

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS-PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Uso da membrana biossintética de hidrogel com nanop prata em feridas  
cutâneas em coelhos

Thiago Dantas Gomes Gonçalves

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS-PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Uso da membrana biossintética de hidrogel com nanop prata em feridas  
cutâneas em coelhos

Thiago Dantas Gomes Gonçalves  
(Graduando)

Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto  
(Orientador)

Patos-PB  
Setembro de 2016

G635u      Gonçalves, Thiago Dantas Gomes

    Uso da membrana biossintética de hidrogel com nanop prata em  
    feridas cutâneas em coelhos / Thiago Dantas Gomes Gonçalves. –  
    Patos, 2016.

    45f.: il. color.

    Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade  
    Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016.

    "Orientação: Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto"

    "Coorientação: Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá"

    Referências.

    1. Feridas cutâneas. 2. Reparação tecidual. 3. Leporino. I. Título.

    CDU 616-089:619

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS-PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

THIAGO DANTAS GOMES GONÇALVES

**Graduando**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção de grau de Médico Veterinário.

ENTREGUE EM: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

MÉDIA: \_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

_____ Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto Orientador	_____ Nota
_____ Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas Examinador I	_____ Nota
_____ Prof. Dr. Eldinê Gomes de Miranda Neto Examinador II	_____ Nota

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pois sem ele nada é possível!

Aos meus Pais, Carlos e Suely, por todo apoio e incentivo, que me deram durante toda a minha vida;

Aos meus irmãos (Matheus e Maria Isabel), por sempre estarem do meu lado, pela amizade, carinho e compreensão;

À Nilda, Mazinho, Maria Eduarda e Ana clara pelo carinho que tem por min, sempre me ajudando quando necessário;

As minhas tias e tios, que me suportaram e me acolheram durante todo o período da minha formação, em especial (Tia Neide e Tia Suedy).

A minha namorada, Maria Pollyana, que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades;

Aos meus amigos, Breno Carlos, Píer e Rafael, que apesar da distância estavam sempre me apoiando;

As amigades constituídas ao longo desses mais de 5 anos de universidade, em especial a Thiago Alves, Henrique (Cusca), Larisa Brasileiro, Jussier Jurandir, Caio, Antônio Neto;

Aos amigos do grupo dos Nauseos, Antônio Carlos(Vaqueiro); Júnior (Cearense); Clésio (Boca); Eurico; José Aurélio; Henrique César (Cusca) e Thiago Alves, por todos os momentos de descontração que passamos;

À Dona Socorro e Seu Severino, por terem me tratado como filho, sempre querendo o melhor para nós, casal que tenho imensa admiração;

Aos meus orientadores Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá por me ter aceito como seu orientado;

Ao professor Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto, por ter me aceito como seu orientado na reta final do projeto, pelo suporte e atenção no pouco tempo que lhe coube e

toda sua contribuição e ensinamentos por ele passados que influenciaram diretamente na minha formação;

A todos que me ajudaram durante o projeto de monografia direta ou indiretamente, em especial (Júnior, Peterson, Maria Pollyana, Robério, Jardel, Lílian e Jefferson);

A todos que fazem parte do setor de Cirurgia de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da UFCG, local pelo qual tenho um carrinho especial, por terem me ajudado no desenvolvimento do experimento e por todos os ensinamentos;

Ao laboratório de Patologia Animal, ao Professor Antônio Flávio, aos funcionários e, em especial, ao mestrando Jeferson, por toda ajuda no desenvolvimento do experimento;

À todos que participaram direta ou indiretamente na minha formação, e que ainda não foram citados citados acima,

Muito Obrigado!

## SUMÁRIO

	Pág.
<b>RESUMO</b> .....	11
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
2.1 Hidrogéis .....	14
2.2 Cicatrização.....	17
2.2.1 Fase de hemostasia.....	17
2.2.2 Fase inflamatória.....	17
2.2.3 Fase proliferativa.....	18
2.2.4 Fase de maturação.....	20
2.3 Fatores deletérios à cicatrização.....	21
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
3.1 Aquisição das membranas.....	22
3.2 Aquisição e adaptação dos animais.....	23
3.3 Pré-operatório.....	23
3.4 Transoperatório .....	24
3.5 Pós-operatório .....	26
3.6 Avaliação clínica / macroscópica.....	26
3.7 Obtenção do material para estudo histológico .....	26
3.8 Avaliação histopatológica .....	28
3.9 Análise estatística.....	28
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	29
4.1 Análise Macroscópica .....	29
4.2 Análise microscópica .....	33
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	42
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	43

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b> - Membrana de hidrogel com nanoprata, Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016. ....	22
<b>Figura 2</b> - (A) Campo cirúrgico após tricotomia, demarcação dos vértices da ferida (pontos negros) e antissepsia com clorexidina a 0,5%; (B) Incisão cutânea na área demarcada. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.....	24
<b>Figura 3</b> - (A) Divulsão do tecido subcutâneo do fragmento a ser retirado; (B) Área pronta para colocação da membrana. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.....	25
<b>Figura 4</b> - (A) Colocação da membrana de hidrogel na ferida cirúrgica; (B) Feridas prontas para confecção do curativo. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.....	25
<b>Figura 5</b> - Fragmento da ferida cirúrgica recém removido, com margem de pele íntegra ao redor da área cicatricial. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.....	27
<b>Figura 6</b> - Neoformação tecidual aos três dias pós-operatórios (P3), em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.....	31
<b>Figura 7</b> - Neoformação tecidual aos sete dias pós-operatórios (P7), em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.....	32
<b>Figura 8</b> - Neoformação tecidual aos 11 dias pós-operatórios (P11), em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.....	32
<b>Figura 9</b> – Fotomicrografia de duas das lâminas, uma do GC (A), e a outra do GT (B), aos 11 dias pós-operatórios, com aumento de 20x, mostrando a quantidade de fibroblastos (pequenos pontos escuros na lâmina), classificada como moderada e grande, respectivamente. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016. ....	37
<b>Figura 10</b> – Fotomicrografia de duas das lâminas, uma do GC (A), e a outra do GT (B), aos 11 dias pós-operatórios, com aumento de 20x, mostrando a intensidade de vasos neoformados (setas), com pouca e grande quantidade, respectivamente. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.....	39



**Figura 11** - Fotomicrografia de duas das lâminas, uma do GC (A), e a outra do GT (B), aos 7 dias pós-operatórios, com aumento de 40x, mostrando o número de camadas na transição da pele íntegra para a ferida cirúrgica, com 2 e 10 camadas (setas), respectivamente. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016..... 41

## LISTA DE TABELAS

Pág.

<b>Tabela 1</b> - Valores médios e desvios padrão da formação de crostas aos três (T3), sete (T7) e 11 (T11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. ....	30
<b>Tabela 2</b> - Valores médios e desvios padrão da neoformação tecidual aos três (T3), sete (T7) e 11 (T11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. ....	31
<b>Tabela 3</b> - Valores médios e desvios padrão da hiperemia aos três (T3), sete (T7) e 11 (T11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. ....	33
<b>Tabela 4</b> - Valores médios e desvios padrão da intensidade de inflamação aos três (T3), sete (T7) e 11 (T11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. ....	34
<b>Tabela 5</b> - Valores médios e desvios padrão das células do infiltrado inflamatório aos três (T3), sete (T7) e onze (T11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. ....	34
<b>Tabela 6</b> - Valores médios e desvios padrão da quantidade de colágeno aos três (T3), sete (T7) e 11 (T11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. ....	36
<b>Tabela 7</b> - Valores médios e desvios padrão da quantidade de fibroblastos aos três (T3), sete (T7) e 11 (T11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. ....	36
<b>Tabela 8</b> - Valores médios e desvios padrão da intensidade de edema aos três (T3), sete (T7) e 11 (T11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. ....	38
<b>Tabela 9</b> - Valores médios e desvios padrão da neovascularização aos três (T3), sete (T7) e onze (T11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. ....	39

**Tabela 10** - Valores médios e desvios padrão do número de camadas da epiderme aos três (T3), sete (T7) e 11 (T11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanop prata. .... 40

**GONÇALVES, THIAGO DANTAS GOMES. Uso da membrana biossintética de hidrogel com nanoprata em feridas cutâneas em coelhos.** UFCG. 2016. 45p. (Monografia apresentada ao curso de Medicina Veterinária).

## **RESUMO**

Os animais estão sujeitos a diversos fatores que levam à lesão tecidual, fazendo com que os Médicos Veterinários busquem alternativas para acelerar o processo de reparação tecidual, aumentando a capacidade das células em exercer sua função. O uso da membrana de hidrogel associada à nanoprata tem por função auxiliar no tratamento de feridas cutâneas propiciando o melhor desenvolvimento do tecido de granulação, uma vez que ajuda no processo cicatricial, e possui características favoráveis à redução ou inibição da contaminação das feridas, devido à presença da prata. Objetivou-se com este estudo avaliar clinicamente e histologicamente a cicatrização tecidual da pele, utilizando as membranas de hidrogel com nanoprata em feridas abertas em coelhos da raça Nova Zelândia, na fase de abate. Para isso foram utilizados 18 coelhos, nos quais removeram-se dois segmentos de pele de área 1 cm<sup>2</sup>, formando duas feridas dorsais, uma de cada lado da linha da coluna, das quais a do lado esquerdo foi tratada de modo convencional e considerada como grupo controle (GC) e a do lado direito foi tratada com o implante da membrana de hidrogel com nanoprata, sendo considerada como grupo tratamento (GT). Foram realizadas análises macro e microscópicamente, cujos resultados mostraram que em relação à neovascularização e quantidade de fibroblastos, as feridas do GT apresentaram uma maior intensidade do que as do GC; e em nenhuma das feridas de ambos os grupos foram encontrados macrófagos epitelioides. A membrana de hidrogel com nanoprata favorece a cicatrização e pode ser utilizada em feridas cutâneas abertas, sem alterações indesejáveis.

**PALAVRAS-CHAVE:** Feridas cutâneas, reparação tecidual, leporino.

**GONÇALVES, THIAGO DANTAS GOMES. Use of hydrogel membrane Biosynthetic with nanosilver in skin wounds in rabbits. UFCG. 2016. 45p. (Monograph presented to the Veterinary Medicine Course).**

### **ABSTRACT**

The animals are subject to various factors that lead to tissue damage, causing Veterinarians seek alternatives to accelerate the tissue repair process, increasing the ability of cells to perform its function. The hydrogel with nanosilver membrane assist in treatment of skin wounds providing the best development of granulation tissue, since that stimulates the cicatricial process and has favorable characteristics to the reduction or inhibition of contamination of wounds, due to the presence of silver. The objective of this study was to evaluate clinically and histologically the skin healing, using hydrogel with nanosilver membrane in open wounds in New Zealand rabbits, at the slaughter stage. Were used 18 rabbits in what were removed two skin segments (1 cm<sup>2</sup>), creating two dorsal wounds, one on each side of the column line. The left wound was treated in the conventional mode (control group - CG) and the right wound was treated with the implantation of the hydrogel with nanosilver membrane, being considered as treatment group (TG). Were carried out clinical histopathological analysis, whose results showed that for neovascularization and fibroblast number the TG wounds showed a greater intensity than the CG wounds; and in none of the wounds of both groups were found epithelioid macrophages. The hydrogel with nanosilver membrane it favors tissue healing and can be used in open skin wounds, without undesirable changes.

**KEYWORDS:** skin wounds, tissue repair, leporine.

## 1 INTRODUÇÃO

Os animais estão sujeitos a diversos fatores que causam lesões teciduais, fazendo com que os Médicos Veterinários se preocupem, ou melhor, busquem alternativas que acelerem e protejam o processo de reparação tecidual, aumentando a capacidade das células em exercer sua função.

O uso da membrana de hidrogel tem por função auxiliar no tratamento de feridas cutâneas, propiciando o melhor desenvolvimento do tecido de granulação, o qual é muito importante no processo cicatricial e hidratação da ferida, pois protege e auxilia a reparação de áreas lesadas por permeabilidade seletiva, pelo fato de possuírem polímeros hidrofílicos, com capacidade de absorver grandes quantidades de água sem se dissolverem e redução da contaminação por microorganismos (OWINO et al., 2008 e NETTI et al., 1993).

Desta forma a membrana de hidrogel pode ser mais uma opção para o tratamento de feridas cutâneas, tendo em vista que possui componentes que auxiliam a regeneração tecidual, evitando ações adversas e acelerando todo o processo de cicatrização (PAVLETIC, 2010; FRANCO, 2008 e LIPTAK, 1997).

Objetivou-se com o presente estudo avaliar macro e microscopicamente o efeito da membrana de hidrogel com nanop prata sobre a cicatrização cutânea de feridas abertas induzidas cirurgicamente em coelhos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A bioengenharia tecidual é um campo multidisciplinar que envolve a aplicação de princípios e métodos da engenharia e das ciências da saúde para assistir e acelerar a regeneração e o reparo de tecidos defeituosos ou danificados (TABATA, 2009). Com isso, esses estudos visam criar e aprimorar novas terapias e/ou desenvolver novos biomateriais que melhorem, restaurem ou impeçam o agravamento da função tecidual comprometida (SACHLOS; CZERNUSZKA, 2003; MARINS et al., 2004), possuindo, assim, diversas aplicações, como em situações com grande perda de integridade tecidual resultante de traumas, deformidades do desenvolvimento e doenças (YOUNG et al., 2007).

Assim, o principal objetivo da bioengenharia é superar as limitações dos tratamentos convencionais vigentes, baseados na cirurgia reconstrutora ou no transplante de órgãos. Sobretudo, sendo capaz de produzir substitutos para órgãos e tecidos que apresentem tolerância imunológica, o que possibilita sua implantação no paciente sem risco de rejeição pelo organismo (SACHLOS; CZERNUSZKA, 2003).

### 2.1 Hidrogéis

As membranas biossintéticas apresentam boa aceitação pelo organismo, protegendo e auxiliando a reparação de áreas lesadas por permeabilidade seletiva, como também agem impedindo a contaminação por microorganismos (ASLAN, 2004; CARVALHO et al., 2003).

Segundo Owino et al., (2008) hidrogéis são materiais poliméricos hidrofílicos, por possuírem a capacidade de absorver grandes quantidades de água sem se dissolverem. Os hidrogéis, quando em meio aquoso, intumescem, até atingirem um volume de equilíbrio, preservando a sua integridade (BAVARESCO, 2002).

Sua propriedade hidrofílica deve-se à presença de grupos em sua estrutura química que apresentam afinidade em ligar-se a moléculas de água. Seu aspecto macio e elástico é determinado pelo monômero hidrofílico básico e pela concentração de agentes de reticulação (NETTI et al., 1993).

Sua estrutura polimérica tridimensional, geralmente não cristalina, apresenta ligações covalentes fortes e ligações iônicas fracas, conferindo ao material a sua insolubilidade, bem como a estabilidade em presença de água (MALMONGE et al., 2000).

O hidrogel original, um copolímero de 2-hidroxietil metacrilato (poliHEMA) e etilenoglicoldimetacrilato foi desenvolvido por Wichterle e Lim em 1954 e sua base serviu para a confecção da primeira lente de contato gelatinosa, em 1961 (WHEELER, 1996).

De acordo com Pavletic (2010) e Franco (2008), os curativos de hidrogel são compostos por 70 a 95% de água retida em uma rede de fibras umectantes e vários polímeros hidrofílicos, que absorvem soluções aquosas pela formação de pontes de hidrogênio com a água, e são importantes para manter o meio na umidade adequada.

São sintetizados a partir de monômeros, de pré-polímeros e também de outros polímeros hidrofílicos existentes, formando redes hidrofílicas tridimensionais através de suas reações (OWINO et al., 2008). Podem ser sintetizados associados a outros produtos como alginato ou colágeno e agentes antimicrobianos como prata, metronidazol e sulfadiazina de prata, que vem sendo adicionados aos curativos de hidrogel para prevenir ou tratar pequenas infecções (PAVLETIC, 2010).

De acordo com Smaniotto (2012) e Franco (2008), os íons de prata causam a precipitação de proteínas atuando diretamente na membrana citoplasmática das células bacterianas, possuindo assim, ação bactericida imediata, e ação bacteriostática residual, por liberar pequenas quantidades de prata iônica, possibilitando trocas menos frequentes. São indicados em casos de queimaduras ou em feridas que necessitem de ação antibacteriana. Os curativos realizados com pomadas de prata podem apresentar aspecto purulento devido à sua oxidação sem, contudo, apresentar infecção real.

Os hidrogéis poliméricos podem ser preparados dentro de uma grande variedade morfológica, sem alterar suas propriedades físicas. Portanto, podem ser produzidos em formas de esponjas, géis não esponjosos, filmes opticamente transparentes, líquidos que podem ser polimerizados na forma de géis e como recobrimentos de vários tipos de substratos (HSIUE et al., 2001; MALMONGE et al., 1999).

Malmonge et al., (1999) e Netti (1993) afirmam ainda que os hidrogéis de origem natural ou artificial, quando secos, são quebradiços e apresentam aspecto vítreo, tornando-se elásticos ao entrarem em contato com líquidos. O hidrogel desidratado, quando imerso em água, absorve-a até atingir um equilíbrio entre as forças favoráveis à entrada de líquidos na estrutura polimérica.



Essa membrana forma uma cobertura de gel protetor de capacidade absorviva limitada e pode ser considerada um curativo interativo, pois tem a habilidade de hidratar a ferida e facilitar o desbridamento autolítico. Os hidrogéis auxiliam a cicatrização por segunda intenção e reduzem o desconforto do paciente, sendo melhor empregados em ferimentos livres de infecção e tecido necrótico excessivo (PAVLETIC, 2010; LIPTAK, 1997).

Para Franco (2008) os hidrogéis devem ser utilizados em feridas superficiais que apresentam pouca ou nenhuma exsudação, sendo necessário a remoção das crostas, fibrinas, tecidos desvitalizados ou necrosados. Para a sua aplicação, deve-se lavar o leito da ferida, aplicar a membrana e ocluir a ferida com cobertura secundária estéril. Os hidrogéis agem amolecendo e removendo o tecido desvitalizado através de desbridamento autolítico, estimulando a angiogênese e acelerando o processo de granulação tecidual.

Dependendo da quantidade de exsudato e da ausência de infecção, as membranas devem ser trocadas a cada um a quatro dias. Não devem ser utilizadas em feridas contaminadas devido às suas propriedades oclusivas (PAVLETIC, 2010; FRANCO, 2008; LIPTAK, 1997).

De acordo com Smaniotto (2012) e Franco (2008) os curativos de hidrogéis desidratam rapidamente e a sua utilização em pele íntegra e incisões cirúrgicas fechadas não é recomendada.

Boles, Lyra e Flório (2008) realizaram estudo em ratos submetidos a queimaduras no dorso, onde foram formados 3 grupos: (A) tratados com Burnshield® (hidrogel à base de melaleuca), (B) tratados com água corrente por 15 minutos e (C) não tratados. Os autores afirmaram que as lesões dos animais do grupo A apresentaram melhor evolução quando comparadas às dos demais grupos, mostrando a eficácia do hidrogel à base de melaleuca no tratamento inicial de queimaduras.

Oliveira (2013) realizou um estudo no qual foram sintetizadas membranas de hidrogéis com poli (N-2- pirolidona) (PVP), poli (álcool vinílico) (PVAI), quitosana e argila laponita em encapsulamento do fármaco para liberação controlada de glucantime sobre a superfície cutânea de tecidos lesados por leishmaniose. O estudo comprovou a eficiência das membranas na liberação controlada de fármacos diretamente nas superfícies lesadas pela leishmaniose. Além disso, observou-se que as membranas de hidrogel de PVAI/PVP/argila/glucantime e PVAI/PVP/glucantime assim aplicadas tiveram evidente contribuição para a redução do ferimento.

## **2.2 Cicatrização**

A cicatrização de feridas é um processo de reparo que pode ser descrito em uma série de etapas, que ocorrem continuamente em um estado de interação. O início da reparação tecidual se dá pela liberação de citocinas através das plaquetas, e intensifica-se com a chegada de macrófagos, células endoteliais e fibroblastos (PAVLETIC, 2007).

Para Macphail (2014), trata-se de uma combinação de eventos físicos, químicos e celulares restaurando um tecido lesado ou substituindo-o por colágeno, iniciado imediatamente após a lesão ou a incisão. Este processo acontece de forma dinâmica, ocorrendo várias fases simultaneamente.

Segundo Pavletic (2007) o processo de reparação tecidual é dividido em uma série de fases, de limites não muito distintos, mas sobrepostas no tempo: fase de hemostasia (coagulação); fase inflamatória; fase proliferativa e fase de maturação.

### **2.2.1 Fase de hemostasia**

Após a lesão, a hemorragia limpa e preenche os ferimentos. Depois de 5 a 10 minutos ocorre dilatação dos vasos e saída de células e líquido intravascular para o espaço extravascular por diapedese (MACPHAIL, 2014; PAVLETIC, 2007).

No fim dessa fase há a ativação plaquetária e posterior recrutamento de novas plaquetas, formando o coágulo, no qual a fibrina e os eritrócitos infiltram-se, para estabilizarem as bordas da ferida, restabelecendo a hemostase e fornecendo um ambiente para que as plaquetas secretem fatores de crescimento, citocinas e elementos da matriz extracelular, formando um gradiente quimiotático que orienta a migração das células envolvidas com a resposta inflamatória (PAVLETIC, 2007; BALBINO et al., 2005)

### **2.2.2 Fase inflamatória**

Para Lima et al., (2007) a inflamação é uma resposta de defesa que ocorre após um dano celular causado por micróbios, agentes físicos, químicos, necrose tecidual e/ou reações imunológicas. Vários tipos celulares participam do processo inflamatório, como neutrófilos,

macrófagos, mastócitos, linfócitos, plaquetas, células dendríticas, células endoteliais e fibroblastos.

Em torno de 6 a 12 horas após a lesão, aparecem os neutrófilos e monócitos no ferimento, respectivamente (MACPHAIL, 2014).

Os neutrófilos ativados liberam citocinas, junto com os produtos da degradação da matriz extracelular e proteínas inflamatórias, promovendo o recrutamento de monócitos, que ao chegarem na ferida transformam-se em macrófagos, capazes de produzir muitas citocinas inflamatórias e radicais livres, que podem mediar a lesão tecidual no processo de reparo de feridas, fazendo o debridamento do local da ferida devido sua ação fagocítica (PAVLETIC, 2007).

Durante o processo inflamatório, os monócitos são ativados para se tornarem células com função fagocítica, tornando-se macrófagos, que podem ser fixos ou apresentarem capacidade de deslocamento ameboide, podendo ainda, em condições patológicas, se apresentarem isolados, com padrão epitelióide ou de células gigantes multinucleadas, dependendo do desafio fagocítico. Geralmente, participam na fase final do processo inflamatório agudo, fagocitando patógenos, nos casos de infecção, detritos celulares ou contribuindo para o reparo tecidual através da liberação de citocinas que induzem neovascularização ou recrutamento de fibroblastos com formação subsequente da matriz extracelular (LIMA et al., 2007).

### **2.2.3 Fase proliferativa**

Esta fase inicia-se por volta do 3º dia após a lesão, podendo durar por até 3 semanas. Ocorre a formação de tecido de granulação, constituído por um leito capilar, fibroblastos, macrófagos, colágeno, fibronectina e ácido hialurônico, que preenche o defeito tecidual, protegendo a ferida e promovendo a formação de uma barreira contra a infecção e uma superfície para a migração de células epiteliais sobre ela (TAZIMA; VICENTE; MORIYA, 2008). O aspecto branco e a presença de um alto teor de tecido fibroso com pouca formação de capilares caracterizam um tecido de granulação não saudável (MACPHAIL, 2014).

Os linfócitos aparecem no final dessa fase, mais tardiamente que os neutrófilos e macrófagos, melhorando a velocidade e a qualidade do reparo tecidual (MACPHAIL, 2014).

### 2.2.3.1 Angiogênese

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), estimula a migração de células endoteliais e formação de capilares (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

Ocorre formação de novos capilares a partir dos vasos preexistentes nas áreas que antes não possuíam tecido vascular, através da divisão celular por mitose das células, reconstruindo o tecido e permitindo a migração de colunas de células endoteliais capilares na direção do local da lesão (PAVLETIC, 2007).

### 2.2.3.2 Fibroplasia

Nesta fase, ocorre a proliferação dos fibroblastos próximos a área lesionada, estimulados pelas citocinas liberadas pelos macrófagos. Os fibroblastos tem como função a produção da matriz extracelular no local da ferida, matriz essa que é substituída gradualmente por uma matriz extracelular colagenosa, como também responsável pela produção de colágeno do tipo I, tornando-se o principal constituinte da ferida. O grande número de fibroblastos no tecido de granulação forma uma cicatriz relativamente acelular à medida que as células na ferida sofrem apoptose (PAVLETIC, 2007).

Os fibroblastos têm a função de produzirem e degradarem continuamente o colágeno, material responsável pela sustentação e pela força tênsil da cicatriz (TAZIMA; VICENTE; MORIYA, 2008).

### 2.2.3.3 Epitelização

Nessa fase ocorre a mobilização e a migração de células epiteliais na margem da ferida, seguida pela proliferação das células epiteliais. A migração das células epiteliais sobre a cicatriz requer a degradação da matriz extracelular, induzida pelas células epiteliais e ativação da plasmina pelo ativador do plasminogênio, produzido pelas células epidérmicas (PAVLETIC, 2007).

Em ambientes úmidos, a epitelização ocorre com uma maior velocidade do que em ambientes secos, e a mesma não ocorre em tecido inviável (MACPHAIL, 2014).

## **2.2.4 Fase de maturação**

### **2.2.4.1 Contração**

É a fase de redução do tamanho da ferida, correspondente às alterações na tensão da ferida e do tecido circundante, a qual inicia-se entre 5 e 9 dias depois da lesão (PAVLETIC, 2007). Essa fase ocorre simultaneamente com a granulação e a epitelização (MACPHAIL, 2014).

### **2.2.4.2 Maturação e remodelamento**

A quantidade de coágulo na ferida fornece uma retroalimentação negativa para o acúmulo de matriz extracelular. Primeiramente ocorre a diminuição da quantidade de colágeno através de enzimas proteolíticas liberadas pelos macrófagos, pelas células epiteliais, endoteliais e fibroblastos dentro da matriz extracelular, controlando a velocidade de degradação do colágeno na ferida (PAVLETIC, 2007).

A cicatrização tem sucesso quando há equilíbrio entre a síntese da nova matriz e a lise da matriz antiga. A força tênsil da ferida jamais retornará a 100%, atingindo em torno de 80% após três meses (CAMPOS et al., 2007; MACPHAIL, 2014).

### **2.3 Fatores deletérios à cicatrização**

O processo de reparação tecidual pode ser influenciado pela ocorrência de fatores como, isquemia, infecção, falha da técnica cirúrgica, corpo estranho e edema, diabetes melito, deficiências vitamínicas, hipotireoidismo, doenças hereditárias, alterações da coagulação, idade, trauma grave, queimaduras, sepse, insuficiência hepática e renal, insuficiência respiratória, desnutrição e o uso de corticosteróides, drogas antineoplásicas, uso de antiinflamatórios não esteroidais e uso de fármacos citotóxicos e radioterapia (CAMPOS et al., 2007; PAVLETIC, 2007).

A irrigação e inervação, o tamanho e a localização da lesão, aposição e mobilização da ferida estão relacionados com o processo de reparação tecidual, e quanto mais especializado for um tecido, menor a capacidade regenerativa de suas células (VASCONCELOS, 2006).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), protocolo número 322-2015, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e desenvolvido no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, no setor de Cirurgia de Pequenos Animais e no Laboratório de Patologia Animal, no período compreendido entre o dia 01 de abril a 30 de agosto de 2016.

#### 3.1 Aquisição das membranas

As membranas de hidrogel com nanop prata (Figura 1), esterilizadas em radiação gama, foram fornecidas pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), São Paulo, SP.



**Figura 1** - Membrana de hidrogel com nanop prata,

Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG,  
Patos-PB, 2016.

### 3.2 Aquisição e adaptação dos animais

Foram utilizados 18 coelhos machos, com peso de abate, variando de 1,8 kg à 2,1 kg, submetidos ao exame clínico (exame físico completo) para constatação da higidez, da raça Nova Zelândia, que foram alocados em gaiolas individuais, onde ficaram confinados, recebendo ração<sup>1</sup> comercial concentrada específica para coelhos, volumoso à base de capim tifton (*Cynodon dactylon*) desidratado e água à vontade, respeitando um período de 10 dias para adaptação ao manejo.

### 3.3 Pré-operatório

Cada animal foi submetido a jejum sólido por seis horas e líquido por duas horas, e, após a pesagem, foi medicado com meloxicam<sup>2</sup> diluído a 0,2%, na dose de 0,1 mg/kg e ceftriaxona<sup>3</sup> sódica a 1%, na dose de 30 mg/kg, ambos por via intramuscular (IM). Em seguida, foi anestesiado com xilazina<sup>4</sup> a 2%, na dose de 5 mg/kg, cetamina<sup>5</sup> a 10%, na dose de 50 mg/kg, ambas na mesma seringa, administradas por via IM. Logo após a prostração do animal, realizou-se tricotomia da região dorsal, colocaram-se os animais em decúbito esternal na mesa cirúrgica forrada com colchão térmico e realizou-se bloqueio local subcutâneo em “L invertido” com lidocaína<sup>6</sup> a 2% com vasoconstrictor, na dose de 9 mg/kg, na região dorsal, cerca de 0,5 cm da demarcação dos vértices das feridas cirúrgicas. Em seguida, procedeu-se à antissepsia com clorexidina<sup>7</sup> a 0,5% (Figura 2A) e a colocação do pano de campo operatório.

---

<sup>1</sup> (doSítio Coelho) Fabricado por Guabi nutrição e saúde animal, Campinas, SP.

<sup>2</sup> Maxicam 0,2% (Meloxicam a 0,2%); Laboratório Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP.

<sup>3</sup> Ceftriaxona sódica (Ceftriaxona sódica hemieptaidratada a 1%); Laboratório Eurofarma, São Paulo, SP.

<sup>4</sup> Anasedan (Cloridrato de xilazina a 2%), Laboratório Ceva Santé Animale, Paulínea, SP.

<sup>5</sup> Dopalen (Cloridrato de ketamina a 10%); Laboratório Ceva Santé Animale, Paulínea, SP.

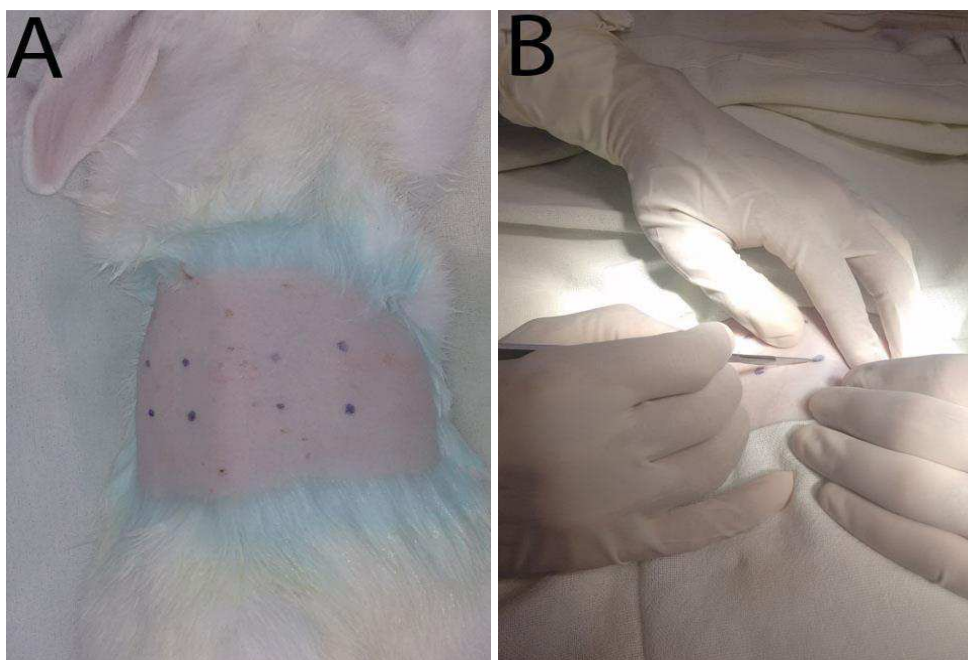
<sup>6</sup> Anestex Fagra (Cloridrato de lidocaína mais epinefrina a 2%); Laboratório Farmagráfica, Mairiporã, SP.

<sup>7</sup> Antisséptico (Gliconato de Clorexidina a 0,5% Alcoólica) Laboratório Vic Pharma; Taquaritinga, SP.

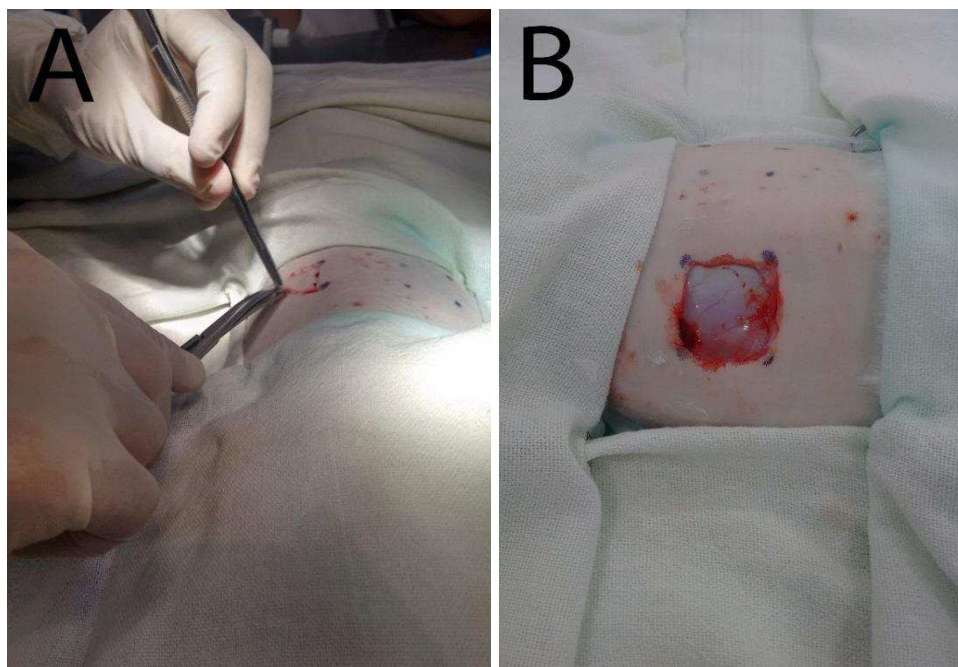


### 3.4 Trans-operatório

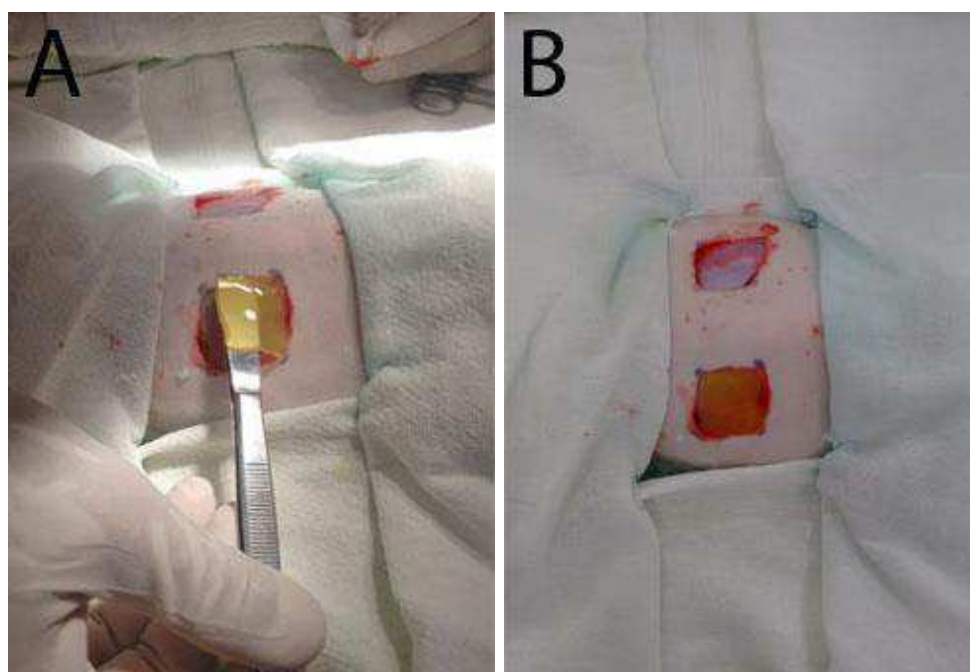
Com o bisturi, realizou-se a incisão na pele (Figura 2B), sobre a demarcação previamente feita com caneta piloto (Figura 2A), divulsionou-se o tecido subcutâneo (Figura 3A) e removeram-se dois segmentos de pele de área 1 cm<sup>2</sup>, um de cada lado da linha da coluna, a 2,5 centímetros desta, expondo a fáscia muscular dorsal (Figura 3B). Ato contínuo, implantou-se a membrana de hidrogel com nanop prata nas feridas cirúrgicas do lado direito, as quais compuseram o grupo tratamento (GT) (Figura 4A e 4B). Na ferida do lado oposto nada foi implantado, compondo o grupo controle (GC). Em seguida, as feridas cirúrgicas foram cobertas com compressas de gaze estéril, que foram fixadas por uma bandagem compressiva sobre ambas as feridas.



**Figura 2** - (A) Campo cirúrgico após tricotomia, demarcação dos vértices da ferida (pontos negros) e antissepsia com clorexidina a 0,5%; (B) Incisão cutânea na área demarcada. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.



**Figura 3** - (A) Divulsão do tecido subcutâneo do fragmento a ser retirado; (B) Área pronta para colocação da membrana. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.



**Figura 4** - (A) Colocação da membrana de hidrogel na ferida cirúrgica; (B) Feridas prontas para confecção do curativo. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.

Após a cirurgia, os animais foram distribuídos aleatoriamente para compor três períodos experimentais: três, sete e 11 dias pós-operatórios, denominados P3, P7 e P11, respectivamente.

### **3.5 Pós-operatório**

Administrou-se meloxicam<sup>8</sup> diluído a 0,2%, na dose de 0,1 mg/kg, a cada 24 horas, durante os dois primeiros dias pós-operatórios.

A troca dos curativos foi realizada a cada dois dias do pós-operatório, sendo os curativos retirados após o umedecimento com solução de NaCl a 0,9%, para evitar o descolamento da membrana da ferida ou agressão aos tecidos em regeneração. Em seguida, as duas feridas foram lavadas com a mesma solução, reimplantou-se a membrana de hidrogel na ferida do GT e recobriram-se ambas as feridas com gazes estéreis, que foram fixadas por uma bandagem compressiva.

### **3.6 Avaliação clínica / macroscópica**

Em todos os animais, a avaliação clínica macroscópica das feridas cirúrgicas foi realizada a cada dois dias, verificando a presença ou ausência de formação de crostas, neoformação tecidual e hiperemia. Nesta avaliação, empregaram-se os seguintes escores, adaptados de Salgado (2007): (0) ausência do parâmetro avaliado; (1) presença do parâmetro avaliado em pequena quantidade; (2) presença do parâmetro avaliado em quantidade moderada; e (3) presença do parâmetro avaliado em grande quantidade.

### **3.7 Obtenção do material para estudo histológico**

Para a avaliação da cicatrização dos tecidos os animais foram submetidos à eutanásia de acordo com o período experimental (P3, P7 ou P11). Para isso, os animais foram sedados com cloridrato de xilazina<sup>9</sup>, na dose de 5 mg/kg, via IM e, 10 minutos após, a anestesia foi

---

<sup>8</sup> Maxicam 0,2% (Meloxicam a 0,2%); Laboratório Ouro Fino Saúde Animal, Fabricado em Cravinhos, SP.

<sup>9</sup> Anasedan (Cloridrato de xilazina a 2%), Laboratório Ceva Santé Animale, Fabricado em Paulínea, SP.

induzida com propofol<sup>10</sup> a 1%, na dose de 4 mg/kg, via intravenosa (IV). Logo após a indução anestésica administrou-se cloreto de potássio<sup>11</sup>, na dose de 1 mg/kg, por via IV.

Confirmada a morte do animal, procedeu-se à identificação da área do ferimento e a remoção da área cicatricial, com margem de um centímetro de pele sadio ao redor desta (Figura 5). Em seguida, a peça removida foi colocada em recipiente com formol tamponado a 10% por 48 horas.



**Figura 5** - Fragmento da ferida cirúrgica recém removido, com margem de pele íntegra ao redor da área cicatricial. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.

A peça cirúrgica fixada em formol foi submetida ao procedimento histológico de rotina, que incluiu as etapas de desidratação, diafanização e inclusão em parafina. Cortes transversais com cinco micrômetros foram obtidos com micrótomo rotativo e depois aderidos às lâminas histológicas, sendo corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE).

---

<sup>10</sup> Propovet (Propofol a 1%); Laboratório Ceva Santé Animale, Fabricado em Paulínea, SP.

<sup>11</sup> Cloreto de potássio 100mg/mL; Laboratório Halexlstar; Fabricado em Goiânia, GO.

### **3.8 Avaliação histopatológica**

A análise dos cortes histológicos foi realizada em microscópio binocular Nikon eclipse E200, sem conhecimento do grupo ou período experimental ao qual cada fragmento pertencia. O campo histológico foi avaliado utilizando a lente de 20x e 40x.

As lâminas histológicas foram avaliadas levando em consideração os seguintes critérios: intensidade da inflamação, infiltrado celular no leito da ferida (neutrófilos, macrófagos, linfócitos, eosinófilos, plasmócitos), quantidade de colágeno, de fibroblastos, de edema e de neovascularização, utilizando os seguintes escores, adaptados de Salgado (2007): (0) ausência do parâmetro avaliado; (1) presença do parâmetro avaliado em discreta quantidade (presente em menos de 25% do campo); (2) presença do parâmetro avaliado em quantidade moderada (presente em 26% a 50% do campo); e (3) presença do parâmetro avaliado em acentuada quantidade (presente em 51% a 100% do campo).

Já para a avaliação do número de camadas da epiderme, foi realizada a contagem do número de camadas na transição do tecido íntegro com o tecido neoformado da ferida cirúrgica, usando como comparativo a média do número de camadas da pele íntegra dos coelhos.

### **3.9 Análise estatística**

A análise estatística foi realizada em microcomputador, empregando o programa Graphpad InStat. As comparações entre os momentos experimentais dentro de cada grupo foram realizadas empregando a análise de variância para amostras repetidas, seguida pelo teste de Friedman. Para comparação entre os grupos, em cada momento experimental empregou-se o teste *t* de Student para amostras independentes. Ambos os testes foram aplicados ao nível de 5% de significância.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise Macroscópica

Todos os animais recuperaram-se espontaneamente das cirurgias, não se observando quaisquer sinais de infecção, conforme visto nos estudos de Smaniotto (2012) e Franco (2008), onde afirmam que os íons de prata causam a precipitação de proteínas, atuando diretamente na membrana citoplasmática das células bacterianas, possuindo assim ação bactericida imediata e ação bacteriostática residual.

Durante o trans-operatório não houve nenhuma falha asséptica e nenhuma complicação cirúrgica que comprometesse os resultados finais do experimento. No pós-operatório todos os animais apresentaram um bom estado geral de saúde. Em virtude do exposto, mostra-se a necessidade da utilização de técnicas assépticas no pré e trans-operatório, pois é fundamental para que não haja contaminação da ferida, a qual prejudicaria as fases da cicatrização, conforme visto no estudo de Moriya; Módena (2008), que afirmam que a antissepsia é a destruição de micro-organismos existentes nas camadas superficiais ou profundas da pele.

Em relação à formação de crostas, tanto no GC como no GT a quantidade de formação de crostas no P11 foi maior que no P3 ( $P < 5$ ), sendo que todas as demais comparações foram não significativas ( $P > 5$ ). Ocorreu diferença significativa ( $P < 5$ ) na quantidade de crostas formadas apenas no P11, quando a média do GC foi maior que a do GT, como visto na Tabela 1. Branco Neto et al. (2006) e Bevilacqua (1984), citam que a solução de continuidade criada pela remoção do fragmento de pele é inicialmente preenchida por restos necróticos e coágulo, fibrina e exsudato inflamatório, que originam a crosta fibrinoleucocitária. A menor quantidade de crostas observada no GT, pode ser devida às propriedades hidrofílicas do hidrogel com nanop prata, que aumenta a absorção de líquidos da ferida, além de amolecer e remover o tecido desvitalizado, estimulando a angiogênese e acelerando o processo de granulação tecidual como visto por Franco (2008) e Netti et al., (1993). Além disso, a membrana de hidrogel serve também como barreira mecânica para a entrada de microrganismos, com isso, esse resultado pode ser considerado benéfico para o processo cicatricial.

**Tabela 1** - Valores médios e desvios padrão da formação de crostas aos três (P3), sete (P7) e onze (P11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata, no período de 01 de agosto a 30 de agosto de 2016.

Grupo experimental	Período de avaliação		
	P3	P7	P11
GT	0 ± 0	0,5 ± 0,5	1,2 ± 0,8*#
GC	0,2 ± 0,4	1 ± 1,1	2,2 ± 0,8*

\* Estatisticamente diferente do P3, no mesmo grupo;

# Estatisticamente diferente do GC, no mesmo momento experimental;

GT - Grupo tratamento;

GC - Grupo controle;

P3 - Período experimental de três dias;

P7 - Período experimental de sete dias;

P11 - Período experimental de onze dias.

Quanto à neoformação tecidual, não houve diferença estatística significativa ( $P > 5$ ) entre os grupos, nem entre os momentos em cada grupo, e a intensidade de tecido neoformado foi considerada moderada (Tabela 2 e Figuras 6 e 7). Estudos feitos por Franco (2008) e Owino et al. (2008), mostram que os hidrogéis possuem a capacidade de estimular a angiogênese e acelerar o processo de granulação tecidual, o que não foi observado no presente estudo, já que os grupos equivaleram-se estatisticamente quanto a este parâmetro. Por outro lado, clinicamente pôde-se verificar uma clara estimulação à cicatrização no GT (Figura 8).



**Tabela 2** - Valores médios e desvios padrão da neoformação tecidual aos três (P3), sete (P7) e onze (P11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata, no período de 01 de agosto a 30 de agosto de 2016.

Grupo experimental	Período de avaliação		
	P3	P7	P11
GT	1,5 ± 0,5	2,2 ± 0,8	2,7 ± 0,5
GC	0,5 ± 0,8	1,2 ± 1,0	2,3 ± 0,8

GT - Grupo tratamento;  
 GC - Grupo controle;  
 P3 - Período experimental de três dias;  
 P7 - Período experimental de sete dias;  
 P11 - Período experimental de onze dias.



**Figura 6** - Neoformação tecidual aos três dias pós-operatórios (P3), em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.





**Figura 7** - Neoforção tecidual aos sete dias pós-operatórios (P7), em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.



**Figura 8** - Neoforção tecidual aos 11 dias pós-operatórios (P11), em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.

Quanto à avaliação da hiperemia, não houve diferença significativa ( $P > 5$ ) em nenhuma comparação tanto entre períodos dentro de cada grupo, como entre grupos em cada período como visto na Tabela 3. Sendo aceito positivamente, já que as feridas dos animais do GT, mantiveram a similaridade ao processo fisiológico normal, o que denota que o hidrogel com nanoprata não interfere sobre este parâmetro.

**Tabela 3** - Valores médios e desvios padrão da hiperemia aos três (P3), sete (P7) e onze (P11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata, no período de 01 de agosto a 30 de agosto de 2016.

Grupo experimental	Período de avaliação		
	P3	P7	P11
GT	1,5 ± 0,8	1,2 ± 0,4	0,5 ± 0,5
GC	0,7 ± 0,8	0,8 ± 0,8	0,5 ± 0,5

GT - Grupo tratamento;  
 GC - Grupo controle;  
 P3 - Período experimental de três dias;  
 P7 - Período experimental de sete dias;  
 P11 - Período experimental de onze dias.

Em nenhuma das avaliações macroscópicas realizadas foram observados efeitos adversos que pudessem ser atribuídos à implantação da membrana de hidrogel com nanoprata, o que confere pontos positivos e aceitáveis ao seu emprego na reparação tecidual de feridas cutâneas.

#### 4.2 Análise microscópica

De acordo com os resultados obtidos quanto à avaliação da intensidade da inflamação, não houve diferença significativa ( $P > 5$ ) em nenhuma comparação, nem entre períodos dentro de cada grupo, nem entre grupos em cada período. A inflamação foi considerada de pequena a moderada, como visto na Tabela 4. Lima et al. (2007) citam que a inflamação é uma resposta de defesa que ocorre após um dano celular causado por micróbios, agentes físicos, químicos, necrose tecidual e/ou reações imunológicas, tendo a participação de várias células durante o processo. Desta forma, pode-se considerar o resultado obtido no presente experimento como positivo, já que o hidrogel com nanoprata não influenciou negativamente o processo fisiológico normal da inflamação.

**Tabela 4** - Valores médios e desvios padrão da intensidade de inflamação aos três (P3), sete (P7) e onze (P11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanop prata, no período de 01 de agosto a 30 de agosto de 2016.

Grupo experimental	Período de avaliação		
	P3	P7	P11
GT	1 ± 0,6	1,7 ± 0,5	2,2 ± 0,8
GC	1 ± 0	1,5 ± 0,5	1,7 ± 0,5

GT - Grupo tratamento;  
 GC - Grupo controle;  
 P3 - Período experimental de três dias;  
 P7 - Período experimental de sete dias;  
 P11 - Período experimental de onze dias.

Nos resultados da análise do infiltrado celular no leito da ferida foram identificados células de defesa (neutrófilos, macrófagos, eosinófilos, linfócitos e plasmócitos) em ambos os grupos, sem diferença significativa ( $P > 5$ ) entre eles nem entre períodos dentro de cada grupo, como pode ser visto na Tabela 5. Estas células são importantes para todo o processo cicatricial, conforme Mendonça; Coutinho-Netto (2009), que afirmam que a cicatrização é um processo complexo que envolve a organização de células, sinais químicos e matriz extracelular, além de produzirem fatores de crescimento, que preparam a ferida para as fases subsequentes. Em nenhum dos animais dos dois grupos foram encontradas macrófagos do tipo epitelióide, os quais, segundo os estudos de Lima et al. (2007), são encontrados em feridas com condições patológicas, o que sugere não ter havido reação adversa da membrana implantada no organismo animal.

**Tabela 5** - Valores médios e desvios padrão das células do infiltrado inflamatório aos três (P3), sete (P7) e onze (P11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos

tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata, no período de 01 de agosto a 30 de agosto de 2016.

Tipo de célula	Grupo experimental	Período de avaliação		
		P3	P7	P11
Macrófago	GT	0,8 ± 0,4	1 ± 1,1	1,3 ± 0,8
	GC	1 ± 0	0,7 ± 0,8	1,3 ± 0,5
Neutrófilos	GT	1,3 ± 0,5	1,2 ± 0,4	0,8 ± 1
	GC	1,3 ± 0,5	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,8
Linfócitos	GT	0 ± 0	0,3 ± 0,5	0,5 ± 0,5
	GC	0,3 ± 0,5	0 ± 0	0,3 ± 0,5
Plasmócitos	GT	0 ± 0	0,3 ± 0,8	0 ± 0
	GC	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,5	0 ± 0
Eosinófilos	GT	0,2 ± 0,4	0,7 ± 0,5	0,7 ± 0,5
	GC	0,2 ± 0,4	0,8 ± 0,8	1,2 ± 0,4

GT - Grupo tratamento;  
 GC - Grupo controle;  
 P3 - Período experimental de três dias;  
 P7 - Período experimental de sete dias;  
 P11 - Período experimental de onze dias.

A quantidade de colágeno na ferida foi considerada pequena e não variou significativamente ( $P > 5$ ) entre grupos nem entre momentos, como visto na Tabela 6. Já a quantidade de fibroblastos no P11 do GT foi significativamente maior ( $P < 5$ ) que no P3 do mesmo grupo e que o mesmo período experimental do GC, ao passo que todas as demais comparações foram não significativas ( $P > 5$ ) (Tabela 7 e Figura 9). A quantidade de fibroblastos foi considerada pequena no P3 e moderada no P7 de ambos os grupos, ao passo que no P11 foi pequena no GC e grande no GT. Os resultados obtidos no presente experimento são considerados positivos, já que, quanto ao colágeno, no GT manteve a

similaridade com o processo fisiológico normal e, quanto aos fibroblastos, os resultados encontrados no momento final (P11), demonstraram o estímulo causado pelo hidrogel com nanoprata sobre a produção destas células, o que é benéfico, por se conhecer a importância das mesmas no processo cicatricial, conforme visto nos estudos Tazima; de Vicente; Moriya (2008), os quais reforçam as características benéficas dos fibroblastos e do colágeno na manutenção, sustentação e força tênsil do processo cicatricial.

**Tabela 6** - Valores médios e desvios padrão da quantidade de colágeno aos três (P3), sete (P7) e 11 (P11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata, no período de 01 de agosto a 30 de agosto de 2016.

Grupo experimental	Período de avaliação		
	P3	P7	P11
GT	0,2 ± 0,4	0,5 ± 0,8	0,2 ± 0,4
GC	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,5	0,5 ± 0,8

GT - Grupo tratamento;  
 GC - Grupo controle;  
 P3 - Período experimental de três dias;  
 P7 - Período experimental de sete dias;  
 P11 - Período experimental de onze dias.

**Tabela 7** - Valores médios e desvios padrão da quantidade de fibroblastos aos três (P3), sete (P7) e onze (P11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanoprata, no período de 01 de agosto a 30 de agosto de 2016.

Grupo experimental	Período de avaliação		
	P3	P7	P11

GT	0,5 ± 0,4	1,8 ± 1,2	2,5 ± 0,5*#
GC	0,7 ± 0,5	2,0 ± 1,3	1,3 ± 0,8

\* Estatisticamente diferente do P3, no mesmo grupo;

# Estatisticamente diferente do GC, no mesmo momento experimental;

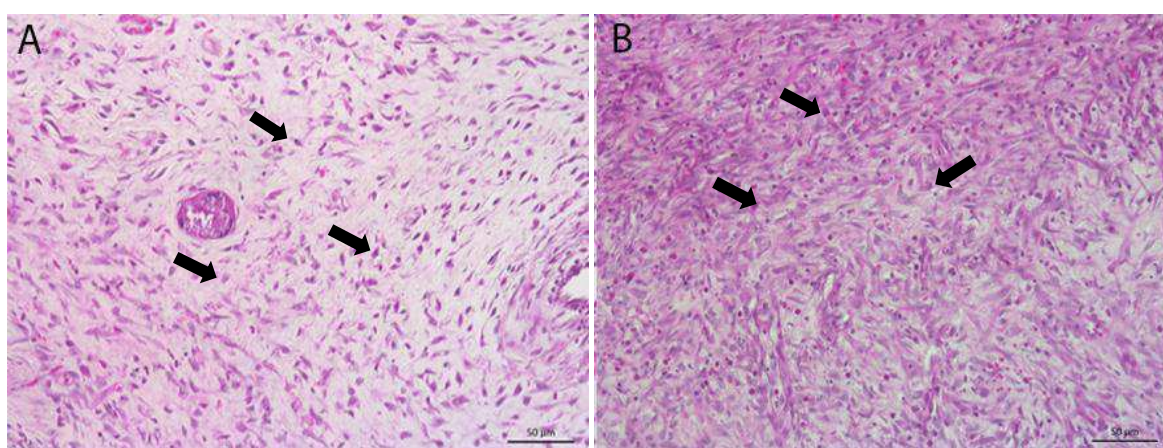
GT - Grupo tratamento;

GC - Grupo controle;

P3 - Período experimental de três dias;

P7 - Período experimental de sete dias;

P11 - Período experimental de onze dias.



**Figura 9** – Fotomicrografia de duas lâminas, uma do GC (A) e outra do GT (B), aos 11 dias pós-operatórios, com aumento de 20x, mostrando a quantidade de fibroblastos (setas), classificada como moderada e acentuada, respectivamente. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.

Quanto ao edema, não houve diferença significativa ( $P > 5$ ) em nenhuma comparação entre períodos dentro de cada grupo, nem entre grupos em cada período (Tabela 8) e este parâmetro foi considerado discreto no P3 e moderado no P7 e P11. Segundo Acevedo-Bogado et al. (2001), a hipóxia contribui na produção de metabólitos tóxicos e na vasodilatação e aumento da permeabilidade capilar, o que favorece a instalação do edema. Uma vez que a intensidade do edema foi a mesma em ambos os grupos, denota-se que o

hidrogel com nanop prata manteve a similaridade ao processo fisiológico normal, não demonstrando reação negativa no processo cicatricial.

**Tabela 8** - Valores médios e desvios padrão da intensidade de edema aos três (P3), sete (P7) e 11 (P11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanop prata, no período de 01 de agosto a 30 de agosto de 2016.

Grupo experimental	Período de avaliação		
	P3	P7	P11
GT	0,3 ± 0,5	1,4 ± 1,0	1,3 ± 1,0
GC	0,5 ± 0,5	1,2 ± 0,8	1,3 ± 0,8

GT - Grupo tratamento;  
 GC - Grupo controle;  
 P3 - Período experimental de três dias;  
 P7 - Período experimental de sete dias;  
 P11 - Período experimental de onze dias.

Em ambos os grupos houve mais neovascularização no P11 do que no P3 ( $P < 5$ ), e todas as demais comparações não foram significativas ( $P > 5$ ), nem entre períodos dentro de cada grupo, nem entre grupos em cada período, como pode ser visto na Tabela 9 e Figura 10. Este parâmetro foi considerado ausente no P3 e discreta a moderada no P7 e P11. Este resultado concorda com Tazima; Vicente; Moriya (2008), que afirmam que a fase proliferativa, onde se inicia a angiogênese, começa por volta do 3º dia após a lesão, iniciando a formação de tecido de granulação e assim a formação de novos capilares, os quais são importantes no processo cicatricial por serem responsáveis pela nutrição da pele, proporcionando o desenvolvimento das camadas da epiderme e conseqüente resistência mecânica (DE BEM et al., 2010). Os resultados mostram que mesmo não havendo diferença estatística entre os tratamentos, o efeito do hidrogel com nanop prata pode ser considerado positivo, pois no GT a neovascularização foi similar ao processo fisiológico normal visto no GC.



**Tabela 9** - Valores médios e desvios padrão da neovascularização aos três (P3), sete (P7) e onze (P11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanop prata, no período de 01 de agosto a 30 de agosto de 2016.

Grupo experimental	Período de avaliação		
	P3	P7	P11
GT	0 ± 0	1,5 ± 1,0	1,8 ± 0,8*
GC	0 ± 0	0,5 ± 0,5	1,7 ± 0,5*

\* Estatisticamente diferente do P3, no mesmo grupo;

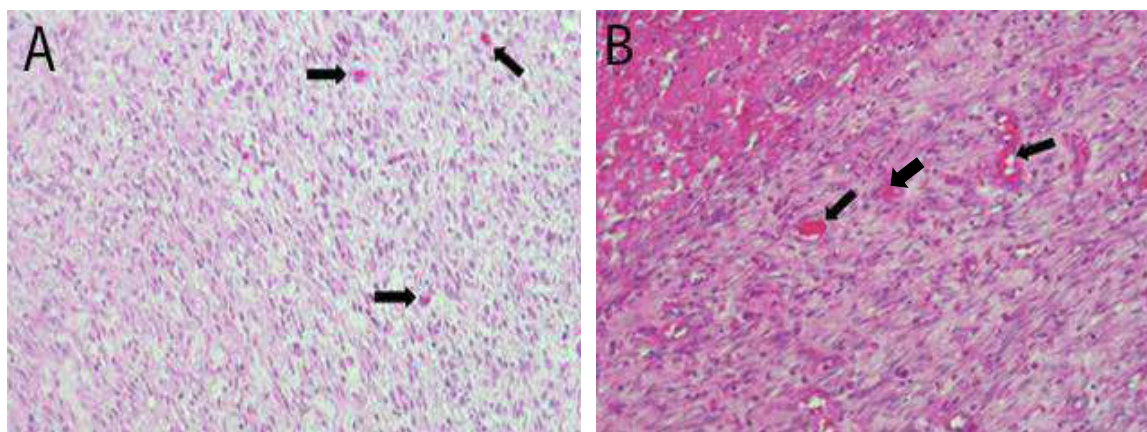
GT - Grupo tratamento;

GC - Grupo controle;

P3 - Período experimental de três dias;

P7 - Período experimental de sete dias;

P11 - Período experimental de onze dias.



**Figura 10** – Fotomicrografia de duas das lâminas, uma do GC (A), e a outra do GT (B), aos 11 dias pós-operatórios, com aumento de 20x, mostrando a intensidade de vasos neoformados (setas), com pouca e grande quantidade, respectivamente.

Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.

O número de camadas da epiderme no GC foi significativamente maior ( $P < 5$ ) no P7 que no P3 e o GT foi maior que o GC, no P3. Todas as demais comparações foram não significativas ( $P > 5$ ), (Tabela 10 e Figura 11). Este parâmetro foi considerado normal, tendo



em vista que as médias dos números de camadas da epiderme estão próximas as médias encontradas do tecido íntegro (4 camadas). A diferença estatística encontrada mostra que o hidrogel com nanop prata induz uma resposta mais precoce na formação de camadas na pele, sendo assim, um ponto benéfico para o processo cicatricial, conforme visto por Dellmann e Brown (1982), afirmando que a pele possui camadas distintas, que representam uma barreira natural entre o organismo e o meio externo, protegendo contra os agentes físicos, químicos e microbiológicos, além de ser distribuída em camadas, à medida que as mais superficiais são eliminadas e as camadas mais profundas são restauradas por divisão celular. É constituída por cinco camadas: germinativa, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea. Sendo a camada germinativa a mais profunda, fazendo limite com a derme, e a camada córnea a mais superficial, proporcionando proteção contra traumas físicos e químicos, fornecendo uma barreira contra a invasão de microorganismos e água (ARNOLD JÚNIOR et al., 1994).

**Tabela 10** - Valores médios e desvios padrão do número de camadas da epiderme aos três (P3), sete (P7) e onze (P11) dias pós-operatórios, em feridas cutâneas de coelhos tratadas com (GT) ou sem (GC) a implantação da membrana de hidrogel com nanop prata, no período de 01 de agosto a 30 de agosto de 2016.

Grupo experimental	Período de avaliação		
	P3	P7	P11
GT	4 ± 2,5#	7 ± 2,4	4,3 ± 3,8
GC	0,7 ± 1,0	5,3 ± 2,9*	3,7 ± 3,7

\* Estatisticamente diferente do P3, no mesmo grupo;

# Estatisticamente diferente do GC, no mesmo momento experimental;

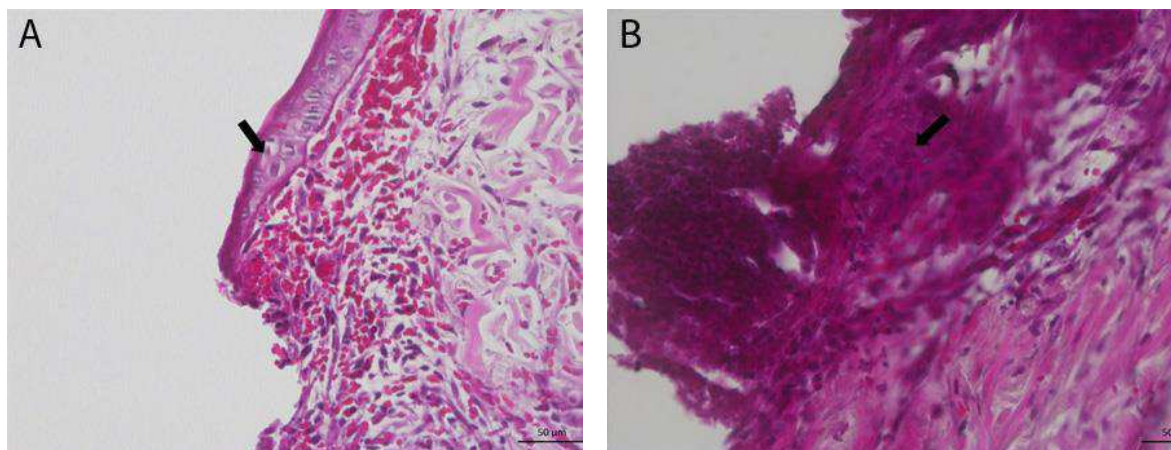
GT - Grupo tratamento;

GC - Grupo controle;

P3 - Período experimental de três dias;

P7 - Período experimental de sete dias;

P11 - Período experimental de onze dias.



**Figura 11** - Fotomicrografia de duas das lâminas, uma do GC (A), e a outra do GT (B), aos 7 dias pós-operatórios, com aumento de 40x, mostrando o número de camadas na transição da pele íntegra para a ferida cirúrgica, com 2 e 10 camadas (setas), respectivamente. Fonte: arquivo pessoal, HV-UFCG, Patos-PB, 2016.

## **5 CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que a membrana de hidrogel com nanop prata mostrou-se biocompatível e apresentou características benéficas ao processo inflamatório, podendo ser utilizada no auxílio do processo de cicatrização tecidual de feridas cutâneas abertas, sem alterações indesejáveis.

## REFERÊNCIAS

ACEVEDO-BOGADO, C. E.; BINS-ELY, J.; D'ACAMPORA, A. J.; NEVES, R. E. Efeito da hialuronidase na sobrevida de retalhos cutâneos em ratas. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 17 (supl. 1) p.14-16. 2001.

ARNOLD JR. H. L.; ODOM R. B e JAMES W. D. A pele: estrutura básica e função. Doenças básicas da pele de Andrews: **Dermatologia clínica**. p.1-14, 1994.

ASLAN, M.; SIMSEK, G.; DAYL, E. Guided bone regeneration (GBR) on healing bone defects: a histological study in rabbits. **Journal of contemporary dental practice.**, v.2, p.114-123, 2004.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.

BAVARESCO, V. P.; MACHADO, L. D. B.; ZAVAGLIA, C. A. C.; REIS, M. C. Caracterização mecânica de hidrogéis de PVAI para serem utilizados como cartilagem artificial reticulados por Irradiação. **Revista Brasileira de Pesquisa e Desenvolvimento** v. 4, n. 3, p. 1679-1681, 2002.

BRANCO NETO, M. L. C.; RIBAS FILHO, J. M.; MALAFAIA, O.; OLIVEIRA FILHO, M. A.; CZECZKO, N. G.; AOKI, S.; CUNHA, R.; FONSECA, V. R.; TEIXEIRA, H. M.; AGUIAR, L. R. F. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 21 (Suplemento 2) 2006 – 17.

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**. Ed. 1, n. 20, p. 51-8, 2007.

CARVALHO, R. S.; NELSON, D.; KELDERMAN, H.; WISE, R. Guided bone regeneration to repair an osseous defect. **American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics**. v. 4, n. 123, p. 455-67, 2003.

DE BEM, D. M.; MACIEL, C. D.; ZUANON, J. A.; NETO, C. B.; PARIZOTTO, N. A. Análise histológica em tecido epitelial sadio de ratos Wistar (in vivo) irradiados com diferentes intensidades do ultrassom. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 14, n. 2, mar/abr. 2010.

DELLMANN, H. D.; BROWN, E. M. **Histologia veterinária**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 397, 1982.

FRANCO, D.; GONÇALVES, L. F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. **Revista do colégio brasileiro de cirurgiões**. v.35, n. 3, Rio de Janeiro, Mai/Jun. 2008.

HSIUE, G. H; GUU, JÁ; CHENG, C.C. Poly (2-hydroxyethyl methacrylate) film as a drug delivery system for pilocarpine. **Biomaterials**, v. 22, n. 13, p. 1763-9, Jul. 2001.

LIMA, R. R.; COSTA, A. M. R.; SOUZA, R. D.; GOMES-LEAL, W. Inflamação em doenças neurodegenerativas. **Revista Paraense de Medicina**, v. 21, n. 2, jun. 2007.

LIPTAK, J. M. An overview of the topical management of wounds. **Australian Veterinary Journal**. v. 6, n. 75, p. 408-413, jun. 1997.

MACPHAIL, C. M. Cirurgia do sistema tegumentar: Princípios e técnicas gerais. In: FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. Ed. 4 p. 190-195.

MALMONGE, S. M.; ZAVAGLIA, C. A. C.; SANTOS JR, A. R.; WADA, M. L. F. Avaliação da citotoxicidade de hidrogéis de poliHEMA: um estudo in vitro. **Revista Brasileira de Engenharia de Biomateriais**. V. 15, p. 49-5, 1999.

MENDONÇA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 84, n. 3, p. 257-262, jul. 2009.

MORIYA T., MÓDENA J. L. P., Assepsia e antissepsia: técnicas de esterilização. **Fundamentos em clínica cirúrgica - 1ª Parte Cap. III**, Ribeirão Preto, São Paulo, v. 3, n. 41, p. 265-73. 2008.

MUNIZ BOLES, M.; CARNEIRO DE LYRA, M.; AUGUSTO FLÓRIO, F. Curativo imediato com hidrogel à base de água, óleo de melaleuca alternifolia e emulsificantes após queimaduras. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**. v. 4, n. 23, p. 328-31, 2008.

NETTI, P. A.; SHELTON, J. C.; REVELL, P. A.; PIRIE, C.; SMITH, S.; AMBROSIO, L.; NICOLAIS, L.; BONFIELD, W. Hydrogels as interface between bone and an implant. **Biomaterials**. v. 14, n. 14, p.1098-1104, Nov. 1993.

OLIVEIRA, M. J. A.; obtenção de membranas de hidrogéis para tratamento alternativo da leishmaniose tegumentar. **Tese doutorado em ciências na área de tecnologia nuclear**, São Paulo, 2013.

OWINO, J. H. O.; AROTIBA, O. A.; BAKER, P. G. L.; GUISEPPI – ELIE, A.; IWUOHA, E. I. Synthesis and characterization of poly (2- hydroxyl ethyl Methacrylate)-polyaniline based hydrogel composites. **Reactive e Functional Polymers**. n. 68, p. 1239–1244, Agosto. 2008.

PAVLETIC, M. M. **Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery**. 3. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.

PAVLETIC, M. M. O tegumento. In: SLLATER D., **Manuel de cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Manole, ed. 3, p. 250-255, 2007.

SACHLOS, E.; CZERNUSZKA, J.T. Making tissue engineering scaffolds work. Review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. **Journal of European Cells and Materials**. v. 5, p. 29-40, 2003.

SALGADO, M. I.; PETROIANU, A.; BURGARELLI, G. L.; BARBOSA, A. J. A.; ALBERTI, L. R. cicatrização conduzida e enxerto de pele parcial no tratamento de feridas. **Revista de associação médica brasileira**. v. 1, n. 53, p. 80-4, 2007.

SMANIOTTO, P. H. S.; FERREIRA, M. C. F.; ISAAC, C.; GALLI, R. Sistematização de curativos para o tratamento clínico das feridas. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**. v. 4, n. 27, p. 623-6, 2012.

STOLL, M. R.; COOK, J. L.; POPE, E. R.; CARSON, W. L.; KREEGER, J. M. The Use of porcine small intestinal submucosa as a biomaterial for perineal herniorrhaphy in the dog. **Veterinary Surgery**, v. 31, p. 379 – 390, jul/ago. 2002.

TABATA, Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 6, p. 311-324, 2009.

TAZIMA, M. F. G. S.; VICENTE, Y. A. M. V. A.; MORIYA, T. Biologia da ferida e cicatrização. **Fundamentos em clínica cirúrgica - 1ª parte, capítulo ii**. Ribeirão Preto. São Paulo. v.3, n. 41, p. 259-64, 2008.

VASCONCELOS, A. C. Processo inflamatório relacionado com a presença de biomateriais. In: ÓREFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S.; **Biomateriais – Fundamentos e aplicações**, ed. 1. Rio de Janeiro, 2006.

YOUNG, S. et al. Oral and maxillofacial surgery. In: LANZA, R.; LANGER, R.; VACANTI, J. **Principles of Tissue Engineering**. 3.ed. Elsevier. cap. 71, p. 1079- 1094, 2007.

WHEELER, J. C.; WOODS, J. Á.; COX, M. J.; CANTRELL, R. W.; WATKINS, F. H.; EDLICH, R. F. Evolution of hydrogel polymers as contact lens, surface coatings, dressings, and drug delivery systems. **Journal of long-term effects of medical implants**. v.3 - 4. n. 6. p. 207-17. 1996.

