macroscópica (Figura 7A), são apresentadas na Figura 9.

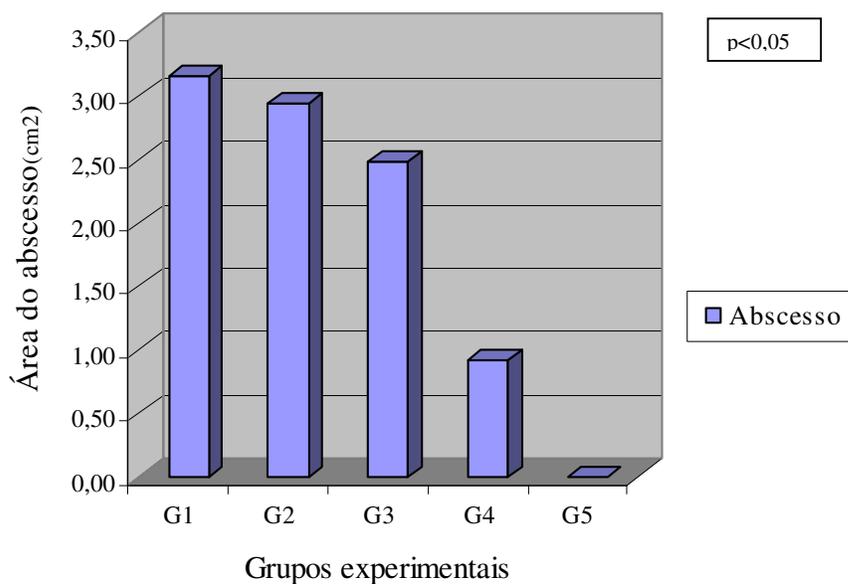


Figura 9 – Médias da área do abscesso em cm², à análise macroscópica.

Os valores médios da magnitude dos parâmetros de deiscência de sutura (Figura 10A), piodermite (Figura 10B) e necrose de borda da ferida (Figura 10C) são mostrados na Figura 11.

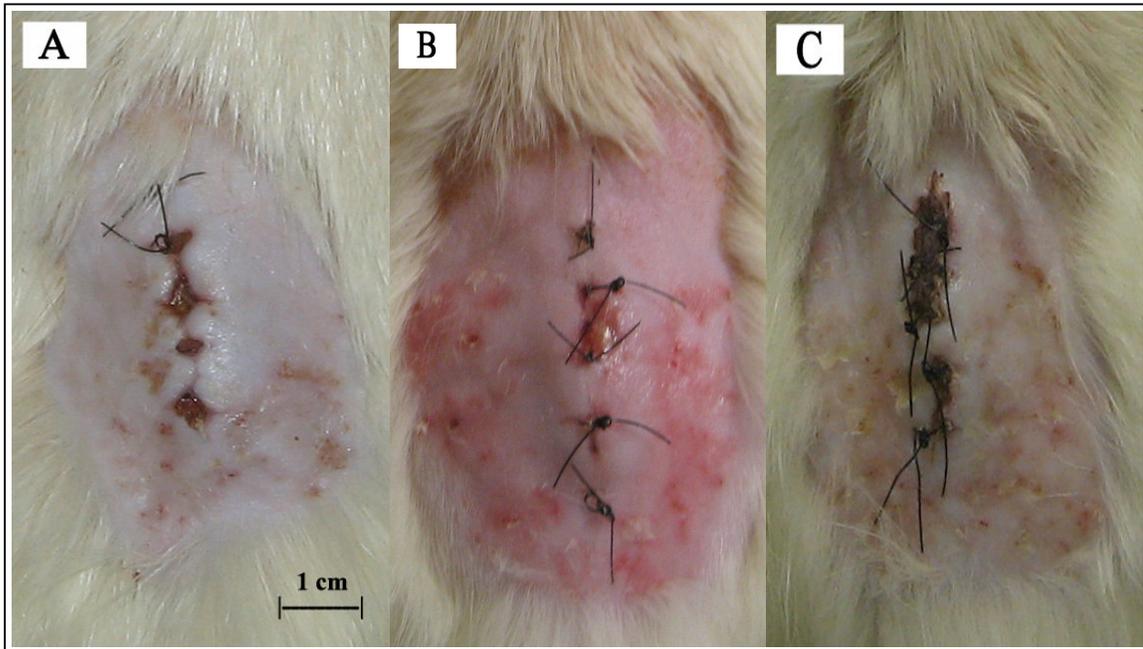


Figura 10 – Fotografias do dorso dos animais após 7 dias do procedimento experimental.
 (A) Presença de deiscência parcialmente cicatrizada no grupo 4.
 (B) Hiperemia compatível com piodermite no grupo 2.
 (C) Necrose da borda da ferida com escara no grupo 3.

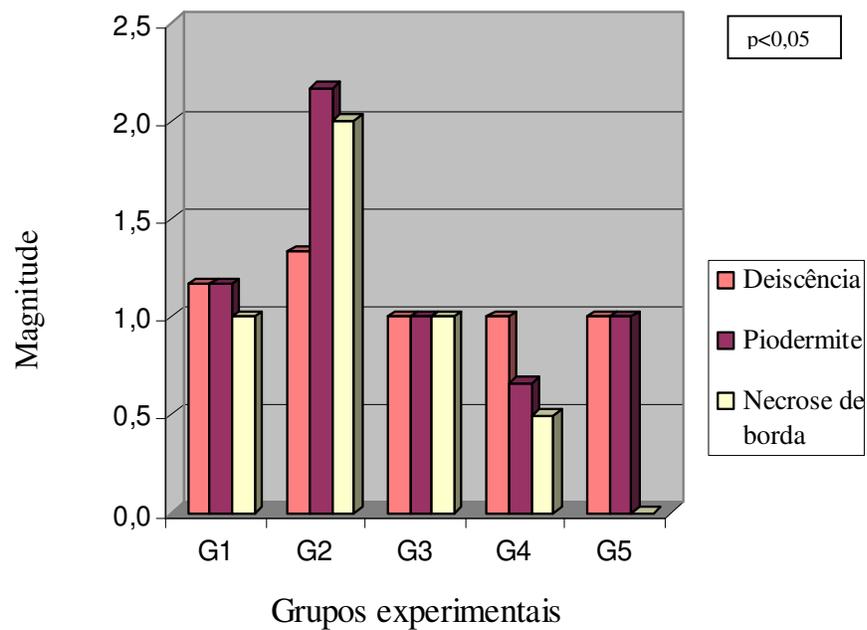


Figura 11 – Médias da magnitude da deiscência, piodermite e necrose de borda à análise macroscópica.

Na Tabela 1 são apresentadas as médias dos parâmetros de deiscência, piodermite, necrose de borda e área de abscesso em função dos tratamentos com quercetina.

TABELA 1 – Médias dos parâmetros observados: deiscência, piodermite, necrose de borda e área de abscesso (cm²) em função dos grupos experimentais

Parâmetros ¹	Tratamentos ²				
	G1	G2	G3	G4	G5
<i>Deiscência</i>	1,17 ^a	1,33 ^a	1,00 ^a	1,00 ^a	1,00 ^a
<i>Piodermite</i>	1,17 ^b	2,17 ^a	1,00 ^b	0,67 ^b	1,00 ^b
<i>Necrose de borda</i>	1,00 ^a	2,00 ^a	1,00 ^a	0,50 ^a	0,00 ^a
<i>Abscesso (cm²)</i>	3,16 ^a	2,95 ^a	2,48 ^{ab}	0,91 ^b	0,00 ^c

¹Letras diferentes na linha indicam significância estatística. (p<0,05).

²Tratamentos: G1 – ausência de Q com procedimento cirúrgico e contaminação (grupo Controle).

G2 – Q 24h, com procedimento cirúrgico e contaminação.

G3 – Q 24h, antes e durante 48h, com procedimento cirúrgico e contaminação

G4 – Q 24h antes e durante 72h, com procedimento cirúrgico e contaminação

G5 – ausência de Q, com procedimento cirúrgico sem contaminação (grupo *sham*)

Q – quercetina

As lâminas mais representativas de cada grupo foram analisadas buscando a presença ou não de reepitelização, o tipo de infiltrado inflamatório assim como avaliação qualitativa da distância entre as fibras musculares subcutâneas de forma a complementar as diferenças observadas macroscopicamente entre os grupos experimentais (Figuras 12, 13, 14, 15, 16 e 17).

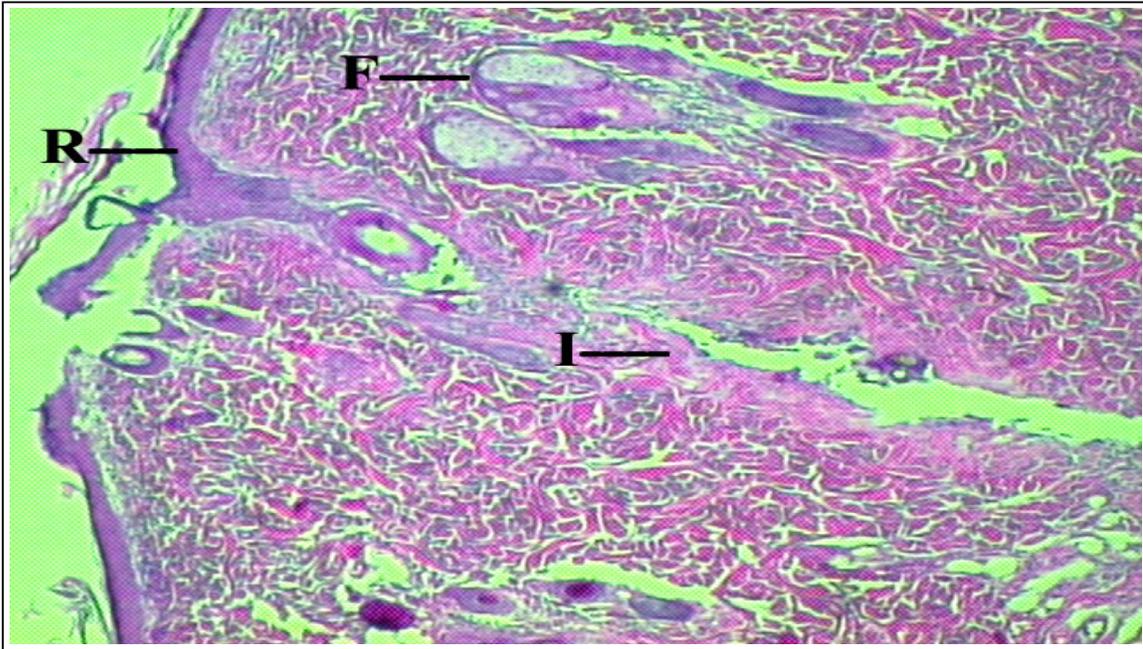


Figura 12 – Fotomicrografia de corte histológico sobre a incisão na pele de animal do grupo 5, onde nota-se reepitelização (R) completa e ausência de infiltrado inflamatório na derme subjacente, onde é possível visualizar a região onde a incisão (I) foi realizada. (F): folículo piloso (40×HE).

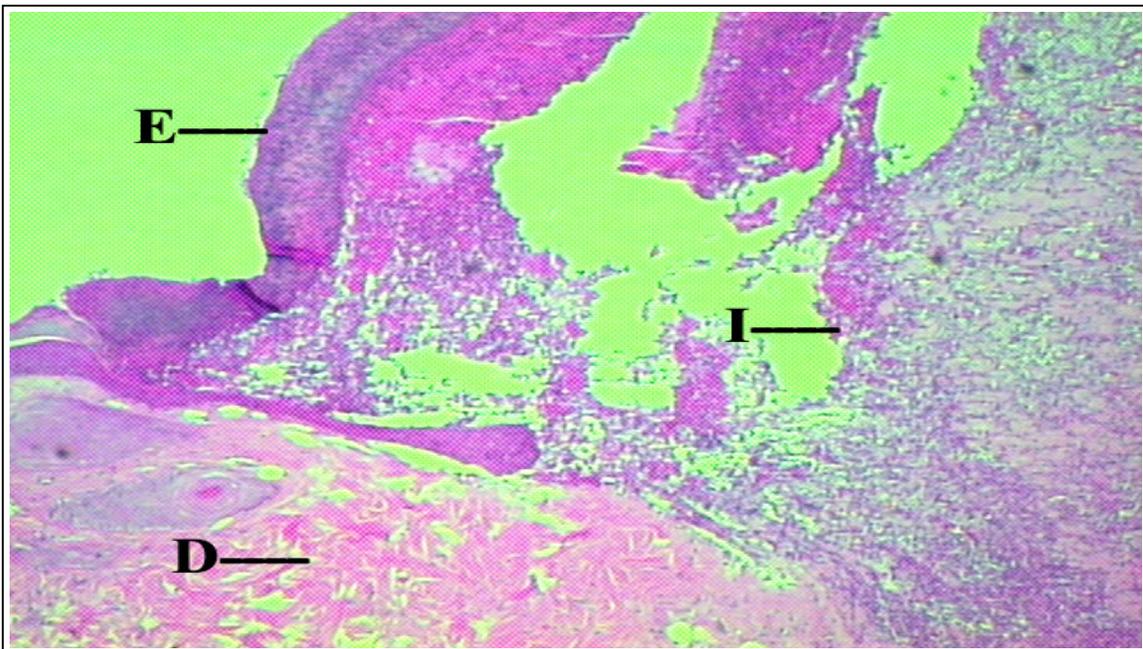


Figura 13 – Fotomicrografia de corte histológico da região sob a incisão do animal do grupo 1, onde nota-se a presença de intenso infiltrado inflamatório intradérmico (I) devido ao abscesso formado. (D): derme. (E):epitélio (40×HE).

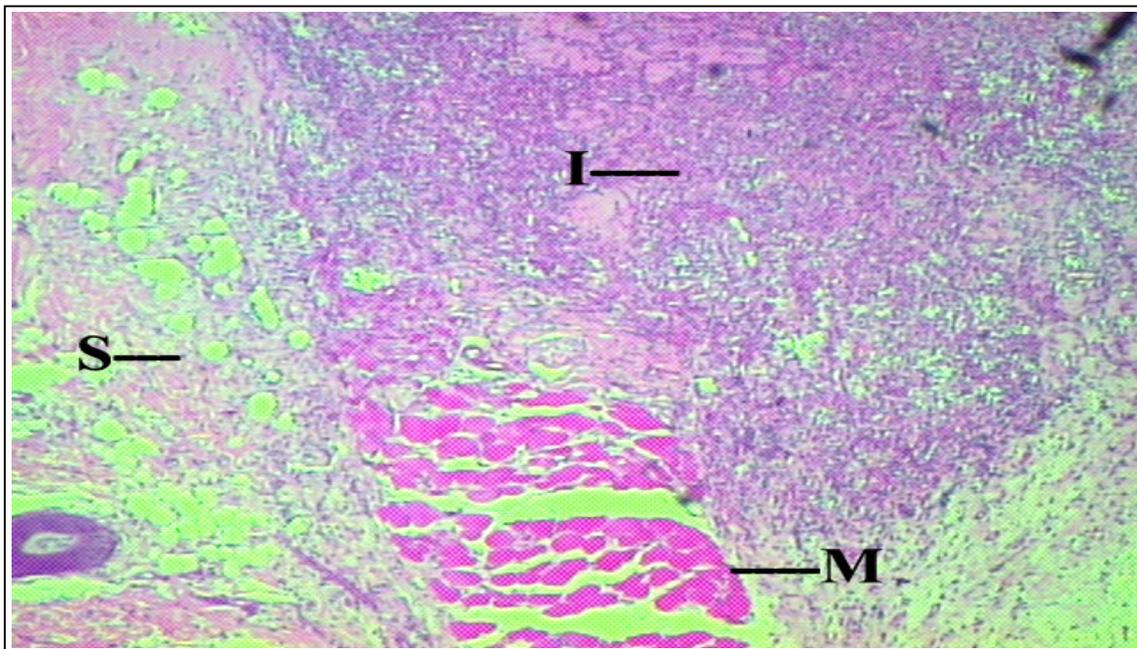


Figura 14 – Fotomicrografia de corte histológico da região sob a incisão do animal do grupo 1, onde nota-se a presença de intenso infiltrado inflamatório com separação da camada muscular subcutânea (M), não sendo possível visualizar a outra extremidade do feixe muscular pela presença de infiltrado inflamatório (I) presente no abscesso formado. (S): tecido celular subcutâneo (40×HE).

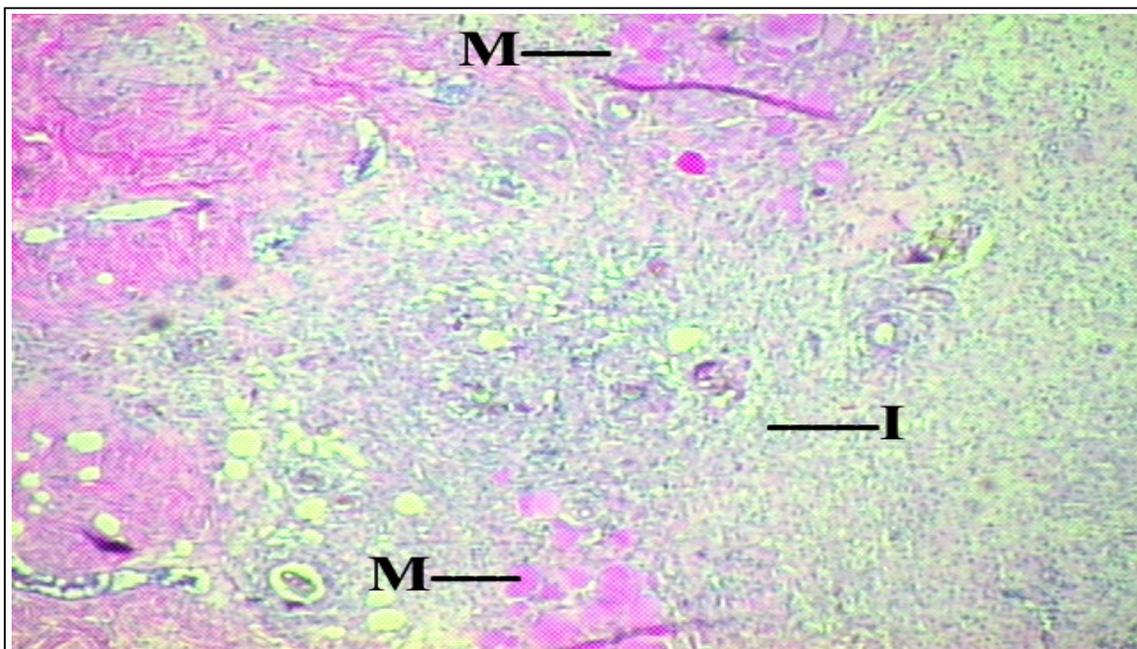


Figura 15 – Fotomicrografia de corte histológico da região sob a incisão do animal do grupo 4, onde nota-se a presença do infiltrado inflamatório na derme e a separação do feixe muscular subcutâneo (M). Verifica-se um menor afastamento entre fibras musculares subcutâneas pelo infiltrado inflamatório (I) (40×HE).

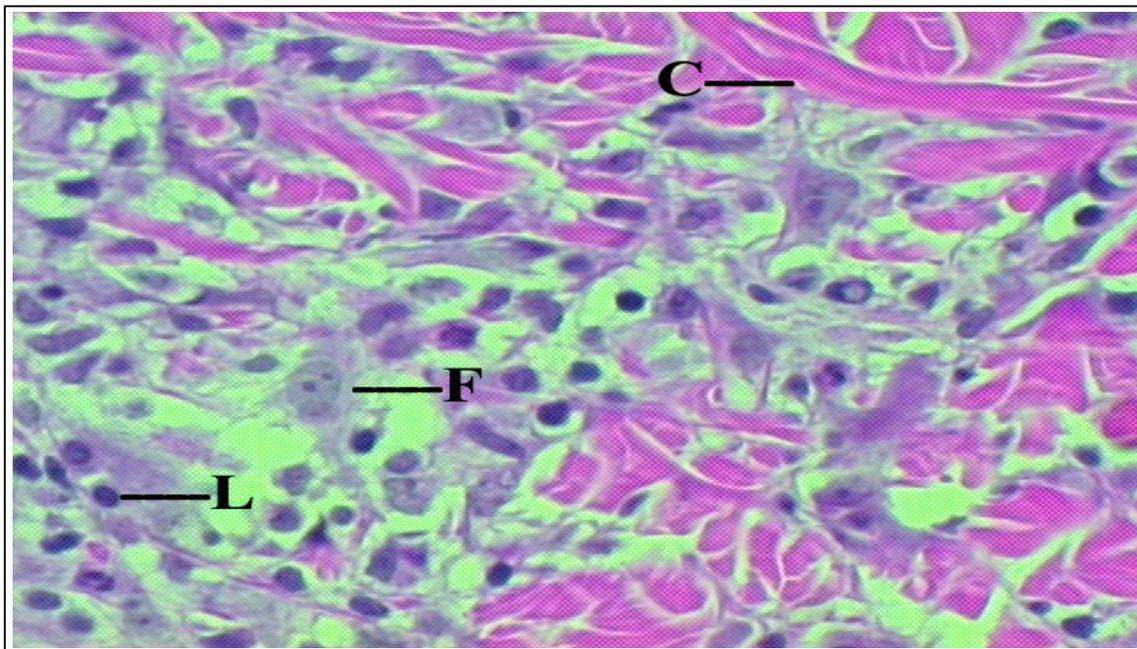


Figura 16 – Fotomicrografia de corte histológico de animal do grupo 4, observa-se infiltrado inflamatório na derme com presença de celularidade contendo linfócitos (L) e fibroblastos (F) com deposição de fibras colágenas (C) (100×HE).

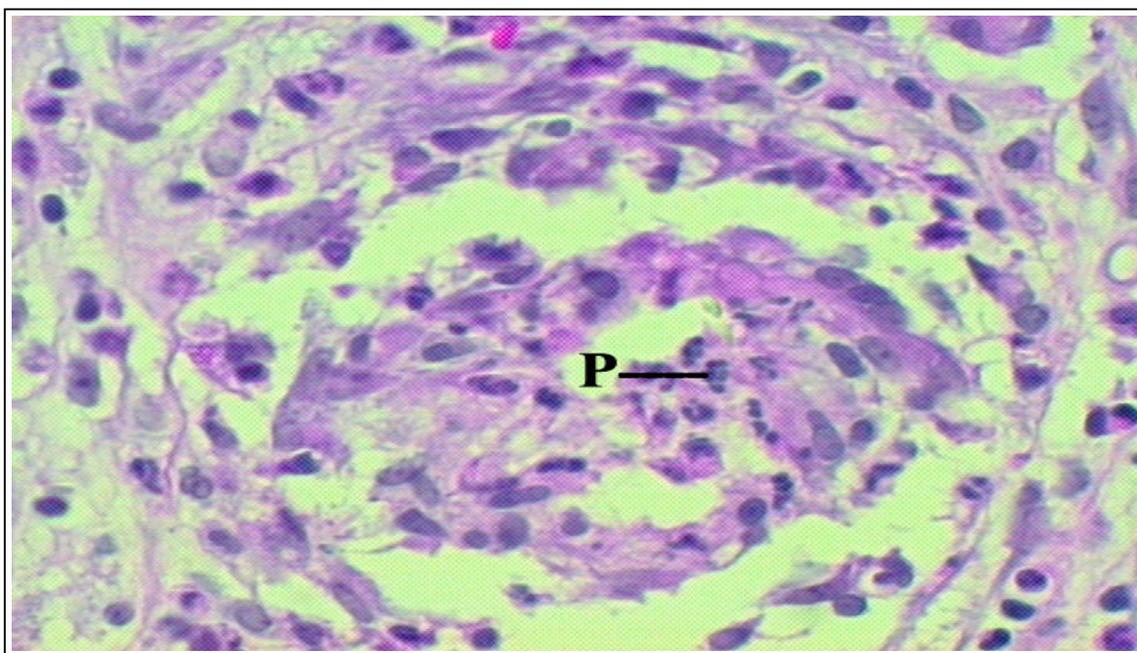


Figura 17 – Fotomicrografia de corte histológico de animal do grupo 1, com presença de infiltrado inflamatório contendo piócitos (P) e ausência de deposição de fibras colágenas (100×HE).

5 DISCUSSÃO

A partir da hipótese de que a quercetina poderia, através de seu potencial antiinflamatório, antioxidante e bactericida, auxiliar no processo de cicatrização diminuindo a intensidade do processo inflamatório, a formação de radicais livres e destruindo bactérias, foi proposto o desenho da pesquisa.

Evidentemente, no patamar atual em que se encontra o conhecimento científico sobre essas substâncias, a avaliação dos efeitos deste flavonóide diretamente em seres humanos seria ainda eticamente inaceitável.

Ainda assim, para que os resultados obtidos na pesquisa experimental com ratos, tenham aplicabilidade clínica para pesquisa em seres humanos, muitos outros degraus devem ser calcados, posto que existem marcantes diferenças entre esses dois sistemas biológicos.

Para validação científica de um estudo experimental devem ser seguidos alguns requisitos básicos. Os animais utilizados devem ser homogêneos, quanto à sua estrutura biológica (grau de parentesco, peso, sexo), condições de criação e de estresse antes durante e depois dos procedimentos. A opção pela utilização de ratos Wistar, neste experimento, deve-se aos fatores: disponibilidade, padronização, facilidade de manuseio e acondicionamento, ciclo de vida e reprodução em alta escala ²⁶.

Utilizou-se neste experimento um modelo de administração intraperitoneal de quercetina para padronizar a biodisponibilidade, pois sua absorção enteral ocorre em quantidades variáveis de 20 a 50% ¹³. Além disto, este flavonóide sofre degradação oxidativa nas células intestinais e metabolismo de primeira passagem hepática ²⁷. Adotou-se um modelo *in vivo*, pois assim a substância tem de interagir com os diversos sistemas orgânicos do animal, em condições semelhantes as que seriam apresentadas em um contexto de uso clínico em seres humanos. A literatura apresenta uma série de estudos analisando o efeito da quercetina *in vitro* em culturas de fibroblastos ou com aplicação tópica de matrizes de colágeno incorporadas à quercetina, analisando parâmetros como produção de RNAm, formação e qualidade de deposição de colágeno, produção de interleucinas, inibição de metaloproteinases e efeitos bioquímicos antioxidantes ^{3,8,14,15}. Não se constatou relatos na literatura de metodologia de administração intraperitoneal deste flavonóide, após contaminação bacteriana cutânea, associado à análise macroscópica.

Vários fatores podem interferir no processo de cicatrização normal, como a área de tecido perdido ou inviabilizado, a quantidade de material estranho, a quantidade do inóculo bacteriano e o tempo de exposição a fatores tóxicos. Quanto maior o dano tecidual, maior o tempo do processo reparativo e maior quantidade de cicatrização residual. Fatores intrínsecos como agentes quimioterápicos, aterosclerose, falência renal ou cardíaca e a localização da injúria na superfície corporal, afetam a cicatrização. O suprimento sanguíneo nas extremidades inferiores é o pior em todo o organismo; na face e mãos é o melhor. Quanto mais idoso o paciente, mais lenta é a cicatrização ²⁸.

Provavelmente a causa mais comum de atraso no processo cicatricial é a infecção da ferida. Se a contagem bacteriana na ferida excede 10^5 bactérias por grama de tecido, ou se algum estreptococo β -hemolítico estiver presente, a ferida não irá cicatrizar adequadamente ²⁹.

A presença de bactérias prolonga a fase inflamatória e interferem com a epitelização, contração e deposição de colágeno. As endotoxinas por si só estimulam a fagocitose e a liberação de colagenase que contribuem para a degradação do colágeno e a destruição do tecido vizinho previamente saudável.

Flavonóides são compostos polifenólicos que ocorrem ubiquamente em alimentos de origem vegetal. Experimentos biológicos usando estes componentes isolados revelam que os flavonóides exibem uma vasta gama de efeitos em sistemas biológicos. Têm sido a eles imputados efeitos antimicrobianos, antivirais, antiulcerogênicos, hepatoprotetores, hipolipêmicos, antialérgicos e antiinflamatórios ³⁰.

Investigações bioquímicas do mecanismo de ação dos flavonóides têm mostrado que eles inibem uma grande variedade de sistemas enzimáticos. Entre eles, diversas oxigenases, como a prostaglandina-sintetase, enzima chave na biossíntese de eicosanóides, que tem papel fundamental, na inflamação, sensação dolorosa e reparo tissular. Atuam também inibindo a enzima hialuronidase, de forma a preservar os proteoglicanos do tecido conjuntivo prevenindo a disseminação bacteriana ou de metástases tumorais ²⁷. As reações de oxidação, onde os flavonóides são preferencialmente oxidados, preservam antioxidantes naturais do organismo como o ácido ascórbico ³¹. A estes fatores somam-se suas propriedades antioxidantes incluindo eliminação de radicais livres e prevenção de peroxidação lipídica ³².

Morikawa *et al.* ³³ estudaram os efeitos da quercetina em modelo de inflamação utilizando carragenina (substância composta de polissacarídeos sulfatados derivados de algas *Rhodophyceae*, utilizada como modelo clássico de inflamação granulomatosa ³⁴), através injeção de ar no subcutâneo do dorso de ratos Wistar, formando bolsa onde foi injetada a

quercetina, e posteriormente a carragenina. A análise histológica da espessura da parede da bolsa evidenciou diminuição significativa nos animais tratados com quercetina.

Rotelli *et al.*³⁵ estudando o efeito de alguns flavonóides, incluindo a quercetina, em modelos experimentais de inflamação em ratos, demonstrou haver inibição significativa da formação de granuloma em chumaço de algodão introduzido na pele e do edema articular induzido pela carragenina com a injeção intraperitoneal prévia de quercetina em doses de 50mg/Kg e 75mg/Kg, respectivamente.

No presente experimento, os grupos que receberam injeções intraperitoneais de quercetina, com doses de 50mg/Kg, o foram submetidos 24 horas antes do procedimento cirúrgico, de forma que no momento da diérese e contaminação, já houvesse níveis plasmáticos satisfatórios dessa substância. Para avaliar mais amplamente seus possíveis efeitos durante as diferentes fases do processo cicatricial, as injeções variaram desde uma injeção 24 horas após o procedimento cirúrgico contaminado no grupo 2, duas novas injeções pós-operatórias 24 e 48 horas, no grupo 3 e três injeções 24, 48 e 72 horas de pós-operatório no grupo 4.

Houve formação de abscesso em todos os animais dos grupos 1, 2, 3 e 4, sendo a diferença na área dos abscessos estatisticamente significativa ($p < 0,05$), com médias inferiores no grupo 4 em relação aos grupos 3, 2 e 1. Assim como entre os animais do grupo 3 em relação aos grupos 2 e 1.

O exame a olho desarmado das feridas cirúrgicas também demonstrou a ocorrência de deiscência completa da sutura em um animal do grupo 2, um animal do grupo 3 e um animal do grupo 4. Observou-se deiscência parcial da sutura em cinco animais do grupo 1, três animais do grupo 2, dois animais do grupo 3, dois animais do grupo 4 e um animal do grupo 5. Para este parâmetro não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os diferentes tratamentos.

Foi observada piodermite em todos os animais do grupo 1 e do grupo 2, em cinco animais do grupo 3, em quatro animais do grupo 4 e em três animais do grupo 5. Resultado este que apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o grupo 2 em relação aos outros grupos.

Necrose da borda da ferida foi observada em cinco animais do grupo 1, em seis animais do grupo 2, em cinco animais do grupo 3, em um animal do grupo 4 e nenhum animal do grupo 5, resultado onde não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Os resultados observados indicam discrepância entre as observações macroscópicas externas relativas à ferida (deiscência, necrose e piodermite), onde não houve efeito

significativo ($p > 0,05$) da quercetina. havendo inclusive deiscência parcial da ferida e piodermite em animais do grupo 5 (grupo *sham*) que não foram submetidos à inoculação bacteriana e mesmo assim apresentaram estas alterações.

Por outro lado, a quercetina foi eficaz em reduzir a magnitude do processo inflamatório na derme e tecido subcutâneo, diminuindo o abscesso formado de forma dose-dependente, variando com número de injeções pós-operatórias crescentes provocando diminuição mais significativa em relação às anteriores.

Nitz *et al.*³⁶ estudando o efeito de extratos aquosos de *Coronopus didymus* e *Calendula officinalis* (que apresentam flavonóides em sua composição) sobre o processo cicatricial de feridas cutâneas em ratos Wistar, concluiu haver à microscopia aumento significativo do número de fibroblastos e fibras colágenas nos grupos tratados com o extrato destas plantas.

Silva³⁷ estudou a cicatrização de feridas contaminadas com inóculo padrão em ratos Wistar, avaliando o efeito da aplicação tópica de anti-sépticos (solução salina, clorexidina e polivinil pirrolidona iodo) e também não encontrou diferença marcante nos parâmetros de deiscência, necrose e piodermite entre os diferentes grupos experimentais. No entanto à microscopia, a intensidade do infiltrado inflamatório sofreu influência significativa, com uma tendência a resultados melhores com a clorexidina, denotando que os parâmetros externos não parecem ser sobremaneira influenciados, tanto quanto a intimidade da ferida cirúrgica onde o inóculo bacteriano foi de fato depositado.

d'Acampora *et al.*³⁸ estudando microscopicamente o processo cicatricial de feridas cutâneas contaminadas em ratos Wistar, avaliando o efeito da aplicação tópica de anti-sépticos (solução salina, clorexidina e polivinil pirrolidona iodo), observou que a celularidade predominante no grupo experimental sem tratamento era de um infiltrado neutrofílico discreto, associado a infiltrado macrofágico e linfocíticos moderados.

No presente experimento, à microscopia, observou-se melhor reepitelização nos grupos tratados com quercetina em relação ao controle. As lâminas dos grupos tratados com quercetina demonstravam coaptação das margens da incisão havendo menor separação entre as fibras musculares subcutâneas, nitidamente superior ao grupo controle, onde observava-se, em geral, grande área de abscesso formado. Outros aspectos também diferiram marcadamente. No que tange à celularidade, esta apresentava-se com melhor estrutura, com presença de fibroblastos e deposição de colágeno, linfócitos entremeados e reconstituição parcial da derme, num estágio do processo cicatricial mais avançado comparativamente ao grupo controle, onde havia infiltrado neutrofílico intenso e monótono, compondo quase a

totalidade do campo, sem identificação das estruturas da derme subjacente por intensa destruição tecidual, inclusive com inúmeros piócitos com inclusões tóxicas, denotando processo de fagocitose bacteriana. De forma que havia atraso do processo cicatricial, perpetuação da fase inflamatória, em relação aos grupos tratados com quercetina.

Ainda assim, recomenda-se novos estudos do processo cicatricial em animais submetidos à administração de quercetina através de microscopia com análise morfométrica, que seria mais acurada de maneira a quantificar mais precisamente as alterações teciduais envolvidas no processo cicatricial.

6 CONCLUSÕES

A administração de quercetina por via intraperitoneal mostrou-se eficaz na melhoria do processo cicatricial cutâneo em ratos Wistar, após incisão cirúrgica contaminada com inóculo bacteriano padrão.

REFERÊNCIAS

1. Hunt TK. Wound Healing. In: Way L, Doherty G, editors. *Current: Surgical Diagnosis and Treatment*, 12.ed. Lange Medical Publications, 2006;75-88.
2. Broughton G, Janis J, Attinger C. Wound Healing: An Overview. *Plast Reconstr Surg*. 2006;117 (7):1e-S-32e-S.
3. Gomathi K, Gopinath D, Ahmed M, Jayakumar R. Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rat. *Biomaterials*. 2003;24(16):2767-72.
4. Kessler M, Ubeaud G, Jung L. Anti and pro-oxidant activity of rutin and quercetin derivatives. *J Pharm Pharmacol*. 2003;55:131-42.
5. Cotelle N. Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Top Med Chem*. 2001;1:569-90.
6. Middleton E, Kandaswami C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Harbone JB (Ed), 1993.
7. Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Meier C, Kähkönen M, Heinonen M, Hopia A, Oksman-Caldentey KM. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *J Appl Microbiol*. 2001;90(4):494-507.
8. Timofeev AA, Maksjutina NP, Voitenko GN, Dobrovolskii I. The use of quercetin granules for treating suppurative soft-tissue wounds of the maxillofacial area and neck. *Stomatologia (Mosk)*. 1989;68(6):11-3.
9. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12:564-82.
10. Hollman PCH. Relative bioavailability of the antioxidant quercetin from various foods in man. *FEBS Lett*. 1997;418:152-6.
11. Kühnau J. The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet*. 1976;24:117-91.
12. Holman PCH, Arts ICW. Review – Flavonoids, flavones and flavanols – nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Agric*. 2000;80:1081-93.
13. Hollman PCH. Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. *Free Rad Biol Med*. 1996;21:703-7.
14. Phan TT, Sun L, Bay BH, Chan SY, Lee ST, Huynh H. Dietary compounds inhibit proliferation and contraction of keloid and hypertrophic scar derived fibroblasts in-vitro: therapeutic implication for excessive scarring. *J Trauma*. 2003;54(6):1212-24.

15. Phan TT, Lim IJ, Sun L, Chan SY, Bay BH, Tan EK, et al. Quercetin inhibits fibronectin production by keloid-derived fibroblasts. implication for the treatment of excessive scars J Dermatol Sci. 2003; 33(3):192-4.
16. Shih CM, Lin H, Liang YC, Lee WS, Bi WF, Juan SH. Concentration-dependent differential effects of quercetin on rat aortic smooth muscle cells. Eur J Pharmacol. 2004;496(1-3):41-8.
17. Martin A. The use of antioxidants in healing. Dermatol Surg 1996;22:156-60.
18. Gaspar J, Rodrigues A, Zaires A, Silva F, Costa S, Montessori MJ, et al. On the mechanisms of genotoxicity and metabolism of quercetin. Mutagenesis. 1994;9:445-9.
19. Häckl LPN, Cuttle G, Dovichi SS, Lima-Landman MT, Nicolau M. Inhibition of angiotensin-converting enzyme by quercetin alters the vascular response to bradykinin and angiotensin I. Pharmacology. 2002, 65: 182-6.
20. Taguchi K, Hagiwara Y, Kajiyama K, Suzuki Y. Pharmacological studies of *Houttuynia herba*: the anti-inflammatory effect of quercitrin. Yakugaku Zasshi. 1993;13(4):327-33.
21. Wei BL; Lu CM; Tsao LT; Wang JP; Lin CN. In vitro anti-inflammatory effects of quercetin 3-O-methyl ether and other constituents from *Rhamnus* species. Planta Med. 2001;67(8):745-7.
22. Cho SY. Quercetin suppresses proinflammatory cytokines production through MAP kinases and NF-Kappa B pathway in lypopolysaccharide-stimulated macrophage. Mol Cell Biochem. 2003;243:153-60.
23. Massone, F. Anestesiologia Veterinária: Farmacologia e Técnicas 4 ed. Guanabara Koogan Rio de Janeiro, 2003.
24. Elek SD. Experimental staphylococcal infections in the skin of man. Ann NY Acad Sci. 1956;65:85-90.
25. Roeitingen W, Edgerion M, Kurtz LD. Role of inoculation site as a determinant of infection in soft tissue wounds. Am J Surg. 1973;126:354-8.
26. Waynforth HB, Flecknell PA. Experimental and surgical technique in the rat. In: Academic Press, Experimental and surgical technique in the rat. London: Hartcourt Brace & Company 1992:116-7.
27. Havsteen BH. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol Ther. 2002; 96(2-3):67-202.
28. Leong M, Phillips LG. Wound Healing. In: Townsend CM, Beauchamp DB, Evers BM, Mattox KL, editors. Sabiston Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice. Philadelphia, Pennsylvania, Elsevier-Sounders, 2004;183-208.
29. Robson MC, Heggens JP: Surgical infection: II. The β -hemolytic streptococcus. J Surg Res. 1969; 9:289-92.

30. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci* 1999;65:337-3.
31. Korkina, LG, Afanas'ev, IB. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol*. 1997;38:151-3.
32. Torel J, Cillard J, Cillard P. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry*. 1986;25:383-.
33. Morikawa K, Nonaka M, Narahara M, Torii I, Kawaguchi K, Yoshikawa T, et al. Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats. *Life Sci*. 2003;74(6):709-21.
34. Masferrer JL, Zweifel BS, Manning PT, Hauser SD, Leahy KM, Smith WG, et al. Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 in vivo is anti-inflammatory and nonulcerogenic. *Proceedings of National Academy of Science of the United States of America* 91. 1994:3228-2.
35. Rotelli AE, Guardia T, Juarez AO, de la Rocha NE, Pelzer LE. Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacol Res*. 2003;48(6):601-6.
36. Nitz AC, Bins-Ely J, d'Acampora AJ, Tames DR, Corrêa ML. Estudo morfométrico na cicatrização de feridas cutâneas em ratos utilizando *Coronopus didymus* e *Calendula officinalis*. *Arq Catarin Med*. Vol. 35(4): no prelo.
37. Silva MT. Análise da cicatrização após o uso de três diferentes agentes para a limpeza de feridas potencialmente infectadas. Estudo experimental em ratos Wistar. [dissertação] (Mestrado em Ciências Médicas) - Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.
38. d'Acampora AJ, Vieira DSC, Silva MT, Farias DC, Tramonte R. Análise morfológica de três tipos de limpeza em feridas cutâneas potencialmente infectadas – Estudo experimental em ratos Wistar. *Acta Cir Bras*. 2006;21(5):332-40.

NORMAS ADOTADAS

Este trabalho foi realizado seguindo a normatização para trabalhos de conclusão do Curso de Graduação em Medicina, aprovada em reunião do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina em 17 de novembro de 2005.

APÊNDICE

Efeitos da quercetina na cicatrização de ferida cirúrgica contaminada em ratos Wistar.

Tabela apêndice – Dados observacionais da análise macroscópica

Tratamento	Animal	Deiscência	Piodermite	Necrose	Abscesso (cm ²)
1	1	2	1	1	4,266
1	2	2	1	1	3,165
1	3	1	2	2	3,550
1	4	1	1	1	2,138
1	5	0	1	0	3,008
1	6	1	1	1	2,835
2	1	0	2	1	1,980
2	2	3	2	3	2,534
2	3	2	1	3	1,495
2	4	2	3	3	1,708
2	5	0	3	1	3,104
2	6	1	2	1	6,872
3	1	0	1	1	2,622
3	2	2	1	1	2,353
3	3	0	1	0	2,895
3	4	0	2	1	2,730
3	5	1	0	2	2,535
3	6	3	1	1	1,734
4	1	1	0	0	0,897
4	2	3	1	3	1,232
4	3	0	1	0	0,274
4	4	0	1	0	0,231
4	5	2	1	0	1,868
4	6	0	0	0	0,981
5	1	0	0	0	0,000
5	2	0	0	0	0,000
5	3	1	1	0	0,000
5	4	1	1	0	0,000
5	5	0	0	0	0,000
5	6	0	0	0	0,000

ANEXO