

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

HITALO DE ARAÚJO GUEDES

**AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA POR USO DE GEL À  
BASE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM COELHOS**

PATOS/PB  
2020

HITALO DE ARAÚJO GUEDES

**AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA POR USO DE GEL A  
BASE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM COELHOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

**Orientador: Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá**

**PATOS/PB  
2020**

G924a Guedes, Hítalo de Araújo

Avaliação da cicatrização cutânea por uso de gel à base de nanopartículas de prata em coelhos / Hítalo de Araújo Guedes. – Patos, 2020.

59f.: il; color.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2020.

“Orientação: Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá.”

Referências.

1. Biomateriais. 2. Nanopartículas. 3. Gel. 4. Ferida. 5. Cicatrização.  
5. Prata. I. Título.

CDU 635.1

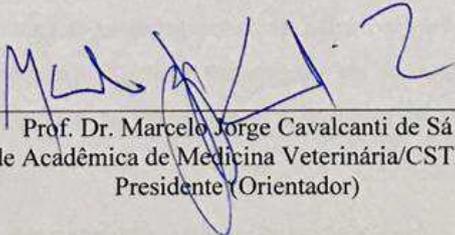
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

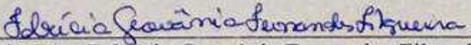
HÍTALO DE ARAÚJO GUEDES

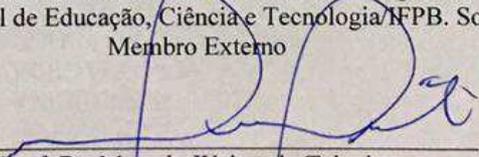
Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

APROVADO EM 14/02/2020

EXAMINADORES:

  
Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG  
Presidente (Orientador)

  
Profa. Dra. Fabricia Geovânia Fernandes Filgueira  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia/IFPB. Sousa-PB  
Membro Externo

  
Prof. Dr. Marcelo Weinstein Teixeira  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal  
Universidade Federal do Pernambuco  
Membro Externo (Examinador)

## **Dedicatória**

A minha mãe Goretti pela mulher forte e de fé, exemplo de ser humano.

## AGRADECIMENTOS

**“Reconhecimento e declaração de se estar grato por algo dado ou feito por outrem”**, antes de começar os meus agradecimentos fui ao dicionário e vi o conceito de agradecimento e comecei com ele. De certa forma agradecer não é fácil, as vezes pedimos mais do que agradecemos por aquilo que já temos e/ou conquistamos. Diante desse contexto queria começar a agradecer primeiramente a Deus pela vida, saúde e força de vontade de acordar todo dia e enfrentar novos obstáculos, sem sua base nada seria possível. Foram muitas pessoas envolvidas nessa fase desde a aprovação até o momento de hoje, direto ou indiretamente. Mas deixo aqui minha gratidão a todos.

Agradeço aos meus pais que foram essenciais na minha formação, me incentivando sempre, mesmo diante das dificuldades, nunca mediram esforços para que eu realizasse meus sonhos.

Ao meu filho, que é minha overdose de inspiração, onde tenho além de filho é um amigo e que faz com que eu sempre busque melhorar.

A minha namorada Jullie, por me aguentar nos momentos de surto durante a elaboração do projeto, por me ajudar de forma única na elaboração do trabalho.

Aos meus amigos da cidade Pombal (não tem como citar todos) que participaram de forma indireta nessa trajetória.

A minha equipe TOCA DO HARRY que além de colegas de profissão, fiz grandes amigos que irei levar para o resto da minha vida (Manoel, Rodrigo, Sarah e Cris).

Aos meus amigos da cidade de Patos e futuros colegas de profissão onde me hospedaram durante alguns dias ao longo desses dois anos Allamy, Matheus e Allyson.

Ao pessoal do Hospital Veterinário de Patos, meu muito obrigado. Em especial o setor de cirurgia e anestesiologia de pequenos animais.

Aos meus amigos e colegas de profissão Segundo, Bruno, Mateus, Erick e Ana que me ajudaram de forma única na elaboração e concretização do trabalho.

Ao meu orientador Marcelo Sá pela oportunidade e orientação nesses longos 2 anos, que não só nos orienta de forma acadêmica, mas sim pelos conselhos, pelas conversas, pelos momentos em si compartilhados.

Agradeço de forma única à cidade de Patos que sempre me acolheu muito bem e que tenho um carinho especial por ela.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa de estudos.

Enfim, agradeço a todos que participaram de forma direta ou indireta, muitos que nem imaginam ter me ajudado, mas que interferiram de forma positiva na minha vida e na concretização desse momento. Meu muito obrigado a todos.

“O potencial da humanidade é infinito e todo ser tem uma contribuição a fazer por um mundo mais grandioso. Estamos todos nele juntos. Somos só um.”

(Helena Blavatsky)

## SUMÁRIO

	Pag.
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
INTRODUÇÃO GERAL.....	14
REFERÊNCIAS.....	13
<b>CAPÍTULO I APLICABILIDADE ATUAL DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NPAG) NAS ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO EM FERIDAS: Uma revisão sistemática</b>	<b>16</b>
.....	
RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	18
INTRODUÇÃO.....	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	22
CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS.....	28
<b>CAPÍTULO II AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO POR USO DE GEL À BASE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM COELHOS</b>	<b>28</b>
.....	
RESUMO .....	35
ABSTRACT.....	36
INTRODUÇÃO.....	37
MATERIAL E MÉTODOS.....	38
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	43
CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS.....	52

## RESUMO

O presente estudo é composto por dois capítulos. No primeiro capítulo o objetivo foi realizar uma revisão sistemática para avaliar a aplicação das nanopartículas de prata, em vários tratamentos de feridas com a associação de diferentes substâncias. Para a realização desta revisão foi empregada uma extensa pesquisa online conforme a metodologia *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) de artigos publicados e indexados nas plataformas eletrônicas PubMed e LILACS nos últimos 10 anos. Os artigos foram selecionados de acordo com os critérios de inclusão, totalizando treze artigos que constituíram o trabalho. Diversas associações com as nanopartículas de prata foram observadas em diferentes situações com ou sem infecção. E com base nos resultados encontrados, foram demonstradas as suas características antibacterianas e propriedades anti-inflamatórias das nanopartículas de prata, que estão sendo amplamente estudadas e utilizadas em diferentes associações para uma melhor aplicabilidade na rotina clínica. O segundo capítulo teve como objetivo, avaliar a eficácia do uso do gel à base de nanopartículas de prata na regeneração tecidual em coelhos. No qual foram utilizados 12 animais divididos em 2 grupos aleatoriamente. Os animais foram divididos em grupo 1 (G24) que foi composto por 6 animais onde foram feitas as trocas de curativo a cada 24 horas e aplicação da pomada; o grupo 2 (G48) foi composto por 6 animais, cuja troca do curativo e aplicação da pomada foram realizadas a cada 48 horas. Todos os animais foram seu próprio controle (GC). A utilização do gel à base de nanopartículas de prata resultou em um bom prognóstico, apresentando compatibilidade biológica com o leito da ferida, trazendo alterações benéficas que contribuíram para uma melhor cicatrização.

**Palavras-chave:** Biomateriais; nanopartículas; gel; ferida; cicatrização; Prata.

## ABSTRACT

The present study has two chapters. In the first chapter the objective is a systematic review was performed to evaluate the application of silver nanoparticles in various wound tests with different substance associations. To perform this review, an online extension survey was used according to the *Preferred Report Items Methodology for Systematic Analysis and Meta-Analysis (PRISMA)* of articles published and indexed on electronic platforms PubMed and LILACS in the last 10 years. The articles were selected according to the inclusion criteria, totaling three articles that constituted the work. Several combinations with silver nanoparticles were observed in different situations with or without infection. And based on the results found, they were demonstrated as their antibacterial characteristics and anti-inflammatory properties of silver nanoparticles, which are being studied and used in different variations for a better application in the clinical routine. The second chapter objective to evaluate the use of silver nanoparticle-based gel in tissue regeneration in rabbits. It was used 12 animals randomly divided into 2 groups. The animals were divided into group 1 (G24), which consisted of 6 animals, where they were produced as dressings every 24 hours and application of the ointment; Group 2 (G48) consisted of 6 animals whose curative change and ointment application were performed every 48 hours. All animals were their own control (CG). The use of silver nanoparticle based gel results in a good prognosis, biological compatibility with wound bed, brings beneficial changes and contributes to better healing.

**Keywords:** Biomaterials; nanoparticles; gel; wound; healing; silver.

## **LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> – Informações sumarizadas dos estudos utilizados para a revisão sistemática, de acordo com os critérios de inclusão.....	<b>21</b>
--	-----------

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I

**Figura 1** – Fluxograma de identificação e seleção dos artigos para revisão sistemática sobre a utilização de nanopartículas de prata (NPAGs) para o tratamento de feridas cutâneas em animais..... **23**

### Capítulo II

**Figura 1** – Gel à base de nanopartículas de prata utilizado no estudo..... **39**

**Figura 2** – Pré-operatório com tricotomia ampla da região dorsal.....**40**

**Figura 3** – Demarcação do local de incisão na pele do coelho.....**41**

**Figura 4** – Mensuração das dimensões da ferida utilizando paquímetro digital em animal do grupo 1 (G24) no dia 10 pós-cirúrgico.....**42**

**Figura 5** – Animal pertencente ao G24 durante a primeira troca do curativo. (A). Observar a diferença de exsudato absorvido na gaze do GC (seta branca) comparado ao GT (seta vermelha). (B) Aspecto após remoção do curativo. Notar a aparência úmida do GT (seta branca) .....**44**

**Figura 6** – Formação de crostas em animal do G24 no D12. Observar crosta mais espessa e grosseira no GC (seta branca) em relação ao GT (seta vermelha) .....**45**

**Figura 7** – Animal do grupo G48, no D4. Tecido de granulação saudável, vermelho e brilhante, no grupo GT (seta vermelha); em contraste com o aspecto esbranquiçado seta do grupo GC (seta branca) ..... **46**

**Figura 8** – Mensuração das lesões com paquímetro digital do GT (A) e GC (B) em animal do G24, no D14..... **47**

**Figura 9** – Fotomicrografia do D14 pós-cirúrgico do G24. (A) lâmina pertencente a animal do grupo tratado (GT), com quantidade de fibroblastos classificada no escore como intensa. (B) lâmina pertencente a animal do grupo controle (GC) com menor quantidade de fibroblastos, classificada no escore como discreta. HE. Objetiva 10x..... **49**

**Figura 10** – Fotomicrografia do D14 pós-cirúrgico do G48. Figura A representa lâmina de animal do grupo tratado (GT) e a figura B, do grupo controle (GC) exibindo a similaridade de novos vasos sendo formados, classificada como discreta no escore. HE. Objetiva 10x..... **50**

## LISTA DE GRAFÍCOS

- Gráfico 1** – Valores médios e desvio padrão da taxa de redução em porcentagem das lesões do grupo 1 nos dias 7, 14 e 21 do período de avaliação. Médias seguidas de \* no mesmo grupo diferiram estatisticamente no teste de Tukey a 5% de significância..... **47**
- Gráfico 2** – Valores médios e desvio padrão da taxa de redução em porcentagem das lesões do grupo 2 nos dias 7, 14 e 21 do período de avaliação. Médias seguidas de \* no mesmo grupo diferiram estatisticamente no teste de Tukey a 5% de significância..... **48**
- Gráfico 3** – Valores médios e desvio padrão de escores da avaliação histopatológica do grupo G24 após 14 dias de tratamento. Médias seguidas de \* no mesmo grupo diferiram estatisticamente no teste de Nemenyi a 5% de significância..... **50**
- Gráfico 4** – Valores médios e desvio padrão de escores da avaliação histopatológica do grupo G48 após 14 dias de tratamento. Médias seguidas de \* no mesmo grupo diferiram estatisticamente no teste de Nemenyi a 5% de significância..... **51**

## LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

NPAg	Nanoprtculas de prata
PRISMA	Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
DNA	cido desoxirribonucleico
NP	Nanoprtcula
LMWC	NPAg com quitosana
PVP	Polivinilpirrolidona
MRSA	Staphylococcus aureus meticilino-resistente
Ag <sup>+</sup>	ons de prata
AV	Aloe Vera
MC	Metilcelulose
MOC	Membrana de casca de ovo microfibrosa
CSTR	Centro de Saúde e Tecnologia Rural
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
DMV	Departamento de Medicina Veterinária
IPEM	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
CNEN	Comissão Nacional de Energia Nuclear
MCTIC	Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovaes e Comunicaes
USP	Universidade de São Paulo
CMC	Carboximetilcelulose
IM	Um Intramuscular
G24	Grupo a cada 24 horas
G28	Grupo a cada 48 horas
GC	Grupo controle
GT	Grupo tratamento
TGF- $\alpha$	Fator de crescimento transformante alfa
EGF	Fator de crescimento epidérmico
HE	Eosina-Hematoxilina

## INTRODUÇÃO GERAL

As lesões cutâneas são bastante comuns na rotina clínica veterinária, por ser a pele a primeira barreira contra agentes, ela é exposta a diferentes formas de patógenos. A cicatrização é de grande importância para reparar os danos causados e restabelecer a sua integridade através de uma combinação de eventos químicos, físicos e celulares (OLIVEIRA; DIAS, 2012). É um processo dinâmico e complexo composto por três fases: inflamação, proliferação e remodelação dos tecidos (JOÃO DE MASI et al. 2016).

A fase inflamatória é caracterizada pelos sinais típicos do processo inflamatório localizado como dor, rubor, calor e tumor (edema). É caracterizada por dois processos que buscam limitar a lesão tecidual: a hemostasia e a resposta inflamatória aguda. Corresponde à ativação do sistema de coagulação sanguínea e à liberação de mediadores químicos como Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF), fator de crescimento Epidérmico (EGF), Fator de Crescimento Transformante alfa (TGF- $\alpha$ ), Fator de Crescimento Transformante beta (TGF- $\beta$ ) serotonina, adrenalina e fatores de complemento (ARAÚJO, 2017).

A fase de proliferação é caracterizada pelo aumento dos fibroblastos sob a ação de citocinas que dão origem a um processo denominado fibroplasia. Ao mesmo tempo, ocorre a proliferação de células endoteliais, com formação de rica vascularização (angiogênese) e infiltração densa de macrófagos, formando o tecido de granulação (TAZIMA; VICENTE; MORIYA, 2008).

Na fase final da cicatrização, o remodelamento pode durar meses e é responsável pelo aumento da força de tensão e pela diminuição do tamanho da cicatriz e eritema. Esta fase tem início cerca de três semanas após a lesão ou a partir do momento em que o colágeno começa a ser depositado corretamente no local e pode durar por tempo indeterminado. É o período no qual os elementos reparativos da cicatrização são transformados para tecido maduro de características bem diferenciadas (RODRIGUES; MELOTTI, 2018).

A busca por alternativas de biomateriais para auxiliar e melhorar os tratamentos terapêuticos de feridas vêm se tornando cada vez mais constante. As nanopartículas de prata estão sendo produzidas e amplamente utilizadas em produtos no mundo inteiro, em diferentes contextos, com diversas formas de aplicações (ARAÚJO et al. 2017).

Dessa forma, os presentes trabalhos propostos nessa dissertação tiveram objetivo de avaliar o uso de um biomaterial composto por um gel à base de nanopartículas de prata na cicatrização cutânea em coelhos.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Ângelo Marques et al. Utilização de nanopartículas no tratamento de feridas : revisão sistemática. p. 1–10, 2017.

ARAÚJO, J. G. Eficácia do curativo de hidrogel com nanopartículas de prata na cicatrização de feridas crônicas: estudo clínico randomizado. 2017. 91f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. Minas Gerais, Brasil.

JOÃO DE MASI, Elen Carolina David et al. A influência de fatores de crescimento na cicatrização de feridas cutâneas de ratas. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, v. 82, n. 5, p. 512–521, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjorl.2015.09.011>>.

OLIVEIRA, L. S. D. A. F.; OLIVEIRA, C. S.; MACHADO, A. P. L. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea–método de análise e perspectivas futuras. *Revista de Ciências Médicas e biológicas*, v.9, n.1, p.37-44, 2010.

RODRIGUES, Mariana Costa Junqueira; MELOTTI, Vitor Dalmazo. Uso Da Seiva Do Sangue De Dragão (Croton Lechleri) No Tratamento De Feridas Por Segunda Intenção Em Equinos. *Anais do 14 Simpósio de TCC e 7 Seminário de IC da Faculdade ICESP.*, v. 2018, n. 14, p. 1867–1872, 2018. Disponível em: <[http://nippromove.hospedagemdesites.ws/anais\\_simposio/arquivos\\_up/documentos/artigos/4745f2fbfca29d6cc99b8121ac08fbbd.pdf](http://nippromove.hospedagemdesites.ws/anais_simposio/arquivos_up/documentos/artigos/4745f2fbfca29d6cc99b8121ac08fbbd.pdf)>.

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.

## CAPITULO I

### **APLICABILIDADE ATUAL DE NANOPARTICULAS DE PRATA (NPAg) NAS ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO EM FERIDAS: Uma revisão sistemática**

Manuscrito será submetido à Revista Ciência Rural

## **APLICABILIDADE ATUAL DE NANOPARTICULAS DE PRATA (NPAg) NAS ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO EM FERIDAS: Uma revisão sistemática**

Hitalo de Araújo Guedes<sup>1</sup>, Francisco Alípio Sousa Segundo<sup>1</sup>, Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá<sup>1</sup>, Ana Clara França da Silva<sup>1</sup>, Valdemiro Amaro Da Silva Junior<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, 58708-110, Patos, PB, Brasil.

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Biociência Animal e Ciência Animal Tropical, Universidade Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brasil

### **RESUMO**

O objetivo dessa revisão sistemática foi avaliar a aplicação das nanopartículas de prata, em vários tratamentos de feridas com a associação de diferentes substâncias. Para a realização desta revisão foi empregada uma extensa pesquisa online conforme a metodologia *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) de artigos publicados e indexados nas plataformas eletrônicas PubMed e LILACS. Objetivando reunir todos os estudos disponíveis, publicados no máximo há 10 anos, os quais utilizaram nanopartículas de prata no tratamento de feridas em animais. Os artigos foram selecionados conforme os seguintes critérios de inclusão: artigos em inglês e português; abordagem direta da cicatrização de feridas com biomateriais e utilização da prata em meio aos materiais utilizados nesses estudos. Foram excluídos os artigos que constituíam relatos de caso, revisão de literatura, estudos que não utilizaram a prata. Catorze estudos constituíram o trabalho. Observou-se diversas associações com as nanopartículas de prata em diferentes situações com ou sem infecção. Com base nos resultados encontrados, foram demonstradas as suas características antibacterianas e propriedades anti-inflamatórias das nanopartículas de prata, que estão sendo amplamente estudadas e utilizadas em diferentes associações para uma melhor aplicabilidade na rotina clínica.

**Palavras-chave:** Prata, nanopartículas, ferida; regeneração.

## **ABSTRACT**

The objective of this systematic review was to evaluate the application of silver nanoparticles in various wound treatments with the association of different substances. For this review an extensive online search was used according to the methodology *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) of articles published and indexed on electronic platforms the PubMed and LILACS. Aiming to gather all available studies, published no more than 10 years ago, which used silver nanoparticles to treat wounds in animals. Articles were selected according to the following inclusion criteria: articles in English and Portuguese; direct approach to wound healing with biomaterials and use of silver in the materials used in these studies. Articles that constituted case reports, literature review, studies that did not use silver were excluded. Fourteen studies constituted the work. Several associations with silver nanoparticles were observed in different situations with or without infection. Based on the results found, their antibacterial characteristics and anti-inflammatory properties of silver nanoparticles, which are being widely studied and used in different associations for better applicability in clinical routine, have been demonstrated.

**Keywords:** Silver, nanoparticles, wound; regeneration.

## INTRODUÇÃO

A ferida é um distúrbio, seja simples ou grave, que pode comprometer a funcionalidade normal do órgão acometido ou espalhar-se para outros tecidos e estruturas adjacentes, como tecido subcutâneo, músculos, tendões, nervos, vasos e em certos casos até ossos, no entanto, a pele está mais suscetível a lesões e danos, devido sua maior exposição. Ao danificar o epitélio, estruturas e seus anexos, o organismo precisa fornecer proteção, ao mesmo tempo que participa no processo de cicatrização, porém encontra-se enfraquecido. Sendo assim necessário intervir para a construção de uma epiderme funcional ou mesmo outras camadas de pele. (NEGUT; GRUMEZESCU; GRUMEZESCU, 2018)

Dessa forma, como afirma SHAH et al., (2019) é essencial o desenvolvimento de um sistema que atue de maneira mais eficaz no transporte das drogas no leito da ferida, auxiliando e melhorando a permeabilidade do princípio ativo, promovendo um ambiente úmido no local, mantendo assim uma interface ideal na ferida para a proliferação celular e formação de tecidos. Além disso, os componentes desse sistema devem ser biocompatíveis, não irritantes e biologicamente ativos.

Devido à intensa resistência bacteriana aos antibióticos atuais, faz-se necessário explorar novos recursos alternativos que otimizem a terapêutica e que diminuam os mecanismos bacterianos responsáveis por esse processo, como terapia fágica, nanopartículas antibacterianas, pigmentos e outros materiais bactericidas (CHHIBBER *et al.*, 2019). A conjugação de antibióticos em nanopartículas (menor que 100 nm), é uma abordagem possível para enfrentar o desafio da resistência bacteriana (KUMAR; CURTIS; HOSKINS, 2018).

As nanopartículas de prata (NPAg) estão surgindo como uma opção de grande interesse na regeneração de feridas, por reduzir efetivamente agentes microbianos, inclusive bactérias. Como foi observado por SHAHVERDI et al., (2007) que um tratamento combinado de NPAg com determinados antibióticos possuía elevada atividade antibiótica contra bactérias, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Apesar de serem pequenas, as NPAGs apresentam uma área superficial grande, penetrando facilmente nas células bacterianas, aumentando sua atividade biológica (ORYAN et al., 2018), além de liberar íons de prata em seu interior (TONG XU et al., 2018). A administração tópica de nanopartículas de prata tem sido estudada como uma maneira de fornecer uma quantidade posológica suficiente, amenizando os efeitos colaterais e a exposição sistêmica, resultando em menores efeitos adversos. (MIURA; SHINOHARA, 2009)

Diante dos benefícios que as nanopartículas de prata vêm apresentando, a sua utilização em associação com outras substâncias, está ganhando espaço nas novas alternativas para os tratamentos de feridas. Como foi visto em trabalhos em que as NPAs foram conjugadas com antibióticos, por exemplo moxifloxacino (SHAH et al., 2019), polímeros como a quitosana (ORYAN et al., 2018), minerais como a sílica (JIN et al., 2018), entre outros.

A fim de compreender as diversas formas de aplicação das NPAs nas novas estratégias de tratamento de feridas e mostrar sua interação com várias substâncias para esse fim, objetivou-se realizar uma revisão sistemática de estudos experimentais que utilizassem as nanopartículas de prata entre os componentes para tratar feridas.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Trata-se de um estudo de revisão sistemática conduzido conforme a metodologia *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). Na pesquisa dos artigos acerca do assunto abordado, foram utilizadas as bases de dados PubMed e LILACS, de outubro a novembro de 2019, de acordo com a seguinte estratégia de busca, com termos em inglês: “Wounds and Injuries” AND “silver” AND “Nanoparticles” AND “animals”, usando os filtros: últimos 10 ANOS; outros animais. Como literatura adicional, foi incluído um artigo identificado em outra fonte.

Os artigos foram selecionados conforme os seguintes critérios de inclusão: artigos em inglês e português; abordagem direta da cicatrização de feridas com biomateriais; utilização da prata em meio aos materiais utilizados nesses estudos; realizados nos últimos 10 anos. Foram excluídos os artigos que constituíam relatos de caso, revisão de literatura, estudos que utilizaram outros materiais que não fosse prata.

Após consulta nas bases de dados, foram selecionados os artigos que continham os mesmos descritores utilizados, sendo excluídos os duplicados entre ambas as bases. Os resumos dos respectivos estudos foram lidos na íntegra, sendo excluídos os que não atendiam aos critérios de inclusão. Todos os artigos elegíveis foram lidos na sua versão integral. Os dados foram extraídos utilizando uma tabela (TABELA 1), classificando cada artigo por Autor, Ano, Espécie de animal utilizado, material associado à prata e tempo de estudo, analisando qualidade e relevância dos resultados encontrados.

As variáveis obtidas em cada estudo foram a espécie de animal usada, as substâncias associadas à prata no tratamento das feridas e a conclusão a partir dos resultados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 67 artigos no PubMed e 5 no LILACS, totalizando 72 artigos. Após aplicação dos critérios de inclusão, e posterior leitura dos resumos, foram selecionados 38 da primeira base de dados e 1 da segunda. Um artigo estava duplicado em ambas as bases. Dos selecionados, apenas foram elegidos 13 no total, com leitura do texto em sua versão íntegra.

Os artigos que não atenderam aos critérios de inclusão, foram eliminados da revisão sistemática (FIGURA 1).

### **Mecanismo de ação e propriedades das nanopartículas de prata (NPAg)**

Atualmente, a utilização de nanomateriais orgânicos representa um importante desafio na engenharia de tecidos, a fim de obter materiais com propriedades biocompatíveis, não tóxicos e biodegradáveis, com características antimicrobianas (LUNA-HERNÁNDEZ *et al.*, 2017). Em razão disso, os nanocompósitos à base de prata estão sendo cada vez mais utilizados devido ao seu alto potencial antibacteriano contra patógenos, através da formação de radicais livres que resultam em ruptura da membrana da bactéria, degradação do DNA e inibição da replicação do DNA bacteriano (CHHIBBER *et al.*, 2019), além de danos em outras biomoléculas como proteínas e lipídios (ORYAN *et al.*, 2018).

O que é corroborado por TONG XU *et al.* (2018), que afirmam que as NPAgs comparadas aos íons de prata convencionais, podem melhorar significativamente as opções terapêuticas gerais devido aos seus efeitos de permeação e retenção aprimoradas, nos quais as NPs podem entrar nas bactérias, fungos ou vírus e liberar os íons de prata de maneira contínua.

Segundo EL-BATAL; AHMED (2018), as NPAgs otimizam o processo de reepitelização, por meio de sua capacidade de regulação da resposta inflamatória, com redução do nível de citocinas e metaloproteinases da matriz, desencadeando assim a apoptose das células inflamatórias, resultando em uma cicatrização mais ativa.

### **Associações de substâncias com nanopartículas de prata**

Atualmente, diversas substâncias estão sendo testadas em associação às nanopartículas de prata, por apresentarem potencial antibacteriano e antibiofilme, além de possuírem maior taxa de atividade antimicrobiana que os sais de prata (CHHIBBER *et al.*, 2019).

O polímero quitosana tem sido utilizado por diversos estudos. PENG *et al.*, (2017) utilizaram NPAg com quitosana (LMWC) em camundongos com queimaduras, num período de 14 dias. Observaram melhor biocompatibilidade e características de absorção corporal mais baixas, em experimentos *in vitro* e *in vivo*, quando comparadas com nanopartículas de prata revestidas com polivinilpirrolidona (PVP-NPAGs) em um modelo de camundongos com infecção por ferida dorsal por *Staphylococcus aureus* metilino-resistente (MRSA).

ORYAN *et al.*, (2018) também produziu um composto formado por NPAg e quitosana, e avaliaram sua ação em queimaduras de ratos por 28 dias. Em comparação com os grupos controle negativo e com sulfadiazina de prata, as feridas tratadas com quitosana e NPAg exibiram reação inflamatória significativamente menor conforme determinado pelo nível reduzido de interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e contagem de neutrófilos, além do aumento significativo na velocidade de reepitelização, sendo completa nesse grupo já no 7º dia. Tendo em vista esses resultados, acrescentados de melhor formação de tecido de granulação, aumento do fator de crescimento transformador- $\beta$ 1 e fator básico de crescimento de fibroblastos, 7 dias após o ferimento, são razões convincentes para confirmar a ideia de que essa associação é eficaz para acelerar os estágios de cicatrização de feridas.

A utilização da quitosana com NPAg está justificada por LUNA-HERNÁNDEZ *et al.* (2017), que afirmam que as propriedades antibacterianas da quitosana podem ser significativamente aumentadas quando este biopolímero é misturado com materiais nanoestruturados, sendo as nanopartículas de prata um forte candidato sinérgico para esse mecanismo pelo seu potencial contra microorganismos.

Já TONG XU *et al.* (2018), adicionou NPAGs a hidrogel no tratamento de feridas de camundongos infectadas com *Escherichia coli*, comparando com os resultados do tratamento com hidrogel puro. O hidrogel com cargas de NPAG exibiu uma eficiência mais alta para resistir a infecções, além de predispor a formação de colágeno, inibindo a entrada de células bacterianas e promovendo a migração e infiltração de células teciduais em comparação com o hidrogel poroso sem as nanopartículas. Essas descobertas mostram que os hidrogéis carregados com NPAG são passíveis de serem aplicados em diversas situações de infecção bacteriana em feridas cutâneas.

STOJKOVSKA *et al.* (2018) estudaram uma solução colóide de prata com alginato de cálcio, bem como microfibras de hidrogel com nanopartículas de prata sintetizadas eletroquimicamente, usando-as em queimaduras de segundo grau em ratos, fazendo a comparação com produtos comerciais à base de sulfadiazina de prata para o tratamento de feridas. Os resultados macroscópicos obtidos e as análises histopatológicas indicaram que tanto

a solução colóide quanto as microfibras de hidrogel apresentaram resultados estatisticamente equivalentes aos respectivos produtos comerciais, embora a concentração de prata aplicada à ferida fosse inferior. Especificamente, a quantidade de prata aplicada às feridas tratadas com a solução colóide de prata com alginato de cálcio e um creme comercial à base de sulfadiazina de prata foi de 0,013 mg e 1,55 mg, respectivamente. Da mesma forma, esses valores foram de 0,035 mg e 1,74 mg para microfibras de hidrogel com NPAGs e curativo com sulfadiazina de prata, respectivamente.

A exposição da pele a altas concentrações de prata pode resultar na formação subcutânea de colóide ou sais de prata. Sua toxicidade parece estar associada ao comprometimento da função mitocondrial, devido ao aumento da permeabilidade da membrana das mitocôndrias. Mesmo se usada em baixas concentrações, há receio de toxicidade com materiais à base de prata. Contudo, as NPAGs são significativamente menos tóxicas que o nitrato de prata, devido em parte à liberação lenta de  $\text{Ag}^+$  (NEIBERT et al., 2012).

No estudo feito por EL-BATAL; AHMED (2018), foi utilizada a associação *Aloe vera*(AV) com NPAG para avaliar sua eficiência na melhoria da cicatrização da mucosa oral ulcerada após irradiação em ratos albinos. Os animais foram divididos em grupo controle; tratado com Aloe Vera; tratado com NPAG; tratado com AV e NPAG. Os resultados demonstraram a ocorrência de úlcera três dias após a irradiação em todos os grupos, exceto no grupo AV + NPAG, onde apenas o descolamento epitelial foi desenvolvido. A Aloe Vera ou as NPAGs por si só não afetaram a formação real da úlcera, mas melhoraram a cicatrização com restauração da integridade do epitélio, áreas de hiperplasia e tecido conjuntivo subjacente quase normal, livre de infiltrado inflamatório. Além disso, esses dois compostos, isoladamente ou em combinação, aumentaram o número de fibroblastos ativados e células endoteliais vasculares maduras no terceiro dia.

KIM et al. (2018) utilizaram hidrogel a base de metilcelulose (MC) com NPAG no tratamento de queimaduras de ratos, introduzindo concentrações iguais de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*, e comparando com a utilização do hidrogel MC puro. Independentemente do tipo de bactéria, o hidrogel de MC com NPAGs apresentou excelente atividade antibacteriana de 99,9%, não havendo nenhuma redução com o hidrogel MC. O que confirma isso é o fato de que os  $\text{Ag}^+$  interagem com o enxofre contido na membrana da bactéria, aumentando a permeabilidade celular, através do descontrole do transporte na membrana citoplasmática, provocando a morte celular.

Utilizando também uma membrana de hidrogel à base de carboximetilcelulose associada com NPAGs, em feridas cutâneas de coelhos, DE LIMA et al. (2018) observou que as lesões

tratadas com a membrana exibiram um processo de cicatrização mais rápida, quando comparadas ao grupo controle, ao mesmo tempo em que identificaram os mecanismos das nanopartículas de prata com regeneração celular, correlacionando também com resultados *in vitro*.

Já no estudo de WU et al. (2014) foi observado que a aplicação de uma membrana de gel à base de celulose bacteriana carregada com NPAGs apresentou importante atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, além de promover maior proliferação de fibroblastos e redução da flora bacteriana durante a cicatrização em feridas de ratos submetidos a queimaduras de 2º grau contaminadas.

As propriedades anti-inflamatórias e antibacterianas também foram constatadas por LIU et al. (2017) quando aplicaram uma membrana de casca de ovo microfibrada integrada a NPAGs (MOC-NPAG) em feridas cutâneas de ratos. Foi visto que essa associação promoveu uma reepitelização e cicatrização mais rápidas, quando comparadas aos grupos controle, gaze com vaselina e membrana microfibrada sem adição de NPAGs. O grupo MOC-NPAG exibiu uma cicatrização significativamente acelerada nos dias 5 e 7. No sétimo dia após a cirurgia, aproximadamente 88,6% da área da ferida foi fechada, enquanto que a porcentagem da área de retração dos grupos controle, gaze com vaselina e membrana microfibrada foram de 78,3%, 81,6%, 81,9% respectivamente.

Diferindo da forma de aplicação dos outros estudos, MCLAUGHLIN *et al.* (2016) empregaram as nanopartículas de prata em uma formulação pulverizável sobre feridas cutâneas infectadas com *Pseudomonas aeruginosa* em camundongos. Os autores desenvolveram uma nova tecnologia para fabricar uma barreira antimicrobiana e antibiofilme composta por nanop prata e o peptídeo LL37, enxertado na superfície e incorporado em uma estrutura supramolecular de colágeno não tóxico para as células primárias da pele. Houve uma diferença significativa entre o grupo controle e os que receberam o spray. De fato, os biofilmes tratados com AgNPs desapareceram dentro de 1 hora após a aplicação. Este foi o primeiro relatório de um material à base de AgNPs passível de ser pulverizado com infiltração mínima de órgãos.

## CONCLUSÃO

As nanopartículas de prata estão sendo amplamente estudadas, devido ao seu grande potencial bactericida, estimulando dessa forma o desenvolvimento de várias formulações com diferentes associações, buscando potencializar os seus efeitos e conhecer novas propriedades

no que diz respeito a cicatrização tecidual. Essa combinação de diferentes estruturas com as nanopartículas de prata surge como uma alternativa na exploração de biomaterias que otimizem o processo de regeneração tecidual e atuem na resistência bacteriana aos antibióticos.

## REFERÊNCIAS

- CHHIBBER, Sanjay et al. Effective Topical Delivery of H-AgNPs for Eradication of *Klebsiella pneumoniae*-Induced Burn Wound Infection. *AAPS PharmSciTech*, v. 20, n. 5, 2019.
- DE LIMA, Gabriel G. et al. Synthesis and in Vivo Behavior of PVP/CMC/Agar Hydrogel Membranes Impregnated with Silver Nanoparticles for Wound Healing Applications. *ACS Applied Bio Materials*, v. 1, n. 6, p. 1842–1852, 2018.
- EL-BATAL, Ahmed Ibrahim; AHMED, Salwa Farid. Therapeutic effect of Aloe vera and silver nanoparticles on acid-induced oral ulcer in gamma-irradiated mice. *Brazilian Oral Research*, v. 32, p. 1–9, 2018.
- JIN, Chen et al. Ag/AgBr-loaded mesoporous silica for rapid sterilization and promotion of wound healing. *Biomaterials Science*, v. 6, n. 7, p. 1735–1744, 2018.
- KIM, Min Hee et al. Injectable methylcellulose hydrogel containing silver oxide nanoparticles for burn wound healing. *Carbohydrate Polymers*, v. 181, n. September, p. 579–586, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.109>>.
- KUMAR, Mayur; CURTIS, Anthony; HOSKINS, Clare. Application of nanoparticle technologies in the combat against anti-microbial resistance. *Pharmaceutics*, v. 10, n. 1, p. 1–17, 2018.
- LIU, Menglong et al. Nano-silver-decorated microfibrinous eggshell membrane: Processing, cytotoxicity assessment and optimization, antibacterial activity and wound healing. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-00594-x>>.
- LUNA-HERNÁNDEZ, E. et al. Combined antibacterial/tissue regeneration response in thermal burns promoted by functional chitosan/silver nanocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 105, p. 1241–1249, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.159>>.
- MCLAUGHLIN, Sarah et al. Sprayable peptide-modified silver nanoparticles as a barrier against bacterial colonization. *Nanoscale*, v. 8, n. 46, p. 19200–19203, 2016.
- MIURA, Nobuhiko; SHINOHARA, Yasushi. Cytotoxic effect and apoptosis induction by silver nanoparticles in HeLa cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 390, n. 3, p. 733–737, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.10.039>>.
- NEGUT, Irina; GRUMEZESCU, Valentina; GRUMEZESCU, Alexandru Mihai. Treatment strategies for infected wounds. *Molecules*, v. 23, n. 9, p. 1–23, 2018.
- NEIBERT, Kevin et al. Wound-healing with mechanically robust and biodegradable hydrogel fibers loaded with silver nanoparticles. *Advanced Healthcare Materials*, v. 1, n. 5, p. 621–630, 2012.
- ORYAN, Ahmad et al. Topical delivery of chitosan-capped silver nanoparticles speeds up healing in burn wounds: A preclinical study. *Carbohydrate Polymers*, v. 200, p. 82–92, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.077>>.

PENG, Yinbo et al. Low molecular weight chitosan-coated silver nanoparticles are effective for the treatment of MRSA-infected wounds. *International Journal of Nanomedicine*, v. 12, p. 295–304, 2017.

SHAH, Aamna et al. The wound healing and antibacterial potential of triple-component nanocomposite (chitosan-silver-sericin) films loaded with moxifloxacin. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 564, n. March, p. 22–38, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.04.046>>.

SHAHVERDI, Ahmad R. et al. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 3, n. 2, p. 168–171, 2007.

STOJKOVSKA, Jasmina et al. Comparative in vivo evaluation of novel formulations based on alginate and silver nanoparticles for wound treatments. 2018.

WU, Jian et al. Silver nanoparticle/bacterial cellulose gel membranes for antibacterial wound dressing: Investigation in vitro and in vivo. *Biomedical Materials (Bristol)*, v. 9, n. 3, 2014.

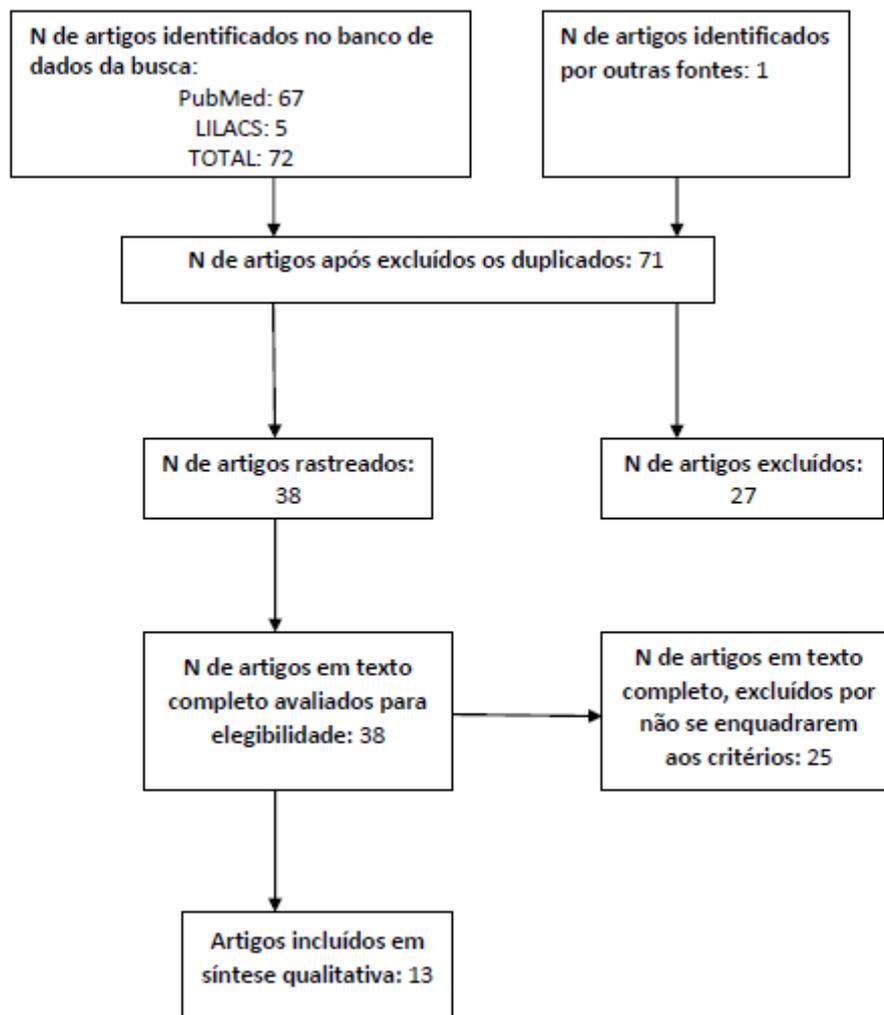
XU, Tong et al. A polyHEMA-AgNP porous hydrogel for simultaneous prevention of the foreign-body reaction and bacterial infection in vivo. *Nanotechnology in press* p. 3-18, 2018.

Tabela 1. Informações sumarizadas dos estudos utilizados para a revisão sistemática, de acordo com os critérios de inclusão.

AUTOR	ANO	ESPÉCIE	MATERIAL ASSOCIADO	TEMPO
<b>Chhiber et al.</b>	2019	Camundongos	Histidina	14 dias
<b>De Lima et al.</b>	2018	Coelhos	Hidrogel de <i>carboximetilcelulose</i>	25 dias
<b>El batal; Ahmed</b>	2018	Ratos	Aloe vera	7 dias
<b>Jin et al.</b>	2018	Camundongos	Sílica	14 dias
<b>Kim et al.</b>	2018	Ratos	Hidrogel de metilcelulose	21 dias
<b>Liu et al.</b>	2017	Ratos	Casa de ovo microporosa	7 dias
<b>Luna-hernandéz et al.</b>	2017	Ratos	Quitosana	21 dias
<b>Mclaughlin et al.</b>	2016	Camundongos	Spray de npag	4 dias
<b>Neibert et al.</b>	2012	Camundongos	Alginato de cálcio	10 dias
<b>Oryan et al.</b>	2018	Ratos	Quitosana	28 dias
<b>Peng et al.</b>	2017	Ratos	Quitosana	14 dias
<b>Stojkovska et al.</b>	2018	Ratos	Alginato de cálcio	25 dias

<b>Wu et al.</b>	2014	Ratos	Celulose	7 dias
<b>Xu et al.</b>	2018	Camundongos	Hidrogel de prata	30 dias

Figura 1 – Fluxograma de identificação e seleção dos artigos para revisão sistemática sobre a utilização de nanopartículas de prata (NPAGs) para o tratamento de feridas cutâneas em animais.



## NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIÊNCIA RURAL

**1. CIÊNCIA RURAL** - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

**2. Os artigos científicos, revisões e notas** devem ser encaminhados via eletrônica e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.

**3.** O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo .doc, .pdf).

**4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão (Modelo .doc, .pdf).

**5.A nota deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres

humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. (Modelo .doc, .pdf).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista [www.scielo.br/cr](http://www.scielo.br/cr).

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1.Citação de livro: JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v. TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2.Capítulo de livro com autoria: GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3.Capítulo de livro sem autoria: COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: \_\_\_\_\_. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90. TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: \_\_\_\_\_. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4.Artigo completo: O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo: MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010384782008000800002&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782008000800002&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002

**9.5.Resumos:** RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pósgraduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

**9.6.Tese, dissertação:** COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

**9.7.Boletim:** ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo: Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

**9.8.Informação verbal:** Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

**9.9.Documentos eletrônicos:** MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo: Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. *Maturitas*, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000.

Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/serverjava/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. Anais... Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

**10.** Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

**11.** Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

**12.** Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

**13.** Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

**14.** Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

**15.** Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

**16.** Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

CAPITULO II

**AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA POR USO DE GEL À BASE DE  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM COELHOS**

Artigo científico será submetido à Revista Ciência Rural

## **AValiação DA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA POR USO DE GEL À BASE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM COELHOS**

Hitalo de Araújo Guedes<sup>1</sup>, Francisco Alípio Sousa Segundo<sup>1</sup>, Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá<sup>1</sup>, Ana Clara França da Silva<sup>1</sup>, Valdemiro Amaro Da Silva Junior<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, 58708-110, Patos, PB, Brasil.

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Biociência Animal e Ciência Animal Tropical, Universidade Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brasil

### **RESUMO**

Os animais estão sujeitos constantemente a diversas lesões teciduais, em consequência disso, tem-se estimulado as buscas por métodos cada vez mais eficazes de tratamento. Assim, os biomateriais surgem como meios capazes de proporcionar um melhor reparo tecidual em um menor espaço de tempo. Dessa maneira, o uso da pomada com nanopartículas de prata busca auxiliar a cicatrização para que acelere e proteja o processo de reparação tecidual, além de inibir a contaminação de feridas. O presente estudo teve como objetivo, avaliar a eficácia do uso do gel à base de nanopartículas de prata na regeneração tecidual em coelhos. No qual foram utilizados 12 animais divididos em 2 grupos aleatoriamente e feitas 2 incisões na pele do dorso de cada animal, paralelo à coluna espinhal. Os animais foram divididos em grupo 1 (G24) que foi composto por 6 animais onde foram feitas as trocas de curativo a cada 24 horas e aplicação da pomada; o grupo 2 (G48) foi composto por 6 animais, cuja troca do curativo e aplicação da pomada foram realizadas a cada 48 horas. Todos os animais foram seu próprio controle (GC). A utilização do gel à base de nanopartículas de prata resultou em um bom prognóstico, apresentando compatibilidade biológica com o leito da ferida, trazendo alterações benéficas que contribuíram para uma melhor cicatrização.

**Palavras-chave:** Biomateriais, nanopartículas, ferida; cicatrização.

**ABSTRACT**

Animals are constantly subjected to various tissue injuries, and as a result, the search for increasingly effective methods of treatment has been stimulated. Thus, biomaterials emerge as means capable of providing better tissue repair in a shorter period of time. Thus, the use of silver nanoparticle ointment seeks to aid healing so that it accelerates and protects the tissue repair process and inhibits wound contamination. The aim of the present study was to evaluate the effectiveness of using silver nanoparticle gel in tissue regeneration in rabbits. In which 12 animals were randomly divided into 2 groups and made 2 incisions in the back skin of each animal, parallel to the spinal column. The animals were divided into group 1 (G24) which consisted of 6 animals where dressing changes were made every 24 hours and ointment application; Group 2 (G48) consisted of 6 animals whose dressing change and ointment application were performed every 48 hours. All animals were their own control (CG). The use of silver nanoparticle gel resulted in a good prognosis, presenting biological compatibility with the wound bed, bringing beneficial changes that contributed to better healing.

**Keywords:** Biomaterials, nanoparticles, wound; healing.

## INTRODUÇÃO

A pele é um órgão que desempenha barreira e proteção do organismo contra agentes externos e por isso está sujeita a constantes agressões, tornando sua capacidade de reparação muito importante para a sobrevivência (NOGUEIRA, 2005). Com o rompimento tecidual nos animais vertebrados, logo se inicia o processo de reparo, que compreende uma sequência de eventos moleculares objetivando a restauração do tecido lesado (MENDONÇA & COUTINHO-NETTO, 2009).

A pele dos animais é composta por derme, epiderme e anexos. A epiderme é a fina camada mais externa, com função de proteção. Ela é avascular e nutrida a partir dos capilares da derme, e também é sustentada por essa camada. Nas áreas cobertas por pelos a epiderme é delgada, torna-se espessa onde os pelos são reduzidos, e é queratinizada nos coxins plantares e focinho, sendo ainda mais espessa. Profundamente em relação à epiderme, está situada a derme, uma camada vascularizada, que além de vasos sanguíneos contém folículos pilosos, glândulas, nervos, fibras musculares lisas e vasos linfáticos. Ela é formada por fibras colágenas reticulares e elásticas circundadas por mucopolissacarídeos. Fibroblastos, macrófagos, plasmócitos e mastócitos são achados na derme. O tecido subcutâneo localiza-se imediatamente abaixo da derme (HEDLUND, 2007).

A cicatrização de ferimentos é um processo biológico preferencial que restaura a continuidade do tecido após uma lesão (FOSSUM, 2014). Processo pelo qual um tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado, quer a lesão tenha sido traumática ou necrótica (PANOBIANCO et al., 2012). Esse processo é composto por diversas fases e mecanismos, que podem interferir de maneira negativa ou positiva, sendo conceitualmente dividido nas fases inflamatória, proliferativa e de remodelação ou maturação, as quais são sequenciais e sobrepostas (KUMAR et al., 2008).

A necessidade de alternativas para o reparo e substituição de tecidos conjuntivos vitimados por traumas ou patogenias tem gerado interesse na busca de biomateriais, visando a regeneração e restauração da função dos órgãos por meio de suas implantações; além do elevado custo com os tratamentos de patologias relacionadas ao processo cicatricial da pele (PAGNANO, 2009; LIMA & ARAUJO, 2013). A escolha do biomaterial desempenha papel crucial na reparação tecidual já que a composição do arcabouço é determinante à agregação celular e à capacidade de colonização para a promoção de ambiente favorável ao crescimento

celular e aceleração da cicatrização (SILVA, 2014, OLIVEIRA; OLIVEIRA; MACHADO, 2010).

A nanotecnologia é uma ciência que estuda materiais em nanoescala ou seja, estruturas menores do que 100 nanômetros. As nanopartículas de prata (NPAg) têm emergido como uma importante classe de nanomateriais com uma ampla gama de aplicações industriais e médicas. Têm aplicações, ou possíveis aplicações, como agentes antibacterianos, antifúngicos, antivirais, anti-inflamatórios, antitumorais, regeneradores e catalisadores (NORDBERG; FRIBERG, 2007; MARCONE, 2011). Apesar da frequente utilização no nosso cotidiano, os seus efeitos tóxicos não se encontram ainda totalmente esclarecidos.

As NPAg são as mais utilizadas devido às suas inúmeras aplicações e possuem propriedades físico-químicas muito características, incluindo a sua flexibilidade, maleabilidade e uma condutividade térmica e elétrica elevada em relação a qualquer outro metal. Estas propriedades conferem um imenso potencial em tintas, microeletrônica e imagiologia médica. No entanto, é o largo espectro de atividade antimicrobiana da prata e o custo relativamente baixo de sua obtenção que as tornam extremamente populares numa vasta gama de produtos de consumo incluindo plásticos, sabonetes, adesivos, metais e têxteis (SOARES, 2014).

Tendo em vista que emprego de nanopartículas de prata tem sido amplamente estudado para o uso terapêutico devido a sua eficácia antibacteriana e antifúngica, objetiva-se com esse estudo avaliar a eficácia do uso do gel à base de nanopartículas de prata no processo de regeneração tecidual em pele de coelhos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi desenvolvido no biotério do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), no setor de Cirurgia de Pequenos Animais, Patos-Pb e no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Pernambuco (UFRPE), Recife-Pe, no período compreendido entre julho de 2019 e novembro de 2019. Após o encaminhamento e aprovação do projeto pela Comissão de Ética do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da UFCG, Protocolo CEUA/CSTR n°016-2019.

## **Aquisição do biomaterial**

O gel foi cedido pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), que é uma autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Inovação do Governo do Estado de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), órgão do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC), do Governo Federal localizada no “campus” da USP.

A síntese do gel com 22 ppm de nanopartícula de prata foi realizada a partir de soluções aquosas de PVP (poli(N-2-vinil-pirrolidona), carboximetilcelulose (CMC), glicerol, polietilenoglicol PEG e íons de prata. Os polímeros da mistura são dissolvidos na solução aquosa de íons de prata e homogeneizada. Após total homogeneização, a mistura foi vertida em tubos de alumínio revestido. Para a síntese das NPAg, obtenção da reticulação e esterilização do gel, simultaneamente, as embalagens contendo a mistura são submetidas à irradiação gama de uma fonte de  $^{60}\text{Co}$  com dose de 25 kGy (Figura 1).

## **Animais**

Para este experimento foram utilizados 12 coelhos adultos, entre 1 e 2 anos de idade, machos e fêmeas, da raça Nova Zelândia, pesando entre 2 e 4 Kg. Os animais foram submetidos a exame clínico e hematológico para que verificasse o bom estado de saúde. Os animais ficaram alojados em gaiolas suspensas individuais, ambiente climatizado com temperatura controlada à aproximadamente 23 °C e umidade relativa por volta de 70%, vermifugados com albendazol 10% na dose de 20 mg/kg de peso vivo por via oral e passaram por um período de adaptação de 15 dias antes da experimentação. Receberam alimento na forma de ração específica para coelhos, além de outros alimentos próprios para a espécie (gramíneas, frutas e legumes) e água potável a vontade. As gaiolas foram higienizadas diariamente

## **Pré-operatório**

Para a preparação dos animais foi realizado como medicação pré-anestésica para sedação e analgesia a acepromazina na dose de 0,2 mg/kg associada ao tramadol na dose de 2 mg/kg ambas através da via intramuscular (IM). Os animais passaram por tricotomia ampla da região dorsal (Figura 2); após 20 minutos foi realizado o bloqueio com anestesia local infiltrativa superficial no sítio da incisão com Lidocaína à 2%, na dose 7 mg/kg. A

antibioticoterapia profilática foi administrada 30 minutos antes do procedimento por via intravenosa com Enrofloxacina, na dose de 5mg/kg e logo em seguida preparado e posicionado os campos cirúrgicos.

### **Transoperatório**

Foram feitas 2 incisões na pele do dorso de cada animal, paralelo a coluna espinhal de 1,5 cm de extensão de cada lado com auxílio de um bisturi nº 4, previamente demarcando o local de incisão com caneta específica para marcação de pele e régua para medição (Figura 3). As incisões cutâneas foram seguidas por divulsionamento do espaço subcutâneo e exposição da fáscia muscular na região lombar dorsal dos animais entre L1 (primeira vértebra lombar) e L5 (quinta vértebra lombar) e com distância média entre as lesões de 4 cm, longitudinalmente.

### **Grupos Experimentais**

Os animais foram divididos em grupos ao acaso, por meio de sorteio para integrar dois grupos experimentais. O grupo 1 (G24) será composto por 6 animais onde foram feitas as trocas de curativo a cada 24 horas e aplicação do gel e o grupo 2 (G48) que foi composto por 6 animais, onde a troca do curativo e aplicação do gel foi realizada a cada 48 horas. Todos os animais foram seu próprio controle (GC) e posteriormente ao procedimento foi realizado a identificação dos animais no seu devido grupo e a confecção do curativo no local com compressas de gaze estéril, esparadrapo e bandagem compressiva com auxílio de ataduras.

### **Pós-operatório**

A analgesia foi feita com administração de Tramadol a 2%, na dose de 6mg/kg a cada 24 horas por via intramuscular (IM), durante os cinco primeiros dias pós-operatório.

A troca de curativo foi realizada de acordo com cada grupo experimental. O grupo controle (GC) passou por limpeza das lesões com solução de Ringer com Lactato; no grupo 1 (G24) foi realizada a limpeza com solução de Ringer com Lactato e aplicação do gel nas feridas do lado esquerdo de cada animal a cada 24 horas e nos animais do grupo 2 (G48) foi aplicado o mesmo tratamento, porém a limpeza e a troca do biomaterial foi realizada a cada 48 horas. Em seguida confeccionado o curativo com gazes estéreis, esparadrapo e bandagem compressiva com ataduras.

### **Avaliação clínica macroscópica**

A avaliação clínica macroscópica das feridas cirúrgicas foram avaliadas diariamente a cada troca de curativo, verificando a presença ou ausência de formação de crosta, seroma, de tecido de granulação e neoformação tecidual. As mensurações das dimensões das feridas foram feitas no momento da troca dos curativos com auxílio de um paquímetro 150mm digital até a completa regressão das lesões. E foram escolhidos os dias 7 (D7) 14 (D14) e 21 (D21) para avaliar o dimensionamento das lesões de todos os grupos experimentais até a completa regressão das feridas de ambos os grupos (Figura 4).

### **Avaliação histopatológica**

Para a avaliação histológica da cicatrização dos tecidos, todos os animais foram submetidos a coleta de material no 14º dia (D14). Foi feita uma prévia sedação com Xilazina na dose 4 mg/kg, bloqueio local infiltrativo com Lidocaína em “L” na dose 7mg/kg e posteriormente a coleta do material da área cicatricial com uma margem de pele sadia ao redor da mesma. Em seguida o material foi identificado e colocado em um recipiente com formol tamponado a 10% por 48 horas, encaminhado para o setor de patologia animal e submetido ao procedimento histológico de rotina.

A análise histopatológica foi realizada por meio de microscopia óptica, sem conhecimento do grupo ou período experimental ao qual cada fragmento pertencia. Os seguintes critérios foram avaliados nas laminais histológicas: intensidade da inflamação, quantidade de colágeno, de fibroblastos e de neovascularização. Para cada parâmetro foi atribuído escore de acordo com a sua intensidade, sendo 0 (ausente), 1 (discreta), 2 (moderada) e 3 (intensa).

### **Análise dos dados e estatística**

Os dados obtidos a partir da observação dos grupos experimentais propostos foram tabulados, comparados entre si quanto às diferentes avaliações realizadas e prosseguiu-se com uma análise descritiva destes dados. Para análise dos dados quanto à taxa de regressão das lesões foram realizadas médias das feridas dos animais pertencentes a cada grupo experimental logo após o procedimento operatório e em cada período de avaliação. O valor inicial da média de dimensionamento das lesões foi compreendido como 100% e os valores, em porcentagem, obtidos nas diferentes avaliações, foram estabelecidos proporcionalmente tomando por base o valor inicial.

Para a comparação dos grupos quanto aos dados histopatológicos não paramétricos foi conduzido o teste de Kruskal-Wallis, com comparações múltiplas pelo teste de Nemenyi. Para os dados paramétricos da avaliação clínico macroscópica foi utilizado análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey. O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5%, e foi empregado o software BioEstat 5.03.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Visto que não houve sinais de contaminação nos períodos trans e pós-operatório pode-se confirmar que não ocorreram falhas nas técnicas de antisepsia e assepsia que interferissem nos resultados do estudo. Após o procedimento anestésico, os animais recuperaram-se espontaneamente sem expressar sinais de desconforto algico no período pós-operatório. Não foram observados sinais de infecção e ou contaminação já que, segundo Araújo (2017), a prata apresenta propriedades que reduzem a proliferação de microrganismos que podem levar à infecção local e posteriormente sistêmica.

Com relação à produção de exsudato no local da ferida, pôde-se observar maior quantidade absorvida pela gaze do curativo no grupo controle (GC), em comparação ao grupo tratado (GT) de ambos os grupos experimentais G24 e G48 (Figura 5 A). Ao remover a compressa de gaze do ferimento do GT, observou-se que a mesma se apresentava úmida e hidratada, enquanto a ferida do GC estava significativamente seca (Figura 5B). De acordo com Fossum (2014), o ambiente úmido favorece uma cicatrização ideal, promovendo a formação de tecido de granulação, acelerando o desbridamento de forma seletiva e a epitelização. O desbridamento autolítico promovido pelas enzimas endógenas decompõem o tecido necrótico, incluindo o processo de fagocitose dos glóbulos brancos que diminui a carga bacteriana removendo os detritos necróticos.

Os géis têm grande capacidade de absorver água sem se dissolver, retendo-a internamente e em sua superfície, fazendo que se assemelhem ao tecido vivo. Dessa forma o ambiente úmido melhora as propriedades biológicas do local da lesão, tornando-as mais biocompatíveis (COLI, 2013). Por essa razão este biomaterial foi escolhido para a realização deste estudo.

Com relação à formação de crosta, foi observado que nos animais do GC foi mais intensa quando comparadas ao GT em ambos os grupos (G24 e G48), como observado na figura 6. Como o gel mantém um ambiente úmido no local da lesão, as crostas não se formam na

cicatrização sob essa condição, assim, os glóbulos brancos não ficam retidos na crosta e as medicações tópicas penetram de forma mais eficaz no ferimento. (FOSSUM, 2014).

Quanto à formação de tecido de granulação, o processo inicia em torno de três a quatro dias após a lesão tecidual (LAUREANO, 2011). Foi observado um tecido de granulação significativamente mais saudável nos GT em comparação aos GC, tanto no G24 como no G48. Nos GC observou-se a formação de um tecido de granulação branco e com um conteúdo de tecido fibroso com pouca vascularização, não havendo diferença entre o grupo de troca de curativo a cada 24 horas (G24) e o grupo com troca a cada 48 horas (G48) (FIGURA 7).

De acordo com Tazima; Vicente; Moriya (2008), o tecido de granulação é constituído por um leito capilar, fibroblastos, macrófagos, colágeno, fibronectina e ácido hialurônico que, por preencher o defeito causado pela lesão, protege a ferida e promove a formação de uma barreira contra possíveis infecções, além de criar uma superfície que facilite a migração de células epiteliais sobre ela. O aspecto esbranquiçado, como o encontrado no GC, concorda com Macphail (2014) quando afirma que a aparência branca e a presença de um alto teor de fibrose, com pouca formação de capilares, caracterizam um tecido de granulação não saudável.

No que diz respeito ao dimensionamento das feridas, os animais do GT apresentaram taxas de regressão mais rápidas do que os do GC, sem diferença significativa entre os grupos G24 ou G48, em todo o período de tempo de avaliação das lesões (FIGURA 8). Os gráficos 1 e 2, expõem as porcentagens da evolução da contração das feridas em D7, D14 e D21, em relação às dimensões obtidas em D0. Segundo Laureano (2011), a contração ocorre ao longo da direção das linhas de tensão cutânea e depende de vários mediadores (serotonina, bradicinina, epinefrina e angiotensina) e da comunicação entre as células e a membrana extracelular (fibronectina). O principal mediador deste processo é o miofibroblasto, resultante de alteração fenotípica do fibroblasto durante a síntese de tecido de granulação, que é otimizada pela ação do gel.

A neoformação tecidual se dá na fase de proliferação epitelial, através da estimulação mitogênica e quimiotática dos queratinócitos pelo fator de crescimento transformante alfa (TGF- $\alpha$ ) e fator de crescimento epidérmico (EGF) (MURÉ, 2000). Não houve diferença marcante entre os grupos controle (GC) e tratamento (GT) de ambos os grupos (G24) e (G48) quanto à neoformação tecidual, o que pode ser considerado como positivo o fato das feridas do GT não apresentarem alterações macroscópicas que fujam do processo fisiológico normal,

quando comparadas ao GC, evidenciando dessa forma que o gel à base de nanopartículas de prata (NPAg) não interfere sobre esse parâmetro.

Na avaliação histopatológica não houve diferença relevante entre os grupos tratado e controle do G24 e G48 quanto à intensidade da inflamação local. A inflamação foi considerada discreta em todas as lâminas observadas no D14 como observado nos gráficos 3 e 4. Segundo Lima et al. (2007) a inflamação é a primeira resposta de defesa do corpo, reduzindo a sobrevivência e a proliferação dos agentes oportunistas na lesão que podem prejudicar a cicatrização, além de promover a reparação do tecido, conservando a energia do organismo. Portanto diante dos resultados observados, pode-se afirmar que o gel a base de nanopartículas de prata não interferiu negativamente no processo fisiológico natural.

Em relação a quantidade de fibroblastos, foi observado que no D14 do GT de ambos os grupos G24 e G48 apresentaram uma intensidade maior dessas células (Gráficos 3 e 4) do que no GC, com melhor organização para tracionar a ferida (Figura 9). Segundo Fossum (2014) os fibroblastos migram para a ferida na medida que a fase inflamatória se ameniza, sintetizando e depositando colágeno no local da lesão. A quantidade de colágeno foi discreta em ambos os grupos G24 e G48 tanto no grupo tratado (GT) como no grupo controle (GC) (Gráficos 3 e 4).

O que justifica com os resultados obtidos, que a semelhança entre os valores de colágeno observados, se adequa dentro do processo fisiológico normal e um estímulo positivo quanto aos fibroblastos, demonstra que o gel a base de nanopartículas de prata foi favorável sobre a produção dessas células, sabendo que são essenciais no processo de cicatrização da ferida.

No processo de neovascularização observou-se que não houve diferença significativa entre os grupos G24 e G48 de ambos os grupos tratado (GT) e controle (GC), sendo classificada como discreta (Gráficos 3, 4 e Figura 10). O que mostra uma similaridade no desenvolvimento fisiológico normal de novos vasos em ambos os grupos tratados com ou sem o gel a base de nanopartículas de prata, dessa forma considerando como benéfico o seu uso. Pois, como afirmam Mendonça; Coutinho-Netto (2009) o mecanismo de neovascularização participa na formação de tecido de granulação, nutrição e oxigenação do tecido em crescimento, dessa forma, sendo essencial na cicatrização.

## **CONCLUSÃO**

Com base nos resultados obtidos nesse estudo, pode-se concluir que o gel à base de nanopartículas de prata mostrou-se favorável no processo de cicatrização de feridas cutâneas,

resultando em um bom prognóstico, visto que apresenta compatibilidade com a fisiologia natural da reparação tecidual; trazendo alterações benéficas como a manutenção da umidade no leito da ferida, diminuição na formação de crosta e, microscopicamente, maior proliferação de fibroblastos. Além disso foi visto que não há necessidade da troca diária dos curativos, já que a troca em dias alternados demonstrou resultados semelhantes no que diz respeito à regressão da ferida.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. G. Eficácia do curativo de hidrogel com nanopartículas de prata na cicatrização de feridas crônicas: estudo clínico randomizado. 2017. 91f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. Minas Gerais, Brasil.
- COLI, M. Síntese e caracterização de nanopartículas de prata em matrizes de hidrogéis Eletrotermossensíveis. 2013. 101f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Itajubá. Minas Gerais, Brasil.
- FOSSUM, T. W. Cirurgia de Pequenos Animais. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 190p.
- HEDLUND, C. S. Cirurgia do sistema tegumentar. In: FOSSUM, T. W. Cirurgia de pequenos animais. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. Cap. 15, p.159-161.
- KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. Robbins - Patologia Básica. 8. ed. São Paulo: Elsevier, 2008. 928p.
- LAUREANO, A.; RODRIGUES, A. M. Cicatrização de feridas. Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia, v.69, n.3, p.355-365, 2011.
- LIMA, M. H. M.; ARAUJO, E. P. Diabetes mellitus e o processo de cicatrização cutânea. Cogitare Enfermagem, v.18, n.1, p.170-172, 2013.
- 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.
- 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.
- MARCONE, G.P. Avaliação da ecotoxicidade de nanopartículas de dióxido de titânio e prata. UNICAMP: Campinas. 2011. 208 p. Tese de Doutorado em Química.
- Mendonça R.J. & Coutinho-netto J. 2009. Aspectos celulares da cicatrização. An Bras Dermatol. 84(3):257-262.
- NOGUEIRA, R.M.B., KITAMURA E.A. & AGUIAR O.M. 2005. Estudo clínico da reparação tecidual de feridas cutâneas de cães tratados com papaína e colagenase. Nos Clín. 8(43):25-28.
- NORDBERG, B.A.F.M.; FRIBERG, L. Handbook on the toxicology of metals. 3. Ed. San Diego: Elsevier, 2007.
- OLIVEIRA, L. S. D. A. F.; OLIVEIRA, C. S.; MACHADO, A. P. L. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea—método de análise e perspectivas futuras. Revista de Ciências Médicas e biológicas, v.9, n.1, p.37-44, 2010.

PAGNANO, L. O. Análise da cicatrização na pele de coelhos após tratamentos de feridas com biomateriais associados à fração de proteína do látex natural da seringueira (*Hevea brasiliensis*). 2009. 78f. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista. São Paulo, Brasil.

PANOBIANCO M.S., SAMPAIO B.A.L, CAETANO E.A., INOCENTI A. & GOZZO T.O. 2012. Comparação da cicatrização pós-mastectomia entre mulheres portadoras e não-portadoras de diabetes mellitus. *Rev. Rene*. 11:15-22.

SILVA, R. S. C. AVALIAÇÃO TOMOGRÁFICA DA REGENERAÇÃO ÓSSEO EM COELHOS, ATRAVÉS DO USO DE QUITOSANA, HIDROXIAPATITA E GELATINA. 2014. 28f. Trabalho de conclusão de curso (Monografia). Universidade Federal de Campina Grande

SOARES, C. S. T. Efeito de nanopartículas de prata em neutrófilos humanos. 2014. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Portugal.

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.

**Figura 1** – Gel à base de nanopartículas de prata utilizado no estudo.



**Figura 2** – Pré-operatório com tricotomia ampla da região dorsal.



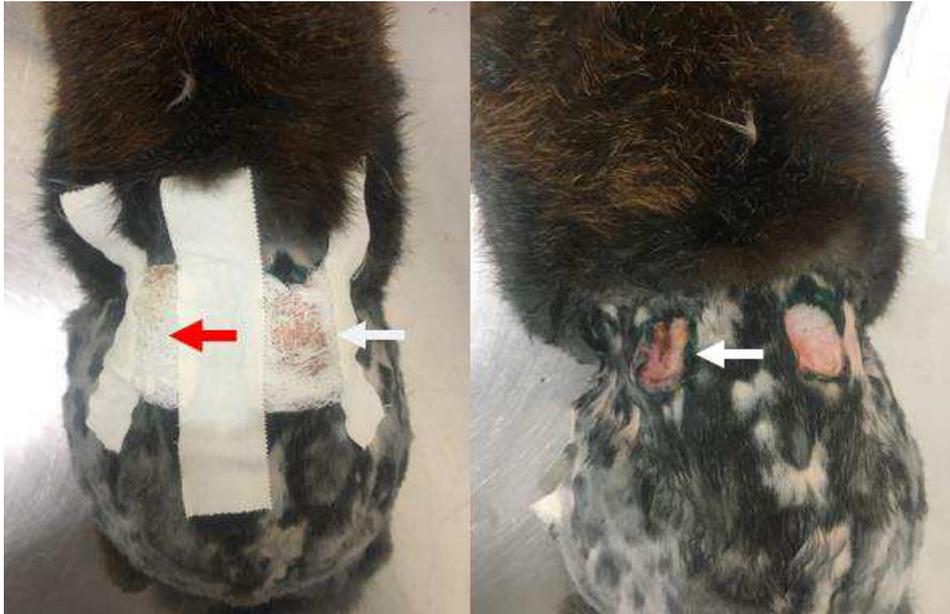
**Figura 3** – Demarcação do local de incisão na pele do



**Figura 4** – Mensuração das dimensões da ferida utilizando paquímetro digital em animal do grupo 1 (G24) no dia 10 pós-cirúrgico.



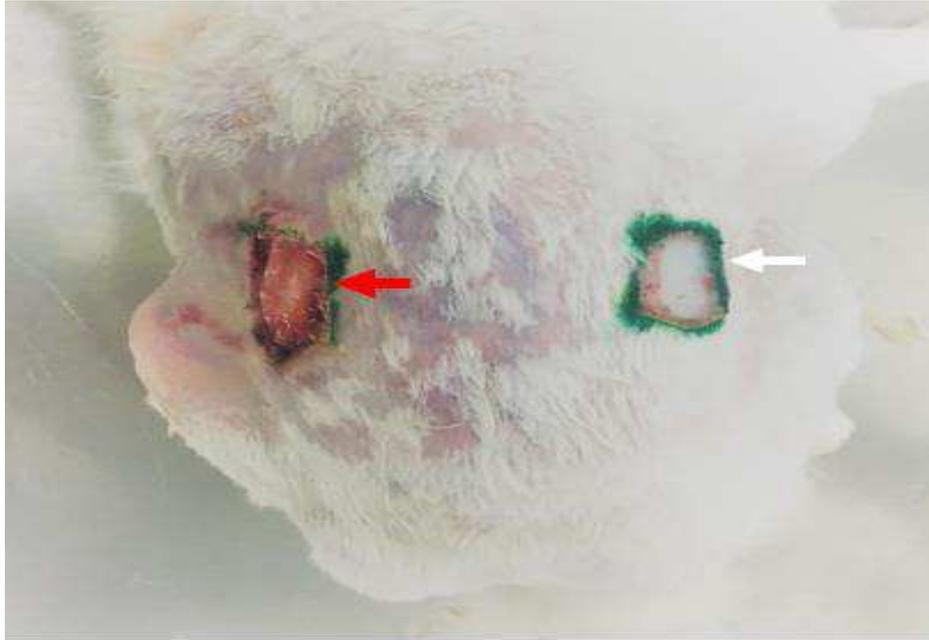
**Figura 5** – Animal pertencente ao G24 durante a primeira troca do curativo. (A) Observar a diferença de exsudato absorvido na gaze do GC (seta branca) comparado ao GT (seta vermelha). (B) Aspecto após remoção do curativo.



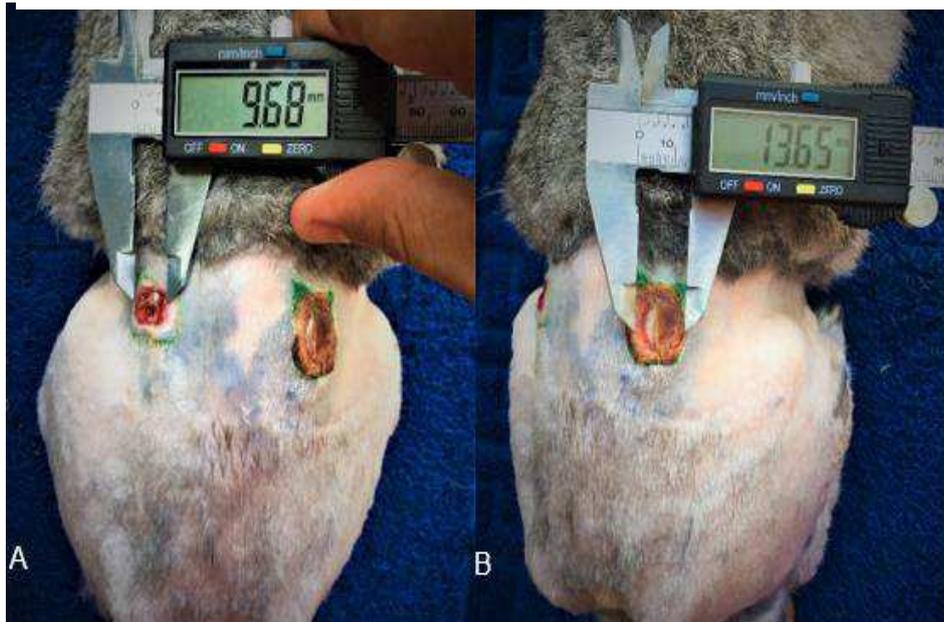
**Figura 6** – Formação de crostas em animal do G24 no D12. Observar crosta mais espessa e grosseira no GC (seta branca) em relação ao GT (seta vermelha).



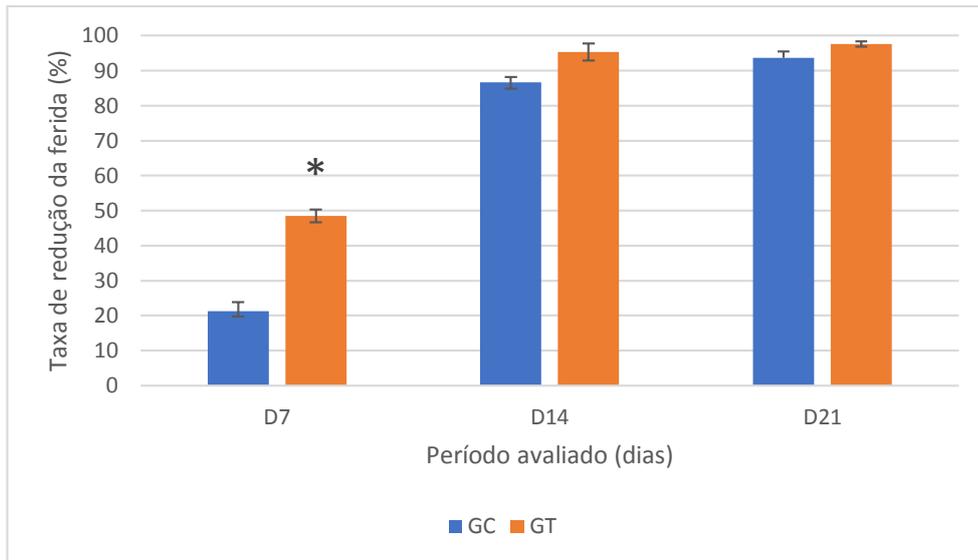
**Figura 7** – Animal do grupo G48, no D4. Tecido de granulação saudável, vermelho e brilhante, no grupo GT (seta vermelha); em contraste com o aspecto esbranquiçado seta do grupo GC (seta branca).



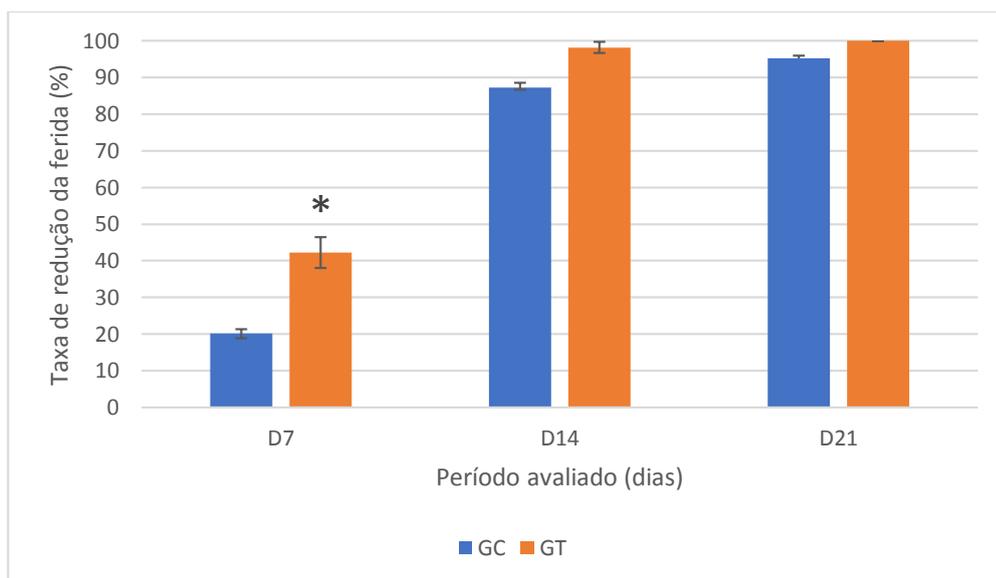
**Figura 8** – Mensuração das lesões com paquímetro digital do GT (A) e GC (B) em animal do G24, no D14.



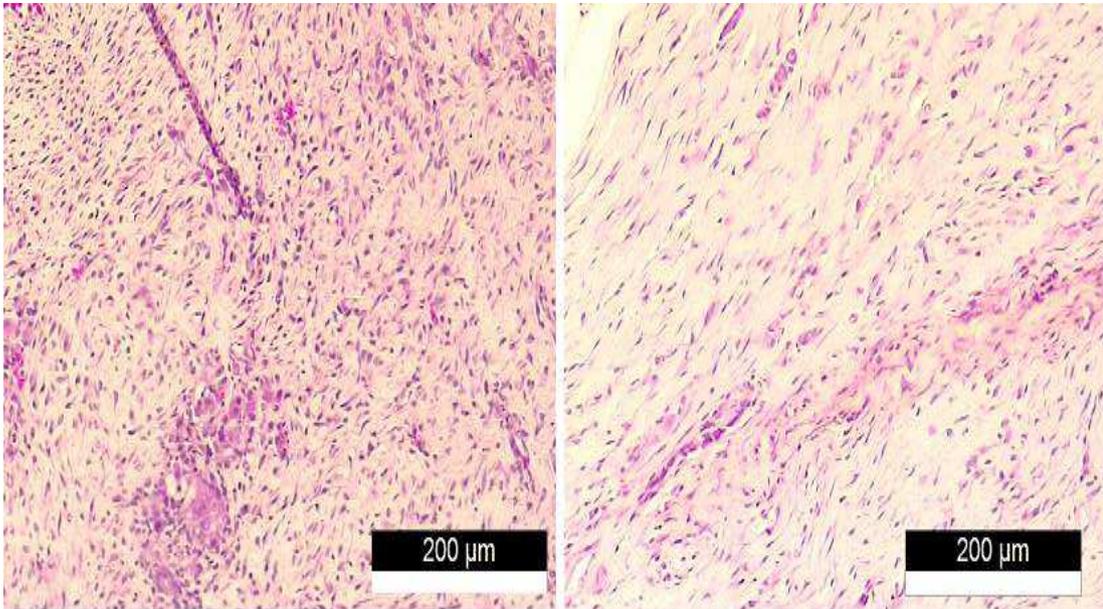
**Gráfico 1** – Valores médios e desvio padrão da taxa de redução em porcentagem das lesões do G24 nos dias 7, 14 e 21 do período de avaliação. Médias seguidas de \* no mesmo grupo diferiram estatisticamente no teste de Tukey a 5% de significância.



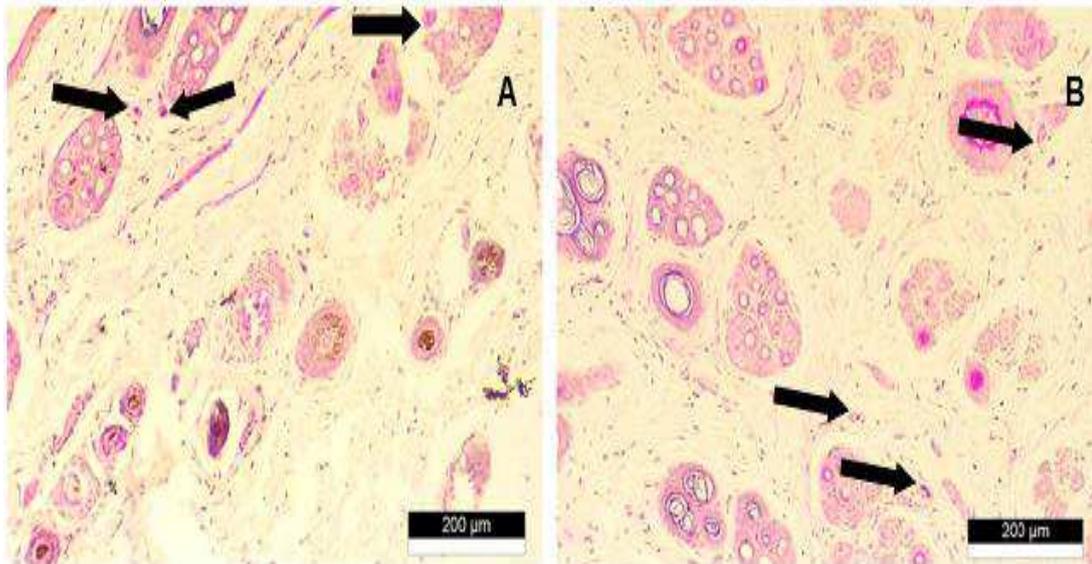
**Gráfico 2** – Valores médios e desvio padrão da taxa de redução em porcentagem das lesões do G48 nos dias 7, 14 e 21 do período de avaliação. Médias seguidas de \* no mesmo grupo diferiram estatisticamente no teste de Tukey a 5% de significância.



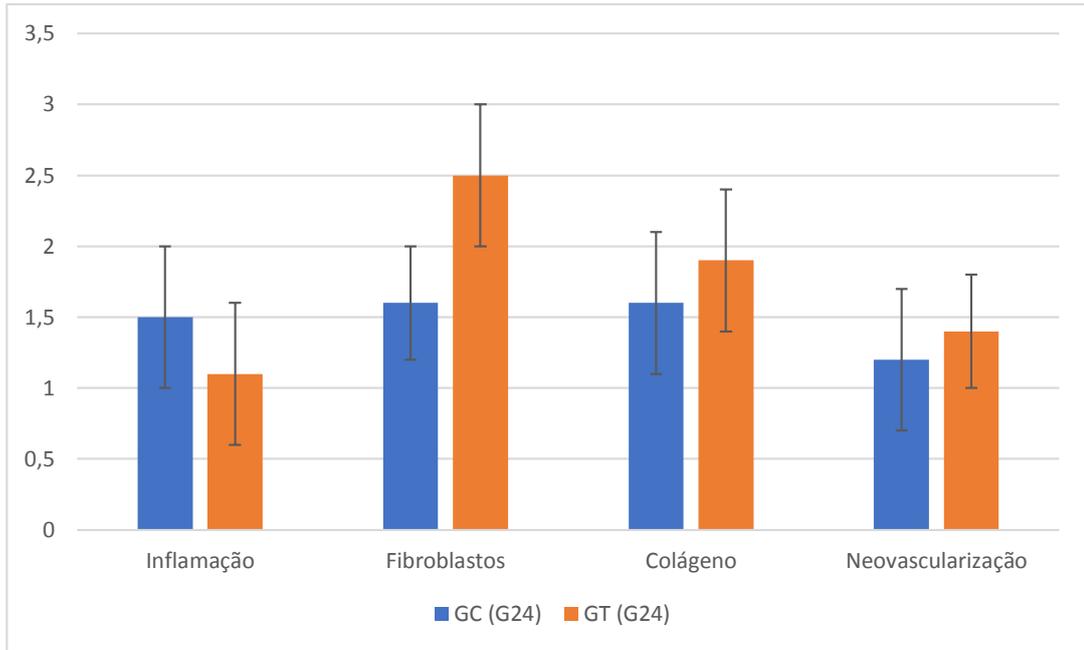
**Figura 9** – Fotomicrografia do D14 pós-cirúrgico do G24. (A) lâmina pertencente a animal do grupo tratado (GT), com quantidade de fibroblastos classificada no escore como intensa. (B) lâmina pertencente a animal do grupo controle (GC) com menor quantidade de fibroblastos, classificada no escore como discreta. HE. Objetiva 10x.



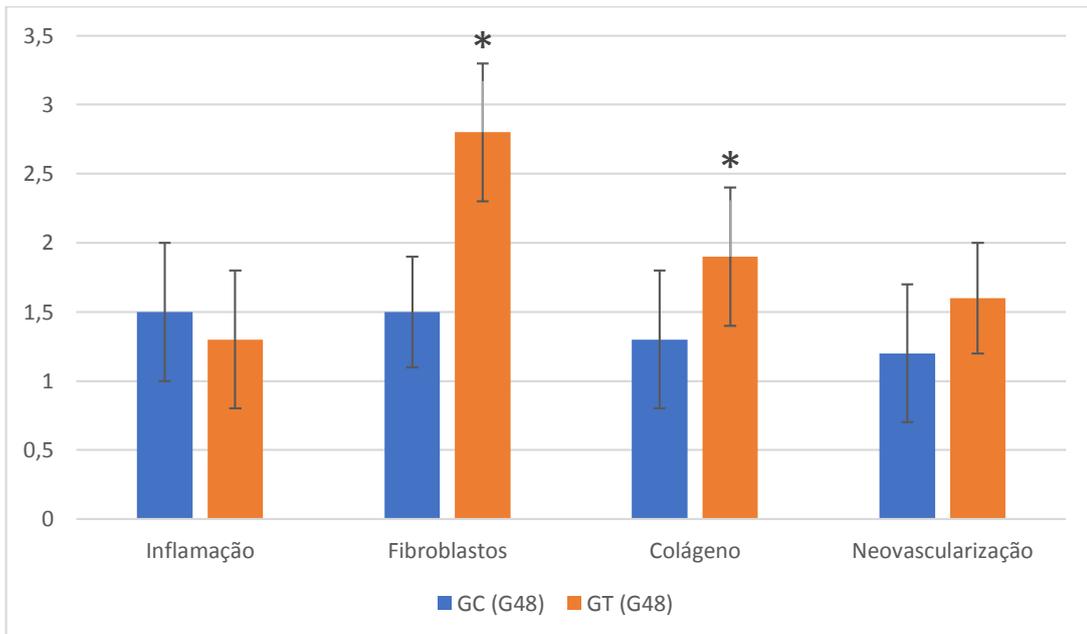
**Figura 10** – Fotomicrografia do D14 pós-cirúrgico do G48. Figura A representa lâmina de animal do grupo tratado (GT) e a figura B, do grupo controle (GC) exibindo a similaridade de novos vasos sendo formados, classificada como discreta no escore. HE. Objetiva 10x.



**Gráfico 3** – Valores médios e desvio padrão de escores da avaliação histopatológica do grupo G24 após 14 dias de tratamento. Médias seguidas de \* no mesmo grupo diferiram estatisticamente no teste de Nemenyi a 5% de significância.



**Gráfico 4** – Valores médios e desvio padrão de escores da avaliação histopatológica do grupo G48 após 14 dias de tratamento. Médias seguidas de \* no mesmo grupo diferiram estatisticamente no teste de Nemenyi a 5% de significância.



## NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIÊNCIA RURAL

**1. CIÊNCIA RURAL** - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

**2. Os artigos científicos, revisões e notas** devem ser encaminhados via eletrônica e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.

**3.** O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo .doc, .pdf).

**4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão (Modelo .doc, .pdf).

**5.A nota deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres

humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. (Modelo .doc, .pdf).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista [www.scielo.br/cr](http://www.scielo.br/cr).

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1.Citação de livro: JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v. TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2.Capítulo de livro com autoria: GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3.Capítulo de livro sem autoria: COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: \_\_\_\_\_. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90. TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: \_\_\_\_\_. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4.Artigo completo: O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo: MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010384782008000800002&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782008000800002&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002

**9.5.Resumos:** RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pósgraduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

**9.6.Tese, dissertação:** COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

**9.7.Boletim:** ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo: Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

**9.8.Informação verbal:** Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

**9.9.Documentos eletrônicos:** MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo: Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. *Maturitas*, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000.

Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/serverjava/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. Anais... Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

**10.** Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

**11.** Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

**12.** Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

**13.** Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

**14.** Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

**15.** Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

**16.** Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.