UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

ÚLCERA DE PERNA:
CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E PERFIL
IMUNOHISTOPATOLÓGICO DA CICATRIZAÇÃO NA PRESENÇA
DA BIOMEMBRANA DE LÁTEX NATURAL DA SERINGUEIRA
Hevea brasiliensis

MARCO ANDREY CIPRIANI FRADE

Ribeirão Preto - SP

- 2003 -

MARCO ANDREY CIPRIANI FRADE

ÚLCERA DE PERNA:

CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E PERFIL

IMUNOHISTOPATOLÓGICO DA CICATRIZAÇÃO NA PRESENÇA

DA BIOMEMBRANA DE LÁTEX NATURAL DA SERINGUEIRA

Hevea brasiliensis

**Tese apresentada a Faculdade de Medicina
de Ribeirão Preto - Universidade de São
Paulo, para obtenção do Título de Doutor em
Medicina - Área de concentração Clínica
Médica**

Ribeirão Preto - SP

- 2003 -

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

ÚLCERA DE PERNA:
CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E PERFIL
IMUNOHISTOPATOLÓGICO DA CICATRIZAÇÃO NA PRESENÇA
DA BIOMEMBRANA DE LÁTEX NATURAL DA SERINGUEIRA
Hevea brasiliensis

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo,
para obtenção do Título de Doutor em Medicina
- Área de concentração Clínica Médica

Aluno: MARCO ANDREY CIPRIANI FRADE

Orientador: Profa. Dra. Norma Tiraboschi Foss

Ribeirão Preto – SP

- 2003 -

FICHA CATALOGRÁFICA

Frade, Marco Andrey Cipriani

Úlcera de perna: caracterização clínica e perfil imunohistopatológico da cicatrização na presença da biomembrana de látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis*.

Ribeirão Preto, 2003

185 p.; 29,7 cm

Tese Doutorado – apresentado à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Área de Concentração: Clínica Médica

Orientadora: Profa. Dra. Norma Tiraboschi Foss

1. Úlcera de perna.

2. Biomembrana de látex

3. Cicatrização

4. Curativo

4. Imunohistoquímica

5. Fatores de crescimento

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese:

a minha saudosa avó “TUTUA”;

a minha maravilhosa mãe “CARMINHA” e

a minha grande companhia “KAU”

AGRADECIMENTOS

A DEUS

Pela beleza e poder da criação e liberdade de escolha.

A minha grande escola: OS PACIENTES

Pela alegria do aprendizado e satisfação do ensinamento.

A minha AVÓ (in memoriam)

Pelo carinho e confiança nas minhas conquistas mesmo depois de sua partida.

A minha MÃE

Por respeitar incondicionalmente as minhas escolhas defendendo-as com trabalho, carinho e imensurável amor.

A toda minha FAMÍLIA

Pai, irmãos (Giovanni e Carlos), avô, tios e “primos-sobrinhos” pela alegria, carinho, força e compreensão.

Ao companheiro CLÁUDIO

Por toda paciência, compreensão e pelo quanto vem me ensinando na arte de dividir.

Ao Professor COUTINHO

Por acreditar na potencialidade da matéria-prima brasileira em enobrecer a ciência do nosso país, essencial para realização deste trabalho, pelas discussões técnico-científicas, pela confiança, pela amizade e cumplicidade em nossas conquistas.

À família COUTINHO

Pela força e pelo carinho tão acolhedor (Beth, Alexandre, Paulo e Daniel).

À família FOSS

Pelo carinho, incentivo e pela compreensão despendida na difícil tarefa de compartilhar o tempo de Dra. Norma.

À Professora Dra ANA Maria Roselino

Pela amizade e discussões técnicas e de vida.

À WILDE

Pelo carinho e dedicação.

Aos docentes, médicos assistentes, residentes e pós-graduandos da DERMATOLOGIA-FMRP-USP

Pelo companheirismo e constantes permutas de conhecimentos.

À Professora Dra. Raimunda VIOLENTE Campos de Assis e aos amigos do CIDAP

Pela importante colaboração na execução dos trabalhos de histopatologia.

À Professora Dra. MARIA TERESA FEITAL

Pela sua simplicidade na arte de ensinar, por me despertar para a vida científica e pelo grande apoio (quase maternal) às minhas conquistas e atividades junto ao Serviço de Dermatologia da UFJF.

Aos professores e pós-graduandos da DERMATOLOGIA UFJF

Pelo amadurecimento e alegria conquistados com o trabalho em equipe, pelo incentivo à realização deste trabalho e amizade.

Aos meus ALUNOS

Pela amizade e fonte infindável de aprendizado, em especial, a Sâmara, Wendel, Sandro, Ígor, Felipe e Evandro que muito contribuíram na execução deste trabalho.

Às minhas secretárias CRISTIANE, CARLA, LUCIANA, DELANA E SIMONE

Pela importante contribuição na organização das minhas idas e vindas a São João Del Rei.

À SILVINA

Pela sua amizade, pela paciência, carinho e dedicação aos meus trabalhos e na manufatura das biomembranas.

Ao pessoal do laboratório de BIOQUÍMICA

René, Ruither, Vanessa, Ricardo e Vera pela amizade e colaboração.

Ao Professor Titular Dr. FERNANDO Queiroz Cunha

Pela confiança, incentivo e pela colaboração na realização dos trabalhos de imunohistoquímica.

Ao pessoal do laboratório de FARMACOLOGIA

Pela alegria do trabalho diário e colaboração, em especial, Giuliana e Eleni.

À SUSANA Moreno e MELISSA Kim

Pela essencial ajuda nos trabalhos de imunohistoquímica. Em especial, à Susana, pela amizade e persistência incondicional em me ajudar.

Ao pessoal do laboratório de MORFOLOGIA

Pela colaboração, em especial, Dra. Célia Jamur, Michel e Cristina.

Ao Dr. Antonio JEMMA e a Auxiliar ANTONIETA

Pela importante colaboração no trabalho realizado na UBDS-Simioni.

Ao ALEX,

Pela significativa contribuição na formatação dessa tese.

À minha orientadora Profa. Dra. NORMA Tiraboschi Foss

Pela dedicação, esforço e confiança na execução desse trabalho, pelo estímulo constante à minha formação, pelo carinho e amizade.

ENFIM,

Àqueles que me ajudaram, o meu muito obrigado.

Àqueles que foram indiferentes, o meu obrigado por não ter me atrapalhado.

*E àqueles que complicaram minha trajetória, o meu muitíssimo obrigado
pois me fizeram aprender que é sempre possível um caminho diferente.*

“O sucesso é a jornada, não o destino”.

Deepak Chopra.

LOCAIS DE DESENVOLVIMENTO DESTA TESE

- Ambulatório de Úlceras de Perna do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG.
- Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da UFJF, Juiz de Fora, MG.
- Laboratório CIDAP (Centro de Investigação e Diagnóstico em Anatomia Patológica), Juiz de Fora, MG.
- Unidade Básica Distrital de Saúde Alexandre Flemming - Simioni, Ribeirão Preto, SP.
- Divisão de Dermatologia do Departamento de Clínica Médica da FMRP, Ribeirão Preto, SP.
- Laboratório de Neuroquímica do Departamento de Bioquímica da FMRP, Ribeirão Preto, SP.
- Laboratório de Dor e Inflamação do Departamento de Farmacologia da FMRP, Ribeirão Preto, SP.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS	XI
LISTA DE QUADROS	XIII
LISTA DE FIGURAS	XIV
LISTA DE TABELAS	XVI
LISTA DE ANEXOS	XVII
RESUMO	XVIII
SUMMARY	IX
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Úlceras de perna.....	2
1.2 Cicatrização.....	10
1.3 Tratamentos.....	16
2. OBJETIVOS.....	23
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	25
3.1 Casuística.....	26
3.2 Métodos.....	27
4. RESULTADOS.....	46
5. DISCUSSÃO.....	72
6. CONCLUSÕES.....	87
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
8. ANEXOS.....	113

ABREVIATURAS

ABC – Avidine Biotine Complex

bFGF – Basic Fibroblast Growth Factor (Fator básico de crescimento de fibroblastos)

BML – Biomembrana de látex

CIDAP - Centro de Investigação e Diagnóstico em Anatomia Patológica

CEAP – Clinical, Etiological, Anatomic and Physiopathological classification

ecNOS – Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase (Oxido nítrico sintase endothelial)

EGF - Epidermal Growth Factor (Fator de crescimento epidérmico)

FMRP – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

FGF – Fibroblast Growth Factor (Fator de crescimento de fibroblastos)

HE – Hematoxilina Eosina

HARP – Heparin Affinity Regulatory Peptide (Peptídeo regulador de afinidade da heparina)

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

HU-UFJF – Hospital Universitário da UFJF

iNOS – Induced Nitric Oxide Synthase (Oxido Nítrico Sintase Induzida)

IV – Insuficiência venosa

IVC – Insuficiência venosa crônica

ILGF1 – Insulin Like Growth factor –1 (Fator de crescimento semelhante à insulina)

IFN – Interferon

IL₁ – Interleucina 1

IL₂ – Interleucina 2

M – Molar

MEC – Matriz extracelular

nNOS – Neuronal Oxide Nitric Synthase (Oxido Nítrico Sintase Neuronal)

NO – Óxido nítrico

NOS – Oxide Nitric Synthase (Oxido Nítrico Sintase)

PDEGF – Platelet Derived Endothelial cell Growth Factor (Fator de crescimento de células endoteliais derivados de plaquetas)

PDGF – Platelet Derived Growth Factor (Fator de crescimento derivado de plaqueta)

PMN – Polimorfonucleares

PAD – Pressão arterial diastólica

TGF α – Transforming Growth Factor α (Fator alfa transformador de crescimento)

TGF β – Transforming Growth Factor β 1 (Fator beta transformador de crescimento)

TNF α – Tumor Necrosis Factor α (Fator de necrose tumoral α)

UBDS – Unidade Básica Distrital de Saúde

UFJF – Universidade Federal de Juiz de Fora

USP – Universidade de São Paulo

VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor (Fator de crescimento de endotélio vascular)

V – Verhoeff

TG – Tricrômio de Gomori

LISTA DE QUADROS

QUADRO I:	Consenso da classificação das venosas crônicas, segundo NICOLAIDES, 5 Havaí, 1994 (CEAP)
QUADRO II:	Tipos de curativos..... 19
QUADRO III:	Critérios para análise do percentual de tecido (fibrina,/necrose, granulação, epitélio) quanto à área superficial da úlcera correspondente... 33
QUADRO IV:	Critérios semiquantitativos para análise histopatológica-NECROSE 39
QUADRO V:	Critérios semiquantitativos para análise histopatológica-PROCESSO INFLAMATÓRIO..... 39
QUADRO VI:	Critérios semiquantitativos para análise histopatológica-ANGIOGÊNESE... 39
QUADRO VII:	Critérios semiquantitativos para análise histopatológica-ELASTOSE..... 39
QUADRO VIII:	Critérios semiquantitativos para análise histopatológica-FIBROSE COLAGÊNICA..... 40
QUADRO IX:	Critérios semiquantitativos para análise histopatológica-PROLIFERAÇÃO FIBRO-BLÁSTICA..... 40
QUADRO X:	Critérios para aplicação do Teste de McNemar..... 40
QUADRO XI:	Critérios para aplicação do Teste de McNemar (Modificado)..... 41

LISTA DE FIGURAS

FIGURA I:	Localização das úlceras de perna (Baker et al, 1991).....	31
FIGURA II:	Localização das úlceras de perna nos grupos CONTROLE e LÁTEX com respectivas frequências.....	49
FIGURA III:	Seguimento clínico fotográfico dos pacientes - GRUPO CONTROLE.....	51
FIGURA IV A:	Seguimento clínico fotográfico dos pacientes - GRUPO LÁTEX 01-08.....	52
FIGURA IV B:	Seguimento clínico fotográfico dos pacientes - GRUPO LÁTEX 09-14.....	53
FIGURA V:	Redução percentual das áreas superficiais das úlceras de perna dos grupos controle e látex ao 30º dia de tratamento.....	60
FIGURA VI:	Parâmetros utilizados no estudo histopatológico.....	63
FIGURA VII	Avaliação histopatológica pré e pós-tratamentos nos grupos CONTROLE e LÁTEX.....	68
FIGURA VIII:	Avaliação imunohistoquímica (imunoperoxidase) pré e pós-tratamentos com a BML.....	71

LISTA DE TABELAS

TABELA I:	Caracterização demográfica dos pacientes com úlceras de perna.....	48
TABELAII:	Caracterização clínica dos pacientes com úlceras venosas – Grupo Controle.....	54
TABELA III:	Caracterização clínica dos pacientes com úlceras venosas – Grupo Látex	55
TABELA IV:	Avaliação clínico-fotográfica dos pacientes do GRUPO CONTROLE com 30 dias de tratamento (n=7)	56
TABELA V:	Avaliação clínico-fotográfica semiquantitativa dos pacientes do GRUPO LÁTEX com 30 dias de tratamento (n=14)	57
TABELA VI:	Resultado da análise clínico-fotográfica dos pacientes dos grupos CONTROLE e LÁTEX após 30 dias de tratamento.....	58
TABELA VII:	Análise histopatológica semiquantitativa – GRUPO CONTROLE (n=5)....	64
TABELA VIII:	Análise histopatológica semiquantitativa – GRUPO LÁTEX (n=12).....	65
TABELA IX:	Análise histopatológica dos pacientes dos grupos CONTROLE e LÁTEX (Teste de McNemar).....	67

LISTA DE ANEXOS

ANEXO I:	Caracterização clínica e epidemiológica da amostra populacional com úlcera de perna em Juiz de Fora e região (Trabalho em publicação).....	114
ANEXO II:	Chronic phlebopathic cutaneous ulcer: a therapeutic proposal (Int J Dermatol, 40(03): 238-40, 2001.....	133
ANEXO III:	Stimulation of diabetic wound healing by natural latex biomembrane (NLB) (Trabalho em publicação).....	137
ANEXO IV:	Protocolo de cadastro dos pacientes portadores de úlcera de perna.	143
ANEXO V:	Termo de consentimento	144
ANEXO VI:	Declaração da CEP-HU-UFJF.....	145
ANEXO VII:	Declaração da CEP-HCFMRP-USP.....	146
ANEXO VIII:	Histórias clínicas dos pacientes grupos controle-látex (Estudo III).....	147
ANEXO IX:	Medidas das áreas de superfície ulcerada das feridas dos pacientes do GRUPO CONTROLE.....	156
ANEXO X:	Medidas das áreas de superfície ulcerada das feridas dos pacientes do GRUPO LÁTEX.....	157
ANEXO XI:	Análise de imagens por redes neurais artificiais (EESC-USP).....	159
ANEXO XII:	Frequências e probabilidades de ho para parâmetros histológicos (teste binomial).....	

RESUMO

Úlcera de perna é uma doença muito freqüente na população idosa. Inúmeros são os tipos de curativos atualmente usados para tratamento das úlceras de perna, com diferentes indicações, vantagens e desvantagens, cuja eficácia não está bem esclarecida devido à descontinuidade dos tratamentos e os custos envolvidos em algumas situações. Para avaliar a ação da biomembrana de látex (BML) no tratamento de úlceras de perna, que se comportou como eficiente indutora do tecido de cicatrização. Foram realizadas avaliações clínicas e imunohistopatológicas em 21 doentes, casualmente selecionados, submetidos à aplicação da biomembrana (14 pacientes), comparando com o tratamento clássico (07 pacientes) constituído de pomada com cloranfenicol e enzimas proteolíticas (Fibrase[®]) com o objetivo de analisar e comparar as alterações histopatológicas e imunohistoquímicas relacionadas aos diferentes tratamentos. Foram coletadas biópsias da lesão antes e 30 dias após os tratamentos. As biópsias foram divididas em dois fragmentos, um deles para o estudo histopatológico e outro congelado a -70°C para análise imunohistoquímica. Os resultados mostram que o uso da biomembrana de látex facilitou os cuidados à lesão aliada ao baixo custo e praticidade de sua aplicação. Adicionalmente, foi observado que a BML induz a uma diferenciação clínica e histopatológica do tecido de cicatrização, com aumento da detecção de fatores de crescimento como VEGF (vascular endothelial growth factor) e TGFβ1(transforming growth factor 1), associada à redução da expressão da enzima iNOS (óxido nítrico-sintase induzida), quando comparado ao tratamento controle. A análise global dos dados sugere que o tratamento com a biomembrana conduz a organização do tecido cicatricial conseqüente à maior produção de fatores de crescimento celular. Dessa forma, a biomembrana se caracteriza como uma boa opção terapêutica para úlcera de perna, devido à praticidade de sua aplicação, baixo custo e alta potencialidade na indução da cicatrização.

SUMMARY

The leg ulcer is a disease very frequent in elderly people. Nowadays, there are many kinds of dressing to treat its with different indications, advantage and disadvantage. Their efficacy is not clear yet because to the treatments discontinuous and the costs involved in same situations. The latex biomembrane from rubber tree *Hevea brasiliensis* (NLB) showed an improvement of the healing process to treat leg ulcer, observed by the clinical and the immune histopathological aspects. To verify whether the NLB could be associated with an increased healing we selected 21 leg ulcer patients to be submitted to the topical treatment. These patients were divided into two groups. In the first group 14 randomized patients were treated with latex biomembrane and in the other group 07 patients were treated with topical ointment of cloranfenicol and proteolytic enzymes with the objectives to analyze and to compare the histopathological and immunohistochemical alterations related to the different treatments. All the patients were submitted at least to two biopsies; before the treatment and the 30th day of the treatment. The biopsies specimens were divided into two parts; one of them for the histopathological study and the other was frozen for the immunohistochemical analysis. The results showed that the biomembrane is very easy, practical and cheap leg ulcer topical treatment. Additionally, the NLB induces to a clinical and histopathological differentiation of the cicatrization tissue with increased detection of growth factors as VEGF (vascular endothelial growth factor) and TGF- β 1 (transforming growth factor1), associated to a reduction of iNOS (induced oxide nitric sintase) expression when compared to the control treatment. The global analyze of the data suggest that the biomembrane of natural latex led to cicatricial tissue organization and a higher production of cellular growth factors. So, this treatment can characterize as a good therapeutic option for leg ulcers due the facility of the application, low costs and high potentiality to induce of the cicatrization.

1. INTRODUÇÃO

1.1 ÚLCERAS DE PERNA

A úlcera de perna é uma síndrome que se caracteriza por perda circunscrita ou irregular do tegumento (epiderme e/ou derme) que acomete as extremidades dos membros inferiores podendo atingir subcutâneo e tecidos subjacentes. Sua causa está geralmente em alguma disfunção no sistema vascular arterial ou venoso (Carvalho et al, 2000).

As úlceras de perna podem ser classificadas de acordo com sua etiologia em úlceras por insuficiência venosa (Úlcera venosa) em 80 a 85% dos casos, por insuficiência arterial (Úlcera arterial) em 5 a 10% e o restante por neuropatias (Úlcera neuropática/pé diabético) (Philips et al, 1991). Podem ser causadas, também, por anormalidade das hemácias (Úlcera anêmica), por tromboangeíte obliterante, além de causas como trauma, neoplasia, infecções, paniculites e pioderma gangrenoso (Philips et al 1994).

São fatores desencadeantes das varizes primárias e predisponentes à ulceração de perna: idade (idosos), sexo (feminino), raça, obesidade, número de gestações, profissão (ortostatismo prolongado), constipação intestinal, vulnerabilidade das pernas a traumas e infecções, aumento da pressão venosa, diminuição do fluxo arterial e história familiar (Maffei, 2002, Sampaio, 1998, Carvalho et al, 2000 & 2002).

A insuficiência venosa crônica (IVC) dos membros inferiores representa a incapacidade de manutenção do equilíbrio entre o fluxo de sangue arterial que chega ao membro inferior e o fluxo venoso que retorna ao átrio direito decorrente da incompetência do sistema venoso superficial e/ou

profundo. Isso acarreta um regime de hipertensão venosa crônica (HVC) e, tardiamente, leva as alterações de pele e subcutâneo que são características da insuficiência venosa crônica (IVC) (Barros Jr N, 2000; Pitta et al, 2000, <http://www.lava.med.br/livro/newton.pdf>, acesso 19/01/2003). Esse quadro é constituído de uma combinação de mais de uma ou de todas as seguintes alterações: edema, dermatite ocre, eczema de estase, lipodermatoesclerose, surtos de celulite ou erisipela, úlcera venosa, correspondendo à classificação CEAP de 3 a 6 (Maffei, 2002).

Essa classificação para IVC, denominada CEAP (1994), foi criada com a finalidade de pontuar o comprometimento gradual do sistema venoso e suas manifestações e aborda os critérios: clínico, anatômico, etiológico e fisiopatológico, como mostra o QUADRO I (Nicolaidis AN, 1994).

A úlcera venosa (CEAP 6) surge freqüentemente após trauma. Geralmente, a lesão é única com localização habitual no terço inferior e face medial da perna, região supramaleolar, que progride lentamente, constituindo úlceras de formas e tamanhos variáveis (Sampaio, 2000).

Sua etiologia está diretamente ligada à hipertensão venosa crônica, porém, sua patogênese ainda não foi bem esclarecida. A hipertensão venosa pode surgir devido a um ou mais dos seguintes fatores:

- defeito valvar entre as veias comunicantes e superficiais;
- dano valvar ou oclusão do plexo venoso profundo;
- disfunção muscular;
- ou falência da função bomba (*vis a tergo*) por fibrose, neuropatia, doença inflamatória.

- angiodisplasias, como a formação de fístulas arteriovenosas, cujo papel na gênese das varizes secundárias encontra-se ainda muito questionado na literatura (Dodd et al, 1976, Haimovici et al, 1966 e 1987, Scott et al, 1990).

Essa hipertensão promove mecanismos fisiopatológicos que cursam com uma distensão capilar, gerando extravasamento de macromoléculas para o espaço extravascular, como fibrinogênio e a hemoglobina, que se transformam em fibrina e hemossiderina, respectivamente. A polimerização do fibrinogênio parece formar, na parede vascular externa, trombos de fibrina, proporcionando uma barreira à difusão de oxigênio e nutrientes pelos vasos dérmicos, o que leva à necrose e ulceração, segundo Falanga (1987 & 1993). Há, ainda, a hipótese de que a hipertensão danifica a célula endotelial, facilitando sua adesão a leucócitos circulantes e acentuando o nível de mediadores inflamatórios que aumentam a permeabilidade capilar e vascular e, talvez, o dano tecidual. Também tem sido proposto que o acúmulo de ferro na doença venosa organiza uma reação de Fenton com H_2O_2 liberando radicais hidroxilas que levariam ao dano tecidual (Falanga, 1994).

Na clínica, a transformação da hemoglobina em hemossiderina manifesta-se como máculas vermelho-acastanhadas (púrpura hipoestática, dermatite ocre), o infiltrado inflamatório e espongiose se expressam por eritema e vesículas exsudativas que levam à formação de crostículas, caracterizando, assim, o eczema de estase. No início, a úlcera apresenta bordas irregulares, fundo hemorrágico ou purulento, porém, com a evolução crônica e intermitente, as bordas se tornam calosas e aderentes aos tecidos subjacentes que se

denomina lipodermatoesclerose. Celulite e infecção estreptocócica podem estar associadas ao quadro.

QUADRO I: Consenso da classificação da insuficiência venosa crônica, segundo NICOLAIDES, Havaí, 1994 (CEAP).

CLÍNICO	
Classe 0	Sem sinais de doença venosa visível ou palpável
Classe 1	Telangiectasias ou veias reticulares
Classe 2	Veias varicosas
Classe 3	Edema
Classe 4	Alterações cutâneas (hipercromia, lipodermatoesclerose,eczema)
Classe 5	Classe 4 associada à úlcera cicatrizada
Classe 6	Classe 4 associada à úlcera ativa
ETIOLÓGICO	
Congênita	EC
Primária	EP – causa indeterminada
Secundária	ES – pós-trombótica; pós-traumática e outras.
ANATÔMICO	
Segmento Veias superficiais (As)	
Segmento 1	Telangiectasias/Veias reticulares
Segmento 2	Safena interna acima do joelho
Segmento 3	Safena interna abaixo do joelho
Segmento 4	Safena externa
Segmento 5	Não safenas
Segmentos veias profundas (Ap)	
Segmento 6	Veia cava inferior
Segmento 7	Veia ilíaca comum
Segmento 8	Veia ilíaca interna
Segmento 9	Veia ilíaca externa
Segmento 10	Pélvis gonadal, ligamento largo, etc...
Segmento 11	Veia femoral comum
Segmento 12	Veia femoral profunda
Segmento 13	Veia femoral superficial
Segmento 14	Veia femoral poplítea
Segmento 15	Veias crura-tibial anterior, tibial posterior, peroneira
Segmento 16	Muscular-gastrocnemio, sóleo
Segmento veias periféricas (Aperf)	
Segmento 17	Coxa
Segmento 18	Perna
FISIOPATOLÓGICO	
Refluxo	FR
Obstrução	FO
Refluxo/Obstrução	FR/FO

As úlceras arteriais são freqüentemente pré-tibiais ou envolvem os dedos dos pés e acometem, geralmente indivíduos idosos, às vezes diabéticos e/ou hipertensos. Podem ser desencadeadas, principalmente, por isquemia cutânea dependente de lesões arteriais tronculares. Apresentam uma

exsudação mínima, leito necrótico, dor variável e, freqüentemente, não há pigmentação nem lipodermatoesclerose associadas. Acompanham-se dos sinais clínicos típicos de deficiência arterial como diminuição e/ou ausência dos pulsos arteriais, claudicação intermitente, xerodermia, além do comprometimento dos pés que devem ser examinados quanto à palidez, cianose, unhas quebradiças e rarefação de pêlos. Ao exame clínico, observa-se empalidecimento do membro ao ser elevado e hiperemia reacional exagerada ao abaixá-lo (sinal de Buerger) (Franzeck et al, 1982). Alguns diabéticos apresentam doença arteriolocapilar degenerativa, que leva à formação de úlceras isquêmicas profundas, dolorosas e sem edema e de localização preferencial no terço inferior da perna, face lateral ou sobre os maléolos (Sampaio, 2000).

As úlceras hipertensivas também denominadas úlceras de Martorell (Martorell, 1950) são inicialmente precedidas por uma lesão pequena, macular, superficial, amarelada ou eritemato-cianótica acompanhada de livedo reticular periférico, localizada na face lateral da perna, entre os terços médio e inferior e surgem, freqüentemente, após pequeno trauma. Em geral cursam com dor forte quando membro pendente. Os pulsos distais estão sempre presentes, o que a distingue da arteriosclerose. A patogênese se estabelece pela associação da hipertensão arterial sistêmica crônica à redução gradual da densidade do leito capilar que ocorre nas pessoas idosas, principalmente, na face lateral das pernas, predispondo essa região à necrose isquêmica (Pasyk et al, 1989). Histopatologicamente vê-se um espessamento da parede arteriolar devido a uma degeneração hialina do subendotélio vascular e uma hiperplasia

da camada muscular média (Ryan et al, 1999).

As úlceras de origem neuropática, também denominadas de úlceras tróficas, são crônicas e ocorrem em área anestésica, por trauma ou pressão. Estão relacionadas às doenças que cursam com neuropatia periférica, como por exemplo, o *diabetes mellitus*, alcoolismo, hanseníase e traumas de nervos periféricos. Há redução do suprimento arterial como no *diabetes mellitus*, porém algumas vezes, pode ocorrer devido a uma diminuição da velocidade do fluxo sanguíneo, como na acropatia ulceromutilante descrita originariamente nos alcoólatras franceses (Bazex et al, 1975; Lefaucher et al, 1975).

As úlceras anêmicas normalmente acontecem em mulheres jovens da raça negra, localizam-se no terço inferior da perna, apresentam características inespecíficas e o diagnóstico é baseado na ausência de sinais de estase e achados laboratoriais do hemograma (hemácias falciformes) (Sampaio, 2000).

Sobre a prevalência ou o número de pacientes com úlceras de perna em nosso país, poucos são os trabalhos publicados de características nacionais. Maffei et al (1986), num estudo na região de Botucatu (SP) encontrou alta frequência de úlceras venosas nos pacientes varicosos, freqüentemente desencadeadas por trauma. Os autores atribuíram essa alta frequência à ausência de tratamento e pouco cuidado com os varicosos na população de nível socioeconômico baixo. Na região de Belo Horizonte (MG) Cabral (2000) também encontrou alta prevalência (2,6%) de úlceras venosas cicatrizadas ou abertas (Classe CEAP 5 e 6). Nos EUA, estima-se que 600.000 pessoas sofram de úlcera venosa (Philips et al, 1991). Em alguns estudos, a

úlceras venosa mostra-se como a segunda causa de absenteísmo ao trabalho, seguida do resfriado (Philips et al, 1994; Gourdin et al, 1993). No Brasil, estima-se a existência de 2 milhões de casos entre os aposentados e os que recebem auxílio-doença (<http://www.emedix.com.br>; Ministério da Saúde, 2001). Entretanto, não existem dados nacionais ou regionais a respeito da incidência e prevalência da doença no país.

Para identificar a relevância da doença e as implicações sociais envolvidas no tratamento de úlceras de perna, foi planejado um estudo inicial clínico-epidemiológico, desenvolvido em Juiz de Fora (MG) e região, no período de setembro de 1999 a março de 2001, com 124 pacientes apresentando úlceras de perna. Verificou-se tratar de uma doença freqüente, que acomete uma população essencialmente feminina (65,3%) com média de idade de 62,6 anos. A composição familiar média foi 3,7 pessoas/família, renda média mensal de R\$ 95/pessoa (n=114). Associava-se às úlceras, a insuficiência venosa em 64% dos pacientes, HAS em 46%, diabetes em 22% e obesidade em 17,5%. Observou-se que a maioria dos pacientes (66%) fazia uso de algum tipo de medicamento. As úlceras venosas foram mais freqüentes (67,8%) seguidas das hipertensivas 20,1%, mistas 8,9% e outras 3,2%. As úlceras tinham um tempo de existência mediano de 36 meses (n=90) sendo recidivante em 50% da amostra (Frade et al, 2001a e b, ANEXO I).

Os resultados desse trabalho mostraram que havia grande variabilidade de conduta terapêutica, o que dificultou o seguimento desses pacientes. Verificou-se, também, que os curativos eram sempre dolorosos e envolviam procedimentos que, na maioria dos casos, dependia da participação

dos profissionais de saúde pública e da adesão dos pacientes. Além disso, concluiu-se que as úlceras de perna, principalmente as venosas, constituem-se uma doença crônica importante na população idosa de Juiz de Fora (MG), predominantemente feminina, de baixa renda e que, geralmente, apresenta alguma outra doença crônica associada. Esses fatos evidenciam a doença úlcera de perna como um transtorno significativo na vida dos pacientes, tanto pelas repercussões clínico-funcionais da doença, quanto pelo seu tratamento (Frade et al, 2001 A, B).

Apesar das dificuldades em se estimar os custos do tratamento de úlceras crônicas, tem sido relatado que, na Inglaterra, um tratamento por 4 meses pode chegar a U\$ 2500, já para a população dos Estados Unidos da América, os custos variam de U\$ 775 milhões a U\$ 1 bilhão ao ano (Philips TJ, 1994).

Tais evidências se mostraram relevantes e constituíram a fonte de questionamentos que envolvem a cicatrização das lesões e os tipos de curativos que poderiam ser mais adequados à realidade da população acometida pelas úlceras de perna.

Conhecendo os tipos de úlceras e suas diferentes etiologias, foram consideradas, a princípio, as características do processo de cicatrização, cujas principais etapas estão apresentadas a seguir.

1.2 CICATRIZAÇÃO

O processo de reparo de lesões nos animais vertebrados é representado por uma seqüência de eventos moleculares que objetivam restaurar o tecido que sofreu injúria. No entanto, após o nascimento, o organismo falha em seu objetivo final de neoformar o tecido lesado, ocorrendo então o reparo, com formação de uma cicatriz, em todo o sentido da expressão, bioquímica, molecular e fenotípica, justificando assim, a freqüente denominação de cicatrização de feridas a esse processo de reparo. Apenas na fase fetal, o reparo de lesões se dá sem a formação de cicatriz, ocorrendo uma verdadeira restauração do tecido por um processo de neoformação (Mccalon & Ferguson, 1996; Piccinato et al, 2003).

É conhecido que a cicatrização de feridas envolve cinco fases seqüenciais: **injúria, coagulação, inflamação, formação tecidual e remodelagem tecidual**. Cada fase, embora distintas didaticamente, ocorrem temporalmente superpostas e envolve elementos celulares e/ou extracelulares específicos, como as citocinas, fatores de crescimento os quais agem como substâncias sinalizadoras, supressoras e estimuladoras que têm a função de orquestrar de forma seqüencial todo o processo (Arnold & West, 1991; Clark, R.A.F., 1996).

Injúria: Na primeira fase, após a lesão tecidual que cursa com extravasamento de sangue, preenchendo a área lesada com plasma e elementos celulares (plaquetas), e aumento da permeabilidade capilar com liberação de proteínas plasmáticas (fibrinogênio e fibronectina). Tais

fenômenos ocorrem mediante interação dinâmica, envolvendo citocinas e fatores liberados pelas células que participam desse processo, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e os fatores de transformação do crescimento beta e alfa ($\text{TGF}\beta$ e $\text{TGF}\alpha$). Essas células também são responsáveis pela síntese da matriz extracelular (MEC) além dos fatores. Essa fase ocorre até 2 horas após a injúria (Karukonda et al, 2000).

Coagulação: Na segunda fase, as plaquetas coaguladas e coágulos de fibrina no local da injúria ativam a cascata da coagulação onde a trombina induz à degranulação das plaquetas liberando PDGF, $\text{TGF}\beta$, fator de crescimento epidérmico (EGF), e $\text{TGF}\alpha$, fatores de crescimento dos fibroblastos (FGFs), fator de crescimento epidérmico (EGF) e fatores de crescimento “*insulin-like*” (ILGF) (Chettibi e Ferguson, 1999; Seppa et al, 1982; Grotendorst et al, 1982, Derynck et al, 1988; Moulin V, 1995). São formadas, também, glicoproteínas adesivas como a fibronectina e trombospondim, que são importantes constituintes da matriz extracelular provisional, além do fator de Von Willebrand (fator VIII) que ocupam todos os espaços causados pela disjunção tecidual. Adicionalmente, o coágulo de fibrina atua como uma matriz de colonização de células inflamatórias atraídas por quimiotaxia, através da ação do PDGF e $\text{TGF}-\alpha$, constituído especialmente de neutrófilos, com função de promover limpeza da ferida pela destruição de contaminantes como bactérias e outros elementos estranhos. São utilizados mecanismos de fagocitose e enzimáticos, além da liberação de radicais livres que devem atuar como coadjuvantes na limpeza local. Os monócitos se destacam, também, nesta fase, onde atuam no desbridamento tecidual mediante fagocitose e

digestão de organismos patogênicos e neutrófilos senescentes (Chettibi e Ferguson, 1999; Arnold & West, 1991).

Inflamação: As selectinas, receptores existentes na superfície das células endoteliais, ajudam, preferencialmente, os neutrófilos a aderirem ao endotélio, ao passo que os receptores das integrinas existentes nas superfícies celulares dos neutrófilos facilitam a fixação na matriz extracelular (Alberts et al, 1994). Assim, a interação desses dois receptores celulares é essencial para a marginação das células. Nessa fase inflamatória, que ocorre de 1 a 5 dias após a injúria, os monócitos aderidos à matriz se transformam em macrófagos ativados que se destacam tanto na descontaminação quanto no desbridamento local, na síntese de matriz extracelular e liberação de citocinas que estimulam a angiogênese. Tal ativação se dá pela liberação inicial e transitória dos fatores provenientes dos grânulos plaquetários, além dos produtos da fagocitose de detritos celulares, como fibronectina ou colágeno (Beezhold et al, 1992). As citocinas dessa fase são derivadas principalmente destes macrófagos como PDGF, TGF β , fator de crescimento de fibroblastos (FGF), “*insulin like growth factor*” (ILGF-1 -), TGF α , interleucinas 1 (IL₁), EGF, fator de necrose tumoral (TNF α) além das derivadas dos neutrófilos (TGF β) e dos linfócitos (TGF β , interferon (IFN) e IL₂ (Arnold & West, 1991; Chettibi e Ferguson, 1999; Karukonda et al, 2000).

Formação tecidual: A quarta fase ocorre do 3º ao 12º dia com a função de restabelecer a integridade da epiderme e da derme. A proliferação epitelial inicia-se por estimulação mitogênica e quimiotática do TGF α e EGF. Tão importante quanto a epitelização nesta fase do processo de reparo, é a

chamada “granulação tecidual”, devido à aparência granular gerada pelos capilares neoformados (Hunter, 1787). A granulação tecidual forma-se mediante ação de fatores de crescimento específicos que são produzidos por células parenquimatosas comprometidas com o processo, por monócitos e macrófagos. Macrófagos, fibroblastos e vasos sanguíneos são elementos importantes que atuam de maneira interdependente no interior da ferida durante o processo cicatricial. Os macrófagos estimulam a fibroplasia e a angiogênese, por serem uma fonte contínua de liberação de fatores de crescimento, enquanto os fibroblastos atuam na construção da nova matriz extracelular que dará suporte para a chegada de células de reparo tecidual. Vasos sanguíneos neoformados, têm a função do transporte de oxigênio e nutrientes para o metabolismo celular acentuado devido a neoformação e regeneração dos tecidos. Assim, o processo de granulação tecidual ocorre como consequência direta da ativação dos mecanismos de fibroplasia e angiogênese.

A fibroplasia é um mecanismo que envolve a proliferação de fibroblastos e sua migração para o interior da ferida por estímulo de fatores de crescimento como PDGF, fator básico de crescimento de fibroblasto ($bFGF$) e $TGF\beta$. À semelhança das células epiteliais, os fibroblastos migram para a ferida valendo-se de alterações morfológicas que possibilitam a expansão de segmentos da membrana plasmática ao acaso, chamados lamelipódios, que são análogos aos pseudópodos das células epiteliais em migração (Giancotti et AL, 1990; Chan et al, 1992; Welch, 1990). Uma vez no interior da ferida, os fibroblastos sintetizam colágeno e produtos da matriz que constituirão a

estrutura da matriz e espaços extracelulares que serão depositadas promovendo a remodelação local. Os fibroblastos ativados passam a sintetizar proteínas (Welch, 1990). Gradualmente, essas células mudam seu fenótipo migratório para um fenótipo profibrótico, que começa pelo desenvolvimento do retículo endoplasmático e do aparelho de Golgi até apresentarem-se repletos de novas proteínas representadas pelos colágenos, os miofibroblastos, que apresentam características inetermediárias entre fibroblastos e células musculares (Karukonda et al, 2000; Vermet et al, 2002). A produção de grande quantidade de colágeno nesta fase pode ser explicada pela evidente expressão de TGF β (Cheng et al, 2002). Por volta do décimo dia após o início do processo de reparo, os miofibroblastos sofrem alterações morfológicas desencadeadas por mecanismos sinalizadores que os levam ao fenômeno de apoptose (Williams et al, 1991), atualmente, ainda não elucidado. Cheng et al (2002), sugerem que o tratamento de bFGF pode aumentar a expressão de TGF β 1 e possui um efeito sinérgico com outros fatores de crescimento para estimular a apoptose dos miofibroblastos durante a cicatrização de feridas. Com a evolução do processo, ocorre uma contração cicatricial mediada por miofibroblastos estimulada por 5-hidroxitriptofano, prostaglandina F $_{1\alpha}$, angiotensina, vasopressina, bradicinina, epinefrina ou norepinefrina e, também, por participação do TGF β (Karukonda et al, 2000).

Quanto à angiogênese, trata-se de um fenômeno que envolve uma série de mecanismos complexos dependentes da MEC local, bem como de alterações fenotípicas e fatores mitogênicos estimuladores de células endoteliais, que são elementos protagonistas desse processo (Arnold & West,

1991; Schmid et al, 1997). Vários fatores de crescimento e citocinas parecem estar envolvidos com a angiogênese como FGF (α e β), EGF, TGF α , PDGF, TGF β , VEGF, fator de crescimento de células endoteliais derivados de plaquetas (PDEGF) e peptídeo regulador de afinidade da heparina (HARP) dentre outros (Arnold & West, 1991; Arenberg & Strieter, 1999).

Remodelagem tecidual: Na quinta fase, há uma tentativa de retorno à estrutura tecidual normal. Há um equilíbrio entre formação de colágeno novo e degradação de colágeno velho, através da ação das collagenases. Os macrófagos começam a desaparecer junto à redução da angiogênese e da proliferação de fibroblastos. Ocorre uma remodelagem da matriz extracelular pelas metaloproteinases que incluem collagenases intersticiais, collagenase tipo IV e gelatinases. As principais citocinas envolvidas nesta fase são TNF α , IL $_1$, PDGF, TGF β produzidas pelos fibroblastos, além das produzidas pelas células epiteliais como EGF e TGF β (Karukonda et al, 2000).

A busca de agentes específicos como fatores de crescimento que possam acelerar a cicatrização tem sido intensamente investigada (Mustoe, 1991; Armani, 2001). Existe grande interesse em acelerar esse processo, com o intuito de evitar as complicações muito comuns com infecções, principalmente, em procedimento cirúrgicos. Ademais, sabe-se que uma lesão com solução de continuidade, constitui sempre um caminho para infecções oportunistas. Entretanto, até o presente, poucas são as substâncias conhecidas que estimulam e aumentam a velocidade de cicatrização acima do normal. Em resumo, a cicatrização não ocorre sem angiogênese, como pode ser comprovado pela quantidade de tecido vascular que compreende cerca de

60% do tecido de reparo (**tecido de granulação**). As células endoteliais, que também sintetizam elementos da matriz, além de darem origem aos vasos que desenvolvem importante função nutritiva, desempenham também função de organização e regulação da cicatrização. Os 40% restantes são representados principalmente pelas células sangüíneas, por fibroblastos e componentes da MEC secretadas por estas células para o reparo (Dyson et al, 1988; Arnold & West, 1991).

1.3 TRATAMENTOS

As úlceras de perna são tratadas, na grande maioria dos casos, com curativos tópicos, realizados diariamente. Alguns pacientes recebem curativos semanais, feitos com placas oclusivas ou faixas que protegem o local.

O fluido de úlceras crônicas é diferente das úlceras agudas por apresentar efeito inibitório da proliferação celular e contém produtos de degradação da fibronectina e da vitronectina que são inibitórios da migração de queratinócitos (Grinel et al, 1992).

Em úlceras venosas, os curativos oclusivos parecem aumentar a cicatrização no primeiro mês de tratamento. No entanto, após 12 semanas, estudos controles não apresentaram diferenças entre curativos compressivos mais oclusão e curativos que utilizam apenas a compressão (Cordts et al, 1992).

Para os pacientes com úlceras crônicas, os curativos oclusivos oferecem a vantagem de aliviar a dor, proporcionar um desbridamento menos agressivo, conter o exsudato do leito da ferida, reduzir a incidência de complicações e melhorar a qualidade de vida (Fitzpatrick et al, 1999).

Várias são as condutas no tratamento das úlceras venosas crônicas, que variam do curativo simples à base de óleos, vaselinas e/ou pomadas antibióticas a curativos mais complexos conforme mostrados no QUADRO II com suas respectivas vantagens, desvantagens e indicações.

No QUADRO II observa-se que as opções terapêuticas podem ser muito sofisticadas como a aplicação de fatores de crescimento, a exemplo, o REGRANEX[®] (PDGF), apresentando bons resultados na cicatrização de úlceras de pacientes diabéticos (Steed et al, 1995; Pierce et al, 1991 & 1992; Meyer-Ingold W, 1993). No entanto, são curativos cuja maior desvantagem é o alto custo, estando distante da realidade sócio-econômica da grande maioria da população com úlceras venosas crônicas. A viabilização de tratamentos para as úlceras venosas em pacientes acompanhados em nível ambulatorial em Serviços de Saúde Pública de nosso país, deve considerar os custos e a facilidade de manutenção da terapêutica. Buscando reunir tais características, consideradas ideais para o tratamento ambulatorial das úlceras de perna, foi planejada a aplicação da BML que se tem revelado como indutora da cicatrização.

Considerando a importância da multiplicidade de opções para a realização do tratamento, optou-se pela aplicação da biomembrana de látex em úlceras venosas crônicas.

Desde 1994, vem sendo pesquisado com sucesso, o desenvolvimento de um novo material biocompatível, à base de látex natural extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* desenvolvido pelo setor de Neuroquímica do Departamento de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo/Brasil.

A biomembrana de látex natural possui uma estrutura similar às membranas celulares, sendo produzida, quimicamente, pela indução da polimerização do poliisopreno endógeno na emulsão aquosa láctea por evaporação a baixa temperatura, onde ocorre a preservação da conformação nativa das proteínas e uma reorganização dos constituintes fosfolipídicos e proteicos do látex. Os cuidados especiais tomados na polimerização fazem com que a biomembrana adquira uma microarquitetura particular, com uma superfície natural, que permite aderência celular e estimula os vários tipos celulares, especialmente os polimorfonucleares envolvidos nos processos de cicatrização de feridas. Essa biomembrana com tais características pode ser fabricada na forma laminar (utilizada como curativo) ou em vários formatos, como próteses, preparados a partir de moldes especiais (Mrué, 2000; Thomazini, 1997).

QUADRO II: Tipos de curativos

Curativo	Nomes comerciais®	Ação	Indicações	Frequência de trocas	Contra-indicações	Vantagens	Desvantagens
Hidrogel	Duoderm Gel Hydrosorb Hydrosorb Plus	Polímeros hidrofílicos retêm água em sua estrutura. Absorvem a secreção da ferida com diminuição da viscosidade do gel que se torna líquido e libera água no leito da ferida.	Tratamento de queimaduras, remoção de crostas e tecidos desvitalizados (feridas secas e dolorosas)	Média de 12 ou 24 horas.	Feridas infectadas e feridas com exsudação abundante.	Promove o desbridamento autolítico e não lesa a granulação; retém exsudato, diminui dor	Desidrata rapidamente e necessita de cobertura secundária.
Alginatos de cálcio	Acquacell Algoderm Kaltostat,	Há uma troca de íons Ca^{++}/Na^{+} transformando as fibras do alginato em gel suave não aderente; Umidificador e desbridante	Feridas com exsudação abundante com ou sem infecção; Feridas cavitárias e sangrantes.	Mediante a saturação do curativo, em média com 24 horas.	Hipersensibilidade	Alta capacidade de absorção e pode associar a outros produtos	Alguns desses produtos, em contato com a pele sadia, podem macerá-la.
Hidrocolóides	Comfeel, Duoderm, Hydrocoll	Promove uma expansão da celulose ao absorver líquido da ferida, Faz um desbridamento autolítico Facilita angiogênese e tecido de granulação protegendo terminações nervosas livres	Feridas limpas com média e pequena quantidade de exsudato, Prevenção de úlceras de pressão, Queimaduras de 2º grau, OBS: * hidrocolóides extrafinos podem ser usados na cobertura de incisões, suturas cirúrgicas e na fixação de tubos e drenos.* em feridas cavitárias pode-se usar hidrocolóides em forma de pasta ou grânulos.	Mediante a saturação do curativo, em média no 5º ou 6º dia. Neste caso, o hidrocolóide adquire uma coloração mais clara e consistência menos densa.	Feridas colonizadas ou infectadas.	Protege tecido de granulação; Adere a superfícies irregulares Resiste à água Não necessita cobertura secundária Oclusivo e semipermeável Retém exsudato	Pode gerar odor desagradável Hipersensibilização Não permite visualização da ferida
Filmes transparentes	Bioclusive Hydrofilm Opsite, Tegaderm	Promovem a manutenção do meio úmido e apresentam permeabilidade seletiva	Cobertura de incisões cirúrgicas, Prevenção de úlceras de pressão Fixação de cateteres vasculares.	Em média sete dias.	Feridas abertas, exsudativas profundas e infectadas.	Adapta-se aos contornos do corpo, Favorece a monitorização direta da ferida ou do acesso vascular,	
Carvão ativado	Carboflex Actisorb	O carvão remove e retém moléculas do exsudato e bactérias. A prata tem efeito bactericida Estimula a granulação	Feridas fétidas, infectadas ou com grande quantidade de exsudato.	Mediante a saturação do curativo, em média 48 ou 72 horas.	Dermatite de contato	Favorece o desbridamento autolítico e controla o odor, Não adere ao leito da ferida.	Pode necessitar de curativo secundário ou fixação externa direta com fita adesiva.
Solução fisiológica		Mantém o leito da ferida úmido. Favorece o desbridamento autolítico e a granulação.	Limpeza e tratamento da ferida. OBS: lavagem com SF aquecida a temperatura corpórea evita a vasoconstricção local.	O curativo deverá ser substituído em média a cada 4 h.	Nenhuma	Custo baixo	Múltiplas trocas Requer cobertura secundária

QUADRO II: Tipos de curativos – continuação

Curativo	Nomes comerciais®	Ação	Indicações	Frequência de trocas	Contra-indicações	Vantagens	Desvantagens
Sulfadiazina de prata	Dermazine Pratazine Dermacerium	<u>Prata</u> : características bactericidas imediatas e bacteriostáticas residuais, provoca precipitação protéica e age diretamente na membrana citoplasmática bacteriana. <u>Nitrato de cério</u> : que potencializa o efeito bactericida.	Tratamento de queimadura, e lesões crônicas refratárias.	Mediante a saturação do curativo, em média 12 ou 24 horas	Hipersensibilidade aos componentes da fórmula	Baixo custo Fácil aplicação	Múltiplas trocas Requer cobertura secundária
Óleo Mineral		Mantém umidade da ferida; Estimula granulação.	Lesões abertas não infectadas; Profilaxia de úlceras de decúbito	Mediante a saturação do curativo, em média 12/24h	Nenhuma	Fácil aplicação Baixo custo	Múltiplas trocas Requer cobertura secundária
Bota de Unna		Protege e imobiliza o membro Favorece a granulação	Úlceras extensas, abertas não infectadas	É indicada por 7 dias	Infecção e ou colonização	Baixo custo Tempo prolongado de duração Facilita retorno venoso	Não permite visualização da ferida Manutenção em serviço de saúde
Acúcar		Bactericida pelo efeito osmótico na membrana da parede celular bacteriana, Acelera a formação do tecido de granulação.	Em feridas limpas e infectadas com exsudação de intensa a moderada.	A cada 2 horas, pois se dissolve rapidamente no leito da ferida.	Indução de dor acentuada	Fácil disponibilidade Baixo custo	Múltiplas trocas Requer cobertura secundária
Pomadas enzimáticas	Irujol, Kollagenase e Fibrase	-Colagenase: atua seletivamente degradando o colágeno nativo provocando a necrólise. - Fibrinolissina: dissolve o exsudato e os tecidos necróticos.	Em feridas limpas e infectadas	Mediante a saturação do curativo, em média 12 ou 24 horas	Hipersensibilidade	Fácil disponibilidade Baixo custo.	Pouco efetiva em grandes áreas necróticas.
Fatores de crescimento	Regranex	Fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF) Interagem diretamente com o organismo acelerando a cicatrização.	Em úlceras refratárias, por exemplo, neuropática (pé diabético).	Mediante a saturação do curativo, em média 12 ou 24 horas	Hipersensibilidade	Indutor da granulação purificado	Altíssimo custo. Requer cobertura secundária

Mrué (1996) evidenciou, em seus trabalhos, ser esse material um importante indutor de cicatrização de paredes esofágicas lesadas de cães experimentais, além de marcante aumento na vascularização (neoangiogênese); epitelização (epitélio pseudoestratificado); neoformação glandular submucosa e fibras musculares neoformadas. A biocompatibilidade da biomembrana de látex extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* foi avaliada através de implantes *in vivo* em cães (Lachat et al, 1997, Mrué, 2001).

No estudo piloto que envolveu a aplicação da biomembrana em úlcera venosa crônica, intitulado: “*Chronic phlebopathic cutaneous ulcer: a therapeutic proposal*” publicado no International Journal of Dermatology (ANEXO II), os autores observaram sinais evidentes de estímulo à granulação que puderam ser visualizados no paciente, clínica e histopatologicamente, a partir do 15º dia de tratamento com a BML, havendo redução acentuada dos sintomas, inclusive o desaparecimento da dor (Frade et al, 2001c). Àquele soma-se, um estudo avaliando 21 pacientes com úlceras de perna de diferentes apresentações clínicas tratadas com a BML que se mostrou como importante estimuladora da granulação com efeitos adversos contornáveis, representando uma efetiva, cômoda e econômica alternativa no tratamento das úlceras de perna (Frade et al, 2001d & 2002a).

Foi ainda avaliada, em caráter de estudo piloto, a atividade da biomembrana sobre úlceras numa paciente com *diabetes mellitus* sendo observada a indução da cicatrização pela rápida estimulação da angiogênese e reepitelização das áreas ulceradas em áreas sabidamente comprometidas pelo

processo de microangiopatia diabética (Frade et al, 2001e & 2002b; ANEXO III).

Assim, considerando a relevância das úlceras de perna na população de Juiz de Fora (MG) e os resultados da ação da biomembrana de látex sobre essas lesões, foi desenvolvido o projeto envolvendo apenas úlceras venosas cônicas, por serem facilmente classificadas através de parâmetros clínicos clássicos como a hiperemia, lipodermatoesclerose, varizes e edema de membros inferiores, além de ser o tipo mais freqüente e mais crônico das úlceras de perna.

Devido à freqüente ocorrência das úlceras de perna crônicas no cotidiano médico e os transtornos clínico-funcionais, sociais e financeiros, torna-se relevante investigar as modificações teciduais resultantes do tratamento com a biomembrana de látex natural extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* no processo de cicatrização das úlceras venosas crônicas.

2. OBJETIVOS

Baseado na complexidade da doença, úlcera de perna, e nos resultados da aplicação da BML nessas lesões, propõe-se:

- Avaliar a eficácia e segurança do tratamento das úlceras venosas com a utilização da biomembrana de látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis* comparando com a resposta do grupo de pacientes tratados com pomada antibiótica associada à enzima fibrinolítica (Fibrase[®]), tratamento clássico, constituindo o grupo controle;
- Comparar as alterações histopatológicas promovidas pelo tratamento com a BML e a aplicação de pomada de antibiótico em pacientes pareados segundo a idade e condições clínicas.
- Comparar as alterações imunohistoquímicas promovidas pelo tratamento com a biomembrana de látex natural da seringueira e a aplicação de pomada de antibiótico em pacientes pareados segundo a idade e condições clínicas quanto a expressão da iNOS, TGF β 1, VEGF e TNF α .

3. CASUÍTICA E MÉTODOS

3.1 CASUÍSTICA

Foram selecionados 21 pacientes procedentes do Ambulatório de úlceras de perna do HU-UFJF (Juiz de Fora-MG) e da UBDS Alexandre Flemming (Ribeirão Preto-SP).

Os pacientes foram selecionados pela presença de úlcera de perna, seguindo critérios estabelecidos para a inclusão e estavam cientes do embasamento técnico e científico pertinentes à investigação. As características das úlceras foram avaliadas em formulários especiais (ANEXO IV) onde foram coletados os dados dos pacientes.

Todos os pacientes participaram unicamente como voluntário, após a assinatura de um termo de consentimento (ANEXO V) onde estava elucidada a compreensão do conteúdo do estudo em questão, respeitando o Capítulo III da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos conforme parecer das Comissões de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (ANEXO VI) e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP (ANEXO VII).

3.2 MÉTODOS

3.2.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES

Pacientes com úlceras de perna foram randomizados para o tratamento com a BML ou pomada de antibiótico. Após, foram esclarecidos sobre as características do estudo e assinaram o termo de consentimento.

a) Critérios de inclusão:

Foram incluídos os pacientes portadores de úlcera de perna que:

- tinham suas úlceras classificadas, clinicamente, como úlceras venosas, isto é, apresentavam sinais clínicos clássicos de insuficiência venosa como edema, varicosidades, lipodermatoesclerose, eczema, elefantíase nostra;
- eram portadores de úlceras de perna há mais de 2 meses;
- apresentavam uma ou mais úlceras maiores que 1 cm².
- possuíam HAS controlada, ou seja, PAD $\leq$ 100mmHg.

b) Critérios de exclusão:

Foram excluídos do trabalho os pacientes com úlcera de perna que não apresentavam os critérios de inclusão e/ou:

- condições precárias de higiene pessoal;
- transtornos psíquicos;
- dificuldades técnicas de realização e seguimento do protocolo.

- sinais clínicos de comprometimento arterial, diabetes mellitus ou outra doença sistêmica.

Os pacientes selecionados cujas histórias clínicas descritas no ANEXO VIII foram subdivididos em dois grupos sendo o primeiro constituído de pacientes que fizeram o tratamento convencional (grupo controle) e o segundo, constituído de pacientes que fizeram o tratamento com a biomembrana de látex (grupo látex).

3.2.2 PADRONIZAÇÃO DOS GRUPOS

a) Grupo Controle

O grupo controle ficou constituído de 07 (sete) pacientes atendidos nos ambulatórios de úlceras de perna (Unidade Básica Distrital de Saúde Alexandre Flemming-Simioni em Ribeirão Preto–SP e no HU-UFJF em Juiz de Fora-MG), os quais se submeteram ao tratamento convencional por um período de 30 dias.

b) Grupo Látex

O grupo de estudo (grupo látex) ficou constituído de 14 (quatorze) pacientes atendidos nos referidos ambulatórios de úlceras de perna os quais foram submetidos a seguimentos variados.

3.2.3 TÉCNICA DE PREPARAÇÃO DA BIOMEMBRANA DE LÁTEX NATURAL

A biomembrana tem como matéria prima o látex natural, extraído da seringueira *Hevea brasiliensis*. A extração do látex é obtida a partir de incisões em meia espiral efetuadas no tronco das seringueiras a, aproximadamente, 60 a 90 cm de altura. O látex após a coleta é submetido à centrifugação visando diminuir a quantidade de proteínas nele presentes naturalmente, muitas delas responsáveis por reações alérgicas (Ellis, 1990). Em seguida, adiciona-se uma suspensão de 4% de enxofre e 2% da resina polivinilmetiléter com o objetivo de conferir ao composto final elasticidade e resistência. A solução homogênea assim formada é colocada em placas de Petri, de vidro ou acrílico, previamente limpas e secas, onde se espalha o composto de látex até formar uma fina camada recobrando a superfície da placa. Esse processo é desenvolvido sobre uma mesa plana e nivelada para evitar a formação de irregularidades no líquido que forra a placa. Em seguida as placas são levadas à estufa equilibrada a uma temperatura de 60 graus centígrados por um período de 20 minutos. Em seguida, as membranas são esterilizadas em óxido de etileno. Assim, é formada uma membrana estéril que poderá ser utilizada em diferentes situações. (Mrué, 1996 & 2000)

3.2.4 TÉCNICA PARA APLICAÇÃO DOS CURATIVOS

- a) **Limpeza da ferida:** As feridas foram lavadas cuidadosamente apenas com soro fisiológico 0,9% e gazes. Após a limpeza, a úlcera tinha seu leito seco com gazes e encontrava-se pronta para receber o curativo proposto.

- b) **Curativo controle:** curativo à base de pomada de collagenase associada a cloranfenicol (Fibrase®). Sobre a mesma, eram colocados as gazes e o fechamento feito por ataduras cirúrgicas. As trocas dos curativos eram diárias, realizadas no domicílio pelo próprio paciente ou familiar, exceto nos dias de avaliação clínica onde a realização dos curativos era feita pela enfermagem ambulatorial.

- c) **Curativo látex:** curativo com a biomembrana de látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis*. A ferida tinha todo o seu leito coberto com a biomembrana, não ultrapassando os limites de pele normal, para evitar maceração. Sobre a mesma eram colocadas as gazes e o fechamento feito por ataduras cirúrgicas. As trocas eram realizadas em dias alternados, no domicílio pelo próprio paciente ou familiar, exceto nos dias de avaliação clínica onde a realização dos curativos era feita pela enfermagem ambulatorial.

3.2.5 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Para avaliação clínico-dermatológica dos pacientes, durante a consulta, foi preenchido um protocolo (ANEXO IV) constando:

- identificação;
- perfil sócio-cultural;
- exame geral;
- exame físico;
- exame da ferida;
- sinais e sintomas locais;
- avaliação terapêutica;
- dados dos exames histopatológicos;

Quanto à localização das úlceras, utilizou-se do esquema proposto por S. R. Baker e colaboradores, que divide a perna em zonas como se visualiza na FIGURA I.

(Baker et al, 1991)

FIGURA I: Localização das úlceras de perna

Além dos dados clínicos, a evolução das úlceras foi também acompanhada por documentação fotográfica, descrita na metodologia a seguir.

3.2.5.1 CAPTAÇÃO E ANÁLISE DAS IMAGENS

Após o preenchimento do protocolo e assinatura do termo de consentimento, as feridas foram fotografadas de vários ângulos, através da máquina fotográfica marca NIKON® nos dias primeiro, 30º, 60º e 90º para acompanhamento do tratamento. Foi utilizada uma régua milimetrada, colocada à margem da ferida, para posterior análise computacional.

As imagens foram capturadas por scanner e analisadas pelo programa IMAGE PRO PLUS version 1,0 for Windows™ onde cada imagem era calibrada isoladamente, tendo como parâmetro a mesma régua e, posteriormente, era traçado seu limite manualmente. Optou-se por três medidas seriadas de cada imagem e utilizou-se da média aritmética das mesmas para estudo das respectivas áreas de ulceração conforme ANEXOS IX e X.

Para padronizar essas medidas, optou-se por trabalhar com taxas de redução absoluta e percentual nos dias 30º e 60º, conforme fórmulas a seguir:

$$\text{Taxa de Redução Absoluta} = \text{Área inicial} - \text{Área ao 30º dia}$$

$$\text{Taxa de Redução Percentual} = \frac{\text{Redução Absoluta 30º dia} \times 100}{\text{Área inicial}}$$

Para análise estatística das áreas superficiais dos grupos, foi utilizado:

- Para as análises das áreas superficiais absolutas iniciais e das taxas de reduções percentuais no 30º dia entre os grupos, foi utilizado teste de Mann Whitney devido às amostras serem pequenas, sem viabilidade para testar normalidade.

3.2.5.2 ANÁLISE CLÍNICO-FOTOGRAFICA

Foi proposta uma análise semiquantitativa das imagens fotográficas, realizadas por dois observadores diferentes, adotando-se critérios de cruzes, ou seja, pontuando subjetivamente os parâmetros **fibrina/necrose, tecido de granulação e tecido de reepitelização** individualmente em relação à fração correspondente dos mesmos no tamanho total da úlcera, sendo (+) quando a fração correspondente do parâmetro avaliado ocupasse até 1/3 da área superficial da úlcera, (++) quando ocupasse até 2/3 e (+++) quando ocupasse mais de 2/3 da área ulcerada. Esses critérios encontram-se resumidos esquematicamente, a saber:

QUADRO III: Critérios para análise do percentual de tecido (fibrina,/necrose, granulação, epitélio) quanto à área superficial da úlcera correspondente.

+	Até 1/3 da área superficial da úlcera
++	Até 2/3 da área superficial da úlcera
+++	Mais de 2/3 da área superficial da úlcera

Para cada parâmetro, foram considerados individualmente, os resultados como progressivos aqueles que apresentaram um aumento no número de cruces no período de 30 dias de tratamento. Como regressivos, aqueles que apresentaram uma diminuição no número de cruces no decorrer dos 30 dias de tratamento e indiferentes àqueles que não apresentaram variação no número de cruces no mesmo período.

Além da análise de área superficial das úlceras, optamos por avaliar nossos pacientes através do programa computacional elaborado pela ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS – USP, através do Prof. Andrés Anobile Perez que defendeu dissertação de mestrado intitulada “Segmentação e quantificação de tecidos em imagens coloridas de úlceras de perna” em julho de 2001.

O referido programa analisa as imagens através de redes neurais artificiais, onde há uma identificação colorimétrica da úlcera, tentando identificar os tecidos e avaliar o percentual de tecido de granulação, de reepitelização e também o percentual de fibrina existente na úlcera.

3.2.6 TÉCNICA DE BIÓPSIA CUTÂNEA

As biópsias foram incisionais, com aplicação de anestesia local (xilocaína 2%) e os fragmentos excisados através do instrumento cirúrgico “punch” de 3,0 mm na borda da úlcera com a intenção de se retirar o mínimo de fragmento necessário sem causar dano significativo ao paciente.

Todo o material obtido por biópsia incisional foi fixado em solução de formalina tamponada a 10%, por cerca de 24 horas, e, posteriormente, processado em padrão habitual para estudo histológico. Esse processamento incluía desidratação em etanol a 95%(1 passagem) e absoluto (5 passagens), clareamento em xilol (3 passagens) e embebição em parafina a 39°C (2 passagens), etapas realizadas com disco de 12 horas em processador automático de tecido marca Technicon. Após processamento, os fragmentos foram incluídos em parafina Queel a 45°C. Dos blocos de parafina, em micrótomo aparelhado com suporte de lâminas descartáveis, foram obtidos cortes histológicos de 3 μ , seqüenciais, em 4 níveis, tendo-se corado o primeiro pela hematoxilina-eosina **(HE)**, o segundo pelo tricrômio de Gomori **(TG)**, para fibras conjuntivas, essencialmente, as colágenas, o terceiro pelo Verhoeff **(V)**, para fibras elásticas, e o quarto deixou-se em branco como reserva. Tanto a coloração para observação de rotina **(HE)** quanto as histoquímicas **(TG e V)** obedeceram a padrões utilizados no laboratório de anatomia patológica do HU-UFJF.(Prophet et al, 1994; Gomori, 1950; Mallory, 1942)

A análise histopatológica foi realizada por um observador, em microscópio binocular Olympus, seguindo dois parâmetros: um qualitativo e um semi-quantitativo.

As biópsias foram preparadas para a análise histopatológica com a utilização de códigos, para que não fosse identificado o grupo ao qual pertencia o doente.

3.2.7 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Para a avaliação histopatológica, foi programada a coleta de biópsia das úlceras em duas etapas:

- Pré-tratamento: biópsia para caracterização histológica da úlcera e para descartar úlceras neoplásicas;
- Após 30 dias, para verificação de granulação (1º controle) em ambos os grupos.

Por se tratar de um tratamento desconhecido, foi planejada uma terceira biópsia (2º controle) para avaliar a resposta após 90 dias de tratamento.

3.2.7.1 ANÁLISE QUALITATIVA

A análise qualitativa seguiu uma seqüência pré-estabelecida, a saber: padrão da epiderme, onde se avaliou a presença de hiperplasia e atrofia. No estudo qualitativo, a necrose foi abordada quanto à presença ou não. Quanto ao processo inflamatório, qualitativamente a observação foi do tipo presença ou ausência. No critério infiltrado inflamatório, a avaliação constou do estabelecimento do tipo celular (agudo e/ou crônico). Na angiogênese, o estudo qualitativo abordou a presença de neoformação vascular, sem entrar no detalhe do padrão vascular. Quanto à elastose e fibrose colagênica, a avaliação apenas constatou a presença aumentada das fibras em questão.

Para proliferação fibroblástica, a avaliação morfológica verificou, subjetivamente, o aumento de fibroblastos.

3.2.7.2 ANÁLISE SEMIQUANTITATIVA

O estudo semiquantitativo avaliou, pelo sistema de cruzes, os mesmos parâmetros determinados para a observação qualitativa. Para esses parâmetros, estabeleceram-se os seguintes critérios:

Em relação à necrose, baseando-se na coloração pela HE, optou-se por quantificar o critério de acordo com a localização topográfica da mesma como se segue: (+) no 1/3 superior da derme; (++) quando comprometia toda a derme do espécime; (+++) se a necrose se estendia além da derme, isto é, até o tecido celular subcutâneo.

Quantitativamente, o processo inflamatório, foi estimado em cruzes conforme a sua presença em relação à profundidade do espécime, seguindo análise pela coloração HE e Gomori. Dessa maneira, estabeleceu-se como: (+) quando o processo inflamatório comprometia superficialmente o espécime, configurando um padrão de agressão da borda da lesão; (++) se o processo inflamatório apresentava uma profundidade correspondente ao comprometimento de dois terços do espécime; (+++) se o processo inflamatório atingia o espécime como um todo.

Em relação ao critério angiogênese considerou-se, quantitativamente, através das colorações, HE e Gomori, as seguintes

variáveis: calibre do vaso; número e padrão da célula endotelial e profundidade da neovascularização. Como: (+) presença de vasos capilares de paredes finas com no máximo de duas células endoteliais e presentes nas bordas da lesão; (++) vasos com uma espessura duas vezes maior que os vasos estabelecidos com uma cruz, além do endotélio apresentar-se tumefeito e a neovascularização estender-se até dois terços do espécime; (+++) os vasos mostravam paredes bem constituídas e endotélio tumefeito que ocupavam toda a lesão.

Para os critérios, elastose, pela coloração de Verhoeff, e fibrose colagênica, pelo tricrômio de Gomori, foram consideradas a presença, espessura e distribuição das respectivas fibras pelo espécime. Como: (+) ambos os tipos de fibras delicadas e ocasionais; (++) ambas as fibras grossas porém ocasionais e (+++) quando essas fibras eram espessas e se distribuíam por todo o espécime, configurando uma cicatriz em evolução.

A proliferação fibroblástica, pelo tricrômio de Gomori, esteve quantificada obedecendo aos seguintes aspectos: (+) apenas ocasionais fibroblastos em espécime com o predomínio dos fenômenos exsudativos caracterizado pelo padrão morfológico de reação inflamatória aguda; (++) quando a proliferação fibroblástica aumentava com igual proporção ao padrão de reação inflamatória aguda; (+++) quando a proliferação fibroblástica predominava no quadro morfológico em todo o espécime.

Abaixo, foram colocados, em tabelas para melhor visualização, todos os critérios para análise quantitativa adotados.

QUADRO IV: Critérios semiquantitativos para análise histopatológica -
NECROSE

+	No 1/3 superior da derme
++	Toda derme
+++	Até celular subcutâneo

QUADRO V: Critérios semiquantitativos para análise histopatológica -
PROCESSO INFLAMATÓRIO

+	Bordas da lesão
++	2/3 do espécime
+++	Todo o espécime

QUADRO VI: Critérios semiquantitativos para análise histopatológica -
ANGIOGÊNESE

+	Vasos capilares de paredes finas, uma ou 2 células endoteliais, bordas da lesão
++	Vasos capilares de parede com espessura 2 vezes os anteriores, endotélio tumefeito, em 2/3 da lesão
+++	Vasos de paredes espessas, tumefação endotelial, em todo o espécime

QUADRO VII: Critérios semiquantitativos para análise histopatológica -
ELASTOSE

+	Fibras elásticas delicadas, ocasionais
++	Fibras elásticas finas e espessas em igual proporção
+++	Fibras elásticas espessas em todo o espécime

QUADRO VIII: Critérios semiquantitativos para análise histopatológica - FIBROSE COLAGÊNICA

+	Fibras colágenas delicadas e ocasionais
++	Fibras colágenas delicadas e grossas, ocasionais
+++	Fibras colágenas espessas caracterizando cicatriz.

QUADRO IX: Critérios semiquantitativos para análise histopatológica - PROLIFERAÇÃO FIBROBLÁSTICA

+	Ocasionais fibroblastos. Predomínio das alterações inflamatórias celulares agudas.
++	Fibroblastos e células inflamatórias em igual proporção
+++	Predomínio fibroblástico em todo o espécime

Para análise estatística desses resultados, foi utilizado o Teste de McNemar considerando cada parâmetro individualmente variando do dia inicial (dia zero) ao trigésimo dia (dia 30). Porém, como nesse teste não há possibilidade de se trabalhar com três variáveis, considerou-se uma cruz (+) ou mais de uma cruz para os resultados ++ e +++ (>+), como mostra o esquema abaixo:

QUADRO X: Aplicação do Teste de McNemar

Tempo	30 dias		
	Parâmetro	>+	+
	+	A	B
Dia 0	>+	C	D

Assim, observa-se que os resultados correspondentes às letras B e C representam os doentes que não apresentaram modificações histológicas com o tratamento avaliado, sendo considerados como indiferentes (I).

Em relação aos resultados correspondentes à letra A representam aqueles que apresentaram uma progressão histológica. No entanto, consideramos como progressivo aqueles resultados que evoluíram de duas cruces no dia zero para três cruces no dia 30 pois assim, esses resultados deixaram de serem considerados como indiferentes.

Em relação aos resultados correspondentes à letra D representam aqueles que apresentaram uma regressão histológica. No entanto, consideramos como regressivos aqueles resultados que evoluíram de três cruces no dia zero para duas cruces no dia 30 pois assim, estes referidos resultados deixaram de serem considerados também como indiferentes.

Sendo assim, a interpretação do teste de McNemar passou a seguir o esquema modificado abaixo:

QUADRO XI: Aplicação do Teste de McNemar (Modificado)

Tempo	30 dias		
Dia 0	Parâmetro	>+	+
	+	P	I
	>+	I	R

I= Sem variações no número de cruces

P=Qualquer variação progressiva no número de cruces

R=Qualquer variação regressiva no número de cruces

3.2.8 AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA

Os pacientes foram biopsiados seguindo a mesma técnica estabelecida no estudo histopatológico. Entretanto, os cortes foram acondicionados em “tissue tek” e armazenados a temperatura de -70°C .

No grupo controle, todos os cortes foram congelados enquanto no grupo látex apenas os pacientes de números 4,5,6,7 e 12 tiveram suas biópsias congeladas.

Para o estudo imunohistoquímico, de caráter demonstrativo, ficou estabelecida a utilização apenas dos espécimes congelados para elucidação da participação das citocinas e fatores de crescimento envolvidos no processo de cicatrização como iNOS, VEGF, TGF beta e TNF alfa.

Foi utilizado o Método Avidina-Biotina-Peroxidase (Complexo ABC-Vector Lab) (Su-Ming, 1981; Goulart,1996) onde as biópsias, previamente acondicionadas em “tissue tek”, congeladas à temperatura de -70°C , foram levadas ao criostato na temperatura de -27°C para realização dos cortes medindo 5 micra de espessura, em duplicatas, distribuídos paralelamente nas lâminas de microscopia.

A partir daí, os cortes foram submetidos ao descongelamento em temperatura ambiente por 60 minutos, lavagens em solução salina tamponada com fosfato (PBS) 0,01M por 3 vezes de 5 minutos.

Para o bloqueio da peroxidase endógena, os cortes foram submetidos ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2 30 vol.) a 3%, diluído em metanol por 20 minutos.

Após, lavaram-se as lâminas em água corrente e depois com água destilada. Em seguida, lavou-se com PBS por 3 vezes de 5 minutos.

As ligações protéicas inespecíficas foram bloqueadas com soro total de cabra normal (Normal Goat Serum) diluído em PBS 0,01M por 15 minutos de incubação. Seguidamente, escorreram-se as lâminas e foram acrescentados os seguintes anticorpos primários:

- IgG de coelho anti-iNOS humana (Cat. No N32020-050 BD Transduction Laboratories)
- IgG de camundongo anti-VEGF humano (Monoclonal Anti-Vascular Endothelial Growth Factor antibody, Nº: MFCD00282511 Clone 26503.11, Sigma)
- IgG de coelho anti-TGF-beta 1 humano (Rabbit polyclonal IgG, TGF β (T-19):sc-402, Santa Cruz Biotechnology. Inc.)
- IgG de camundongo anti-TNF-alfa humano (Mouse monoclonal IgG, TNF α (1E8-G6):sc-7317, Santa Crus Biotechnology. Inc.)

Esses anticorpos foram diluídos em solução de PBS e albumina sérica bovina a 1% (PBSA1%) na concentração de 1:100 e incubados por 60 minutos em temperatura ambiente.

Ao final dos 60 minutos, os cortes foram lavados em PBS 0,01M por 3 vezes de 5 minutos e incubados com o anticorpo secundário biotinilado diluídos em soro de cabra normal (NGS) e PBS 0,01M como segue:

- Anticorpo de cabra anticamundongo F(ab)2 (Gambio – Vector Laboratories), 1:100

- Anticorpo de cabra anticoelho F(ab)₂ (Gambio – Vector Laboratories), 1:100

Após a incubação de 30 minutos do anticorpo secundário, à temperatura ambiente, as lâminas foram lavadas em PBS 0,01M por 3 vezes de 5 minutos para remoção do excesso desse anticorpo e posterior incubação com o complexo streptavidina-peroxidase (R.T.U. VECTASTAIN-ABC Elite Kit – ELLITE, cat. N: PK-7200, Vector Laboratories, Inc., Burlingame) por 30 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz e posteriores lavagens em PBS 0,01M por 3 vezes de 5 minutos.

Para revelação da reação de peroxidase, as lâminas foram incubadas pela solução constituída de substrato (3-amino,9-etil-carbazol, Sigma Chemical-Co), em tampão acetato 0.2M associado a 0.1% de H₂O₂, pelo período máximo 10 minutos, controlando a intensidade da cor. Em seguir, a reação foi interrompida, lavando-se as mesmas com água destilada.

A contra-coloração foi feita com hematoxilina de Mayer por 2 minutos e posterior lavagem com água corrente e água destilada seguidamente. Cobriram-se as secções com gelatina glicerizada e montagem da lâmina.

Os controles da reação foram:

A- Controle da especificidade

- Substituição do anticorpo primário: as biópsias foram submetidas ao protocolo experimental com substituição do anticorpo primário por IgG de coelho não imune (1mg/mL), diluído 1:200.

B- Controles negativos

- As biópsias de peles normais foram adquiridas no arquivo de Patologia do HC-FMRP-USP e submetidas ao protocolo experimental descrito.
- Supressão do anticorpo primário: todos os cortes foram submetidas ao protocolo experimental, porém com supressão do anticorpo primário.

4. RESULTADOS

Os dados populacionais como idade, sexo, cor e profissão, relativos às duas amostras que constituíram os grupos controle e látex, respectivamente, estão apresentados na TABELA I.

O grupo controle foi constituído por 7 pacientes cuja média de idade era de 61,6 anos sendo a idade mínima de 32 anos e a máxima de 82 anos; todos os pacientes foram do sexo feminino (100%); 3 brancos (42,9%) e 4 não brancos (57,1%) que corresponderam aos negros e pardos. Quanto à profissão, apenas uma paciente (14,3%) era balconista e o restante (85,7%) eram pacientes aposentadas que exerciam atividades domésticas.

O grupo látex foi constituído por 14 pacientes cuja média de idade era de 64,1 anos sendo a idade mínima de 34 anos e a máxima de 85 anos. Em relação ao sexo, 5 pacientes (35,7%) eram do sexo masculino e 9 (64,3%) feminino. Houve predomínio de pacientes brancos (11/14, 78,6%) e apenas 3 (21,4%) eram não brancos. Quanto à profissão, uma paciente (7,2%) era quitandeira, 2 (14,3%) trabalhadores rurais, 3 (21,4%) do lar e 8 (57,1%) eram aposentados.

Em todos os pacientes de ambos os grupos, as úlceras de perna estavam associadas à insuficiência venosa crônica (IVC). No entanto, no grupo controle, a IVC apresentou-se, exclusivamente, em 4 pacientes (57,1%) e associada à hipertensão arterial sistêmica em 3 pacientes (42,9%). No grupo látex, a IVC se apresentou, exclusivamente, em 6 pacientes (42,9%) e associada à hipertensão arterial sistêmica em 9 pacientes (57,1%).

Em relação à localização das úlceras, seguindo o esquema proposto por Baker e colaboradores (1991), foi observado no grupo controle, que 1 paciente (14,3%) apresentava a úlcera localizada na zona 1 enquanto o

restante (85,7%) na zona 2. No grupo látex, 12 pacientes (85,7%) tinham suas úlceras localizadas na zona 2, 1 paciente (7,1%) na zona 1 e outro paciente (7,1%) nas zonas 1 e 2. Tais resultados são melhor expressos na FIGURA IV.

TABELA I: Caracterização demográfica dos pacientes com úlceras de perna

Características clínicas		Grupo Controle (n=7)	Grupo Látex (n=14)
Idade	Média	61,6 anos	64,1 anos
	Mínima	32 anos	34 anos
	Máxima	82 anos	85 anos
Sexo	Masculino	-	35,7%
	Feminino	100%	64,3%
Cor	Branca	42,8%	78,6%
	Não branca	57,1%	21,4%
Profissão	Aposentado	85,7%	57,1%
	Doméstica	-	21,4%
	Lavrador	-	14,3%
	Comerciária	14,3%	7,2%
Doenças	IVC	57,1%	42,9%
Associadas	IVC + HAS	42,9%	57,1%

IVC= insuficiência venosa crônica

HAS= hipertensão arterial sistêmica

FIGURA II: Localização das úlceras de perna nos grupos CONTROLE e LÁTEX com respectivas frequências

Quanto à duração das úlceras, a média do tempo no grupo controle foi de 116,86 meses enquanto no grupo látex foi de 109,5 meses.

Na maioria dos pacientes (5/7, 71,4%) do grupo controle, as úlceras de perna tratavam-se do primeiro episódio e em 2 deles (28,6%) tratavam-se de quadros recidivantes. No grupo látex, 50% dos pacientes (7/14, 50%) tratavam-se do primeiro episódio e os outros 50% eram pacientes com recidivas.

O período de tratamento foi variado: os pacientes do grupo controle foram acompanhados por 30 dias com o uso de pomada de cloranfenicol associada a enzimas fibrinolíticas (FIBRASE®). A partir desse período, os pacientes solicitaram a alteração do tratamento e se recusaram a manter o mesmo tipo de curativo. Para os pacientes do grupo tratado com a

biomembrana de látex natural (BML), o tempo de acompanhamento foi de, no mínimo, 30 dias em 100% dos casos ou de 60 dias em 78,6% dos pacientes e de 90 dias em apenas 35,7% da amostra. O seguimento clínico dos pacientes pode ser avaliado conforme histórias clínicas (ANEXO VIII) e fotografias dos variados tempos de seguimento das úlceras conforme as FIGURAS III, IV A e IV B. Pode-se verificar que a randomização do estudo se deu apenas até o sétimo paciente de ambos os grupos, tornando-se difícil a continuação da randomização pelo grupo controle, devido à divulgação nos Centros de Saúde da biomembrana de látex natural (BML).

Através das fotografias das lesões e análise das mesmas pelo programa IMAGE PRO PLUS for Windows 1,0, foi possível obter as áreas de superfície das úlceras onde, foram traçados, manualmente, os respectivos limites, por três vezes para diminuir o erro de medida e, calculada a média aritmética entre os três valores. Calculou-se também, a redução absoluta e percentual das áreas com o tratamento conforme mostra os ANEXOS IX E X.

Em relação às áreas superficiais absolutas, verificou-se que o grupo controle apresentou a área média de 9,37 cm² e o grupo látex 13,19 cm², conforme TABELAS II e III. Ambos os grupos foram estatisticamente semelhantes, pois apresentaram $p=0,43$ sob o teste de Mann-Whitney para amostras não paramétricas.

Figura III: Seguimento clínico fotográfico dos pacientes - GRUPO CONTROLE

Figura IV A: Seguimento clínico fotográfico dos pacientes - GRUPO LÁTEX

Figura IV B: Seguimento clínico fotográfico dos pacientes - GRUPO LÁTEX

TABELA II: Caracterização clínica dos pacientes com úlceras venosas – Grupo Controle

Nº	PAC.	IDADE	SEXO	T(m)	RECIDIVA	LOCAL	DÇA.ASS	Ar.Inicial	Ar. 30	Red%30
1	LS	32	F	24	Não	2	IV	5,26	1,23	76,62
2	MAE	40	F	108	Não	2	IV+ HAS	1,72	1,4	1,51
3	TDP	82	F	240	Sim	2	IV	20,53	20,22	-1,77
4	MSP	71	F	240	Sim	2	IV+ HAS	16,43	16,72	5,66
5	MCB	73	F	168	Não	2	IV+ HAS	5,38	3,07	19,57
6	ABM	63	F	8	Não	1	IV	7,77	7,33	18,61
7	MAJ	70	F	30	Não	2	IV	8,48	6,82	19,58
MÉDIA		61,57		116,86				9,37	8,11	19,97
MEDIANA		70		108				7,77	6,82	18,61

IV-Insuficiência venosa; HAS-Hipertensão Arterial Sistêmica ;Ar.-Área superficial da úlcera(cm²); T-tempo; m-meses.

Clinicamente, numa análise semiquantitativa, foram avaliados através da documentação fotográfica, os parâmetros: fibrina, tecido de granulação e de reepitelização de acordo com as respectivas frações em relação à superfície ulcerada. TABELAS IV e V.

TABELA III: Caracterização clínica os pacientes com úlceras venosas – Grupo Látex

Nº	PAC.	IDADE	SEXO	T(m)	RECIDIVA	LOCAL	DÇA.ASS	Ar.Inicial.	Ar. 30	Red%30
1	EL	71	F	6	Sim	2	IV + HAS	29,26	21,89	25,19
2	FMR	84	F	7	Não	2	IV + HAS	2,29	2,04	10,92
3	TCS	85	M	60	Não	2	IV	22,41	21,59	3,66
4	JA	64	M	2	Não	2	IV	5,69	6,96	-22,32
5	MQ	47	F	96	Sim	2	IV + HAS	18,55	18,44	0,59
6	SVA	67	M	480	Sim	2	IV + HAS	27,22	21,03	22,74
7	CM	34	M	24	Sim	2	IV	7,33	3,36	54,16
8	CF	51	F	84	Sim	2	IV	1,43	0,34	76,22
9	MF	78	F	6	Não	1+2	IV + HAS	12,37	14,25	-15,2
10	AC	64	M	11	Sim	1	IV + HAS	13,69	15,55	-13,59
11	SR	65	F	108	Não	2	IV + HAS	10,29	11,09	-7,77
12	NS	63	F	36	Não	2	IV	25,18	13,66	45,75
13	LC	70	F	180	Não	2	IV + HAS	3,32	2,79	15,9
14	ML	55	F	360	Sim	2	IV	5,6	10,74	-91,79
MÉDIA		64,1		104				13,19	11,70	7.46
MEDIANA		64,5		48				11,33	12,38	7,29

IV-Insuficiência venosa; HAS-Hipertensão Arterial Sistêmica ; Ar.-Área superficial da úlcera(cm²); T=tempo; m=meses.

TABELA IV: Avaliação clínico-fotográfica dos pacientes do GRUPO CONTROLE com 30 dias de tratamento (n=7)

Nº	Paciente	Tempo	FIBRINA	GRANULAÇÃO	REEPITELIZAÇÃO
1	LS	0	+	++	+
		30	+	++	++
2	MAE	0	+++	+	+
		30	++	++	+
3	TDP	0	+++	+	+
		30	++	++	+
4	MSP	0	+	++	+
		30	+	+++	+
5	MCB	0	++	+	+
		30	++	+	+
6	ABM	0	+++	+	+
		30	+++	+	++
7	MAJ	0	++	+	++
		30	+++	+	+++

TABELA V: Avaliação clínico-fotográfica semiquantitativa dos pacientes do GRUPO LÁTEX com 30 dias de tratamento (n=14)

Nº	Paciente	Tempo	FIBRINA	GRANULAÇÃO	REEPITELIZAÇÃO
1	EL	0	++	+	A
		30	A	+++	++
2	FMR	0	++	++	+
		30	+	+++	+
3	TC	0	+++	+	+
		30	+	+++	+
4	JA	0	++	++	+
		30	+	+++	+
5	MQ	0	++	+	+
		30	+	+++	+
6	SV	0	+++	+	+
		30	++	++	+
7	CM	0	A	+++	+
		30	A	+++	++
8	CF	0	++	+	+
		30	+	++	++
9	MF	0	+++	+	+
		30	++	+	+
10	AC	0	+++	A	A
		30	A	+++	+
11	SR	0	+	++	A
		30	+++	+	A
12	NS	0	+	+++	+
		30	+	+++	++
13	LC	0	++	+	A
		30	+	+	+
14	ML	0	+	+++	+
		30	A	+++	+

A=ausente

Para cada parâmetro, foram considerados, individualmente, os resultados como progressivos aqueles que apresentaram um aumento no número de cruzes, no período de 30 dias de tratamento; como regressivos, aqueles que apresentaram uma diminuição no número de cruzes no decorrer dos 30 dias de tratamento e indiferentes, àqueles que não apresentaram variação no número de cruzes no mesmo período.

Assim feito, as frequências dos resultados encontram-se distribuídas para cada parâmetro nos grupos controle e látex na TABELA VI (Teste McNemar modificado).

TABELA VI: Resultado da análise clínico-fotográfica dos pacientes dos grupos CONTROLE e LÁTEX após 30 dias de tratamento

		Grupo Controle (n=7)		Grupo Látex (n=14)	
Parâmetro	Evolução	Número	%	Número	%
Fibrina	Regressiva♠	2	28,6	11	78,6
	Progressiva	1	14,3	1	7,0
	Indiferente	4	57,0	2	14,0
Granulação	Regressiva	0	0	1	7,0
	Progressiva	3	43,0	8	56,0
	Indiferente	4	57,0	5	35,0
Reepitelização	Regressiva	0	0	0	0
	Progressiva	3	43,0	6	42,0
	Indiferente	4	57,0	8	56,0

♠ = Significante ao nível de 5% ($p=0,013$ para testes monocaudais)

Avaliando a evolução das úlceras dos pacientes 1,3, 5 e 10 do grupo látex pode ser observado, quanto ao parâmetro fibrina, o caráter regressivo da evolução com a BML. Nesses pacientes observa-se uma diminuição importante dos tecidos necrosados e também do percentual de fibrina iniciais que foram substituídos por um tecido de granulação aos 30 dias de tratamento. (FIGURAS IV e TABELA V) Apesar dos pacientes do grupo controle apresentarem inicialmente uma baixo percentual de tecido necrótico ou fibrinoso, o paciente 3 ilustra uma evolução regressiva quanto a esse tratamento, porém, com discreta substituição por tecido de granulação o que difere significativamente do tratamento com a BML (FIGURAS III).

Em relação à granulação isoladamente, observou-se que os pacientes do grupo látex, relatados acima, apresentaram uma progressão de uma cruz (+) para três cruzezes (+++) o que não ocorreu em nenhum paciente do grupo controle.

Analisando as reduções percentuais no trigésimo dia de tratamento das amostras, foi visualizado que 85,7% dos pacientes controles apresentaram aumento do percentual de redução com 30 dias de seguimento, enquanto no grupo látex 64,3% apresentaram aumento. No entanto, não se observou diferença estatística ($p=0,39$) entre essas medidas percentuais, pelo teste de Mann-Whitney, como pode ser visualizado na FIGURA V.

Em parceria com a Escola de Engenharia de São Carlos – USP, através do professor Andrés Anobile Perez, tentou-se utilizar um programa que analisa as imagens através de redes neurais artificiais, onde há uma identificação colorimétrica da úlcera, na tentativa de identificar os tecidos,

avaliar o percentual de tecido de granulação, de reepitelização e de fibrina existente na úlcera.

Mann-Whitney test, $P=0,39$

FIGURA V: Redução percentual das áreas superficiais das úlceras de perna dos grupos CONTROLE e LÁTEX ao 30º dia de tratamento .

Porém, como a captação de imagens não foi padronizada para os parâmetros angulação, luz e distâncias, a aplicação do referido programa ficou comprometida, gerando dificuldades para a identificação dos diferentes tipos de tecidos como granulação, fibrina e tecido reepitelizado. Os resultados são apresentados no ANEXO XI.

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Após a análise dos 34 cortes histológicos de biópsias das úlceras (12 grupo látex e 5 grupo controle) em suas fases pré e pós-tratamento, foram demonstrados os seguintes resultados:

ANÁLISE QUALITATIVA

Na análise qualitativa, é possível perceber que todas as amostras foram colhidas da região da borda da úlcera. O estudo do padrão das lesões ficou assim estabelecido:

- Alterações epiteliais: hiperplasia do epitélio presente em 08 espécimes de 05 casos, sinais de regeneração com reepitelização foi observado em 02 espécimes de 02 casos, também foi encontrada hiperqueratose em 05 espécimes biópsias de 05 casos. A exocitose por neutrófilos só foi visualizada em 03 biópsias de 03 casos. Em 02 amostras de 02 casos não se observava epiderme em toda extensão do fragmento, pela presença de necrose em 06 vezes de 06 casos a epiderme de cobertura ou era muito exígua para análise ou não apresentava alterações significativas.
- Necrose: Em graus variáveis, todos os espécimes apresentavam necrose do tipo isquêmica.
- Processo Inflamatório: as células inflamatórias observadas nos casos eram do tipo que predominam nos processos agudos com neutrófilos,

mas com variável quantidade de células mononucleares onde predominavam linfócitos.

- Angiogênese: a proliferação vascular era nítida em todos os casos, ocorrendo na periferia da necrose até ao preenchimento total da lesão ulcerada.
- Elastose: só raramente a proliferação de fibras elásticas era significativa. Em sua maioria o padrão de proliferação era pouco perceptível.
- Proliferação colagênica: a proliferação de fibras colágenas obedecia a um padrão quase homogêneo com fibras mais grossas ou espessas na periferia, onde se mesclavam com o colágeno normal da derme inferior, e as mais delicadas no centro e superfície da lesão.
- Proliferação fibroblástica- acompanhava de perto a proliferação colágena, com uma maior densidade de células estromais, quanto mais denso ou espesso o colágeno. Quanto mais delicadas as fibras colágenas, maior o predomínio de células inflamatórias sobre os fibroblastos.

Todos esses parâmetros foram analisados, avaliando-se os padrões de colorações obtidos pelos métodos: Hematoxilina-eosina, Tricrômio de Gomori e Verhoeff, como mostra esquematicamente a FIGURA VI.

FIGURA VI: Parâmetros utilizados no estudo histopatológico.

A: Necrose liquefativa, superficial com reação leucocitária neutrofílica.

B: Reação inflamatória em cronificação com raros neutrófilos e predomínio de mononucleares.

C: Padrão de angiogênese analisado, com vasos neoformados.

D: Elastose analisada pela coloração de Verhoeff. Controles internos da epiderme.

E: Fibrose colagênica pesquisada com o tricrômio de Gomori.

F: Proliferação fibroblástica definida melhor no Gomori pela proliferação de células alongadas.

ANÁLISE SEMIQUANTITATIVA

Apenas 01 (3,4%) biópsia não apresentava necrose referente à amostra pré-tratamento e somente em 02 (6,8%), ambas de amostras anteriores ao tratamento, esta necrose se estendia por quase toda superfície e se mostrava bem profunda (+++). Quanto à inflamação, sempre presente nas 34 amostras (100%), freqüentemente estendia-se até 2/3 da derme (++), em 13 (38,2%) biópsias era superficial (+) e em 8 (23,5%) este processo foi quantificado como intenso (+++).

Os resultados da análise semiquantitativa dos parâmetros histológicos encontram-se individualizados para cada grupo de estudo nas TABELAS VII e VIII.

TABELA VII: Análise histopatológica semiquantitativa – GRUPO CONTROLE (n=5)

Nº	PACIENTE	TEMPO DE TRATAMENTO	NECROSE	INFLAMAÇÃO	ANGIOGÊNESE	ELASTOSE	FIBROSE COLAGÊNICA	PROLIFERAÇÃO FIBROBLÁSTICA
1	LS	0	A	++	++	++	++	++
		30	+ RE*	++	++	++	++	++
2	MAE	0	A	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
3	TDP	0	A	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
4	MSP	0	++	++	++	A	A	A
		30	++	++	++	++	++	++
5	MCB	0	A	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++

A=ausente (não visualizado)

TABELA VIII: Análise histopatológica semiquantitativa - GRUPO LÁTEX (n=12)

Nº	PACIENTE	TEMPO DE TRATAMENTO	NECROSE	INFLAMAÇÃO	ANGIOGÊNESE	ELASTOSE	FIBROSE COLAGÊNICA	PROLIFERAÇÃO FIBROBLÁSTICA
1	EL	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
2	FMR	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
3	TCS	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
4	JA	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
		90	++	++	++	A	A	++
5	MQ	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
		90	++	++	++	++	++	++
6	SVA	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
		90	++	++	++	++	++	++
7	CM	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
		90	++	++	++	++	++	++
8	CF	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
9	MF	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
10	AC	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	++	++	++
11	SR	0	++	++	++	++	++	++
		30	++	++	++	A	++	++
		0	++	++	++	++	++	++
12	NS	30	++	++	++	++	++	++
		90	A	++	++	++	++	++

A=ausente (não visualizado)

Para análise estatística dos resultados obtidos na avaliação histopatológica dos diversos parâmetros, foi utilizado o teste de McNemar modificado para cada parâmetro (variável) aplicado nas amostras independentes nos diferentes tempos de acompanhamento.

Observa-se na TABELA VIII, que apenas 05 pacientes do grupo tratado com a BML colaboraram com o estudo, realizando a 2ª biópsia após 90 dias de tratamento, constituindo um período maior de seguimento.

Assim, com a aplicação do teste para cada um dos parâmetros histológicos, isoladamente, como: **necrose, inflamação, angiogênese, elastose, fibrose colagênica e proliferação fibroblástica**, foram encontrados os resultados apresentados pelas respectivas porcentagens descritas na TABELA IX. Nesta tabela nota-se que 90 dias após a aplicação da BML, o tecido ulcerado apresenta tendência à regeneração com redução dos achados histopatológicos.

Nessa análise histopatológica, nenhum parâmetro avaliado apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, como mostra a TABELA IX e como ilustrado na FIGURA VII.

TABELA IX: Análise histopatológica dos pacientes dos grupos CONTROLE e LÁTEX (Teste de McNemar)

Grupos		Controle		Látex-30 dias		Látex – 90 dias	
Parâmetro	Evolução	Nº	%	Nº	%	Nº	%
NECROSE	Regressiva	1	20	4	33,3	3	60
	Progressiva	4	80	1	8,3	1	20
	Indiferente	0	0	7	58,3	1	20
INFLAMAÇÃO	Regressiva	2	40	5	41,7	5	100
	Progressiva	1	20	0	0	0	0
	Indiferente	2	40	7	58,3	0	0
ANGIOGÊNESE	Regressiva	0	0	3	25	0	0
	Progressiva	2	40	5	41,7	2	40
	Indiferente	3	60	4	33,3	3	60
ELASTOSE	Regressiva	0	0	3	25	2	40
	Progressiva	1	20	1	8,3	0	0
	Indiferente	4	80	8	66,7	3	60
FIBROSE COLAGÊNICA	Regressiva	0	0	2	16,7	1	20
	Progressiva	3	60	5	41,7	3	60
	Indiferente	2	40	5	41,7	1	20
PROLIFERAÇÃO FIBROBLÁSTICA	Regressiva	0	0	4	33,3	1	20
	Progressiva	4	80	3	25	2	40
	Indiferente	1	20	5	41,7	2	40

H1: Pele sem aparente necrose (0), com processo inflamatório (i) que embora não intenso se estende até o 2/3 da derme. A angiogênese (↑) é importante e feita por vasos de paredes espessas e células endoteliais muito tumefeitas em praticamente todo o espécime (Detalhe a) (+++). A fibrose é do tipo colagênica porém ainda sem características de cicatriz (++) e a proliferação fibroblástica equivale-se ao processo inflamatório (++) (Detalhe b).

H2: Pele com alterações semelhantes ao inicial porém com foco de regeneração epidérmica (Detalhe a).

H3: Proliferação fibroblástica (seta pontilhada) e processo inflamatório equivalentes, colágeno jovem.

H4: Inflamação apenas na superfície da derme, vasos numerosos e com paredes já espessas, colágeno jovem.

H1: Pele com necrose (n) superficial (+), com processo inflamatório (i) misto que se estende até 1/3 inferior da derme (+++). A angiogênese (↑) é importante (+++). A fibrose (f) é do tipo colagênica (++) e a proliferação fibroblástica equivale-se ao processo inflamatório (++).

H2: Processo inflamatório (i) profundo que se estende até o tecido celular subcutâneo (g) (+++).

H3: Vasos (↑) espessos com paredes contendo ocasionais células musculares, deposição de colágeno ainda entremado à matriz extracelular e sem predomínio de fibroblastos.

H4: Predomínio de células inflamatórias sobre as fibroblásticas. Fibras colágenas (seta pontilhada) presentes porém ainda misturadas às células inflamatórias e à matriz extracelular. (Detalhe a).

FIGURA VII: Avaliação histopatológica

AValiação Imunohistoquímica

Numa análise qualitativa dos achados imunohistoquímicos, observou-se que, em ambos os grupos, o resultado das detecções nos cortes das lesões pré-tratamento mostraram marcação acentuada para iNOS, quando comparados à resposta após 30 dias de tratamento com a biomembrana de látex e com a pomada Fibrase® (controle). No entanto, a diminuição da expressão da iNOS foi mais significativa no grupo látex. (FIGURA VIII: I1, I2 e I3)

Quanto à expressão do VEGF, foi observada uma maior expressão nos pacientes que se submeteram ao tratamento com a BML, quando comparados com os pacientes do grupo controle. (FIGURA VIII: I5 e I6) Nestes, a marcação para o VEGF não mostrou diferenças significantes entre o pré e pós-tratamento. Pode ser visualizado também, que os pacientes jovens apresentavam maior marcação para o VEGF em relação aos pacientes idosos.

Para facilidade de comparação entre as respostas dos dois tipos de tratamento, os pacientes foram pareados segundo sexo, idade, condições clínicas e sociais, dois pacientes do grupo látex e dois do grupo controle. Assim, foram selecionados os pacientes nº 4 do grupo controle e nº 1 do grupo látex, cujos dados encontram-se nas TABELAS II e III.

Além desses, foram avaliados dois outros pacientes do grupo látex com idade maior de 60 anos, nos quais foi observada a mesma tendência em relação à expressão da iNOS diminuindo com o tratamento. Com a evolução do

tratamento, a expressão do VEGF mostrou-se inalterada em ambos os pacientes, porém a granulação inicial já se apresentava significativa.

Em relação ao TGF β 1, os pacientes do grupo látex apresentaram uma maior expressão com a BML quando comparados com os pacientes do grupo controle. (FIGURA VIII: I7 E I8).

Paralelamente, foram pareados dois outros pacientes, de faixa etária menor, seguindo os mesmos critérios descritos. Nestes observou-se, também, que o tratamento com a biomembrana de látex tende a induzir o aumento da expressão do VEGF além do TGF β 1 com redução da marcação para iNOS.

Quanto à marcação para a citocina TNF α , observou-se tratar-se de uma citocina muito discreta, não possibilitando uma análise adequada entre os tratamentos. No entanto, o controle positivo para a mesma (Leishmaniose), se mostrou fortemente marcado.

Adicionalmente, todas as colorações foram efetuadas em cortes de pele de indivíduos não acometidos por qualquer doença, onde foram encontradas expressões muito discretas das reações imunohistoquímicas.

FIGURA VIII: Avaliação Imunohistoquímica (imunoperoxidase)

5. DISCUSSÃO

Inicialmente, observou-se que os grupos estudados foram homogêneos, quando foi avaliado o parâmetro idade ($p=0,45$), na avaliação clínica e imunohistopatológica da ação da biomembrana de látex natural extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* sobre úlceras venosas crônicas, corroborando os relatos de Nelzen et al (1991) e de Frade et al, (2001a,b). Na avaliação do tempo de duração das úlceras viu-se que a do grupo controle foi maior que a do grupo látex em 12 meses, entretanto, sem significância estatística ($p=0,18$), ressaltando que reflete a semelhança dos grupos de estudo. Dentre os pacientes do grupo controle apenas 02 (28%) tratavam-se de casos recidivantes contra 07 (50%) no grupo látex. A média das áreas superficiais das úlceras de perna do grupo controle foi discretamente menor que a do grupo látex ($p=0,43$).

Se, forem analisadas em conjunto as características do grupo controle como a menor faixa etária, baixo percentual de casos recidivantes e a menor média das áreas superficiais das úlceras, poder-se-ia sugerir que esses fatores podem ter influenciado na média do percentual de redução, discretamente maior neste grupo, porém, estatisticamente não significante ($p=0,39$).

Foi relevante a informação dos pacientes do grupo látex que relataram maior comodidade quanto à realização do curativo devido a menor frequência das trocas e, principalmente, a não aderência do curativo ao leito da úlcera provavelmente, causada pela exsudação promovida pela BML, o que facilitou o tratamento aliado à ausência de dor ou agressão ao tecido de cicatrização durante as trocas do curativo. Enquanto que os pacientes do grupo

controle faziam as trocas diariamente, sendo essas, acompanhadas de dor à remoção do curativo e, geralmente, traumáticas ao processo de cicatrização.

Além dos aspectos descritos foi feita a avaliação do custo do tratamento de úlceras de perna, sendo considerado o tipo de curativo, gasto com a limpeza da ferida e a cobertura secundária empregada. Num cálculo aproximado, o gasto médio do curativo controle (FIBRASE[®]) para uma ferida medindo aproximadamente 5,0X6,0 cm, foi de R\$ 36,75 por semana (Frade et al, 2001a & 2001b). Borges et al (1999) relataram, em investigação, realizada pelo setor de Estomaterapia do HC/UFG, o custo com curativos tradicionais, como IRUXOL[®] e NEBACETIN[®], é de R\$ 31,59 por semana, considerando os custos do ano de 1999. No entanto, o custo com o curativo à base da BML, em três trocas semanais e os mesmos gastos com limpeza do curativo controle (Frade et al (2001a e 2001b), é de aproximadamente R\$ 9,30 por semana.

O conjunto desses fatores leva à sugestão de que o curativo com a BML reúne elementos que conduzem à sua indicação com considerável segurança.

A avaliação do tecido de cicatrização foi efetuada, clinicamente, através da área superficial das úlceras sob os diferentes tratamentos e o percentual de redução dessas áreas conforme TABELAS II e III e FIGURAS V. Os grupos se mostraram semelhantes entre si inicialmente e não apresentaram diferenças estatisticamente significantes com os tratamentos.

Mani et al, (1989) e Falanga et al, (1991) sugerem que os fatores associados à insuficiência venosa que iniciam a ulceração e que dificultam sua cicatrização ainda são muito discutidos. No entanto, está bem estabelecido, por

eles, que um efeito da insuficiência venosa é diminuir a perfusão do oxigênio tecidual o que pode influenciar na proliferação celular, segundo Herrick et al (1996).

Thomas et al (1988) têm sugerido que a chave da patogênese das úlceras venosas crônicas é a inflamação gerada pela ativação dos leucócitos participantes da microcirculação.

Durante a cicatrização de úlceras normais, a resposta inflamatória inicial e transitória constitui parte essencial do processo (Wallace & Stacey, 1998).

Merece ser considerado que, avaliar o processo cicatricial pelas medidas das áreas superficiais das úlceras e suas reduções constitui uma aferição do estágio final do processo, pois esta medida está diretamente relacionada à última etapa do processo de cicatrização, ou seja, a reepitelização. No grupo controle foi difícil essa documentação pelo fato dos pacientes se mostrarem ansiosos pelo início do tratamento alternativo com a BML. Por isso, o tratamento controle foi seguido por apenas 30 dias respeitando as normas éticas do termo de consentimento e dando liberdade total ao paciente em descontinuar o tratamento e optar por outra forma de terapêutica.

Considerando os resultados encontrados, as dificuldades relatadas e os resultados do estudo piloto quanto ao percentual de tecido debridado, granulado e reepitelizado e, também ao tempo de seguimento maior que no modelo atual, foi proposta a avaliação do tecido de cicatrização, ainda clinicamente, pelos parâmetros: fibrina, tecido de granulação e de

reepitelização. Avaliando isoladamente cada um desses parâmetros, foi encontrado:

- fibrina: os resultados foram sugestivos que a biomembrana de látex natural possui a propriedade de promover debridamento da ferida maior que o tratamento controle, $p=0,013$. (TABELA VI, FIGURAS III e IV)
- tecido de granulação: o tratamento com a BML se mostrou com uma tendência progressiva levando ao aumento da granulação em relação ao tratamento controle (TABELA VI, FIGURAS III E IV).
- tecido de reepitelização: diretamente envolvido no tamanho das úlceras, não mostrou diferença estatística entre os tratamentos controle e látex, certamente pelo curto período de 30 dias para seguimento do grupo controle.

Os resultados histopatológicos corroboram as observações clínicas. Apesar de não apresentarem significância estatística, eles foram sugestivos de que o tratamento com a BML tende a reduzir o período de cicatrização das lesões ulceradas com diminuição do tecido necrótico e organização do reparo tecidual, como mostram as TABELAS IX e FIGURAS III E IV. Essas afirmações se baseiam no baixo percentual de pacientes com evolução progressiva no parâmetro necrose, nos altos percentuais regressivo quanto à inflamação e progressivos quanto a angiogênese e fibrose colagênese (TABELA IX).

Com a análise imunohistoquímica pode ser observado que as lesões iniciais (pré-tratamento) apresentam-se com maior expressão para iNOS em relação às lesões pós-tratamento, em ambos os grupos, o que se correlaciona

com a intensidade de necrose tecidual local. Observou-se que a expressão para iNOS apresentou mais responsiva ao tratamento com a biomembrana de látex tendo em vista a sua diminuição, mais evidente nesse grupo, que no controle após 30 dias de tratamento (FIGURA VIII).

A explicação desses resultados poderia ser relacionada ao conhecimento de que O radical livre, óxido nítrico (NO), parece ser sintetizado pelo tecido ulcerado (Kirk et al, 1993). A produção celular de óxido nítrico (NO) durante o processo de cicatrização parece ser de múltiplas fontes celulares ainda não estabelecidas, entretanto, células inflamatórias como macrófagos e neutrófilos têm se mostrado como grandes sintetizadores de NO (Lyons et al, 1992; Willis et al, 1994). Esta produção de NO se estabelece por meio da ação enzimática das isoformas específicas da óxido nítrico-sintase. (Appleton et al, 1996; Jude et al, 1999) A NO-sintase constitutiva, uma isoforma Ca^{+} dependente, está presente nas células endoteliais (ecNOS) e em neurônios (nNOS) enquanto a segunda isoforma chamada de induzida, Ca^{+} independente, está presente em macrófagos, células musculares lisas e neutrófilos polimorfonucleares . (Abd-El-Aleem et al, 2000; Ischiropoulos et al, 1992; Appleton et al, 1996).

As expressões de NO-sintases e arginases, enzimas que degradam a L-arginina produzindo NO, são significativamente maiores nas úlceras venosas crônicas quando comparadas com a pele normal tendo as células inflamatórias e do endotélio vascular como principais fontes (Abd-El-Aleem et al, 2000). O NO combina-se com radicais livres de hidroxila formando peroxinitrito, um potente radical livre que causa destruição tecidual pelas

propriedades de oxidação e citotoxicidade (Kaur et al, 1994; Cross et al, 1994). Tem sido relatado que o NO pode causar apoptose em vários sistemas celulares experimentais.(Cui et al, 1993; Albina et al, 1993). Em macrófagos, a ativação de iNOS, produzindo quantidade suficiente de NO, promove morte celular por apoptose (Albina et al, 1993). O peroxinitrito pode induzir a apoptose ou necrose celular dependendo de sua concentração local (Bonfoco et al, 1995).

Tais relatos sugerem que a indução de apoptose pode ser outro mecanismo através do qual o NO produz efeitos deletérios à cicatrização tecidual das úlceras venosas crônicas. Efeito esse que parece sobrepor ao efeito benéfico microbicida do NO nestas úlceras. Sendo assim, pode-se observar que a BML, pela diminuição da expressão da iNOS, estaria interferindo favoravelmente nesta fase do processo de cicatrização.

O mesmo perfil deveria ser esperado para a citocina $TNF\alpha$ que se trata de uma citocina pró-inflamatória que funciona como mediador importante da produção de iNOS.(Trenrove et al,1996; Shimizu et al, 1997) No entanto, foi observado discreta marcação dos cortes para a citocina $TNF\alpha$, em ambos os grupos e tempos, apesar do controle positivo para esta citocina ter mostrado marcação expressiva.

Trenrove et al (1996), avaliaram pacientes com úlceras venosas crônicas, através da coleta do fluido da úlcera e tratamento compressivo a base de solução fisiológica, em dois grupos distintos: grupo não cicatrizante, cuja coleta foi realizada após 24 horas de internação e, grupo cicatrizante, cuja coleta ocorreu após 2 semanas de internação. Analisando, através do ELISA,

constatarem que os níveis de citocinas pró-inflamatórias IL1, IL6, TNF α e marcadores clínicos da inflamação como, proteína C reativa (PCR), se mostraram diminuídos no fluido das úlceras do grupo cicatrizante quando comparados com o fluido do grupo não cicatrizante. Tais resultados foram confirmados, recentemente, por Trengove et al (2000), que também mostrou que há níveis detectáveis de fatores de crescimento como PDGF, EGF, bFGF e TGF β 1 nos fluidos das úlceras porém estes níveis se mantêm inalterados entre os grupos, dados que apontam para o envolvimento e importância das citocinas e fatores de crescimento no processo cicatricial.

Tem sido descrito que, a análise de citocinas séricas do sangue periférico, por ELISA, entre pacientes com insuficiência venosa crônica (IVC) sem ulcerações e com úlceras evidenciou semelhanças para TNF α , IL1 β , IL2 e β -2 microglobulina. Somente IL6 esteve aumentada no segundo grupo secundariamente à presença bacteriana nas úlceras (Pappas et al, 1995).

Adicionalmente, Rosner et al (1995) avaliaram, por imunohistoquímica, que amostras do centro da úlcera e dois centímetros distantes da borda da úlcera de perna evidenciaram na epiderme que o número de células de Langerhans (CD1a+) foi 4 vezes menor na úlcera que na pele não ulcerada. Ambas as áreas estavam infiltradas, acentuadamente, por macrófagos (CD68+) e neutrófilos (NP57+). Não houve diferença significativa na distribuição de células T nem na relação CD4+/CD8+ entre as diferentes regiões. Células B foram relativamente raras em todas as áreas.

Com a utilização da biomembrana de látex pode ser observado e também enfaticamente relatado pelos pacientes do grupo látex, que houve um

aumento significativo do exsudato pela ferida, principalmente, no início do tratamento o qual diminuiu gradativamente com a evolução dos curativos. Esses achados poderiam estar relacionados a uma propriedade específica da BML em aumentar a permeabilidade vascular no leito ulcerado.

Em investigação sobre a permeabilidade vascular, Yuan et al (1993) sugeriram que a histamina aumenta a permeabilidade venular coronariana em porcos pela ação direta nas células endoteliais venulares através da cascata fosfolipase C-óxido nítrico sintase-guanil ciclase. Sabe-se que vários mediadores inflamatórios endógenos, incluindo a histamina, aumentam a permeabilidade microvascular em vários tipos de tecidos e órgãos (Yuan et al, 1993; Crone et al, 1987; Horan et al, 1986; Stallmeyer et al, 1999). Essa propriedade é estabelecida pela ligação das citocinas inflamatórias com seus respectivos receptores, promovendo a ativação de uma série de mensageiros secundários na célula endotelial desencadeando diferentes processos de sinalização intracelular como as participações do cálcio citosólico endotelial e de proteínas-quinases no controle da função barreira do endotélio vascular (Huang et al, 1997; Joyner et al, 1990; Lum et al, 1994). Vários desses fatores que aumentam a permeabilidade vascular, como a histamina, são também vasodilatadores que estimulam a síntese de NO pelas células endoteliais (Crone et al, 1987).

Tendo em vista tais relatos, o importante aumento do exsudato nas primeiras semanas, sua diminuição posterior associado ao fato da expressão também diminuída da iNOS com o tratamento com a BML, em relação o controle, pode-se sugerir que a BML apresenta a propriedade de estimular a

permeabilidade vascular, podendo utilizar-se da via da cascata fosfolipase C-óxido nítrico sintase guanil-cilcase para exercer tal propriedade, fato esse que requer estudos futuros.

Estudos recentes relatam que VEGF promove um aumento na permeabilidade venular através da produção de óxido nítrico (Wu et al, 1996; Wu et al,1999). É sabido que o NO formado a partir da ação da NO-sintase constitutiva endotelial (ecNOS) media a ação angiogênica do VEGF sendo considerado um agente quimiotático e mitogênico para as células endoteliais de veias coronarianas bovinas (Ziche et al, 1994).

Avaliando o fator de crescimento vasculo-endotelial (VEGF) nos dois grupos estudados, foi observado maior expressão nos pacientes tratados com a BML comparados aos resultados do grupo controle, no qual a marcação para VEGF foi semelhante pré e pós-tratamentos. Também foi notado que os pacientes jovens apresentavam expressão maior de VEGF o que pode justificar a maior rapidez de cicatrização das úlceras dos mesmos. Nos pacientes idosos a marcação desse fator foi acentuada pré-tratamento mantendo-se inalterada com a terapia (FIGURA VIII).

A neoformação vascular (neoangiogênese) que representa a parte inicial da fase de formação tecidual do processo de cicatrização, clinicamente caracterizada pelo tecido de granulação, se mostrou bem desenvolvida em vários pacientes do grupo látex, chegando à uma granulação acentuada (hipergranulação), importante para o preenchimento tecidual das feridas profundas, como pode ser observado nos resultados dos pacientes nº4 e nº10 (FIGURA VI: 4B e 10B). Avaliando todo o seguimento dos pacientes do grupo

controle, pode-se observar que o estímulo à granulação é bem discreto em relação ao grupo látex, não encontrando nenhum caso com evolução para hipergranulação.

Paralelamente, foi notado que o desenvolvimento do tecido de granulação foi mais rápido no grupo tratado com BML em relação ao tratamento controle, o que pode indicar a potencialidade da BML em induzir, ativamente, a fase de formação tecidual, conduzindo à fase de remodelagem tecidual mais precocemente que o tratamento controle.

O processo de remodelagem tecidual foi descrito por Herrick et al (1997), no qual a arginase sobre a L-arginina produz ornitina que se converte em prolina a qual bloqueia a formação do colágeno e facilita a deposição da matriz extracelular (MEC). Embora a arginase contribua com a deposição da MEC no processo de cicatrização normal, nas úlceras venosas crônicas, a regulação positiva da arginase resulta na formação de matriz anômala. Este fato parece estar relacionado a maior concentração de proteases séricas e elastases derivadas de neutrófilos que são as principais proteases envolvidas na degradação da fibronectina nas úlceras venosas crônicas.

Os estudos de Abd-EL-Aleem et al (2000) evidenciaram que a imunolocalização da iNOS ocorria principalmente na base da úlcera, onde há deficiente deposição de MEC, enquanto que, da arginase se deu principalmente na derme e na pele das bordas onde predomina tecido lipoesclerótico e trombos fibrinóides. Na pele lipoesclerótica foi constatado aumento dos níveis de TGF β 1 (Higley HR, 1995; Jude et al, 1999). Esta

citocina pode regular positivamente o papel da arginase, segundo Bouttard et al (1995) mas, negativamente na atividade da NOS segundo Studehr et al (1989).

Assim, pode ser sugerido que a avaliação imunohistoquímica para a citocina TGF β 1 relaciona, indiretamente, a participação da arginase no processo.

A expressão da citocina TGF β 1 nos grupos estudados, estava aumentada nos pacientes que apresentavam aumento do colágeno, coincidindo também com os resultados observados pela coloração de Gomori, ao exame histopatológico, que evidenciou fibras colágenas mais grossas características do tecido de cicatrização crônica (1ª biópsia) e fibras colágenas mais finas e organizadas (colágeno jovem) na 2ª biópsia. Também pode ser observado que esta organização foi mais evidente nos pacientes tratados com a BML como pode ser visto nas FIGURA VII.

Paralelamente, foi visto que o papel do NO foi reduzido na presença da BML pois foi avaliada a participação da iNOS a qual está relacionada à limpeza da ferida, indicando a capacidade debridante da BML e não a permeabilidade vascular, avaliada pela marcação para ecNOS. No entanto, o aumento da expressão do VEGF aliado ao intenso exsudato promovido pela BML, evidenciam o papel da BML em induzir a permeabilidade vascular e a neoangiogênese.

Segundo Shearer et al (1997), há uma regulação diferencial do metabolismo da arginina onde inicialmente há uma expressão das NO-sintases que criam um microambiente citotóxico o qual tem um papel importante na fase inicial da cicatrização. Com a progressão do processo cicatricial há modificação

no metabolismo da argina onde há aumento da expressão da arginase proporcionando um microambiente favorável para a proliferação dos fibroblastos e produção do colágeno.

Analisando a evolução do paciente 10 do grupo látex (FIGURA VIB: 10), pode ser observado que com o tratamento com a BML leva a intensa formação de vasos representada pela granulação exuberante por volta do 30º, que se manifesta como tecido de granulação de cor vermelho-clara (neoangiogênese). No entanto, com o decorrer do tratamento observa-se que esse tecido torna-se mais compacto acentuando a tonalidade do vermelho para o vinho (colagênese) por volta do 2º mês de tratamento. (ANEXO II) Estes resultados podem demonstrar a transformação tecidual promovida pela BML o que representaria a transformação imunológica do microambiente como proposta por Jeffry et al (1997). Desta forma, pode ser proposto que a BML foi um importante agente indutor do tecido de cicatrização na conclusão da fase de formação e parte da remodelagem tecidual restando apenas a reepitelização.

Segundo Stallmeyer et al (1999), a presença de atividade funcional da iNOS é um pré-requisito crucial para a reepitelização das úlceras normais, pois sua inibição leva a uma grave deficiência da reepitelização.

Tem sido especulada a participação de diferentes células no processo da cicatrização. Huttunen et al (2000) relataram que durante o processo de epitelização da pele normal, a participação de mastócitos não é significativa. Ambos os tipos de mastócitos (triptase e quinase positivos) diminuem durante a cicatrização porém somente a diminuição dos quinase-

positivos foi estatisticamente significativa durante a reação inflamatória. A imunorreatividade mastocitária a IL4 e $\text{TNF}\alpha$ esteve presente durante todo o processo de cicatrização porém, em pequeno número e sem apresentar modificações durante o processo. Em úlceras crônicas, numerosos mastócitos estavam presentes na pele perilesional e, também, em contato com a epiderme e nas áreas da margem, não apresentando imunorreatividade para IL4 nem no leito da úlcera nem na pele perilesional, enquanto para o $\text{TNF}\alpha$ uma leve imunorreatividade pode ser vista na pele perilesional enquanto no leito da úlcera esteve ausente. Tais achados sugerem a participação dos mastócitos no controle do crescimento da epiderme, possivelmente, conduzindo ao atraso ou a pobre cicatrização das úlceras em condições onde há uma interação entre mastócitos e queratinócitos.

Nos pacientes submetidos aos tratamentos BML e controle, foram realizadas biópsias das lesões e estudo histopatológico centralizados no fundo das lesões e não nas suas margens com o objetivo de avaliar a qualidade do tecido de cicatrização na presença dos diferentes tratamentos, condição que dificultou o seguimento da reepitelização.

Foi observado que a reepitelização das úlceras acontece de maneira muito mais lenta que a granulação durante o tratamento com a BML, o que poderia se relacionar com a diminuição da expressão da iNOS a qual inibiria a reepitelização (FIGURA VIII). Por outro lado, o acompanhamento da reepitelização foi comprometido, porque no protocolo do estudo não foi planejada, como objetivo principal, a avaliação da reepitelização, sendo as atenções mais convergentes para a indução do tecido de granulação.

Assim, a análise conjunta dos achados clínicos, histopatológicos e imunohistoquímicos sugere que a biomembrana de látex natural pode atuar como um fator indutor da cicatrização, especialmente, na fase angiogênica precedida do desbridamento da lesão, promovendo a transformação do microambiente das úlceras venosas crônicas. Além disso, a BML se apresenta como uma nova opção no tratamento das úlceras venosas crônicas, devido à praticidade de sua realização; ausência de sintomas e efeitos colaterais; ao baixo custo e por não apresentar risco de transmissão de doenças infecto-contagiosas ao paciente.

6. CONCLUSÕES

Os resultados do tratamento de úlceras de perna com a biomembrana de látex natural, extraído da seringueira *Hevea brasiliensis*, em relação ao tratamento clássico, levam às seguintes conclusões:

- A úlcera de perna acomete, geralmente, pacientes idosos (>60 anos), apresentando insuficiência venosa crônica;
- A localização preferencial das úlceras foi a zona 2 e a co-morbidade mais associada a IVC foi a hipertensão arterial sistêmica;
- Não houve diferença estatisticamente significativa, clínica e histopatologicamente, entre os tratamento com a BML e o controle.
- A BML possui atividade sobre as diferentes fases da cicatrização como:
 - a) Inflamatória: avaliada pela redução da expressão da enzima NO-sintase induzida (iNOS) quando comparada ao tratamento controle, proporcionando o debridamento da ferida;
 - b) Formação e remodelagem teciduais: avaliadas pela indução do aumento do fator VEGF (neoangiogênese) e pela condução na organização do tecido cicatricial tendo em vista o perfil dinâmico da iNOS e a expressão do fator TGF β 1.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABD-EL-ALEEM, S.A.; FERGUSON, M.W.J.; APPLETON, I.; KAIRSINGH, S.; JUDE, E.B.; JONES, K; MCCOLLUN, C.N.; IRELAND, G.W. Expression of nitric oxide synthase isoforms and arginase in normal human skin and chronic venous leg ulcers. **J Pathol**, London, v.191, p.434-442, 2000.
2. ALBINA, J.E.; CUI, S.; MATEO, R.B.; REICHNER, J.S. Nitric oxide mediated apoptosis in 52 murine peritoneal macrophages. **J Immunol**, Baltimore, v.150, p.5080-5085, 1993.
3. APPLETON, I.; TOMLINSON, A.; WILLOUGHBY, D.A. Induction of cyclo-oxygenase and nitric oxide synthase in inflammation. **Adv Pharmacol**, San Diego, v.35, p.27-78, 1996.
4. ARENBERG, D.A.; STRIETER, R.M. Angiogenesis. In: *Inflammation: Basic principles and clinical correlates*. 3rd ed. Edited by John I. Gallin and Ralph Snyderman. Philadelphia, p. 851-864, 1999.
5. ARMANI, A.; COUTINHO-NETTO, J. Aceleração do reparo tissular em modelo experimental de úlcera dérmica induzida por biomembrana de látex natural extraído da seringueira *Hevea brasiliensis*. In: *SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO*, 9, 2001. Ribeirão Preto. **Resumos do 9º SIICUSP-CD-ROM**, Ribeirão Preto:USP, 2001.

6. ARNOLD, F.; WEST, D. Angiogenesis in wound healing. **Pharmac Ther**, Oxford, v.52, p.407-422, 1991.
7. BAKER, S.R.; STACEY, M.C.; JOPP-MCKAY AG ET AL. Epidemiology of chronic venous ulcers. **Br J Surg**, Chichester, v.78, p.864-67, 1991.
8. BARROS –JR, N. Insuficiência venosa crônica. In: PITTA, G.B.B.; CASTRO, A.A.; BURIHAN, E. **Angiologia e cirurgia vascular:guia ilustrado**. Maceió: UNISAL/ECMAL, 2000.
9. BAZEX, A.; MONTASTRUC, P.; BAZEX, J.; DARNAUD, J.; ZEMB, J.P.; GOUSSAUD, C. Mécanisme de lésions d'acropathie ulcero-mutilante. **Nouv Presse Méd**, Paris, v.4, p.746-9,1975.
10. BENCHIKHI, H.; CHIHEB, S.; KHADIR, K.; LAKHDAR, H. Les ulcères de jambe prédominant chez l' homme au maroc. **Ann Dermatol Venereol**, Paris, v.125, p.339-40, 1998.
11. BONFOCO, E.; KRAINE, D.; ANKACRONA, M.; NICOTERA, P.; LIPTON, S.A. Apoptosis and necrosis, two distinct events induced, respectively, by mild and intense insult with N-methyl-D aspartate or nitric oxide superoxide in cortical cell culture. **Proc Natl Acad Sci USA**, Washington, v.92, p.7162-7166, 1995.

12. BONSAQUET, N. Costs of venous ulcers: from maintenance therapy to investment programmes. **Phlebology**, Houndmills, v.7(Suppl 1), p.6-12,1992:.
13. BORGES, E.L., GOMES, F.S., SAAR, S.R. Comparative study of wound care. **Rev Bras Enferm**, Brasília, v.52, n.2, p.215-222, 1999.
14. BOUTTARD, V.; HAVOUIIS, R.; FOUQUERAY, B.; PHILIPPE, C.; MOULINOX, J.P.; BAUD, L. Transforming growth factor-beta stimulates arginase activity in macrophage. Implications for the regulation of macrophage cytotoxicity. **J Immunol**, Baltimore, v.155, p.2077-2084, 1995.
15. BROADLEY, K.N.; AQUINO, A.M.; HICKS, B.; DITESHEIM, J.A.; MCGEE, G.S.; DEMETRIOU, A.A.; WOODWARD, S.C.; DAVIDSON, J.M. The diabetic rat as an impaired wound healing model:Stimulatory effects of TGFbeta and BFGF. **Biotechnonol Ther**, New York, v.1, p.55-68, 1989
16. BURTON, C.S. Manafement of chronic and problem lower extremity wounds. **Wound healing**, St. Louis, v.11, n.4, p.767-73, 1993.
17. CABRAL A.L.S. Insuficiência venosa crônica de membros inferiores: prevalência, sintomas e marcadores preditivos. **Tese de doutoramento**. Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. São Paulo. 140p, 2000.

18. CALLAM, M.J.; RUCKLEY, C.V.; HARPER, D.R.; DALE, J.J. Chronic ulceration of the leg: extend of the problem and provision of care. **Br Med J**, London, v.290, p.1855-6, 1985.
19. CARVALHO, M.T.F.; BASTOS, S.M.C.; FRADE, M.A.C.; GAMONAL, A.C. Úlceras de perna. In: **Dermatologia Elementar** . 1ª Ed., Editado pelo autor, Juiz de Fora, Cap15: 115-117, 2000.
20. CARVALHO, M.T.F.; BASTOS, S.M.C.; FRADE, M.A.C.; GAMONAL, A.C. Úlceras de perna. In: **Dermatologia Elementar** . 2ª Ed., Editado pelo autor, Juiz de Fora, Cap15, p.113-116, 2002.
21. CHAN, B.M.; KASSNER, P.D.; SCHIRO, J.A.; BYERS, H.R.; KUPPER, T.S.; HEMLER, M.E. Distinct cellular functions mediated by different VLA integrin alpha subunit cytoplasmic domains. **Cell**, Cambridge, v.68, p.1051-60, 1992.
22. CHANG, K.J. Increased cross linkages in experimental diabetes. **Diabetes**, New York, v.29, p.778, 1980.
23. CHENG, B.; FU, X.; SHENG, Z.; GU, X.; SUN, T.; SUN, X. The effect of basic fibroblast growth factor on myofibroblasts and its significance on wound healing. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, Beijing, v.82, n.17, p.1187-91, 2002.

24. CHETTIBI, S.; FERGUSON, M.W.J. Wound repair: na overview. **In: Inflammation: Basic principles and clinical correlates.** 3rd ed. Edited by John I. Gallin and Ralph Snyderman. Philadelphia, p. 865-881,1999.

25. CLARK, R.A.F. Wound repair overview and general considerations. **In: The molecular and Cellular biology of wound repair.** Second edition, Plenum Press, New York, p. 95-141, 1996.

26. CLARK, R.A.F. **In: The molecular and Cellular biology of wound repair.** Second edition, New York, Cap. 6:195-240 e Cap. 8:291-99, 1996.

27. CORDTS, P.R.; HANRAHAN, L.M.; RODRIGUEZ, A.A.; WOODSON, J.; LAMORTE, W.W.; MENZOIAN, J.O. A prospective, randomized trial of Unna's boot versus Duoderm CGF hydroactive dressing plus compression in the management of venous leg ulcers. **J Vasc Surg**, St. Louis, v.15, p.80, 1992

28. CRONE, C. From porositates carnis to cellular microcirculation (Malpighi lecture). **Int J Microcirc Clin Exp**, Boston, v.6, p.101-122, 1987.

29. CROSS, A.H.; MISKO, T.P.; LIN, R.F.; HICKEY, W.F.; TROTTER, J.L.; TILTON, R.G. Aminoguanidine, an inhibitor of inducible nitric oxide synthase ameliorates experimental autoimmune

- encephalomyelitis in SJL mice. **J Clin Invest**, New Haven, v.93, p.2684-2690, 1994
30. CUI, S.; REICHNER, J.S.; MATEO, R.B.; ALBINA, J.E. Activated murine macrophages induce apoptosis in tumor cells through nitric oxide dependent or nitric oxide independent mechanisms. **Cancer Res**, Chicago, v.54, p.2462-2467, 1993.
31. DERYNCK, R.; LINDQUIST, P.B.; BRINGMAN, T.S.; WINKLER, M.E. Transforming growth factor- α -structure, expression and biological activities. **Biophys J**, New York, v.53, p. 207, 1988.
32. DODD, H.; COCKETT, F.B. Primary familial varicose veins. In: **The Pathology and Surgery of the veins of the lower limb**. 2nd ed., Edinburgh: Churchill Livingstone, p. 61-73,1976.
33. DOUGLAS, W.S.; SIMPSON, N.B. Guidelines for the management of chronic venous leg ulceration. Report of multidisciplinary workshop. **Br J Dermatol**, Baltimore, v.132, p.445-52, 1995.
34. DYSON, M.; YOUNG, S.R.; PENDLE, C.L.; WEBSTER, D.F.; LANG, S.M. The effects of moist and dry conditions on dermal repair. **J Invest Dermatol**, Oxford, v.91, p.434-439, 1988.

35. FALANGA, V.; MCKENZIE, A.; EAGLESTAIN, W. Heterogeneity in oxygen diffusion around venous ulcers. **J Dermatol Surg Oncol**, New York, v.17, p.336-39, 1991.
36. FITZPATRICK'S Dermatology in General Medicine, 5th Edition.CDROOM Chapter 169-Diabetis mellitus , pg 1-17,1999.
37. FITZPATRICK'S Dermatology in General Medicine, 5th Edition, CD-ROM, Chapter 270: Wound Dressings, 1999.
38. FRADE, M.A.C.; FOSS, N.T.; SOARES, S.C.; CAMPOS, E.M.; CURSI, I.B. Estudo clínico-epidemiológico de Úlceras de perna em Juiz de Fora. In: REUNIÃO ANUAL DE DERMATOLOGISTAS DO CONE SUL, XXI, 2001. Foz do Iguaçu. **Anais da XXI RADLA**, Foz do Iguaçu, TI 10, p. 84, 2001a.
39. FRADE, M.A.C.; FOSS, N.T.; SOARES, S.C.; CAMPOS, E.M.; CURSI, I.B. Estudo clínico-epidemiológico de Úlceras de perna em Juiz de Fora e região. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 9, 2001. Ribeirão Preto. **Resumos do 9ºSIICUSP-CD-ROM**, Ribeirão Preto:USP,2001b.
40. FRADE, M.A.C.; VALVERDE, R.V.; VIOLANTE, M.R.; COUTINHO-NETTO, J.; FOSS, N.T. Chronic phlebopatic skin ulcer: a therapeutic proposal. **Int J Dermatol**, Philadelphia, v. 40, n.03, p.238-40, 2001c.

41. FRADE, M.A.C.; CURSI, I.B.; ANDRADE, F.F.; NETTO, J.C.; FOSS, N.T. Avaliação clínica do tratamento de úlceras de perna com a biomembrana de látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis*(BML). CONGRESSO BRASILEIRO DE DERMATOLOGIA, 56,2001. Goiânia. **Anais do 56º Congresso Brasileiro de Dermatologia**, Goiânia, p. 132, 2001d.
42. FRADE, M.A.C.; CURSI, I.B.; ANDRADE, F.F.; NETTO, J.C.; FOSS, N.T. Benefícios da biomembrana de látex na cicatrização em paciente diabética. CONGRESSO BRASILEIRO DE DERMATOLOGIA, 56,2001. Goiânia. **Anais do 56º Congresso Brasileiro de Dermatologia**, Goiânia, p. 158, 2001e.
43. FRADE, M.A.C.; CURSI, I.B.; ANDRADE, F.F.; COUTINHO-NETTO, J. E FOSS, N.T. Induction of leg wound healing by natural latex biomembrane. WORD CONGRESS OF DERMATOLOGY, 20, 2002. Paris. **Annales de Dermatologie et de vénéréalogie**, Paris Masson, v. 129:1S823, 2002a.
44. FRADE, M.A.C.; CURSI, I.B.; ANDRADE, F.F.; COUTINHO-NETTO, J. E FOSS, N.T. Stimulation of diabetic wound healing by natural latex biomembrane dressing. WORD CONGRESS OF DERMATOLOGY, 20, 2002. Paris. **Annales de Dermatologie et de vénéréalogie**, Paris Masson, v. 129:1S823, 2002b.

45. FRANZECK, U.K.; TALKE, P.; BERNSTEIN, E.F.; GOLBRANSON, F.L.; FRONEK, A. Transcutaneous Po₂ measurements in health and peripheral arterial occlusive disease. **Surgery**, St. Louis, v.91, p.156-63,1982.
46. GROTENDORST, G.R.; CHANG, T.; SEPPA, H.E.J.; KLEINMAN, H.K.; MARTIN, G.R. Platelet-derived growth factor is a chemoattractant for vascular smooth-muscle cells. **J Cell Physiol**, Philadelphia, v.113, p. 261-266, 1982.
47. GIANCOTTI, F.G.; RUOSLAHTI, E. Elevated levels of the alpha 5 beta 1 fibronectin receptor suppress the transformed phenotype of Chinese hamster ovary cells. **Cell**, Cambridge, v.60, p.849-59,1990.
48. GOMORI, G.L. A rapid one-step trichrome. **Am J Clin Pathol**, Philadelphia, v.20, p.661-663,1950.
49. GOULART, I.M.B.; FIGUEIREDO, F.; COIMBRA, T. AND FOSS, N.T. Detection of transforming growth factor-beta1 in dermal lesions of different clinical forms of leprosy. **Am J Patol**, Philadelphia, v. 148, n.3, p. 911-17, 1996.
50. GOURDIN, F.W.; SMITH-JR, J.G. Etiology of Venous Ulceration. **South Med J**, Birmingham, v.86, n.10, p.1142-1145, 1993.

51. GRINNELL, F.; HO, C.H.; WYSOCKI, A. Degradation of fibronectin and vitronectin in chronic wound fluid: Analysis by cell blotting, immunoblotting and cell adhesion assays. **J Invest Dermatol**, Baltimore, v.98, p.410-416, 1992
52. HAIMOVICI, H.; STEINMANN, C.; COPLAN, H.H. Role of arteriovenous anastomoses in vascular disease of the lower extremity. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 164, p. 990-1002, 1966.
53. HAIMOVICI, H. Role of precapillary arteriovenous shunting in the pathogenesis of varicose veins and its therapeutic implications. **Surgery**, St. Louis, v.101, p. 515-22, 1987.
54. HERRICK, S.; ASHCROTT, G.; IRELAND, G.; HORAN, M.; MCCOLLUM, C.; FERGUSON, M. Up-regulation of elastase in acute wounds of healthy aged humans and chronic venous leg ulcers are associated with matrix degradation. **Lab Invest**, New York, v.77, n.3, p. 281-288, 1997.
55. HERRICK, S.; IRELAND, G.; SIMON, D.; MCCOLLUM, C.; FERGUSON, M. Venous ulcer fibroblasts compared with normal fibroblasts show differences in collagen but not fibronectin production under both normal and hypoxic conditions. **J Invest Dermatol**, Baltimore, v.106, p.187-193, 1996.

56. HIGLEY, H.R.; KSANDER, G.A.; GERHARDT, C.O.; FALANGA, V. Extravasation of macromolecules and possible trapping of transforming growth factor-beta in venous ulceration. **Br J Dermatol**, Oxford, v. 132, p.79-85,1995.
57. Home page do Ministério da Saúde – www.datasus.gov.br 2001.
58. Home page: http://www.emedix.com.br/artigos/ang007_1g_ulcerasperna.shtml acesso em 19/01/2003.
59. HomePage:http://www.suplenciavascular.com.br/edicoes_anteriores/edicao1/variz_de_membros_inferiores.htm, acesso em 19/01/2003.
60. Home page: <http://www.redesaude.gov.br/lava> , acesso em 19/01/2003.
61. Home page: <http://www.lava.med.br/livro/newton.PDF>, acesso em 19/01/2003.
62. HORAN, K.L.; ADAMSKI, S.W.; AYELE, W.; LANGONE, J.J.; GREGA, G.J. Evidence that prolonged histamine suffusions produce transient increases in vascular permeability subsequent to the formation of venular macromolecular leakage sites. **Am J Pathol**, Bethesda, v.123,p.570-576,1986.
63. HUANG, Q.; YUAN, Y. Interaction of PKC and NOS in signal transduction of microvascular hyperpermeability. **Am J Physiol**,

- v.273 (**Heart Circ. Physiol**, v.42), Washington, p.H2442-H2451, 1997.
64. HUNTER, J. Lectures on the principles of surgery. In: **The works of John Hunter**. Vol. 1, p.368, Ed. Palmer J. London, 1787.
65. HUTTUNEN, M.; AALTO, M.L.; HARVIMA, R.J.; HORSMANHEIMO, M.; HARVIMA, I.T. Alterations in mast cells showing tryptase and chymase activity in epithelializing and chronic wounds. **Exp Dermatol**, Copenhagen, v.9, p.258-265, 2000.
66. ISCHIROPOULOS, H.; ZHU, L.; CHEN, J.; TSAI, M.; MARTIN, J.C.; SMITH, C.D.; BECKMAN, J.S. Peroxynitrite-mediated tyrosine nitration catalysed by superoxide dismutase. **Arch Biochem Biophys**, New York, v. 98, p.431-437, 1992.
67. JOYNER, W.L. & KERN, D.F. Microvascular permeability to macromolecules and its dynamic modulation. **Adv Drug Delivery Res**, New York, v.4, p.319-342, 1990.
68. JUDE, E.B.; BOULTON, A.J.M.; FERGUSON, M.W.J.; APPLETON, I. The role of nitric oxide synthase isoforms and arginase in the pathogenesis of diabetic foot ulcers: possible modulatory effects by transforming growth factor beta 1. **Diabetologia**, Berlin, v.42, p.748-757, 1999.

69. KARUKONDA, S.R.; FLYNN, T.C.; BOH, E.E.; MCBURNEY, E.I.; RUSSO, G.G.; MILLIKAN, L.E. The effects of drugs on wound healing: Part 1. **Int J Dermatol**, Philadelphia, v.39,p.250-7,2000.
70. KAUR, H.; HALLIWELL, B. Evidence for nitric oxide mediated oxidative damage in chronic inflammation: Nitrotyrosine in serum and synovial fluid from rheumatoid patients. **FEBS Lett**, Amsterdam, v.350, p.9-12,1994.
71. KIRK, S.J.; REGAN, M.C.; PALMER, R.M.J.; MONCADAS, S.; WASSERKRUNG, H.L.; BARBULE, A. The role of oxide nitric in wound collagen deposition. **Surg Forum**, Chicago, v.44, p.706-708, 1993.
72. KLINGBEIL, C.K.; CESAR, L.B.; FIDDES, J.C. Basic fibroblast growth factor accelerates tissue repair in models of impaired wound healing. **Prog Clin Biol Res**, New York, v.365, p.443-58, 1991.
73. LACHAT, J.J.; MRUÉ, F.; THOMAZINI, J.Á.; COUTINHO-NETTO, J. Morfological and biochemical studies of the biocompatibility ob a membrane manufactured from the natural latex Hevea brasiliensis. **Microscopica Acta**, Stuttgard, Vol. 6, Supl. B, September 1997.
74. LEFAUCHER, C.; BARDOUX, J.; FRÉNEAUX, B. La désartérialisation pédieuse dans le traitement des troubles trophiques

- de l'acropathie ulcéro-mutilante. **Nouv Presse Méd**, Paris, v.4, p.2325-6,1975.
75. LUM, H. AND MALIK. A.B. Regulation of vascular endothelial barrier function. **Am J Physiol**, v.267 (**Lung Cell Mol Physiol**, v.11), Washington, p. L223-L241, 1994.
76. LYONS, C.R.; ORLOFF, G.J.; CUNNINGHAM, J.M. Molecular cloning and functional expression of an inducible nitric oxide synthase from murine cell line. **J Biol Chem**, Baltimore, v.267, p.6370-6374,1992.
77. MAFFEI, F.H.A. Varizes dos membros inferiores: epidemiologia, etiopatogenia e fisiopatologia. In: **Doenças vasculares periféricas**. 3ª ed., MEDSI, Rio de Janeiro, cap. 109, p.1499-1510, 2002.
78. MALLORY, F.B. Pathological Technique. . Philadelphia, PA: WB Sauders; p.1970-1971, 1942:
79. MANI, R.; WHITE, J.; BARRET, D.; WEAVER, P. Tissue oxygenation, venous ulcers and fibrin cuffs. **J R Soc Méd**, London, v.82, p.345-346,1989.
80. MARTORELL, F. Hypertensive ulcer of the leg. **Angiology**, v.1, p.133-40. 1950.
81. MCCALON, R.L.; FERGUSON, M.W.J. Fetal wound healing and the development of antiscarring therapies for adult wound healing. In: **The**

Molecular and Cellular Biology of wound repair. 2nd ed., Plenum Press , New York,1996.

82. MEYER-INGOLD, W. Wound therapy: growth factors as agents to promote healing. **Trends Biotechnol**, Amsterdam, v.11,p.387-92, 1993.
83. MOULIN, V. Growth factors in skin wound healing. **Eur J Cell Biol**, Stuttgart, v.68, p.1-7, 1995.
84. MRUÉ, F. Substituição do Esôfago Cervical por prótese biossintética de Látex-Estudo Experimental em Cães. Tese de Mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP-São Paulo-Brasil, 1996.
85. MRUÉ, FÁTIMA. Neoformação tecidual induzida por biomembrana de látex natural com polilisina - Aplicabilidade na neoformação esofágica e da parede abdominal - Estudo experimental em cães. Tese de Doutorado Aprovada na Área de Pós-Graduação em Cirurgia, da FMRP-USP, 2000.
86. MRUÉ, F.; COUTINHO-NETTO, J.; LACHAT, J.J. E CENEVIVA, R. A new method of treatment of wide esophageal defect. Congresso Mundial de Gastrocirurgia, Goiânia, 2001.

87. MRUÉ, F.; CENEVIVA, R.; LACHAT, J.J.; SOARES, M.E.; COUTINHO-NETTO, J. Um novo método de reconstrução de defeitos extensos da parede abdominal e peritoniotomias. Congresso Mundial de Gastrocirurgia, Goiânia, 2001.
88. MUSTOE, T.A.; PIERCE, G.F.; MORISHIMA, C.; DEUEL, T.F. Growth factor-induced acceleration of tissue repair through direct and inductive activities in a rabbit dermal. **J Clin Invest**, New Haven, v.87, p.694-703, 1991.
89. NELZÉN, O.; BERGVIST, D.; LINDHAGEN, A.; HALLBOK, T. Chronic leg ulcers etiology — a cross-sectional population study. **J Vasc Surg**, St. Louis, v.4, p.557-64, 1991.
90. NELZÉN, O.; BERGVIST, D.; LINDHAGEN, A.; HALLBOK, T. Chronic leg ulcers: an underestimated problem in primary health care among elderly patients. **J Epidemiol Community Health**, London, v.45, p.184-7, 1991.
91. NICOLAIDES, A.N. Consenso de clasificación de las enfermedades venosas crónicas. **Patol Vasc**, Havaí, v.1, n.2, p.75-85, 1994.
92. PAPPAS, P.J.; FALLEK, S.R.; GARCIA, A.; ARAKI, C.T.; BACK, T.L.; DURAN, W.N.; HOBSON, R.W. Role of leukocyte activation in patients with venous stasis ulcers. **J Surg Res**, Philadelphia, v.59, p.553-559, 1995

93. PASYK, K.A.; THOMAS, S.V.; HASSETT, C.A.; CHERRY, G.W.; FALLER, R. Regional differences in capillary density of the normal human dermis. **Plast Reconstr Surg**, Baltimore, v.83, p.939-45,1989.
94. PETERS, J. A review of the factors influencing nonrecurrence of venous leg ulcers. **J Clin Nursing**, Oxford, v.7, p.3-9,1998.
95. PHILLIPS, T.J.; DOVER, J.S. Leg Ulcers. **J Am Acad Dermatol**, St. Louis, v.25, p.965-987,1991.
96. PHILLIPS, T.J. Chronic Cutaneous Ulcers; Etiology and Epidemiology. **J Invest Dermatol**, Baltimore, v.102, p.38-41s, 1994.
97. PICCINATO, C.E.; COUTINHO-NETTO, J.; CHERRI, J. Cicatrização. In: **Tratado de otorrinolaringologia**. 1^a. ed. São Paulo, Ed. Roca, Cap.12, p.189-2000, 2003.
98. PIERCE, G.F.; MUSTUE, T.A.; ALTROCK, B.W. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. **J Cell Biochem**, New York, v.45, p.319-26, 1991.
99. PIERCE, G.F.; TARPLEY, J.E.; YANGIHARA, D. Platelet-derived growth factor (BB homodimer), transforming growth factor- β 1 and basic fibroblast growth factor in dermal wound healing. **Am J Pathol**, Washington, v.140, p.1375-88,1992.

100. PITTA, G.B.B.; CASTRO, A.A.; BURIHAN, E. **Angiologia e cirurgia vascular:guia ilustrado**. Maceió: UNISAL/ECMAL, 2000.
101. PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B. AND SOBIN, L.H. Laboratory Methods in histotechnology, Washington, **DC: American Registry of Pathology**; p.55, 1994.
102. ROSNER, K.; ROSS, C.; KARLSMARK, T.; PETERSEN, A.A.; GOTTRUP, F.; VEJLSGAARD, G.L. Immunohistochemical characterization of the cutaneous cellular infiltrate in different areas of chronic leg ulcers. **APMIS**, Copenhagen, v.103, p.293-299, 1995.
103. RYAN, T.J.; BURNAND, K. In: **Dermatology in General Medicine**, 5th Edition, CD-ROM, Chapter 270: Wound Dressings, 1999.
104. SAMPAIO, S.A.P. & RIVITTI, E.A. **Dermatologia** 1^a. Ed. São Paulo:Guanabara-Koogan, Cap. 25:261-5, 1998
105. SAMPAIO, S.A.P. & RIVITTI, E.A. **Dermatologia** 2^a. Ed. São Paulo:Guanabara-Koogan, Cap. 25:261-5, 2000.
106. SCHMID, J.; WALLKAMM, B.; HAMMERLE, C.H.; GOGOLEWSKI, S.; LANG, N.P. The significance of angiogenesis in guided bone regeneration. **Clin Oral Impl Res**, Copenhagen, v.8, p.244-48,1997.

107. SCOTT, H.J.; CHEATLE, T.R.; MACMULLIN, G.M. Reappraisal of the oxigenation of blood in varicose veins. **Br J Surg**, London, v.77, p.934-36, 1990.
108. SCOTT, T.E.; LAMORTE, W.W.; GORIN, D.R.; MENZOIAN, J.O. Risk factors for chronic venous insufficiency: A dual case-control study. **J Vasc Surg**, St. Louis, v.22, p.622-8, 1995.
109. SEPPA, H.; GROTENDORST, G.; SEPPA, S.; SCHIFFMANN, E.; MARTIN, G.R. Platelet derived growth factor chemotactic for fibroblasts. **J Cell Biol**, New York, v. 92, p.584-588, 1982.
110. SHEARER, J.D.; RICHARDS, J.R.; MILLS, C.D.; CALDWELL, M.D. Differential regulation of macrophage arginine metabolism: a proposed role in wound healing. **Am J Physiol**:272 (**Endocrinol Metab** 35), Washington, p.E181-E190,1997.
111. SHIMIZU, Y.; SAKAI, M.; UMEMURA, Y.; UEDA, H. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in normal human skin: Expression of endothelial-type and inducible-type nitric oxide synthase in keratinocytes. **J Dermatol**, Tokyo, v.24, p.80-87,1997
112. SKENE, A.I.; SMITH, J.M.; DORE, C.J.; CHARLETT, A.; LEWIS, J.D. Venous leg ulcers: a prognostic index to predict time to healing. **BMJ**, London, v.305, p.1121-3, 1992.

113. STALLMEYER, B.; KAMPFER, H.; KOLB, N.; FEILSCHIFTER, J.; FRANK STEFAN. The function of nitric oxide in wound repair: inhibition of inducible nitric oxide-synthase severely impairs wound reepithelization. **J Invest Dermatol**, Baltimore, v.113, p.1090-1098,1999.
114. STEED, D.I. AND THE DIABETIC ULCER STUDY GROUP. Clinical evaluation of recombinant human plated-derived growth factor for the treatment of lower extremity diabetic ulcers. **J Vasc Surg**, St. Louis, v.21, p.71-81, 1995.
115. STUDEHR, D.J.; GROSS, S.S.; SAKUMA, I.; LEVI, R.; NATHAN, C.F. Activated murine macrophages secrete a metabolite of arginine with the bioactivity of endothelium-derived relaxing factor and the chemical reactivity of nitric oxide. **J Exp Med**, New York, v.169, p.1011-1020, 1989.
116. SU-MING, H.; RAINE, L.; FANGER, H. Use of Avidin-Biotin-Peroxidase(PAP) Immunoperoxidase Techniques: A comparison between ABC and Unlabeled Antibody (PAP) procedures. **J Histochem Cytochem**, Baltimore, v.29, n.4, p.577-80, 1981.
117. THOMAS, P.; NASH, G.; DORMANDY, J. White cell accumulation in dependent legs of patients with venous hypertension: a possible mechanism for trophic changes in the skin. **Br Med J**, London, v.296, p.1693-1695, 1988.

118. THOMAZINI, J.A.; MRUE, F.; LACHAT, J.J.; ZBOROWSKI, A.C.; DURAN, J.H.R.; CENEVIVA, R.; COUTINHO-NETTO, J. Morphological and biochemical characterization of a prosthesis manufactured from natural latex of *Hevea brasiliensis* for medical utilization. **Microscopica Acta**, Stuttgart, v.6, p.798-799, 1997.
119. TRENGOVE, N.; LANGTON, S.; STACEY, M. Biochemical analysis of wound fluid from nonhealing and healing chronic leg ulcers. **Wound Repair Regen**, Malden, v.4, p.234-239, 1996
120. TRENGOVE, N.J.; BIELEFELDT-OHMANN, H.; STACEY, M.C. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. **Wound Repair Regen**, Malden, v.8, n.1, p.13-25, 2000
121. TROTT, A. Chronic skin ulcers. **Emerg Med Clin North Am**, Philadelphia, v.10, p.823-45, 1992.
122. VERNET, D.; FERRINI, M.G.; VALENTE, E.G.; MAGEE, T.R.; BOUCHARIOS, G.; RAJFER, J.; GONZALES-CADAVID, N.F. Effect of nitric oxide on the differentiation of fibroblasts into myofibroblasts in the Peyrone's fibrotic plaque and in its rat model. **Nitric oxide**, Orlando, v. 7, n.4, p.262-76, 2002
123. WALLACE, H.J.; STACEY, M.C. Levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and soluble TNF receptors in chronic venous leg ulcers-

- correlations to healing status. **J Invest Dermatol**, Baltimore, v.110, p.292-296, 1998.
124. WELCH, M.P.; ODLAND, G.F.; CLARK, R.A. Temporal relationships of F-actin bundle formation, collagen and fibronectin matrix assembly and fibronectin receptor expression to wound contraction. **J cell Biol**, New York, v.110, p.133-45, 1990.
125. WILLIAMS, G.T. Programmed cell death? Apoptosis and oncogenesis. **Cell**, Cambridge, v.65, p.1091-98, 1991.
126. WILLIS, R.A.; NUSSLER, A.K.; FRIES, K.M.; GELLER, D.A.; PHIPPS, R.P. Induction of nitric oxide synthase in a subsets of murine pulmonary fibroblasts: Effect on fibroblast interleukin-6 production. **Clin Immunol Immunopathol**, New York, v.71, p.231-239, 1994.
127. WU, H.; HUANG, Q.B.; YUAN, Y.; GRANGER, H.J. VEGF induces NO-dependent hypermeability in coronary venules. **Am J Physiol**, v.271 (**Heart Circ. Physiol**, v.40), Washington, p.H2735-H2739, 1996.
128. WU, H.M.; YUAN, Y.; ZAWIEJA, D.C.; TINSLEY, J.; GRANGER, H.J. Role of phospholipase C, protein kinases C and calcium in VEGF-induced venular hyperpermeability. **Am J Physiol**, v.276 (**Heart Circ. Physiol**, v.45), Washington, p.H535-H542, 1999.

129. YUAN, Y.; GRANGER, H.J.; ZAWIEJA, D.C.; DEFILY, D.V.; CHILIAN, W.M. Histamine increases venular permeability via a phospholipase C-NO synthase-guanylate cyclase cascade. **Am J Physiol**, v.264 (**Heart Circ Physiol**), p.1734-1739, 1993.
130. ZICHE, M.; MORBIDELLI, E.; MASINI, E.; AMERINI, S.; GRANGER, H.J.; MAGGI, C.A.; GEPPETTI, P.; LEDDA, P. Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P (Abstract). **J Clin Invest**, New Haven v.94, p. A2036, 1994.

8. ANEXOS

ANEXO I

TÍTULO

CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA DA AMOSTRA POPULACIONAL COM ÚLCERA DE PERNA EM JUIZ DE FORA E REGIÃO

TITLE

CLINIC AND EPIDEMIOLOGIC CHARACTERIZATION OF A SAMPLE OF POPULATION WITH LEG ULCER IN JUIZ DE FORA AND REGION

AUTORES

Igor Brum Cursi¹

Felipe Fortes Andrade¹

Samara Casemiro Soares¹

Wendel S. Ribeiro¹

Sandro V. Santos¹

Norma Tiraboschi Foss^{1,2}

Marco Andrey Cipriani Frade^{1,2}

1. Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora – Juiz de Fora, MG, Brasil
2. Divisão de Dermatologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP) - Ribeirão Preto, SP, Brasil

Suporte: Bolsa de Iniciação Científica da Universidade Federal de Juiz de Fora

Endereço para correspondência: Prof. Marco Andrey Cipriani Frade, Divisão de Dermatologia – Hospital das Clínicas FMRP/USP- Av. Bandeirantes, 3900, Bairro Monte Alegre – Ribeirão Preto – SP CEP. 14049.900

Telefone (FAX): 55 21 16 633 6695

Email: uspmarcoandrey@hotmail.com

RESUMO

Úlceras de perna caracterizam-se por perda do tegumento nas extremidades dos membros inferiores causada geralmente por disfunção vascular. Com intuito de caracterizar, clínica e epidemiologicamente, a população portadora de úlceras de perna, foram avaliados 124 pacientes de Juiz de Fora e região entre janeiro/1999 a agosto/2001. A média de idade foi 62,6 anos predominando sexo feminino (65,3%), composição média 3,7 indivíduos/família e renda menor que R\$ 540,00 (86,8%). Associavam-se às úlceras, insuficiência venosa (74,2%), HAS (51,6%) e diabetes melitus (20,2%). Classificavam-se como venosas (67,8%), hipertensivas (20,1%), mistas e outras (12,1%). Acometiam preferencialmente o terço distal das pernas, 40% de tamanho médio (2 a 5 cm) e 35,6% grande (>5cm), acompanhadas, principalmente, de hiperpigmentação (92,5%), lipodermatoesclerose (68,8%) e varicosidades (67,7%), com duração média de 94,2 meses e 50% recidivantes. Os dados sugerem que a úlcera de perna é uma doença crônica importante na população idosa e de baixa renda de Juiz de Fora e região.

Palavras-chaves: úlceras de perna, epidemiologia

ABSTRACT

Leg ulcers are characterized as lose of tissue of extremity of low members generally caused by vascular dysfunction. To verify the clinical and epidemiological profiles of the population with leg ulcers of Juiz de Fora (Brazil) and region were evaluated 124 patients between january/1999 to august/2001. It was find of the mean age of 62.6 years old and female majority (65,3%),

mean family composition of 3,7 people and family income was around U\$200,00 (86,8%). The venous insufficiency (74,2%), systemic arterial hypertension (51,6%) and diabetes mellitus (20,2%) were the most frequent events associated with ulcers. These were classified as venous (67,8%), hypertensive (20,1%), mix and others (12,1%). Preferably these localized in distal third of legs with medium size (40%) and big size (35,6%), attended mainly of hyper pigmentation (92,5%), lipodermatosclerosis (68,8%) e varicoses (67,7%), during 94,2 months in media and 50% were recurred. The date suggested that leg ulcer is an important chronic disease in an elderly and unprofitable population of Juiz de Fora and region.

Key words: leg ulcers, epidemiology

INTRODUÇÃO

A úlcera de perna é uma síndrome caracterizada por perda circunscrita ou irregular do tegumento (derme ou epiderme), podendo atingir subcutâneo e tecidos subjacentes que acomete as extremidades dos membros inferiores cuja causa está, geralmente, relacionada ao sistema vascular arterial ou venoso.¹

A etiologia das úlceras de perna advém da insuficiência venosa crônica em 80 a 85%, doença arterial em 5 a 10% dos casos e o restante é de origem neuropática (usualmente diabética) ou mistas.²

As úlceras de perna podem ser classificadas em venosa; hipertensiva; anêmica, isquêmica, além do pé diabético e tromboangeite obliterante. Dentre os fatores predisponentes: idade (idosos), sexo (feminino), obesidade, profissão (ortostatismo prolongado), vulnerabilidade das pernas a traumas e

infecções, aumento da pressão venosa, diminuição do fluxo arterial e história familiar.^{1,3}

Apesar de poucos estudos epidemiológicos sobre úlceras de perna, estas são muito freqüentes na prática médica e absorvem grandes verbas destinadas à saúde para seu manejo. Sua freqüência vem aumentando de acordo com o aumento da expectativa de vida da população mundial. Nos EUA, 600.000 pessoas adquirem novas úlceras de perna ao ano. Na Suécia, 4 a 5 % da população acima de 80 anos é portadora desta patologia.¹ Um estudo, na Inglaterra, analisando os custos de curativos usados no tratamento das úlceras de perna, no período de quatro meses, variaram de U\$ 250 a U\$ 2500.^{1,2} Na Suécia, o custo anual para tratamento de pacientes com úlceras de perna estima-se em torno de \$ 25 milhões.^{1,4}

Juiz de Fora é uma cidade de tamanho médio localizada na mesorregião da Zona da Mata Mineira (Mesorregião nº 3112) com uma população de 450.288 habitantes.⁵ A prestação de serviço em saúde, principalmente pelo Hospital Universitário da UFJF, abrange toda a Zona da Mata além de alguns municípios do Sul de Minas Gerais e também do Rio de Janeiro.⁶

Na região de Juiz de Fora, este trabalho torna-se pioneiro pois não há relato de dados estatísticos publicados sobre úlceras de perna. No entanto, nota-se tratar de uma patologia freqüente no atendimento pelos serviços de dermatologia, angiologia, cirurgia plástica, dentre outros. Seu tratamento é sempre longo e difícil devido à diversidade de etiologias e tratamentos.⁷

Apesar da relevância da patologia, pouco se conhece sobre sua distribuição na população do país ou mesmo em diferentes regiões. Assim, procurou-se traçar um perfil clínico-epidemiológico dos portadores de úlceras de perna na região de Juiz de Fora-MG avaliando os tipos mais frequentes de úlceras, doenças associadas e o perfil socioeconômico dos pacientes, servindo de estímulo a novos estudos sobre o tema e a futuras propostas terapêuticas mais acessíveis à realidade da população.

METODOLOGIA

População estudada:

Foram cadastrados 124 pacientes atendidos nas unidades de saúde de Juiz de Fora distribuídos conforme **Gráfico I**, no período de janeiro de 1999 a agosto de 2001.

GRÁFICO I: Distribuição dos locais de atendimento de úlceras de perna em Juiz de Fora

A população apresentou uma média de idade de 62,6 anos variando de 27 a 94 anos (**TABELA I**) . Quanto ao sexo 34,7% eram masculino e 65,3% feminino.

TABELA I: Distribuição de idade dos pacientes portadores de úlcera de perna em Juiz de Fora e região.

Faixa etária	Nº de pacientes	%
Abaixo de 40 anos	08	6,4
41 a 50 anos	14	11,3
51 a 60 anos	29	23,4
61 a 70 anos	37	29,8
71 a 80 anos	25	20,2
Acima de 81 anos	11	8,9
Total	124	100,0

MÉTODOS

Após conhecimento e assinatura do termo de consentimento, os pacientes foram submetidos ao exame clínico-dermatológico, onde foi preenchido um protocolo de atendimento constando de: unidade regional de saúde, dados pessoais (idade, sexo, cor), composição e renda da família, doenças associadas, uso de medicamentos, pressão arterial sistêmica, exame da úlcera de perna (tipo, localização, área, sinais e sintomas associados, tempo de existência e história de recidivas).

Os dados foram avaliados pela frequência estatística dentro da amostra.

RESULTADOS

Foram avaliados 124 pacientes porém, nem todos itens dos protocolos foram respondidos de forma uniforme, o que é esperado em estudos deste tipo. Assim, estatisticamente, a amostra variou de acordo com o número de protocolos preenchidos para cada questão, especificamente. Do total de 124 protocolos preenchidos apenas 114 informaram a renda familiar como descritos na **TABELA II**.

TABELA II: Renda familiar dos pacientes portadores de úlceras de perna de Juiz de Fora e região

Renda familiar	Valor médio R\$	Nº pacientes	Porcentagem
Até 1 SM	180	31	27,2
1SM a 3 SM	360	68	59,7
> 3 SM	540	15	13,1
Total		114	100,00

A composição familiar média foi de 3,7 indivíduos por família (n=114). Dividindo o valor médio da renda familiar pelo correspondente número de componentes da família do mesmo paciente, obteve-se a renda por pessoa. Assim, dividindo o somatório desses valores médios de renda por pessoa pelo total de indivíduos da amostra, foi encontrada a renda média de R\$ 95 reais, desvio padrão de R\$ 55 reais e mediana de R\$ 84 reais por pessoa ($X=95,00 \pm 55,00$)

Em relação à história clínica do paciente foram investigadas as doenças frequentemente associadas à úlcera de perna como insuficiência venosa,

hipertensão arterial sistêmica, obesidade, diabetes e outras, conforme

TABELA III.

TABELA III: Relação de doenças associadas entre os pacientes portadores de úlceras de perna em Juiz de Fora e região.

Doença associada	Nº de pacientes	Porcentagem
Insuficiência Venosa	92	74,2
Hipertensão Arterial Sistêmica	64	51,6
Diabetes melitus	25	20,2
Obesidade	20	16,1
Outras	13	10,5

É importante relatar que a associação da insuficiência venosa e hipertensão arterial sistêmica ocorreu em 29 pacientes (23,4%).

Quanto ao uso de medicamentos em 94 pacientes foi evidenciado que 56,6% faziam uso de anti-hipertensivos, 20,4% de antidiabéticos orais e 34,04% não faziam uso de medicamentos. Isto significa que 77% da amostra fazia uso de alguma droga para controle de doença crônica além do tratamento da úlcera de perna.

A pressão arterial foi avaliada em 88 pacientes aleatórios onde a média ficou em torno de 151,14mmHg para a sistólica e 89,38mmHg para a diastólica.

A classificação das úlceras se baseou pelos critérios clínicos evidentes ao exame clínico cujas frequências estão descritas na **TABELA IV.**

TABELA IV: Tipos de úlceras de perna nos pacientes portadores de úlceras de perna em Juiz de Fora e região.

Tipo	Nº de pacientes	Percentual
Venosa	84	67,8
Hipertensiva	25	20,1
Mista	11	8,9
Outras	4	3,2
Total	124	100,0

O trabalho avaliou os sinais e sintomas locais associados a úlcera de perna onde foram preenchidos 93 protocolos e os resultados estão elucidados na **TABELA V**.

TABELA V: Frequência de sinais e sintomas locais associados às úlceras de perna dos pacientes de Juiz de Fora e região (n=93)

Sinal /Sintoma	Nº de pacientes	%
Hipercromia	86	92,50
Lipodermatoesclerose	64	68,82
Varicosidade	63	67,74
Edema	56	60,28
Prurido	52	55,91
Eczema	40	43,01

A maioria dos pacientes apresentou lesão em apenas um dos membros inferiores (107/124) correspondendo a 86% dos casos. E ainda, em 65% dos pacientes foi observada úlcera única (81/124), enquanto que em 33% dos doentes havia 02 úlceras (42/124) e 03 lesões em apenas 2 pacientes (aproximadamente 2%). Se for considerada a multiplicidade de lesões foram avaliadas 169 úlceras.

Quanto à localização, o membro inferior foi dividido em Zona 1 (área correspondente ao pé), Zona 2 (área compreendida pela metade distal da perna e tornozelo) e Zona 3 (metade proximal da perna) conforme Esquema I. Foram considerados os dimídios medial e lateral para as zonas 2 e 3 e para zona 1 consideraram-se as regiões dorsal e plantar. O trabalho avaliou um total de 169 úlceras discriminadas na Tabela VI.

ESQUEMA I: Localização das úlceras de perna

Baker SR et al. (1991)

TABELA VI: Localização das úlceras perna dos pacientes de J. de Fora e região.

Zona	Número de Úlceras	%
1	017	10,0
2	123	72,8
2 + 3 (úlceras constíguas)	004	2,4
1+2 (úlceras constíguas)	025	14,8
Total	169	100,0

Quanto à face do membro acometida pelas úlceras foi constatado que das 169 lesões avaliadas, 152 acometiam as pernas sendo 85 na face lateral e 67 na face medial. Todas as úlceras que acometiam o pé localizavam-se na região dorsal do mesmo.

A avaliação do tamanho das úlceras foi baseada pelas medidas dos maiores eixos da ferida, vertical e horizontal, devido a irregularidade de superfície tornando-se difícil os cálculos de área e volume. Foram analisadas 90 úlceras onde foram consideradas apenas as lesões principais, ou seja, a maior dos casos com mais de uma úlcera. Assim, as úlceras foram agrupadas em categorias (pequena, média e grande) de acordo com as medidas de seus maiores eixos como elucidado na **TABELA VII**.

Em relação ao tempo de existência da úlcera de perna, 34 pacientes não souberam responder e dos 90 protocolos respondidos a média de tempo foi de 94,2 meses com desvio padrão excessivamente grande de 127 meses e a mediana de 36 meses.

TABELA VII: Frequência das úlceras de perna dos pacientes de Juiz de Fora e região quanto às medidas dos diâmetros vertical e horizontal.

Categoria	Medidas	Vertical		Horizontal	
		N.º úlceras	%	N.º úlceras	%
Pequena	< 2cm	19	21,1	22	24,4
Média	2 – 5cm	34	37,8	36	40,0
Grande	> 5cm	37	41,1	32	35,6
Total		90	100,0	90	100,0

Devido a variedade do tempo de duração das úlceras optou-se por apresentar as informações em períodos como mostra a **TABELA VIII**.

TABELA VIII: Intervalos de tempo de existência das úlceras de perna nos pacientes de Juiz de Fora e região

Intervalo de tempo (anos)	Nº de pacientes	%
Abaixo de 1 ano	24	26,7
1 a 5 anos	25	27,8
5 a 10 anos	13	14,4
Acima de 10 anos	28	31,1
Total	90	100,0

Dentre estes pacientes observou-se que 45 (50%) tratava-se de recidiva da úlcera de perna enquanto a outra metade convivia com a doença ininterruptamente.

DISCUSSÃO

O Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Juiz de Fora uma instituição de referência da Zona da Mata mineira atendendo uma média de 102.615 pacientes por ano sendo o atendimento da Dermatologia responsável por uma média de 7.906 pacientes por ano, dados referentes ao biênio 1999/2000.⁶ Dos 124 pacientes avaliados, 86 (69,4%) foram provenientes do HU e 31 (25%) do PAM (Pronto Atendimento Médico da Prefeitura Municipal de Juiz de Fora) onde fica evidente a importância dos serviços especializados em tratamento de úlceras de perna na região.

A população estudada apresentou uma média de idade de 62,6 anos com predomínio da população maior de 60 anos (59%). Estes resultados encontram-se abaixo da média encontrada por Nelzen et al⁸ (Suíça) onde 85% da amostra tinha mais de 64 anos com uma média de idade de 76 anos para mulheres e 78 para os homens. No entanto, foram semelhantes aos resultados de Scott et al⁹. Estas diferenças se justificam nas diferentes características de cada amostra.

Aproximadamente 1% da população do Reino Unido está sujeita à ulceração com aumento da prevalência entre a população idosa.¹⁰ Com as mudanças demográficas que vêm ocorrendo na população do mundo desenvolvido atual e também brasileira, doenças geriátricas vão se tornar mais constantes na rotina médica, dentre elas, as úlceras de perna.

A proporção entre homens e mulheres foi de 1:1,9 estando acima do trabalho de Scott et al⁹ que encontraram valores de 1,4:1, provavelmente, associada à população mais jovem, pois já foi relatado que abaixo dos 60 anos

a incidência de úlceras de perna é maior nos homens (1,4:1) e acima desta idade é de 1:1,2.9.

Observou-se também, que a maioria dos doentes tem baixa renda mensal (R\$84,00), em famílias constituídas de 3,7 pessoas em média, sendo que 87% deles recebem baixos salários mensais (menor que 3 salários mínimos). Achado freqüente foi a associação entre insuficiência venosa e hipertensão arterial sistêmica (52%), sugerindo ser estes fatores importantes como predisponentes às úlceras de perna. Dados que ressaltam a importância do controle e ou tratamento da insuficiência venosa crônica, hipertensão arterial além da diabetes e obesidade. Os benefícios deste controle são facilmente detectados pelos doentes, pois foi observado que 66% da população hipertensivos e ou hipoglicemiantes, significando mais um ônus ao orçamento além dos curativos diários.

Todos os pacientes avaliados faziam curativos comunitários (em casa ou nos centros de atendimento à saúde) sendo curativos demorados e dispendiosos. O custo operacional do National Health Service (Reino Unido) para cada úlcera aberta por ano varia de 1000 a 5200 libras, sendo a maior parte do custo devido ao serviço especializado da enfermagem (47 a 71%).^{10,11} A enfermagem gasta de 10 a 50% do seu tempo de trabalho com o tratamento de úlceras de perna conforme publicado por Bonaquet 1992¹¹. Somando os custos com materiais utilizados para realização de curativos diários de uma úlcera média de aproximadamente 6 cm² a base de pomada com colagenase e fibrinolizina foram estimados gastos de R\$ 4,90 por dia o

que gera um gasto mensal de R\$147,00, não considerando mão de obra especializada.

Segundo a apresentação clínica as úlceras foram divididas em: venosas (68%); edema, dermatite ocre, lipodermatoesclerose, varizes, eczema e prurido; hipertensivas (20%); superficiais, dolorosas, necróticas, pele eritematosa na periferia da úlcera e ausência de pêlos; mistas (9%); quando se associavam ou somava-se à diabetes e outras (3%); neoplásicas ou hanseníase. Nenhum caso de úlcera neuropática por diabetes isoladamente foi encontrado.

Tais resultados estão abaixo dos publicados por Nelzén e cols (1991)¹² Philips e col (1991)², Callam et al (1985)¹³, Douglas et al (1995)¹⁵, Nelzen et al (1991)¹⁴, Trott A (1992)¹⁶ e Benchikhi et al (1998)¹⁷ onde as úlceras de perna tem etiologia venosa em 75 a 90% dos casos.^{2,13-17} Tendo em vista que os autores citados não levaram em consideração a classificação mista para as úlceras de perna deve-se considerar que há concordância entre os dados obtidos e a literatura se forem agrupadas as úlceras venosas e mistas (76%).

As diferenças encontradas se justificam pela classificação ser essencialmente clínica não utilizando exames mais aprimorados como fotopletismografia, dúplex-scan e a flebografia que melhoraram a avaliação do território vascular dos membros o que poderia influenciar significativamente nas freqüências das úlceras venosas e arteriais. É importante relatar que os dados são concordantes na baixa freqüência de úlceras neuropáticas por diabetes e de outras causas.

Os sinais e sintomas encontrados em associação com as úlceras confirmam a classificação encontrada pois tiveram uma frequência superior a 60% na amostra a hipercromia, lipodermaotesclose, varicosidade e edema além do prurido e eczema, todos relacionados à síndrome da insuficiência venosa crônica como proposto por Burton (1993)¹⁸.

Em relação à localização das úlceras optou-se por adotar o esquema de zonas proposto por Baker et al (1991)¹⁹. A maioria das úlceras (72,8%) acometia, isoladamente, a zona 2; menor que o encontrado pelo autor (84%). No entanto, se somarmos o número de úlceras que acometem a zona 2 isoladamente e associadas às outras zonas, a frequência de acometimento da zona 2 alcança 89,9% enquanto por Baker, alcança 90,1%. O número de pacientes com úlceras que acometiam zonas 1 e 2 contiguamente foi de 14,8%, maior que o visto por Baker que foi 3%. É importante lembrar que em seu estudo, Baker avaliou apenas úlceras venosas crônicas.

Muitos autores relatam que as úlceras venosas localizam-se preferencialmente na face medial da perna e tornozelo, seguindo o trajeto da veia safena magna. No presente estudo, apesar da maioria das úlceras serem classificadas como venosas, a localização preferencial das mesmas foi a face lateral do membro.

Avaliando as medidas das úlceras, foi observado que aproximadamente 80% das mesmas se enquadravam nas categorias média e grande o que representa maiores transtornos físicos, econômicos e estéticos para o paciente.

Quanto a cronicidade das úlceras, o tempo médio de existência foi de 94 meses (n=90) onde 73% da amostra apresentavam úlceras abertas há mais de um ano, em 50% tratava-se do primeiro episódio da ulceração e a outra metade tratava-se de recidiva. Tais resultados mostram-se bem superiores ao tempo médio encontrado por Baker¹⁹, num estudo epidemiológico sobre úlceras venosas, que foi de 26 semanas (6,5 meses) levando-se em conta o tempo de úlceras abertas. No mesmo trabalho, o autor relata que 24,44% de sua amostra tratava-se do primeiro episódio de ulceração enquanto Callam et al (1985)²⁰, relata 33%^{20,21} estando abaixo do presente estudo onde tal fato ocorrera em 50% da amostra, apesar de um tempo médio de duração muito maior.

CONCLUSÃO

As úlceras de perna constituem uma patologia importante na população de Juiz de Fora e região principalmente as do tipo venosas. Trata-se de uma enfermidade de evolução longa e recidivante que acomete essencialmente idosos de baixa renda orçamentária e portadores de outra enfermidade crônica. Seu tratamento requer curativos diários proporcionando transtornos clinico-funcionais e estéticos na qualidade de vida destes pacientes além de representar um custo operacional alto tanto individual quanto em saúde pública.

BIBLIOGRAFIA

1. Gamonal, AC. Úlceras de perna -Dermatologia Elementar . 1ª Ed., Juiz de Fora: Editado pelo autor, 2000; Cap 15:115-17
2. Phillips TJ, Dover JS. Leg Ulcers . J Am Acad Dermatol 1991; 25:965-987.
3. Sampaio SAP & Rivitti EA. Dermatologia 1ª. Ed. São Paulo:Guanabara-Koogan, 1998:261-5
4. Arnold, F; West, D. Angiogenesis in wound healing. Pharmac. Ther. 52: 407-422, 1991.
5. Home page do Ministério da Saúde – www.datasus.gov.br 2001.
6. HP do Hospital Universitário da UFJF – www.hu.ufjf.br/pagprin4.htm 2001
7. Frade, MAC; Valverde,RV; Violante, MR; Coutinho-Netto,j; Foss,NT. Chronic phlebopatic skin ulcer: a therapeutic proposal. Int J Dermatol 2001; 40(3):237-240.
8. Phillips TJ. Chronic Cutaneus Ulcers; Etiology and Epimiology. J Invest Dermatol 1994; 102 suplement:38-41s
9. Scott TE; LaMorte WW et al. Risk factors for chronic venous insufficiency: A dual case-control study. J Vasc Surg 1995; 22:622-8.
10. Skene AI, Smith JM et al. Venous leg ulcers: a prognostic index to predict time to healing. BMJ 1992; 305:1121-3.
11. Bonaquet N. Costs of venous ulcers: from maintenance therapy to investment programmes. Phlebology 1992;7(Suppl 1): 6-12.

12. Nelzén O, Bergvist D, Lindhagen A, HallBok T. Chronic leg ulcers etiology - a cross-sectional population study. *J Vasc Surg* 1991;14:557-64.
13. Callam MJ; Ruckley CV et al. Chronic ulceration of the leg: extend of the problem and provision of care. *Br Med J* 1985;290:1855-6.
14. Nelzen O; Bergsvist D et al. Chronic leg ulcers: a underestimated problem in primary health care among elderly patients. *J Epidemiol Community Health* 1991; 45:184-7.
15. Douglas WS, Simpson NB et al. Guidelines for the management of chronic venous leg ulceration. Report of multidisciplinary workshop. *Br J Dermatol* 1995; 132:445-52.
16. Trott A. Chronic skin ulcers. *Emerg Med Clin North Am* 1992, 10:823-45.
17. Benchikhi H, Chiheb S et al. Les ulcères de jambe prédominant chez l' homme au maroc. *Ann Dermatol Venereol* 1998; 125:339-40.
18. Burton CS. Manafement of chronic and problem lower extremity wounds. *Wound healing* 1993; 11(4): 767-73.
19. Baker SR, Stacey MC, Jopp-Mckay AG et al. Epidemiology of chronic venous ulcers. *Br J Surg* 1991; 78:864-67.
20. Peters J. A review of the factors indluencing nonrecurrence of venous leg ulcers. *J Clin Nursing* 1998; 7:3-9.
21. Callam MJ, Ruckey CV et al. Chronic ulceration of the leg: extend of the problem and provision of care. *Br Med J* 1985; 29:1855-56.

ANEXO II

238 Correspondence

children with straight hair. Secondly, hair oils are used to straighten curly hair and were used extensively by black children in some of the populations examined.⁷ It is likely that these products block head lice breathing holes and lead to suffocation. The regular act of combing to aid hair straightening will also remove lice. Our survey confirms that hair gel directly or indirectly leads to fewer head lice infestations.

It is important not to exclude black children when assessing and treating for head lice, even when the incidence in this group is lower. Extra time may be required to avoid missing infested cases.

Anthony M.R. Downs, MRCP

Jonathan Oxley, MBBS
Bristol, UK

References

- Slonka GF, McKinley TW, McCoran JE, et al. Epidemiology of head lice. *Am J Trop Med Hyg* 1976; 25: 739–743.
- Sokoloff F. Identification and management of pediculosis. *Nurse Pract* 1994; 19: 62–64.
- Ashcroft MT. Racial differences in *Pediculus capitis* infestation in Guyana. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1969; 63: 547.
- Hoffmann G. Epidemiology and control of pediculosis capitis infestation in the Federal Republic of Germany. *J Roy Soc Hlth* 1983; 3: 88–92.
- Juranek DD. Epidemiology of lice. *J Sch Hlth* 1977; 6: 552–555.
- Clare ER, Longyear LA. Comprehensive pediculosis screening programs for elementary schools. *J Sch Hlth* 1990; 60: 212–214.
- Green EM. Pediculosis in Boston's public schools. *Boston Med Surg J* 1898; 68: 70–71.
- de Madureira PR. Pediculosis and ethnic groups. *Int J Dermatol* 1991; 30: 524.
- Chunge RN. A study of head lice among primary schoolchildren in Kenya. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1986; 80: 42–46.
- Ebomoyi E. Pediculosis capitis among primary school children in urban and rural areas of Kwara state. *Nigeria J Sch Hlth* 1988; 58: 101–103.

Chronic phlebopathic cutaneous ulcer: a therapeutic proposal

Chronic phlebopathic cutaneous ulcers on the lower limbs are frequently observed at health services. Their treatment is always long and difficult due to therapeutic and etiologic diversity.^{1,2}

A new material based on natural latex from the rubber tree *Hevea brasiliensis*, treated with 0.1% polylysine, shown as an important inductor of wound healing of the esophageal wall of dogs through

mechanisms involving a marked increase in vascularization (neoangiogenesis), has been successfully researched by investigators from Faculty of Medicine of Ribeirão Preto-USP, Brazil, since 1994.^{3–7}

Considering the discomfort provoked by the chronic course of these lesions and their treatments, we present a proposal of effective, low-cost and biocompatible treatment using the natural latex biomembrane.

Case report

A 64-year-old Brazilian white man, had been presenting with painful ulcer-necrotic lesions on the right leg and foot for 1 year. These were associated with recurring venous ulcers that had been occurring for 25 years. He had hypertension controlled systemically.

Clinical-dermatologic examination revealed a wound with a necrotic bottom and upright borders (2.0 × 1.0 × 0.3 cm) on the anterior and distal surface of the right leg, and a similar larger lesion (4.5 × 4.0 × 5.0 cm) on the dorsum of the right foot with tendon exposure (Fig. 1A). The surrounding skin was hyperchromic, and liposclerotic with varices. Laboratory evaluation was normal.

The wounds were cleaned with 0.9% physiological saline and daily dressings with a chloramphenicol fibrinolytic pomade were applied to the leg ulcer (control lesion). The foot lesion was similarly cleaned and biopsied for histopathological examination (Fig. 2A,B). The biomembrane (Fig. 1C) was applied as a dressing to the entire bottom surface of the foot ulcer on alternate days.

After the 15th day of treatment, clear signs of stimulation of granulation were clinically (Fig. 1B) and histopathologically (Fig. 2C,D) visible with the latex treatment, coupled with a reduction of pain.

The control lesion was unchanged on the 30th day (Fig. 1D), so the application of biomembrane was started.

The granulation tissue reached the epidermal level of the borders of the ulcers (Fig. 1E) occurred after approximately 2 months of treatment with latex; the use of the biomembrane was discontinued and the dressings consisted of the chloramphenicol pomade. After a 4-month follow-up, a clinical and histopathologic reduction of ulcers of the leg (1.5 × 0.55 cm) and foot (2.0 × 2.0 cm) was observed, as shown in Figs 1F and 2E,F.

Discussion

The treatment of phlebopathic ulcers has acquired relevant proportions with the increased life expectation for the population and the expense of long-term medical care.⁸

The case reported presented a severe ulcer which had been resistant to standard treatment for approximately one year, causing pain and limiting walking.

Figure 1 (A) Clinical picture of initial ulcers. (B) Clinical aspect of foot and leg ulcers after 15 days. (C) Biomembrane of latex 0.1%. (D) Clinical aspect of foot ulcer (granulated) and control ulcer (without granulation). (E) Clinical aspect of granulated ulcers after 2 months. (F) Clinical aspect of granulated ulcers after 4 months follow-up.

Figure 2 (A) Hematoxylin and eosin, initial histopathology (poor granulation). (B) GOMORY, initial histopathology (thick collagen of ulcer border). (C) Hematoxylin and eosin, histopathology after 15 days of treatment (evident granulation). (D) GOMORY, histopathology after 15 days of treatment (absence of collagen). (E) Hematoxylin and eosin, histopathology after 4-month follow-up (reepithelization and cicatricial fibrose). (F) GOMORY, proliferation of collagen after 4-month follow-up.

The latex biomembrane with 0.1% polylysine appears to be an alternative for wound healing. Preliminary studies have shown the presence of a possible vascular growth factor in the latex which acts on human tissues, permitting improved local vascularization through its capacity for angiogenic induction^{4,5,7} and consequently reepithelialization.

After 15 days, an efficient angiogenic response was observed (Fig. 1B,D) in contrast to the response of the control ulcer (Fig. 1D). This angiogenesis induced by the latex led the granulation tissues to reach the epithelial level of the margins of the ulcer over 2 months of treatment (Fig. 1E).

This dressing was easy to apply on alternate days, with good acceptance by the patient, and was removable without any pain. This biomembrane is not expensive and had no adverse effect.

In this case, the granulation and the cicatrization process induced by the biomembrane (Fig. 1F) led to newly formed collagen (Fig. 2E,F) in a short period of time, but reepithelialization was slower.

Marco Andrey Cipriani Frade, MD

Rodolfo Vieira Valverde, MD

Raimunda Violante Campos de Assis, MD, PhD

Joaquim Coutinho-Netto, MD, PhD

Norma T. Foss, MD, PhD

Juiz de Fora and Riberão Preto, Brazil

References

- 1 Phillips TJ. Chronic cutaneous ulcers: etiology and epidemiology. *J Invest Dermatol* 1994; 102 (Suppl.): 38S–41S.
- 2 Phillips TJ, Dover JS. Leg ulcers. *J Am Acad Dermatol* 1991; 25: 965–987.
- 3 Oliveira JAA, Hyppolito MA, Coutinho-Netto J. Anais do 34º Cong. Bras ORL, Porto Alegre, Brasil, 1998. Abstract book SL-O 001:72.
- 4 Oliveira JAA, Hyppolito MA, Coutinho-Netto J. La régénération du tympan avec l'utilisation de matériel biosynthétique nouveau. Anais du 106º Congress Française ORL, Paris, 1999. p. 273.
- 5 Mrué F. Substituição do esôfago cervical por prótese biossintética de látex – estudo experimental em cães. Master's Thesis. São Paulo, Brazil: Faculty of Medicine of Riberão Preto, USP, 1996.
- 6 Mrué F, Coutinho-Netto J, Ceneviva R, et al. Esophageal replacement by a new kind of esophageal prosthesis. XXX World Cong Int College Surgeons Kyoto, Japan, November 1996. Abstract book, 247–252.
- 7 Lachat JJ, Mrué F, Thomazini JA, et al. Morphological and biochemical studies of the biocompatibility of membrane manufactured from latex of *Hevea brasiliensis*. *Acta Microscopica* 1997; 6 (Suppl.): 758.
- 8 Leigh IM, Purkis PA, Navsaria HA, et al. Treatment of chronic venous ulcers with sheets of cultured allogenic keratinocytes. *Br J Dermatol* 1987; 117: 591–597.

FIGURA: INT J DERMATOL, V. 40, N3, 0.161-240 (Evolução clínica e histopatológica)

ANEXO III

Title: Stimulation of diabetic wound healing by natural latex biomembrane (NLB)

Marco Andrey Cipriani Frade, MD*

Igor Brum Cursi*

Felipe Fortes Andrade*

Raimunda Violante Campos de Assis, MD, PhD*

Joaquim Coutinho Netto, MD, PhD♦

Norma Tiraboschi Foss, MD, PhD♦

* Leg Ulcer Outpatient Clinic of Medical School of the Federal University of Juiz de Fora

♦ Medical School of Ribeirão Preto – USP

Category: Correspondence

Figura: 1 (one)

Key words: diabetes *mellitus*, biomembrane, wound healing

Marco Andrey Cipriani Frade, MD

AV. Bandeirantes, nº 3900, Bairro Monte Alegre

Ribeirão Preto-São Paulo, Brazil – CEP 14049-900

Tel.: 55 16 602 2447 Fax: 55 16 633 0236

Email: uspmarcoandrey@hotmail.com

Stimulation of diabetic wound healing by natural latex biomembrane (NLB)

The natural latex biomembrane (NLB) consists of a polymer extracted from the natural latex of the rubber tree *Hevea brasiliensis* developed by the Department of Biochemistry, FMRP-USP.^{1,2} Several reports have been published on its applicability, especially for the treatment of leg ulcers due to its neoangiogenic and healing properties.^{3,4,5}

Diabetes mellitus is glucose metabolic disorder that may be determined by deficiency of the transporter hormone (insulin) in diabetes type I (IDDM) or by peripheral insulin resistance in tissues in diabetes type II (NIDDM). Both types of diabetes have a chronic course accompanied by degenerative disorders due to macro and microangiopathy cause of slow wound healing in these patients.⁶ We present the case of a female diabetic patient that benefited from the use of the biomembrane.

Case report

A 54-year-old Brazilian woman, with NIDDM and taking insulin for 10 years, with uncontrolled hypertension presenting with a painful ulcer on the left leg which had started 8 months before and a proximal left hallux stump no healed after surgery for amputation about 3 months before.

The patient showed arterial pressure of 180/105 mmHg, left popliteal (+++/4+) and left anterior tibial (++/4+) arterial pulses, difficult walking and dermatologically an ulcerated-necrotic lesion on the lateral surface of the left leg measuring 11x5cm (Fig.IA) and an crusty ulcer on the proximal stump at the level of the first left metatarsus (Fig.IF1).

Laboratorially fasting glycemia (195mg/dL), slight anemia (Hb:12 mg/dL) and normal leucogram.

The treatment consisted of wound washing with 0.9% physiological saline, drying, application of the NLB to the bottom of the ulcer and on the crust of the stump, and covering with gauze and crepe tape realized on alternate days at home.

The patient showed clear signs of granulation as early as during the first week, in addition to self-debridement of the necrotic margins. After 15 days of follow-up, an important improvement in the upper portion of the wound was observed (Fig.IB). The lower portion continued to have a necrotic area with peripheral erythema showing an increase in the ulcer distally (Fig.IC), reaching about 17x6cm after 2 months of follow-up (Fig.ID) occurred by the use of lidocaine gel applied to that site was forbidden. The ulcer healed completely during the fourth month of treatment (Fig.IE). About the stump, the crust fell completely during the first month of treatment, with full re-epithelialization occurred after two months follow up. (Fig.IF2).

Discussion

This ulcer had an arterial component and characterized by superficial occurrence, pain and localization associated with diabetic dermopathy.

Insulin deeply affects several cutaneous compartments and disturbs keratinocyte growth and differentiation “in vitro”. The healing of ulcers in diabetic animal models is delayed until insulin replacement treatment is provided.⁶ Exogenous growth factors such as fibroblast growth factor (FGF) and tumor growth factor beta (TGF beta) have been used for the treatment of ulcers in

diabetic animal models.^{7,8,9} In diabetic patients, the application of platelet-derived growth factor (PDGF) has been able to accelerate the process of wound granulation and re-epithelialization¹⁰ Thus, diabetic patients are believed to present reduction of important cytokines and growth factors that impairs normal granulation and healing.

NLB functioned as an important angiogenesis stimulating agent, significantly accelerating leg ulcer healing in the patient reported here and exerting a debriding activity that made the dressing less traumatic and painful and permitted it to be applied at the patient's home.

Although the real mechanism of action of NLB is still unknown, the case reported shows that the NLB from the rubber tree *Hevea brasiliensis* represents a new, economically viable and easy to handle tool for the treatment of leg ulcers, including those of difficult healing occurring in decompensated diabetic patients.

BIBLIOGRAPHY:

1. Mrué, F. Neoformação tecidual induzida por biomembrana de látex natural com polilisina. Doctor's Thesis. Ribeirão Preto, Brazil: Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, USP, 2000.
2. Mrué, F. Substituição do esôfago cervical por prótese biossintética de látex- estudo experimental em cães. Master's Thesis. Ribeirão Preto, Brazil: Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, USP, 1996.
3. Frade, MAC; Valverde, RV; Assis, RVC; Coutinho-Netto, J; Foss, NT. Chronic phlebopathic cutaneous ulcer: a therapeutic proposal. Int J Dermatol vol 40(3), 237-40, 2001.
4. Frade MAC, Cursi IB, Andrade FF, Coutinho-Netto J, Foss NT Induction of leg wound healing by natural latex biomembrane (NLB).

Annales de dermatology et de vénéréologie (20th World Congress of Dermatology), Paris, 2002 p. 1S823.

5. Frade MAC, Cursi IB, Andrade FF, Coutinho-Netto J, Foss NT. Stimulation of diabetic wound healing by natural látex biomenbrane dressing. Annales de dermatology et de vénéréologie (20th World Congress of Dermatology), Paris, 2002 p. 1S823.
6. Chang K, Uitto J, Rowold EA, Grant GA et al. Increased collagen cross-linkages in experimental diabetes: reversal by beta-aminopropionitrile and D-penicillamine. Diabetes. 1980 Oct;29(10):778-81.
7. Clark RAF. The molecular and Cellular biology of wound repair. Second edition 1996; Cap. 6:195-240 and Cap. 8:291-99.
8. Klingbeil CK, Cesar LB, Fiddes JC. Basic fibroblast growth factor accelerates tissue repair in models of impaired wound healing. Prog Clin Biol Res1991; 365:443-458.
9. Broadley KN, Aquino AM, Hicks B, Ditesheim JA et al. The diabetic rat as an impaired wound healing model: Stimulatory effects of TGFbeta and BFGF. Biotechnonol. Ther. 1989; 1:55-68. Loot MA, Kenter SB, Au FL, van Galen WJ at al. Fibroblasts derived from chronic diabetic ulcers differ in their response to stimulation with EGF, IGFI, bFGF and PDGF-AB compared to controls. Eur J Cell Biol 2002; 81(3):153—60.

- A – Aspecto clínico inicial da úlcera de perna
 B – Aspecto clínico após 20 dias de tratamento
 C – Aspecto clínico mostrando a reação a lidocaína
 D – Aspecto clínico da úlcera após 2º mês de biomembrana
 E – Aspecto clínico da úlcera de perna quase totalmente reepitelizada
 F – Aspecto clínico inicial do coto proximal do 1º metatarso (F1) e reepitelizaç
 meses de tratamento com a BML (F2).

ANEXO IV

Universidade Federal de Juiz de Fora - Hospital Universitário - Serviço de Dermatologia

CADASTRO DO PACIENTE PORTADOR DE FERIDAS EM TRATAMENTO COM LATEX 0.1%.**Identificação**

Nome: Registro: Sexo: Idade:
 Estado Civil: Residência: Naturalidade:
 Profissão: Local de trabalho: Composição familiar:
 Cor: Início do acompanhamento: Caso:

Perfil Sócio-cultural

Condições higiênicas: () Boas () Razoáveis Estado Nutricional:
 Nível cultural: Sono/Repouso: Etílico:
 Tabagismo: Alergias: Atividade física: () Sim () Não

Exame Geral:

Doença de Base: () Drepanocitose () Arteriosclerose () Insuf. Arterial () Insuf. Venosa
 () Diabetes tipo I () Diabetes tipo II () Doença Neurológica () HAS

Doença Associada:

Medicamentos em uso: () ATB () Hipoglicemiantes () Anti hipertensivo () Suplem. Vitamínica () Insulina
 () Anticoagulante () Quimioterápicos () Imunossupresor () Hemotransfusões
 () Outros:

Exames laboratoriais: Hemoglobinag% Glicemiag% Albumina.....g/dl

Exame físico: Pressão Arterial: do braço mm/hg do tornozelo mm/hg FFB:
 Hidratação da Pele: Outros dados:

Exame da Ferida:

Tipo de ferida: () Úlcera Arterial () Úlcera de Pressão () Úlcera Venosa () Úlcera Mista () Pé Diabético
 Localização: Principal: / Secundária:
 Comprometimento Tecidual: () Estágio I () Estágio II () Estágio III () Estágio IV
 Maior Extensão: Vertical cm Horizontal cm Profundidade cm
 Presença de tecido Necrótico: () Não () Sim% Exsudato: () Não () Sim
 Sinais de Infecção: () Não () Sim Quais:
 Odor: () Ausente () Sero Sanguinolenta () Discreto () Acentuado
 Característica: () Serosa () Sero Sanguinolenta () Sanguinolenta () Purulento
 Volume: () Ausente () Pouco (1pct. gaze) () Moderado (3pct. gaze) () Acentuado (+3pct. gaze)
 Dor/Escore: () 0-ausente () 1- leve () 2- Moderada () 3- Intensa

Sinais e Sintomas Locais

Úlcera venosa Úlcera Arterial Pé Diabético
 () Hiperpigmentação () Claudicação () Androse
 () Lipodermatoesclerose () Ausência de Pêlos () Sensibilidade da Extremidade
 () Edema () Cianose () Fissuras.....
 () Varizes () Hipotermia () Rachaduras.....
 () Sinais de Eczema () Outros..... () Deformidades.....
 () Prurido () Outros.....
 () Outros.....

Tempo de Existência: Já cicatrizou anteriormente? () Sim () Não

Exame histopatológico

Data	N.º curativo	Ferida principal	Ferida secundária
Inicial			
Controle			

Avaliação terapêutica

Resposta ao tto:	Ferida Principal				Ferida secundária			
Aspecto clínico observado	Sim	Não	n.º curativo	Data	Sim	Não	n.º curativo	Data
Evidência de granulação								
Evidência de reepitelização								
Reepitelização total								
Aumento da úlcera								
Controle da dor								
Abandono do tto*								
Suspensão do Latex 0.1%**								

Causas do abandono: Causas da suspensão:

ANEXO V

Termo de Consentimento

Resumo simplificado do Trabalho “Avaliação do Tratamento de úlcera de perna com a utilização da biomembrana de Látex natural extraído da seringueira *Hevea brasiliensis*”.

Introdução: A úlcera de perna é uma doença que se caracteriza pela formação de feridas no terço inferior dos membros inferiores com dificuldade de cicatrização. Um novo material, a base de látex natural extraído da seringueira *Hevea brasiliensis* e tratado com polilisina a 0,1% tem sido usado para aumentar a velocidade de cicatrização.

Objetivo: Analisar a eficácia e segurança do tratamento das úlceras de perna com a utilização da biomembrana de látex natural a 0,1%.

Justificativa: Busca-se um curativo eficaz, mais barato e de fácil realização, utilizando-se a biomembrana de látex natural obtido da seringueira *Hevea brasiliensis*. Este material já foi utilizado em pacientes, apresentando bons resultados, promovendo cicatrização rápida, e sem riscos de transmitir qualquer doença infecciosa.

Procedimentos: O paciente voluntário deverá ler e assinar o termo de consentimento abaixo, responder a um protocolo (em anexo), além de permitir um exame dermatológico geral. Deverá concordar com a realização das biópsias e dos curativos que deverão ser trocados às segundas, quartas e sextas feiras, com aplicação do látex 0,1% sobre todo o fundo da úlcera após lavagem da ferida com soro fisiológico e depois, coberta com gase e crepom.

Eu, _____ Data de nascimento ____/____/____
 Identidade ou Certidão de Nascimento nº _____ Sexo: () M () F
 Residente à _____ nº _____ Bairro _____
 Cidade: _____ Estado: _____ Tel _____.

- 1- Declaro que recebi por escrito, li e compreendi o resumo do Trabalho de Pesquisa “Avaliação do tratamento de úlcera de perna com a utilização da biomembrana de Látex Natural extraído da seringueira *Hevea brasiliensis*” no Serviço de Dermatologia do HU-UFJF e estou disposto a participar voluntariamente neste trabalho como paciente com úlcera de perna, por saber que não me causará nenhum mal ou risco.
- 2- Terei a liberdade de a qualquer momento discordar, não colaborar ou desistir de participar desta pesquisa. Apenas ofereço-me para os seguintes estudos:
 - Preencher uma ficha que me identifica e permitir que me examinem a pele em busca de lesões cutâneas. Isto será feito sob orientação de um dos médicos dermatologistas orientadores, sem riscos para minha pele ou qualquer parte do meu corpo;
 - Aceitarei que os pesquisadores realizem biópsias em minha pele;
 - Aceitarei que os pesquisadores saibam o resultado do exame histopatológico;
 - Estas informações que darei serão sigilosas (guardadas em segredo), sendo que não terei meu nome citado em momento algum, tendo minha imagem protegida sempre;
 - Não permitirei nenhum tipo de atitude que não queira, os exames serão feitos da forma que eu concordar, respeitando-me inteiramente;
 - Serão respeitados quaisquer vontades minhas como religião, culturas e valores pessoais que não me façam aceitar quaisquer um desses exames ou questionário;
 - Sei também que desta forma ajudarei no estudo científico do tratamento das úlceras de perna.
- 3- Para qualquer esclarecimento, acompanhamento ou tratamento dermatológico, terei acesso aos serviços dos médicos desta pesquisa, que me forneceram seu endereço e contatos caso eu queira.

Juiz de Fora, _____ de _____ de _____.
 Assinatura do Paciente _____ Examinador: _____

Prof. Paulo A. Ribeiro Neto
 Vice-Presidente – CEP/HU

ANEXO VI

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
RUA CATULO BREVIGLIERE, S/Nº
36036-110 - JUIZ DE FORA - MG - BRASIL

Outros centros, no caso de estudos multicêntricos:
Não há referências

V – PARECER do CEP:

O presente projeto de pesquisa intitulado: "Avaliação do tratamento de úlceras de perna com a utilização da biomembrana de látex natural extraído da seringueira 'Hevea Braziliensis' está consoante as normas das Resoluções 196/96-CNS e suas complementares, estando a merecer a aprovação por este Comitê de Ética em Pesquisa. Em se tratando de projeto de nova terapêutica, enquadrado no Grupo II, será encaminhado por este Comitê à CONEP-CNS/MS, para acompanhamento.

VI – Data da aprovação: reunião de 20 de setembro de 2000

VII - Assinatura do coordenador:
Prof. Paulo A. Ribeiro Neto
Vice Presidente – CEP/HU

ANEXO VII

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAMPUS UNIVERSITÁRIO - MONTE ALEGRE
FONE: 602-1000 - FAX (016) 633-1144

Ribeirão Preto, 22 de outubro de 2001

Ofício nº 3075/2001
CEP/SPC

Processo HCRP nº 4875/2001

Prezado Senhor:

O CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) do HCFMRP-USP recebeu da CONEP carta nº 605 datada de 09/10/01, informando que o projeto de pesquisa intitulado: **"AVALIAÇÃO CLÍNICA, HISTOPATOLÓGICA E IMUNOHISTOQUÍMICA DA AÇÃO DA BIOMEMBRANA DE LÁTEX NATURAL EXTRAÍDO DA SERINGUEIRA HEVEA BRASILIENSIS SOBRE ÚLCERAS DE PERNA"**, enquadra-se na área temática especial 3 (grupo II.3) e não há participação estrangeira. Portanto, não necessita da aprovação da CONEP.

De acordo com o exposto e o projeto acima mencionado tendo sido analisado pelo CEP na 112ª Reunião Ordinária de 23/07/2001, o mesmo encontra-se **APROVADO**.

PROF.DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa do HCFMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
MARCO ANDREY CIPRIANI FRADE
Depto. de Clínica Médica
Em mãos

ANEXO VIII

GRUPO CONTROLE

PACIENTE 1

Identificação: LS, 33 anos, feminino, branca, solteira, natural de Ribeirão Preto-SP, balconista.

HDA: Paciente há 2 anos, apresentando lesão ulcerada em perna esquerda que surgiu após traumatismo. Queixa de dor leve, relatando uso de neomicina tópica sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica em uso de venotônicos e benzil penicilina profilática.

Exame dermatológico: úlceras localizadas em terço distal de perna esquerda medindo 2,0X2,5cm, face anterior, fundo granuloso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose leve, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com Fibrase® tópica. No primeiro mês de tratamento apresentou diminuição da fibrina e redução significativa da úlcera.

Tempo de seguimento: 30 dias

PACIENTE 2

Identificação: MAE, 40 anos, feminino, branca, solteira, natural de Ribeirão Preto-SP, do lar.

HDA: Paciente há 9 anos apresentando lesão ulcerada em perna esquerda. Queixa de dor moderada relatando uso de neomicina mais bacitracina tópicas sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica, retardo mental em uso de Tegretol.

Exame dermatológico: úlcera localizada em região antero-medial de perna esquerda medindo 8,0X4, fundo granulo-fibrinoso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com Fibrase® tópica. No primeiro mês de tratamento, a úlcera manteve-se estável diminuindo apenas o percentual de tecido fibrinoso.

Tempo de seguimento: 30 dias

PACIENTE 3

Identificação:TDP, 82 anos, feminino, branca, solteira, natural de Ribeirão Preto-SP, aposentada.

HDA: Paciente há 20, anos apresentando lesão ulcerada em perna direita. Queixa de dor leve, relatando uso de neomicina tópica sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica,

Exame dermatológico: úlcera localizada em região de terço inferior de perna direita medindo 9,0X5cm , fundo fibrinoso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com Fibrase® tópica. No primeiro mês de tratamento, a úlcera apresentou diminuição do percentual de tecido fibrinoso e aumento da granulação.

Tempo de seguimento: 30 dias

PACIENTE 4

Identificação:MSP, 71 anos, feminino, parda, viúva, natural de Ribeirão Preto-SP, aposentada.

HDA: Paciente há 20 anos apresentando lesão ulcerada em perna direita. Queixa de dor leve relatando uso de neomicina tópica sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica, HAS em uso de nifedipina 40mg/dia e hidroclorotiazida 25mg/dia.

Exame dermatológico: úlcera localizada em região de terço inferior de perna esquerda medindo 4,7X3,6cm , fundo granuloso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com Fibrase® tópica. No primeiro mês de tratamento, a úlcera apresentou aumento da granulação.

Tempo de seguimento: 30 dias

PACIENTE 5

Identificação:MCB, 73 anos, feminino, parda, viúva, natural de Ribeirão Preto-SP, aposentada.

HDA: Paciente há 14 anos, apresentando lesão ulcerada em perna direita. Queixa de dor leve relatando uso de collagenase tópica sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica, HAS em uso de Captopril 50mg/dia, pentoxifilina 800mg/dia.

Exame dermatológico: úlcera localizada em região de terço inferior de perna direita medindo 5,0X8,0cm, face posterior (calcanear), fundo fibrinoso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com Fibrase® tópica. No primeiro mês de tratamento, a úlcera não apresentou sinais de evolução.

Tempo de seguimento: 30 dias

PACIENTE 6

Identificação: ABM, 63 anos, feminino, negra, casada, natural de Valentino Figueiredo-SP, aposentada.

HDA: Paciente há 8 meses apresentando lesão ulcerada em perna esquerda que surgiu após traumatismo. Queixa de dor leve relatando uso de neomicina tópica sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica,

Exame dermatológico: úlcera localizada em dorso de pé direito medindo 1,7X1,5cm, fundo granulo-fibrinoso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose leve no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com Fibrase® tópica. No primeiro mês de tratamento, a úlcera manteve-se estável.

Tempo de seguimento: 30 dias

PACIENTE 7

Identificação: MAJ, 70 anos, feminino, negra, solteira, natural de Ribeirão Preto-SP, aposentada.

HDA: Paciente há cerca de 2 anos apresentando lesão ulcerada em perna direita. Queixa de dor intensa relatando uso de pomadas tópicas (?) sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica, epilepsia em uso de tegretol®

Exame dermatológico: úlcera localizada em região de terço inferior de perna direita, região maleolar lateral, medindo 3,5X5,0cm, fundo fibrinoso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com Fibrase® tópica. No primeiro mês de tratamento, a úlcera apresentou manutenção do de tecido fibrinoso porém aumentou a reepitelização com diminuição da ferida.

Tempo de seguimento: 30 dias

GRUPO LÁTEX

PACIENTE 1

Identificação: ELC, 71 anos, feminino, branca, casada, natural de Brás Pires-MG, do lar.

HDA: Paciente com história de úlceras de perna recidivantes, apresentando há 6 meses apresenta lesões ulceradas em perna esquerda, com queixa de dor leve relatando uso de neomicina tópica sem melhora.

HPP: HAS em uso de Captopril 50mg/dia e amlodipina 5mg/dia e digoxina 25mg/dia. Obesidade.

Exame dermatológico: úlcera localizada em terço distal de perna esquerda, face medial medindo 13cmX12 cm , fundo limpo, avermelhado, além de outra úlcera de aspecto semelhante localizada em terço distal-lateral de perna esquerda de menor tamanho. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose e varizes em ambos os membros.

Conduta e evolução: Úlcera lateral foi tratada com BML, enquanto a medial foi tratada com ácido fusídico (Verutex®). No primeiro mês de tratamento, ambas apresentavam sinais importantes de granulação. No entanto, a úlcera lateral evidenciava redução do diâmetro com sinais de reepitelização em bordas e centro da úlcera.

Tempo de seguimento: 180 dias

Paciente 2

Identificação: FMR, 84 anos, feminino, branca, viúva, natural de Afonso Arinos-MG, do lar.

HDA: Paciente há 7 meses, apresentando lesão ulcerada em perna esquerda, com queixa de dor leve relatando uso de neomicina tópica sem melhora.

HPP: HAS em uso de Hidroclorotiazida 25mg/dia.

Exame dermatológico: úlcera localizada em terço distal de perna esquerda, face lateral medindo 2,2cmX1,7cm , fundo fibrinoso, Presença de dermatite ocre e varizes em ambos os membros.

Conduta e evolução: Úlcera lateral foi tratada com BML. No primeiro mês de tratamento, apresentou sinais importantes de granulação com sinais de reepitelização em bordas.

Tempo de seguimento: 60 dias

Paciente 3

Identificação: TCS, 85 anos, masculino, pardo, casado, natural de Ervália-MG, aposentado (ex-trabalhador de pedreira).

HDA: Paciente há 3 anos, apresentando lesão ulcerada em perna esquerda, com queixa de dor leve relatando uso de neomicina e bacitracina tópicas sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica

Exame dermatológico: úlcera localizada em terço distal de perna esquerda, face lateral medindo 9cmX4 cm , fundo fibrinoso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera láteral tratada com BML. No primeiro mês de tratamento, apresentou sinais importantes de granulação além de sinais de reepitelização em bordas.

Tempo de seguimento: 90 dias

Paciente 4

Identificação: JAR, 64 anos, masculino, negro, casado, natural de Juiz de Fora-MG, aposentado.

HDA: Paciente há 2 meses, apresentando lesão ulcerada em perna direita.

HPP: Insuficiência venosa crônica

Exame dermatológico: úlcera localizada em terço distal de perna direita, face lateral medindo 4cmX2 cm , fundo avermelhado com pequena área fibrinosa. Presença de dermatite ocre, e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com BML. No primeiro mês de tratamento, apresentou sinais de granulação evoluindo com uma hipergranulação ao final do segundo mês, ultrapassando os limites da pele sã, além de sinais de reepitelização das bordas.

Tempo de seguimento: 60 dias

Paciente 5

Identificação: MGGQ, 47 anos, feminino, negra, casada, natural de Silveira Carvalho-RJ, do lar.

HDA: Paciente há 8 anos, apresentando lesão ulcerada em perna esquerda, com queixa de dor leve, com dificuldades de tratamento com curativos locais comuns.

HPP: Insuficiência venosa crônica, HAS em uso de captopril 50mg/dia.

Exame dermatológico: úlcera localizada em terço distal de perna esquerda, face medial medindo 5cmX6cm , fundo avermelhado, granuloso e poucas áreas de fibrina. Presença de dermatite ocre e sinais de eczema no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com BML. Ao 15º dia de tratamento relatou melhora da dor e no 30º dia apresentou sinais de granulação além de sinais de reepitelização em bordas.

Tempo de seguimento: 90 dias

Paciente 6

Identificação: SVA, 67 anos, masculino, branco, casado, natural de Belmiro Braga-MG, aposentado.

HDA: Paciente há 40 anos apresentando lesão ulcerada em perna esquerda, com queixa de dor moderada relatando uso de neomicina tópica sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica, HAS em uso de propranolol 80mg/dia.

Exame dermatológico: úlcera localizada em terço distal de perna esquerda, face lateral medindo 6cmX7 cm , fundo granuloso com áreas de fibrina. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com BML. No primeiro mês de tratamento apresentou sinais importantes de granulação além de sinais de reepitelização em bordas e no centro da úlcera.

Tempo de seguimento: 60 dias

Paciente 7

Identificação: CMA, 34 anos, masculino, branco, casado, natural de Caparão-ES, desempregado.

HDA: Paciente há 2 anos, apresentando lesão ulcerada em perna esquerda, com queixa de dor leve, relatando uso de neomicina e bacitracina tópicas.

HPP: Insuficiência venosa crônica

Exame dermatológico: úlcera localizada em terço distal de perna esquerda, face medial medindo 3cmX2cm , fundo granuloso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera lateral tratada com BML. No primeiro mês de tratamento, apresentou sinais importantes de granulação. Reepitelização das bordas ao 2º mês de tratamento.

Tempo de seguimento: 90 dias

Paciente 8

Identificação: CCF, 52 anos, feminino, branca, casada, natural de Medina-MG, quitandeira.

HDA: Paciente há 7 anos, apresentando lesão ulcerada em perna direita, com queixa de dor intensa relatando uso de colagenase tópica sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica

Exame dermatológico: úlcera localizada em terço intermédio de perna esquerda, face lateral medindo 2cmX1cm , fundo granulo-fibrinoso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com BML. No primeiro mês de tratamento apresentou sinais de reepitelização das bordas com fechamento da úlcera com 60 dias.

Tempo de seguimento: 60 dias

Paciente 9

Identificação: MFS, 78 anos, feminino, branca, casada, natural de Juiz de Fora-MG, aposentada.

HDA: Paciente há 6 meses apresentando lesão ulcerada em pé esquerdo, sem queixa álgica relatando uso de neomicina tópica sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica, HAS em uso de nifedipina 40mg/dia além de sustrate® e ticlid®.

Exame dermatológico: úlcera localizada em região dorsal do pé esquerdo, medindo 5,5cmX4,5cm, fundo granulo-fibrinoso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera lateral tratada com BML. No primeiro mês de tratamento apresentou diminuição da fibrina, granulação do leito além de sinais de reepitelização na região central da ferida dividindo-a em duas partes.

Tempo de seguimento: 60 dias

Paciente 10

Identificação: AC, 64 anos, masculino, branco, casado, natural de Tocantins-MG, lavrador aposentado.

HDA: Paciente há 11 meses, apresentando lesões ulceradas em perna e pé direitos, com queixa de dor intensa relatando uso de neomicina tópica sem melhora. Restrição à deambulação.

HPP: Insuficiência venosa crônica, HAS em uso de captopril 50mg/dia.

Exame dermatológico: úlcera localizada em dorso de pé direito medindo 4,5cmX4,0cm e outra localizada em terço distal de perna esquerda, face anterior medindo 2,0X1,5cm, fundo fibrinoso com exposição de tendões extensores. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera do pé tratada com BML. No primeiro mês de tratamento apresentou sinais importantes de granulação atingindo o nível da pele normal, interrupção da dor, além de sinais de reepitelização em bordas. Aos 120 dias de tratamento apresenta redução significativa dos seus diâmetros. A úlcera da perna foi inicialmente tratada com Fibrase® que foi substituída por BML ao 20º dia devido aos efeitos benéficos da BML constatado na úlcera do pé.

Tempo de seguimento: 120 dias

Paciente 11

Identificação: SRC, 65 anos, feminino, branco, casada, natural de Viçosa-MG, do lar.

HDA: Paciente há 9 anos, apresentando lesão ulcerada em perna esquerda, com queixa de dor leve.

HPP: Insuficiência venosa crônica, HAS em uso de diltiazem e furosemida.

Exame dermatológico: úlcera localizada em terço distal de perna esquerda, face medial medindo 3,5cmX4,5cm, fundo granulo-fibrinoso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com BML. No primeiro mês de tratamento, apresentava ainda fundo fibrinoso sem sinais de granulação. Ao segundo mês apresentou sinais de granulação, porém apresentou aumento de sua superfície.

Tempo de seguimento: 120 dias

Paciente 12

Identificação: NSM, 64 anos, feminino, branca, viúva, natural de Juiz de Fora-MG, aposentada.

HDA: Paciente há 3 anos, apresentando lesão ulcerada em perna esquerda, com queixa de dor leve relatando uso de colagenase tópica sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica

Exame dermatológico: úlcera localizada em terço distal de perna esquerda, face medial medindo 9cmX5cm, fundo granuloso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera tratada com BML. No primeiro mês de tratamento, apresentou sinais importantes de granulação, além de sinais de reepitelização em bordas.

Tempo de seguimento: 30 dias

Paciente 13

Identificação: LCD, 70 anos, feminino, branca, divorciada, natural de Conceição Formoso-MG, doméstica aposentada.

HDA: Paciente há 15 anos apresentando lesão ulcerada em pé direito, nega dor, relatando uso de neomicina tópicas sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica e HAS em uso de hidroclorotiazida e AAS.

Exame dermatológico: úlcera localizada em dorso de pé direito medindo 3,5cmX1,0cm, fundo granulo-fibrinoso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlcera lateral tratada com BML. No primeiro mês de tratamento apresentou sinais importantes de reepitelização em bordas, diminuindo sua superfície. Após 60 dias de tratamento houve aumento da úlcera.

Tempo de seguimento: 60 dias

Paciente 14

Identificação: MLMC, 55 anos, feminino, branca, casada, natural de Muriaé-MG, do lar.

HDA: Paciente há 30 anos apresentando lesões ulceradas em perna esquerda que surgiram após flebite e safenectomia. Queixa de dor leve, relatando uso de neomicina tópica sem melhora.

HPP: Insuficiência venosa crônica

Exame dermatológico: úlceras localizadas em terço distal de perna esquerda, região maleolar medial, fundo granuloso. Presença de dermatite ocre, lipodermatoesclerose, sinais de eczema e varizes no membro acometido.

Conduta e evolução: Úlceras láteral tratada com BML. No primeiro mês de tratamento, apresentou sinais importantes de granulação promovendo aumento da superfície ulcerada.

Tempo de seguimento: 30 dias

ANEXO IX: Medidas das áreas de superfícies ulceradas das feridas dos pacientes do GRUPO CONTROLE

Foto-paciente	Área 1	Área 2	Área 3	Média Áreas	Red.Absoluta	Redução %
1C0	5,22	5,35	5,21	5,26		
1C30	1,2	1,26	1,23	1,23	4,03	76,62
2C0	20,34	20,99	20,26	20,53		
2C30	20,45	20,13	20,07	20,22	0,31	1,51
3C0	15,94	16,59	16,76	16,43		
3C30	17,28	16,39	16,5	16,72	-0,29	-1,77
4C0	7,66	7,92	7,74	7,77		
4C30	7,39	7,35	7,24	7,33	0,44	5,66
5C0	8,36	8,65	8,43	8,48		
5C30	7,9	6,6	5,97	6,82	1,66	19,57
6C0	1,81	1,65	1,7	1,72		
6C30	1,41	1,33	1,46	1,4	0,32	18,61
7C0	5,39	5,49	5,27	5,38		
7C30	3,1	3,06	3,06	3,07	2,31	42,94

C0 = fotografia do paciente controle pré-tratamento (inicial)

C30= fotografia do paciente controle com 30 dias de tratamento

ANEXO X: Medidas das áreas se superfície ulcerada da feridas dos pacientes do GRUPO LÁTEX

Foto-Paciente	Área 1	Área 2	Área 3	Médias Áreas	Red.Absoluta	Redução %
1Lx0	29,54	29,14	29,11	29,26		
1ILx30	22,22	21,84	21,62	21,89	7,37	25,19
1Lx60	17,84	18,5	17,46	17,93	11,33	38,72
1Lx180	0	0	0	0	29,26	100
2Lx0	2,39	2,28	2,19	2,29		
2Lx15	1,77	1,75	1,85	1,79	0,5	21,83
2Lx30	2,14	1,94	2,03	2,04	0,25	10,92
2Lx60	3,28	3,48	3,26	3,34	-1,05	-45,85
3Lx0	22,18	22,27	22,78	22,41		
3Lx15	23,28	22,73	23,03	23,01	-0,6	-2,68
3Lx45	21,56	21,41	21,79	21,59	0,82	3,66
3Lx75	22,28	22,07	21,81	22,05	0,36	1,61
3Lx90	23,06	23,21	23,04	23,10	-0,69	-3,08
3Lx120	27,24	26,6	26,85	26,90	-4,49	-20,04
4Lx0	5,73	5,66	5,68	5,69		
4Lx30	7,16	6,79	6,92	6,96	-1,27	-22,32
4Lx60	5,03	5,38	5,23	5,21	0,48	8,44
4Lx90	2,82	2,88	3	2,9	2,79	49,03
4Lx120	2,67	2,71	2,6	2,66	3,03	53,25
5Lx0	18,58	18,94	18,13	18,55		
5Lx15	18,61	18,47	18,59	18,56	-0,01	-0,05
5Lx30	18,38	18,56	18,39	18,44	0,11	0,59
5Lx45	18,55	18,41	18,57	18,51	0,04	0,22
5Lx75	17,98	17,65	17,47	17,7	0,85	4,58
5Lx90	12,32	13,23	12,63	12,73	5,82	31,38
6Lx0	27,63	27,12	26,92	27,22		
6Lx15	26,53	26,39	26,64	26,52	0,7	2,57
6Lx30	20,66	21,57	20,86	21,03	6,19	22,74
6Lx45	21,37	21,14	20,68	21,06	6,16	22,63
6Lx60	17,35	17,99	17,84	17,73	9,49	34,86
6Lx90	6,97	7,3	6,8	7,02	20,2	74,21
6Lx120	3,79	3,96	3,85	3,87	23,35	85,78

ANEXO X: Medidas das áreas se superfície ulcerada da feridas dos pacientes do GRUPO LÁTEX (CONTINUAÇÃO)

Foto-Paciente	Área 1	Área 2	Área 3	Médias Áreas	Redução Absoluta	Redução %
7Lx0	7,44	7,3	7,25	7,33		
7Lx15	4,29	4,19	4,21	4,23	3,1	42,29
7Lx30	3,44	3,27	3,36	3,36	3,97	54,16
7Lx60	3,41	3,3	3,31	3,34	3,99	54,43
7Lx90	2,72	2,63	2,74	2,70	4,63	63,17
8Lx0	1,48	1,38	1,43	1,43		
8Lx30	0,38	0,32	0,31	0,34	1,09	76,22
9Lx0	12,84	12,21	12,05	12,37		
9Lx30	14,84	14,08	13,82	14,25	-1,88	-15,2
9Lx60	14,68	15,02	14,79	14,83	-2,46	-19,89
10Lx0	13,67	13,62	13,77	13,69		
10Lx15	13,84	13,39	13,2	13,48	0,21	1,53
10Lx30	15,67	15,35	15,62	15,55	-1,86	-13,59
10Lx60	9,87	10,22	9,91	10,00	3,69	26,95
10Lx90	5,17	5,09	4,99	5,08	8,61	62,89
11Lx0	10,31	10,2	10,37	10,29		
11Lx30	11,25	10,79	11,22	11,09	-0,8	-7,77
11Lx60	15,52	14,29	14,83	14,88	-4,59	-44,61
11Lx120	16,14	15,81	15,65	15,87	-5,58	-54,23
12Lx0	25,87	24,67	24,99	25,18		
12Lx30	13,94	13,64	13,4	13,66	11,52	45,75
13Lx0	3,18	3,32	3,47	3,32		
13Lx15	2,45	2,45	2,48	2,46	0,86	25,9
13Lx30	2,75	2,88	2,74	2,79	0,53	15,96
13Lx60	4,11	4,06	4,07	4,08	-0,76	-22,89
14Lx0	5,64	5,58	5,57	5,60		
14Lx15	9,88	9,92	9,6	9,80	-4,2	-75
14Lx30	10,54	10,83	10,85	10,74	-5,14	-91,79

Lx0 = fotografia do paciente do grupo Latex pré-tratamento (inicial)

Lx15= fotografia do paciente do grupo Latex com 15 dias de tratamento

Lx30= fotografia do paciente do grupo Latex com 30 dias de tratamento

Lx60= fotografia do paciente do grupo Latex com 60 dias de tratamento

Lx90= fotografia do paciente do grupo Latex com 90 dias de tratamento

Lx120= fotografia do paciente do grupo Latex com 120 dias de tratamento

ANEXO XI: Análise de imagens por redes neurais artificiais (EESC-USP).

Observa-se nas fotos e gráfico acima que o programa considerou como fibrina o excesso de luminosidade da fotografia de 30 dias onde foi visível o aumento da granulação.

Outro exemplo que mostra a potencialidade de aplicação do programa no futuro é a representatividade dos resultados encontrados com o paciente 3 do grupo látex visualizados na figura e gráfico abaixo:

Em relação ao excesso de luminosidade vemos nos exemplos abaixo como o programa se apresenta equivocado, indicado pelas setas e contornos verdes na figura abaixo:

Parâmetros equivocados por luminosidade exagerada

```

Valores de (A) e (B) utilizados no teste
Freq ^ncia de (A) :      1
Freq ^ncia de (B) :      4
-----
Valores binomiais calculados:
-----
1      5
-----
Probabilidades de Ho para esses valores:
-----
a) em testes monocaudais:  18.7500 %
b) em testes bicaudais   :  37.5000 %
-----
N„o-significante  (alfa > 0.05)
      (para o teste bicaudal)

```


[illegible]

[illegible]

```

Valores de (A) e (B) utilizados no teste
|-----|
Freq ^ncia de (A) :      2
Freq ^ncia de (B) :      5
-----
Valores binomiais calculados:
-----
          1           7           21
-----
Probabilidades de Ho para esses valores:
-----
a) em testes monocaudais:   22.6600 %
b) em testes bicaudais    :   45.3200 %
-----
N„o-significante (alfa > 0.05)
(para o teste bicaudal)
|-----|

```


XII.6 PARÂMETRO PROLIFERAÇÃO FIBROBLÁSTICA

GRUPO CONTROLE

```

°      Valores de (A) e (B) utilizados no teste      °
°      ffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffff °
°      Freq ^ncia de (A) :      0                      °
°      Freq ^ncia de (B) :      4                      °
°-----°
°      Valores binomiais calculados:                  °
°-----°
°      1                                                °
°-----°
°      Probabilidades de Ho para esses valores:        °
°-----°
°      a) em testes monocaudais:    6.2500 %           °
°      b) em testes bicaudais :    12.5000 %           °
°-----°
°      N„o-significante (alfa > 0.05)                 °
°      (para o teste bicaudal)                        °
°      Efffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffff¼

```

GRUPO LÁTEX

```

°      Valores de (A) e (B) utilizados no teste      °
°      ffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffff¹
°      Freq ^ncia de (A) :      3                      °
°                                                    °
°      Freq ^ncia de (B) :      4                      °
°      ffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffff¹
°-----°
°      Valores binomiais calculados:                  °
°-----°
°      1      7      21      35                        °
°-----°
°      Probabilidades de Ho para esses valores:        °
°-----°
°      a) em testes monocaudais:    50.0000 %           °
°      b) em testes bicaudais :    100.0000 %           °
°-----°
°      N„o-significante (alfa > 0.05)                 °
°      (para o teste bicaudal)                        °
°      Efffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffffff¼

```