

Recebido em: 20/11/2008

Revisado em: 18/12/2009

Aceito em: 20/02/2009

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA AUTO-HEMOTERAPIA SOBRE A
CICATRIZAÇÃO E PRESENÇA DE LEUCÓCITOS SÉRICOS EM RATOS WISTAR.**

**EVALUATION OF THE EFFECTS OF AUTO-HEMOTERAPIA ABOUT THE
HEALING AND THE PRESENCE OF WHITE BLOOD CELL IN RATS WISTAR.**

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA AUTO-HEMOTERAPIA SOBRE LA
CICATRIZACIÓN Y PRESENZA DE LEUCÓCITOS SÉRICOS EN RATONES
WISTAR.**

SILVA, Célio Henrique¹
SOUZA, Leandro de Jesus¹
PAPA-MARTINS, Marianna²

Resumo - A auto-hemoterapia é um procedimento antigo que se baseia no empirismo. O tratamento consiste em aplicações do sangue autólogo, sangue do próprio cliente, por via intramuscular, objetivando estimular o sistema imunológico através da ativação do Sistema Mononuclear Fagocitário. Este trabalho teve por objetivo avaliar e observar os efeitos de aplicações de auto-hemoterapia no organismo de ratos. Formou-se dois grupos compostos por ratos Wistar albinos, machos, onde todos sofreram uma incisão dorsal de aproximadamente 1cm², para avaliação cicatricial, e o Grupo Desafiado recebeu aplicações de auto-hemoterapia de sete em sete dias. A avaliação dos resultados ocorreu através de observação, registros fotográficos e leucometria global e específica. Os exames de leucometria foram realizados nos dias de aplicação de auto-hemoterapia, sempre antes do procedimento e repetidos dois dias após, para verificação das mudanças no sistema imunológico. Os resultados laboratoriais foram analisados pela média do Grupo controle e do Grupo Desafiado, logo após, comparação de resultados sendo as diferenças observacionais comparadas e registradas. Encontrou-se diferenças significativas nos resultados de leucometria global do Grupo Desafiado, que foram realizadas dois dias depois das aplicações de auto-hemoterapia, cujos resultados se mostraram aumentados em quase duas vezes em relação ao Grupo Controle. Na observação cicatricial notou-se que o tempo de cicatrização para os dois grupos foi relativamente igual (aproximadamente 20 dias), porém a cicatrização apresentada pelo Grupo Desafiado foi notoriamente mais plana, de bordas regulares e uma

¹ Bacharéis em Enfermagem pelo Centro Universitário UNIEURO, Brasília – DF. E-mail: henrique_celio@yahoo.com.br e leandrosouzabsb@gmail.com

² Mestre em Patologia Molecular pela Universidade de Brasília e Docente do Centro Universitário UNIEURO. E-mail: marianna@unieuro.edu.br

cicatriz final quase imperceptível. Com essa pesquisa observou-se uma notória diferença no organismo dos ratos do Grupo Desafiado proveniente das aplicações de auto-hemoterapia, constatando dessa forma, a ativação do sistema imune através da aplicação de sangue autólogo intramuscular, que é o efeito proposto dessa técnica.

Palavras-chave: auto-hemoterapia, cicatrização, leucócitos, sistema imune, rato.

Abstract - The self-hemotherapy is a very old procedure based on empiricism. The treatment consists in applications of autologous blood, blood from the client, by intramuscular, to stimulate the immune system, powering its action through the activation of the Mononuclear Phagocyte System. This study had the objective evaluate and observe the effects of applications of self-hemotherapy in the organism of rats. The two groups were formed by albino rats Wistar, male, which all have a dorsal incision of about 1cm square, to evaluate healing, and the Challenged Group received applications of self-hemotherapy of seven in seven days. The evaluation of the results occurred by observation, photographic records and specific and overall leucometria. The examinations of leucometria had realizes in the days of applications de self-hemotherapy, always before this procedure, and repeated two days, after for verification of changes in the immune system. The laboratory results were analyzed by the average of the Control Group and the Challenged Group soon after, comparison of results and the differences compared observational and registries. Fended differences and results of overall leucometria of Challenged Group, that had realized two days after of applications of self-hemotherapy, whose results demonstrade were increased in almost two times in relation to the Control Group. In observation scarring noted that the time for healing for the two groups was relatively equal (approximately 20 days), but the healing tabled by the Challenged Group was most notoriously flat, and regular edges of a end scar almost imperceptible. With thise research look a big diference in organism of rats of Challenged Group from the applications of self-hemotherapy, noting that way, the activation of the immune system through the application of autologous blood intramuscular, that is the effect proposed of this technique.

Key-words: self-hemotherapy, healing, white blood cell, immune system, rats.

Resumen - La auto-hemoterapia es un procedimiento antiguo y fundamentase en el empirismo. El tratamiento consiste en administraciones de la sangre autologo, sangre del propio paciente, administrado por inyección intramuscular, cuyo objetivo resulta en estimular el sistema inmunológico por medio de la activación del sistema Mononuclear Fagocitário. La investigación tubo como objetivo evaluar y observar los efectos de administraciones de la auto-hemoterapia en ratones. Los dos grupos foran constituidos de ratones Wistar albinas, machos, siendo que todos foran submetidos a una incisión dorsal de aproximadamiente 1 cm², para evaluación la cicatriz, y el Grupo Desafió recibió administraciones de auto-hemoterapia a cada siete días. La evaluación de los resultados ocurrió através de observaciones, registros fotográficos y leucometria geral y específica. Los exámenes de leucometria foran realizados en los mismos días de aplicaciones de auto-hemoterapia, siempre antecediendo el procedimiento descrito y con repeticiones dos días después, para la verificación de los cambios en el sistema inmunológico. Los resultados de laboratorio

fueron analizados por la media del Grupo Controle y el Grupo Desafio luego después, comparación de los resultados siendo que las diferencias fueran comparadas y registradas. Se encontro diferencias significativas en los resultados de leucometria general en el Grupo Desafio, que fueran realizados dos días después de las aplicaciones de auto-hemoterapia, cuyos resultados mostraranse incrementados en case dos veces cuando comparados con el Grupo Controle. En la observación cicatricial verificase que el tiempo de cicatrización para los dos grupos fue relativamente igual (aproximadamente veinte días), sin embargo la cicatrización presentada por el Grupo Desafió fue sin duda más plana, bordes regulares y de una cicatriz final casi imperceptible. Se observo una diferencia notable en ratones del Grupo Desafio procediente de las administraciones de auto-hemoterapia, resultando, en la activación del sistema inmunológico por medio de aplicación de la sangre autólogo intramuscular, que es el efecto propuesta por la técnica.

Palabras clave: auto-hemoterapia, cicatrización, leucocitos, sistema inmune, ratones.

1. INTRODUÇÃO

A auto-hemoterapia é um procedimento antigo que se baseia no empirismo, onde o tratamento consiste em aplicações do sangue autólogo, por via intramuscular, objetivando estimular o sistema imunológico, potencializando a sua ação através da ativação do Sistema Mononuclear Fagocitário (SMF) (METTENLEITER, 2007).

A retirada de sangue venoso e a sua re-injeção intramuscular é um procedimento que tem o seu primeiro registro em 1911, Francois Ravaut, nomeado como auto-hemoterapia, sendo utilizado em diversas enfermidades como febre tifóide e algumas dermatoses (SILVA, 2007).

Em 1941, Leopoldo Cea, no *Diccionario de términos y expresiones hematológicas*, conceitua a auto-hemoterapia como sendo um método de tratamento que consiste em injetar em um individuo uma determinada quantidade de seu próprio sangue (ABMC, 2007).

No Brasil o assunto surge desde 1940, quando o professor Jesse Teixeira em seu trabalho publicado e premiado na Revista “Brasil-Cirúrgico”, provou que o Sistema Retículo-Endotelial, atualmente conhecido como Sistema Mononuclear fagocitário, era ativado pela auto-hemoterapia. Utilizou-se de um método que provocava a formação de uma bolha na coxa de pacientes com uma substância irritante chamada cantárida. Antes do início do tratamento com a auto-hemoterapia a contagem dos macrófagos era de 5%, oito horas após a aplicação o número de

macrófagos subiu para 22%, mantendo-se durante cinco dias, voltando aos 5% iniciais ao sétimo dia após a aplicação (ABMC, 2007).

De 1943 a 1947, o então médico Luiz Moura, ainda acadêmico na Faculdade Nacional de Medicina, iniciou a auto-hemoterapia por ordem do seu pai e Professor Pedro Moura, nos pacientes que ele operava na Casa de Saúde São José no Rio de Janeiro, obtendo crescente redução no número de infecções pós-operatórias em seus pacientes (ABMC, 2007).

Segundo Moura (2008), o Sistema Mononuclear Fagocitário é ativado pela auto-hemoterapia aumentando a produção de macrófagos. O organismo reconhece o sangue injetado intramuscular como sendo um corpo estranho, o que justifica a ativação do sistema inume.

O sistema imune é crucial à sobrevivência humana. Na ausência de um sistema imune funcionante, mesmo infecções leves podem sobrepujar o hospedeiro e se mostrarem fatais. O corpo tem dois tipos de resposta à invasão por um patógeno: a resposta imune inata, e a resposta imune adaptativa. Ambas são principalmente mediadas por glóbulos brancos ou leucócitos e as células teciduais relacionadas a eles, tendo todos como origem a medula óssea (PARHAM, 2001).

Os microrganismos com potencial para causarem patologias no homem e em animais invadem o organismo em diferentes locais e produzem vários tipos de doença por diversos mecanismos. Os agentes infecciosos que causam patologias são chamados de microrganismos patogênicos ou patógenos. Essas invasões são primeiramente combatidas, em todos os vertebrados, por mecanismos de defesa inata que age em minutos após o contato com o patógeno, e quando esta defesa inicial esgota todas as possibilidades de contenção do microrganismo invasor e a infecção avança é ativada outra resposta com maior especificidade, chamada de resposta imune adaptativa (JANEWAY *et al.*, 2007).

Parham (2001) argumenta apropriadamente que a imunidade inata entra em ação primeiro, utiliza mecanismos de reconhecimento molecular geral para detectar a presença de bactérias e de vírus e não leva a imunidade prolongada àquele patógeno em particular. Esta é uma defesa pré-existente no organismo que trabalha mecanismos de defesa celulares e bioquímicos e que está programada para responder rapidamente a infecções. Esses mecanismos possuem ação somente contra microrganismos, não tendo respostas contra substâncias não-infecciosas e

respondem essencialmente da mesma maneira a sucessivas infecções (PARHAM, 2001).

Os principais componentes da resposta inata são (1) barreiras físicas e químicas; (2) células fagocíticas; (3) proteínas do sangue, incluindo frações do sistema complemento e outros mediadores da inflamação e (4) proteínas denominadas citocinas, que regulam e coordenam várias atividades das células da imunidade natural (ABBAS e LICHTMAN, 2005).

A resposta imune adaptativa ou adquirida, em contraste com a imunidade inata, é estimulada pelas exposições a agentes infecciosos cuja magnitude e capacidade defensiva aumenta com exposições posteriores a microrganismo em particular. As características que definem a imunidade adquirida incluem uma especificidade extraordinária para distinguir as diferentes moléculas e uma habilidade de se “lembrar” e responder com mais intensidade a exposições subseqüentes ao mesmo microrganismo (ABBAS e LICHTMAN, 2005).

Quando o organismo é acometido por algum patógeno a sua primeira linha de defesa é a resposta imune fagocítica composta pelos leucócitos (granulócitos e macrófagos), tendo essas células a capacidade de chegarem ao ferimento e combaterem os agentes infecciosos através da fagocitose, que é a ingestão dos patógenos (SMELTZER e BARE, 2005).

Smeltzer e Bare (2005) descrevem: o Sistema Mononuclear Fagocitário compreende macrófagos com uma intensa capacidade de fagocitar. Quase todos os tecidos, órgãos e cavidades serosas abrigam uma população de fagócitos residentes, independente da localização ou de seu aspecto, todos esses fagócitos associados aos tecidos pertencem a uma única linhagem, conhecida como Sistema mononuclear fagocítico, e são originadas de um leucócito circulante, denominado monócito (SMELTZER e BARE, 2005).

Todas as células que circulam no sangue são derivadas de um progenitor comum na medula óssea, denominado Célula-tronco hematopoiética, esta por sua vez origina células de linhagem linfóide, mielóide e megacariócitos. A célula progenitora mielóide se divide originando vários tipos de células, dentre elas os monócitos, que futuramente darão origem aos macrófagos residentes nos tecidos também conhecidos como histiócitos (PARHAM, 2001).

Segundo Stites *et al.* (2004), sempre que os macrófagos se deparam com certos mediadores da inflamação ou outros sinais de lesão tecidual, a célula passa por um processo citado como ativação do macrófago, que se particulariza por um rápido aumento de seu metabolismo, motilidade e atividade fagocítica. Os macrófagos ativados são fagócitos ávidos que ingerem quaisquer partículas estranhas ou restos celulares com os quais se deparem.

No organismo existem inúmeros estímulos que podem ativar os macrófagos, podemos citar o contato direto com certos microrganismos ou partículas inertes, com produtos de degradação do tecido do hospedeiro ou com componentes protéicos do sistema complemento ou do sistema da coagulação sangüínea. Existem ainda outros potenciais ativadores dos macrófagos como o DNA bacteriano e algumas citocinas que podem ser secretoras por linfócitos vizinhos (STITES *et al.*, 2004).

Conforme Abbas e Lichtman (2005), os macrófagos ativados estimulam a inflamação aguda por meio da secreção de citocinas, quimiocinas e mediadores lipídicos de vida curta, removem ainda tecidos mortos, secretam fatores de crescimento que estimulam a proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno e formação de novos vasos sangüíneos ou angiogênese induzindo à formação de tecidos de reparo. Determinadas substâncias, como a lisozima, os componentes do complemento e o peróxido de hidrogênio, exibem atividade antimicrobiana, outros, como a elastase e a colagenase, atuam ao liquefazer e remodelar a matriz extracelular. É importante ressaltar que o Óxido nítrico (NO) secretado por macrófagos ativados, além de ser um antimicrobiano de amplo espectro, atua também como mensageiro para regular as funções de outras células circundantes causando, por exemplo, a liberação de histamina e outros mediadores vasoativos dos mastócitos e das plaquetas, desencadeando assim a resposta vascular local da inflamação (STITES *et al.*, 2004).

A inflamação é tradicionalmente assim definida: dor, vermelhidão, calor, edema e perda da função. Esses sintomas são desencadeados pela ação das citocinas e dos outros mediadores da inflamação nos vasos sangüíneos locais (JANEWAY *et al.*, 2007)

Com a estimulação do sistema imunológico atinge-se o objetivo da terapia com a auto-hemoterapia, aumentando a produção de fagócitos e conseqüentemente

a defesa imunológica do organismo, obtendo melhores resultados em várias infecções e doenças de difícil cura (MOURA, 2008).

Pela falta de pesquisas, a auto-hemoterapia enfrenta grande controvérsia na área da saúde. Em nota publicada pelo Conselho Federal de Enfermagem (COFEN) em março de 2007, o procedimento torna-se proibido, por tratar-se de um tratamento para o qual não há consenso técnico e científico e nem aprovação dos conselhos profissionais da área da saúde (COFEN, 2007).

Pretende-se nesse trabalho, desenvolver um trabalho científico que ajude a desmistificar o uso da auto-hemoterapia, esclarecendo os efeitos e mecanismos decorrentes desse procedimento no organismo de ratos Wistar, avaliando o processo cicatricial e as mudanças ocorridas no sistema imunológico no período de pesquisa.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1-ANIMAIS E GRUPOS

Foram utilizados 06 (seis) ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), machos, pesando entre 230,13 e 241,93g, provenientes do Biotério Central da Universidade de Brasília (UNB) com aproximadamente 70 dias e ambientados no laboratório de Fisiologia do Centro Universitário UNIEURO Campus II. As cobaias tiveram durante toda a pesquisa água “*Ad libitum*” e alimentação balanceada padrão para roedores – Labina[®] (Purina), mantidos em mesma gaiola à temperatura ambiente. Esta pesquisa seguiu os preceitos éticos estabelecidos pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) (COBEA, 2007).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais:

Grupo Controle: Os animais foram submetidos à tricotomia, lesão cutânea e coleta de sangue para leucometria global e específica.

Grupo Desafiado: Foram realizados com as cobaias os mesmos procedimentos descritos no Grupo Controle acrescidos da auto-hemoterapia.

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal – CEPA-UNIEURO e aprovado sob o parecer nº 04/2008.

2.2-AUTO-HEMOTERAPIA

O sangue foi coletado através de punção da artéria da calda utilizando seringa de insulina. O volume total de sangue é cerca de 6% do peso vivo do animal, de modo geral, aproximadamente 25% do volume total de sangue pode ser retirado, o que equivale a 3,5 mL de sangue tendo como base a média de peso inicial das cobaias (CUBAS *et al.*, 2006).

Para a realização da auto-hemoterapia, a aplicação de sangue autólogo intramuscular é um desafio, pois esses roedores possuem uma massa muscular muito pequena, sendo que as injeções intramusculares precisam ter pequeno volume, pois há risco de provocar lesão muscular (CUBAS *et al.*, 2006). Observada tal restrição o procedimento foi realizado utilizando 100µl de sangue, que é uma quantidade observada de sangue capaz de ativar o sistema imunológico sem causar lesão muscular na cobaia.

2.3-PROCEDIMENTO

A pesquisa baseou-se na realização da auto-hemoterapia uma vez por semana, durante 04 (quatro) semanas, sendo que se seguiu o seguinte protocolo: uma vez por semana coletava-se sangue dos dois grupos para a realização de leucometria e aplicava-se nos ratos do Grupo Desafiado a auto-hemoterapia, totalizando 04 (quatro) procedimentos por rato. Dois dias após, coletava-se novamente sangue dos dois grupos para a realização da leucometria e posterior verificação das mudanças imunológicas ocorridas nesse período.

As técnicas foram realizadas seguindo-se três etapas, onde a primeira constitui-se de sedação, pesagem, coleta de sangue, tricotomia no dorso dos animais, lesão cutânea, auto-hemoterapia, apenas para o Grupo Desafiado, e registros fotográficos. A segunda técnica foi realizada dois dias após a primeira, onde se coletou sangue para análise de dados, observação cicatricial e registros fotográficos. Por fim, a terceira técnica realizada sete dias após a primeira, destinou-se a coletar sangue para análise de dados, aplicação de auto-hemoterapia no Grupo

Desafiado, observação cicatricial e registros fotográficos. Os outros 05 (cinco) procedimentos seguiram intercalados com a segunda e terceira técnica.

Na sedação foram utilizados chumaços de algodão embebidos em éter etílico dentro de um dessecador, onde as cobaias foram expostas por aproximadamente cinco minutos.

A lesão cutânea foi realizada com a intenção de avaliar a evolução do processo cicatricial. O corte foi feito no dorso dos animais, após tricotomia local, com uma lâmina de bisturi provocando um corte de 1cm² retirando epiderme, derme e tecido subcutâneo.

O procedimento de auto-hemoterapia foi realizado somente no Grupo Desafiado e os seus resultados no organismo dos animais foram acompanhados através de exames laboratoriais (leucometria) tendo como principais parâmetros os exames do Grupo Controle.

2.4-PARÂMETROS LEUCOMÉTRICOS:

Com a amostra sanguínea procedeu-se a leucometria global e específica, tendo com base o Grupo Controle e os valores relacionados na Tabela 1.

TABELA 1 – Valores Hematológicos de Referência

Parâmetros	Rato
Eosinófilo (%)	0-6
Linfócitos (%)	50-85
Monócitos (%)	0-5
Segmentados (%)	9-50

Fonte: CUBAS *et al.*, 2006.

A Leucometria Global, que mede a quantidade de leucócitos por milímetros cúbicos e não há separação dos tipos leucocitários (LIMA *et al.*, 1997), foi diluída em eppendorf na proporção de 10µl de sangue para 190µl de solução de Turk. Após alguns minutos de agitação, a solução foi gotejada em câmara de Neubauer para contagem do número total de leucócitos em microscópio.

A Leucometria Específica, que realiza a diferenciação dos tipos de leucócitos (LIMA *et al.*, 1997), foi feita depositando uma amostra de sangue em lâmina, sendo imediatamente feito o distendido da mesma, e submetida à coloração com o kite de Coloração Rápido (Panótico). Após a secagem de 24 horas, as lâminas foram analisadas em microscópio óptico para a diferenciação das células brancas do sangue.

Segundo Moura (2008), após oito horas da aplicação de auto-hemoterapia as células do sistema imune passam de 5% para 22%, mantendo esse percentual por cinco dias e voltando aos 5% iniciais ao sétimo dia (MOURA, 2008). Para efeitos didáticos consideraremos esse período de máxima ativação do sistema imune, como período ou dia de pico.

3. RESULTADOS

3.1-LEUCOMETRIA GLOBAL

As amostras sangüíneas foram analisadas em câmara de Neubauer e coradas com solução de Turk, estas apresentaram valores diversificados, sendo que na primeira aplicação (29/04/08) de auto-hemoterapia encontravam-se estabilizadas com valorações aproximadas, sendo que a média do Grupo Controle foi 14.033,33 e a do Grupo Desafiado foi 14.566,67. Após dois dias, observou-se uma diferença consideravelmente maior do Grupo Desafiado em relação ao Grupo Controle, sendo que as médias encontradas foram de 24.066,67 e 12.733,33, respectivamente, conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Análise da leucometria global de ratos submetidos ou não a auto-hemoterapia na primeira semana do experimento.

Data	Grupos	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
29/04/2008 Auto-hemoterapia	Grupo Controle	13.500*	14.800*	14.033,33*	680,690
	Grupo Desafiado	14.500*	14.600*	14.566,67*	57,740
01/05/2008 Pico	Grupo Controle	11.200*	14.300*	12.733,33*	1.081,670
	Grupo Desafiado	22.600*	26.500*	24.066,67*	2.122,110

* leucócitos/mm³

Na segunda aplicação (06/05/08) de auto-hemoterapia as médias sangüíneas voltaram ao normal apresentando valorações aproximadas nos dois grupos, sendo que a média obtida no Grupo Controle foi de 13.900,00 e no Grupo Desafiado foi de 16.533,33. No dia 08/05/2008, foi observada novamente diferenças entre os grupos, tendo o Grupo Desafiado uma média de 22.266,66 e o Grupo Controle uma média de 14.033,33, conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Análise da leucometria global de ratos submetidos ou não a auto-hemoterapia na segunda semana do experimento.

Data	Grupos	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
06/05/2008 Auto-hemoterapia	Grupo Controle	12.000*	16.300*	13.900,00*	2.182,510
	Grupo Desafiado	14.600*	18.000*	16.533,33*	1.665,330
08/05/2008 Pico	Grupo Controle	12.600*	16.600*	14.033,33*	2.227,850
	Grupo Desafiado	20.800*	23.600*	22.266,66*	1.410,670

* leucócitos/mm³

Nos experimentos realizados na terceira semana, os resultados obtidos foram semelhantes aos resultados das semanas anteriores. No dia 13/05/2008 constatou-se médias de 15.133,33 e de 15.500,00 respectivamente para o Grupo Controle e Grupo Desafiado. Dois dias após (15/05/2008) uma disparidade maior do Grupo Desafiado em relação ao Grupo Controle foi notada, tendo o Grupo Desafiado uma média de 25.233,33 e o Grupo Controle uma média de 14.166,67, conforme pode-se visualizar na Tabela 4.

Tabela 4 - Análise da leucometria global de ratos submetidos ou não a auto-hemoterapia na terceira semana do experimento.

Data	Grupos	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
13/05/2008 Auto-hemoterapia	Grupo Controle	11.100*	17.700*	15.133,33*	3.536,010
	Grupo Desafiado	13.300*	17.500*	15.500,00*	2.107,130
15/05/2008 Dia de Pico	Grupo Controle	12600*	17100*	14.166,67*	2.542,310
	Grupo Desafiado	25100*	25.400*	25.233,33*	152,750

* leucócitos/mm³

Na última semana os valores do primeiro dia (20/05/2008) permaneceram com médias normais nos dois grupos, o Grupo Controle com uma média de 14.933,33

e o Grupo Desafiado com média de 17.000,00. Essas médias voltaram a se diferenciar dois dias depois (22/05/2008), prevalecendo média de 26.200,00 no Grupo Desafiado e de 15.766,67 no Grupo Controle, assim como mostra a Tabela 5.

Tabela 5 - Análise da leucometria global de ratos submetidos ou não a auto-hemoterapia na quarta semana do experimento.

Data	Grupos	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
20/05/2008 Auto-hemoterapia	Grupo Controle	11.100*	18.100*	14.933,33*	3.547,300
	Grupo Desafiado	13.700*	19.200*	17.000,00*	2.910,330
22/05/2008 Pico	Grupo Controle	15.400*	16.200*	15.766,67*	404.15
	Grupo Desafiado	24.800*	27.500*	26.200,00*	1.352,770

* leucócitos/mm³

3.2-LEUCOMETRIA ESPECÍFICA

Ao analisar os distendidos sangüíneos em lâmina corados com Panótico em microscópio óptico, não foram observadas mudanças significativas na variação celular, quando comparados o Grupo Controle e o Grupo Desafiado nos dias de aplicação da auto-hemoterapia e nos dias de pico, conforme Tabelas 6 e 7.

Tabela 6 - Análise de leucometria específica de ratos submetidos ou não a auto-hemoterapia nos dias de realização do procedimento

Data	Grupos	Células	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
29/04/2008	Grupo Controle	Monócitos	0*	2*	1,333*	1,154
		Linfócitos	72*	86*	81,333*	8,082
		Eosinófilos	0*	0*	0*	0
		Segmentados	12*	24*	16,666*	6,429
	Grupo Desafiado	Monócitos	2*	5*	3,666*	1,527
		Linfócitos	71*	80*	75*	4,582
		Eosinófilos	0*	0*	0*	0
		Segmentados	15*	27*	21,333*	6,027
06/05/2008	Grupo Controle	Monócitos	6*	15*	9,666*	4,725
		Linfócitos	72*	80*	77*	4,358
		Eosinófilos	0*	0*	0*	0
		Segmentados	4*	20*	10*	8,717
	Grupo	Monócitos	17*	31*	25,666*	7,571

	Desafiado	Linfócitos	61*	68*	64,666*	3,511
		Eosinófilos	0*	0*	0*	0
		Segmentados	6*	15*	9,666*	4,725
13/05/2008	Grupo Controle	Monócitos	8*	32*	19*	12,124
		Linfócitos	44*	83*	59,333*	20,792
		Eosinófilos	0*	4*	2*	2
		Segmentados	9*	28*	19,666*	9,712
	Grupo Desafiado	Monócitos	4*	19*	11,333*	7,505
		Linfócitos	71*	80*	75,666*	4,509
		Eosinófilos	1*	5*	3*	2
	Segmentados	0*	17*	10*	8,888	
20/05/2008	Grupo Controle	Monócitos	1*	4*	2,333*	1,527
		Linfócitos	12*	89*	83,333*	9,814
		Eosinófilos	0*	1*	0,333*	0,577
		Segmentados	9*	18*	12,333*	4,932
	Grupo Desafiado	Monócitos	0*	5*	3*	2,645
		Linfócitos	70*	90*	79,333*	10,066
		Eosinófilos	0*	2*	1*	1
	Segmentados	9*	24*	16,666*	7,505	

* leucócitos/mm³

Tabela 7 - Análise de leucometria específica de ratos submetidos ou não a auto-hemoterapia nos dias de pico

Data	Grupos	Células	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
01/05/2008	Grupo Controle	Monócitos	2*	6*	3,666*	2,081
		Linfócitos	78*	91*	85,333*	6,658
		Eosinófilos	0*	0*	0*	0
		Segmentados	6*	20*	12,33*	7,094
	Grupo Desafiado	Monócitos	3*	6*	4,666*	1,527
		Linfócitos	71*	81*	76,333*	5,033
		Eosinófilos	0*	2*	1*	1
	Segmentados	12*	24*	18*	6	
08/05/2008	Grupo Controle	Monócitos	6*	8*	7*	1
		Linfócitos	61*	81*	72,333*	10,263
		Eosinófilos	0*	2*	1*	1
		Segmentados	10*	32*	19,666*	11,239

	Grupo Desafiado	Monócitos	8*	29*	18*	10,535
		Linfócitos	58*	87*	70,333*	14,977
		Eosinófilos	0*	4*	2,333*	2,081
		Segmentados	2*	21*	9,333*	10,21
15/05/2008	Grupo Controle	Monócitos	4*	11*	8*	3,605
		Linfócitos	68*	86*	75,666*	9,291
		Eosinófilos	1*	4*	2,333*	1,527
		Segmentados	9*	19*	14*	5
	Grupo Desafiado	Monócitos	14*	26*	19,666*	6,027
		Linfócitos	61*	83*	69,333*	11,93
		Eosinófilos	0*	0*	0*	0
		Segmentados	3*	20*	11*	8,544
22/05/2008	Grupo Controle	Monócitos	1*	16*	8,333*	7,505
		Linfócitos	62*	88*	75*	13
		Eosinófilos	0*	0*	0*	0
		Segmentados	11*	22*	16,666*	5,507
	Grupo Desafiado	Monócitos	1*	19*	7,666*	9,865
		Linfócitos	75*	92*	83*	8,544
		Eosinófilos	0*	0*	0*	0
		Segmentados	6*	15*	9,333*	4,932

* leucócitos/mm³

3.3- AVALIAÇÃO CICATRICIAL

Os resultados obtidos na avaliação cicatricial foram discretos, porém de grande valor para essa pesquisa. Notou-se que o tempo de cicatrização para os dois grupos foi relativamente igual (aproximadamente 20 dias) e que não apresentou intercorrências. Porém a cicatrização apresentada pelo Grupo Desafiado foi notoriamente mais plana, de bordas regulares e uma cicatriz final quase imperceptível, enquanto o processo cicatricial obtido pelo Grupo Controle apresentou formas irregulares, uma cicatriz final aparente de aproximadamente 0,5 cm e pouco abaulada, como mostra a Figura 1.

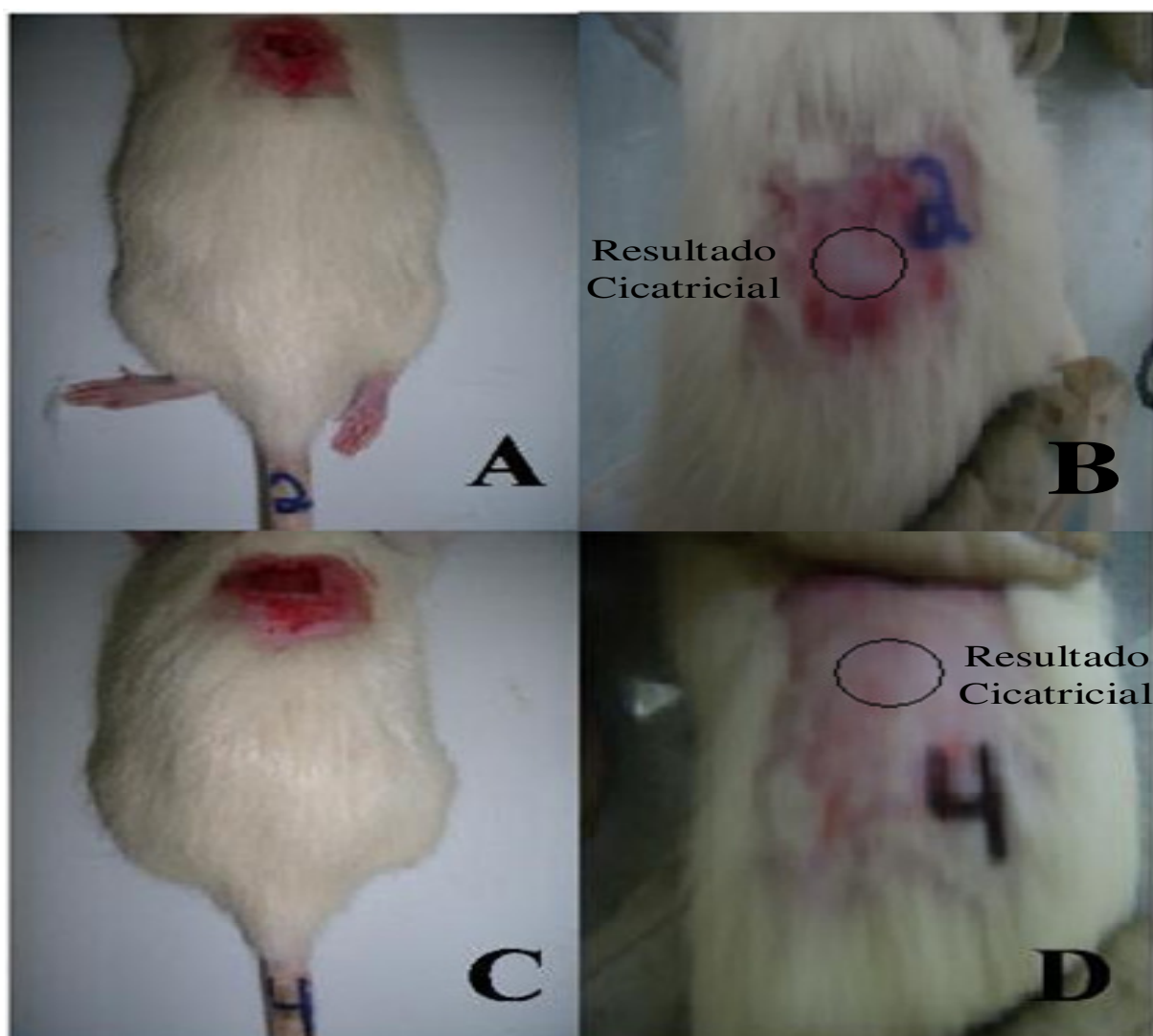


Figura 1 – Avaliações fotográficas da evolução cicatricial de dois ratos, primeiro e último dia de experimento, sendo o de número 02 (dois) pertencente ao Grupo Controle e o de número 04 (quatro) ao Grupo Desafiado. Em A e C foi realizado, após tricotomia dorsal, uma incisão de 1cm² removendo epiderme, derme e tecido subcutâneo. Em B observa-se um resultado cicatricial delineado e pouco abaulado, notam-se alguns pontos avermelhados, que são o resultado do sangramento devido à tricotomia local. Em D o resultado cicatricial é quase imperceptível.

4. DISCUSSÃO

As amostras sanguíneas coletadas e analisadas na leucometria global apresentaram resultados significativos e esperados. Durante as quatro semanas de experimento registraram-se alterações do sistema imunológico decorrentes das aplicações de auto-hemoterapia. Moura (2008), relata apropriadamente que após a aplicação de auto-hemoterapia o sistema imunológico é ativado aumentando o quantitativo de células de 5% para 22% após oito horas da aplicação, mantendo

esse potencial durante cinco dias e voltando aos 5% iniciais ao sétimo dia (MOURA, 2008). Essa pesquisa teve como base dois dias da semana, pré-estipulados e subsequentes durante quatro semanas, no primeiro dia em que se fez a coleta de sangue para a realização dos exames e logo após aplicava-se auto-hemoterapia nos ratos do Grupo Desafiado, os resultados da leucometria global apresentaram-se normais com valorações aproximadas nos dois grupos indicando que não havia alterações no sistema imunológico dos ratos. Quando se repetiu os exames dois dias após nos resultados da leucometria global, encontrou-se uma significativa diferença entre os dois grupos, o Grupo Controle continuou não apresentando alterações imunológicas, enquanto o Grupo Desafiado mostrou uma reação imunológica esperada no quantitativo leucocitário, aumentada em quase duas vezes em relação ao primeiro dia e ao Grupo de Controle. Essa reação justifica-se pela estimulação do sistema imunológico, através da auto-hemoterapia, o qual configura o propósito desta técnica.

Não foi encontrada grande quantidade de monócitos no sangue, segundo Lima *et al.*, (2007), durante o processo inflamatório, monócitos recrutados da circulação sangüínea para o parênquima tecidual são ativados para se tornarem células com função fagocítica e passam a ser chamados de macrófagos, essas células podem reconhecer, fagocitar e degradar bactérias opsonizadas tornando-se as principais células efetoras da resposta imune (LIMA *et al.*, 2007). Desta forma verificou-se, através da leucometria específica, que não houve aumento do número de monócitos circulantes no sangue, esse achado pode sugerir que tais células tenham sido recrutadas para os tecidos, atuando agora como macrófagos no local da possível infecção.

Os resultados cicatriciais observados nos grupos mostraram que não há diferença no tempo cicatricial, pois não houve resultados significativos no período evolutivo de cicatrização da ferida. Porém notou-se que a cicatrização apresentou diferenças ao final do processo cicatricial, o Grupo Controle apresentou cicatrizes de formas irregulares, uma cicatriz final aparente de aproximadamente 0,5 cm e pouco abaulada, enquanto o Grupo Desafiado teve cicatrizes mais planas, de bordas regulares e uma cicatriz final quase imperceptível, tal fato se deve a vários fatores dentre eles a inflamação, que inclui a participação de diferentes tipos celulares, tais como neutrófilos, macrófagos, linfócitos, plaquetas, entre outras (MANDELBAUM,

2003). Do mesmo modo Leibovich e Ross (1975), *apud* Lima *et al.*, (2007), sugeriram que macrófagos poderiam participar do processo de cicatrização na lesão feita com um bisturi na pele dorsal de porquinhos da Índia. Após feita a lesão experimental, os autores causaram monocitopenia (diminuição dos níveis de monócitos no sangue), tendo uma série de grupos controles apropriados, assim, conseguiram demonstrar que os animais monocitopênicos, tiveram os níveis de fibrina elevados e que a eliminação de fibrina, neutrófilos e detritos do processo lesivo foi retardada. O aparecimento e a proliferação de fibroblastos durante o desenrolar da lesão foram mais lentos nos animais com depleção de macrófagos. Baseados nesses resultados, os mesmos autores sugeriram um papel fundamental para macrófagos durante a fase cicatricial de lesões feitas por bisturi em porquinhos da Índia (LEIBOVICH e ROSS, 1975, *apud* LIMA *et al.*, 2007). Esses achados literários sugerem que apesar da leucometria específica não ter apresentado alteração celular, pode-se inferir que houve o processo de quimiotaxia de macrófagos para os tecidos, auxiliando dessa forma no processo cicatricial. Como a auto-hemoterapia estimula o sistema imunológico e aumenta as células de defesa e de inflamação no sítio cicatricial (MOURA, 2007), é plausível que este evento justifique a diferença entre os processos cicatriciais apresentados pelos grupos.

Durante o período da pesquisa, não foram observadas quaisquer reações adversas nas cobaias, ressaltando que deve-se ter precauções para a realização de tal procedimento. No entanto, observou-se que a população entende o termo “Auto” como sendo um procedimento que qualquer pessoa pode fazer, quando na verdade é uma técnica que deverá ser de utilização restrita a hospitais ou ambientes capazes de dar suporte caso haja alguma intercorrência e devendo ser aplicada exclusivamente por enfermeiros ou médicos. Ressaltada tal observação, propõem-se, com esse trabalho, a mudança da terminologia de auto-hemoterapia para Hemoinfusão.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A auto-hemoterapia apesar de ser uma terapia antiga, ainda hoje é desconhecida. Apesar de existirem muitos relatos e evidências sobre o seu uso, atualmente, não há pesquisas realizadas que comprovem a ação da referida técnica, e é com base nesses argumentos que justificou-se o desenvolvimento dessa

pesquisa. Ressaltando ainda que procurou-se conhecer as propriedades e o mecanismo de ação da re-injeção intramuscular de sangue autólogo no organismo de ratos.

A aplicação de auto-hemoterapia em ratos Wistar produziu uma reação imunológica no organismo dos ratos do Grupo Desafiado, mostrando que com o uso desta técnica há um aumento na quantidade de células de defesa do sistema imune e que a cicatrização observada nos ratos do Grupo Desafiado foi mais plana e uma cicatriz menos aparente do que nos ratos do Grupo Controle.

Com os resultados obtidos podemos avaliar que a auto-hemoterapia pode ter seus efeitos benéficos frente à participação leucocitária e à cicatrização.

6. REFERÊNCIAS

ABBAS, Alul K.; LICHTMAN, Andrew H. **Imunologia Celular e Molecular**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

Associação Brasileira de Medicina Complementar (ABMC). **Auto-Hemoterapia**. Disponível em <<http://www.medicinacomplementar.com.br/tema130206.asp>>. Acesso em 12/08/2007.

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). **Princípios Éticos na Experimentação Animal**. Disponível em <<http://www.cobea.org.br>>. Acesso em 14/09/2007.

Conselho Federal de Enfermagem (COFEN). Notícias COFEN. Disponível em <<http://www.portalcofen.gov.br/2007/materias.asp?ArticleID=7147§ionID=38>>. Acesso em 15/04/2007.

CUBAS, Zalmir S. *et al.* **Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2006.

JANEWAY, Charles *et al.* **Imunobiologia: O sistema imune na saúde e na doença**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

LEIBOVICH, S.J.; ROSS, R. *apud* LIMA, Rafael R. *et al.* **Inflamação em Doenças Neurodegenerativas**. V. 21. Pará: Revista Paraense de Medicina, 2007.

LIMA, A. O. *et al.* **Métodos de laboratório aplicados à clínica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

LIMA, Rafael R. *et al.* **Inflamação em Doenças Neurodegenerativas**. V. 21. Pará: Revista Paraense de Medicina, 2007

MANDELBAUM, Samuel H. *et al.* **Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I.** Anais Brasileiros de Dermatologia, 2003.

METTENLEITER, Michael W. **Autohemotransusão como Prevenção de Complicações Pulmonares Pós-Operatória.** Disponível em <http://paginas.terra.com.br/saude/Autohemoterapia/AUTOHEMOTRANSFUSAO_COMO_PREVENCAO_DE_COMPLICACOES_Michael_Mettenleiter_1936.pdf>. Acesso em 12/08/2007.

MOURA, Luiz. **Transcrição do DVD: Auto-hemoterapia, conversa com o Dr. Luiz Moura.** Disponível em <<http://www.rnsites.com.br/auto-hemoterapia-dvd.htm>>. Acesso em 05/03/2008.

PARHAM, Peter. **O Sistema Imune.** Porto Alegre: Artmed, 2001.

SILVA, Maria Clara S. **Auto Hemoterapia.** Disponível em <http://paginas.terra.com.br/saude/Autohemoterapia/MONOGRAFIA_AUTOHEMOTERAPIA_MARIA_CLARA_SALOMAO_E_SILVA_2006.pdf>. Acesso em 10/08/2007.

SMELTZER, Suzanne C.; BARE, Brenda G. **Tratado de Enfermagem Médico-cirúrgica.** 10^o ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005

STITES, Daniel. *et al.* **Imunologia médica.** 10^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.