

DIEGO DOS SANTOS PEREZ

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO PROCESSO DE REPARO EPITELIAL
EM CALVÁRIA DE RATO PELO USO DE CURATIVOS.**

CAMPO GRANDE
2017

DIEGO DOS SANTOS PEREZ

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO PROCESSO DE REPARO EPITELIAL
EM CALVÁRIA DE RATO PELO USO DE CURATIVOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Peixoto Ferrão Júnior

CAMPO GRANDE
2017

FOLHA DE APROVAÇÃO

DIEGO DOS SANTOS PEREZ

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO PROCESSO DE REPARO EPITELIAL
EM CALVÁRIA DE RATO PELO USO DE CURATIVOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Peixoto Ferrão Júnior

Resultado: _____ .

Campo Grande (MS), _____ de _____ de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Peixoto Ferrão Júnior (Presidente)

FAODO - UFMS

Prof^a. Dr^a. Nara Rejane Santos Pereira

FAODO-UFMS

Prof. Dr. Elizeu Insaurralde

FAODO-UFMS

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a todos os professores que de alguma forma contribuíram e serviram como fonte de ensino e inspiração em toda minha vida acadêmica; em especial aqueles que superam todas as dificuldades que são peculiares a essa profissão, e compartilham seu conhecimento pelo simples fato de amar o que faz.

AGRADECIMENTOS

Meu maior agradecimento vai a minha família, em especial aos meus pais, Antonio Carlos de Azevedo Perez e Maria Selma Perez, por serem pessoas inspiradoras não só na vida pessoal como profissional.

Agradeço a minha esposa Joanna Bortolotto de David pelo companheirismo, paciência e auxílio durante todo esse período.

Agradeço ao meu orientador, José Peixoto Ferrão Junior e toda a sua equipe (Allan Kalife; Eduardo Marcon, Aquilles Parma Neto e Eduardo Fialho) por terem compartilhado seus conhecimentos em Periodontia, o que permitiu minha iniciação científica.

Agradeço a todos os professores da FAODO, em especial aqueles que fazem parte do programa de mestrado, pela dedicação e empenho durante essa jornada.

Agradeço ao Biotério da UFMS, onde todos, sem exceção, sempre demonstraram disponibilidade, dedicação e respeito junto à pesquisa, permitindo que o desenvolvimento do experimento ocorresse da melhor forma possível.

Agradeço a secretaria de pós-graduação e todos os seus funcionários pela atenção dedicada nestes dois anos. Em especial ao Coordenador Prof. Dr. Pedro Gregol.

Agradeço aos meus colegas de turma, com os quais passei dois anos de ótimo convívio, sempre amigável e respeitoso, permitindo que houvesse uma troca de conhecimento muito positiva.

Agradeço aos meus colegas de disciplina, Bárbara Dantas Coelho, Fernando Olazar e Natalia Trevizam, fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço a banca examinadora, Prof^a. Dr^a. Nara Rejane Santos Pereira e Prof. Dr. Elizeu Insaurralde, pela disponibilidade e empenho que só trouxe melhoras junto a dissertação.

Agradeço as Professoras Daniella Moraes Antunes e Carmen Regina Coldebella que de forma humilde demonstraram domínio nas suas áreas, sendo determinantes para realização deste ciclo.

Agradeço toda a equipe da histologia, representada pelo Sr. Claudio Gonçalves de Oliveira que sempre se mostrou capaz e solícito.

EPÍGRAFE

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar,
não seremos capazes de resolver os problemas causados pela
forma como nos acostumamos a ver o mundo”

(Albert Einstein)

RESUMO

Perez, DS. Análise histológica do processo de reparo epitelial em calvária de rato pelo uso de curativos. Campo Grande; 2017. [Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-graduação em Odontologia - Universidade Federal de Mato Grosso Sul].

A reparação constitui a última fase de uma inflamação bem sucedida. O uso de biomaterias, membranas curativas, pode favorecer esta resposta no processo de reparo epitelial. Com isso temos o objetivo de avaliar histologicamente o reparo epitelial das feridas em calvária de ratos, com a utilização de curativos de espuma antibacteriana, anti-inflamatória, hidrocolóide transparente, e coágulo (grupo controle). A pesquisa foi realizada em ratos da raça Wistar (n=40), com quatro lesões teciduais padronizadas. Os animais foram divididos em quatro grupos, T1, T2, T3, T4 com dez animais cada, sendo cada grupo sacrificado nos tempos de, sete, quatorze, vinte e um e vinte e oito dias, respectivamente após a primeira cirurgia. A análise realizada foi do processo de neoangiogênese, infiltrado inflamatório, reepitelização e anexos cutâneos. O uso das membranas curativas não apresentou melhoras no processo de reparo no que se refere ao tempo de cicatrização. Dentre os critérios avaliados histologicamente a membrana Comfeel Plus® apresentou uma melhor resposta na atividade angiogênica comparado ao grupo controle.

Palavras chave: Cicatrização, Materiais biocompatíveis, Regeneração

ABSTRACT

Perez, DS. Histological analysis of the epithelial repair process in rat calvaria using dressings. Campo Grande; 2017. [Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-graduação em Odontologia - Universidade Federal de Mato Grosso Sul].

Repairing is the last stage of successful inflammation. The use of biomaterials, curative membranes, can favor this response in the process of epithelial repair. The objective of this study was to evaluate histologically the epithelial repair of wounds in calvaria of rats, using antibacterial, anti-inflammatory foam, transparent hydrocolloid and clot dressings (control group). The research has been done in Wistar rats (n = 40), with four standardized tissue lesions. The animals were divided into four groups, T1, T2, T3, T4, ten rats for each group and they were sacrificed at seven, fourteen, twenty one and twenty eight days, respectively, after the first surgery. The analysis was based on the process of neoangiogenesis, inflammatory infiltrate, reepithelization and cutaneous appendages. The use of the healing membranes did not show improvements in the repair process regarding the healing time. Among the criteria histologically assessed, the Comfeel Plus ® membrane presented a better response in the angiogenic activity compared to the control group.

Keywords: Wound healing, Biocompatible Materials, Regeneration

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

CEUA – Comitê de ética em uso de animais

RPM – Rotação por minuto

LISTA DE SÍMBOLOS

3D – três dimensões

® - marca registrada

Ag⁺ - forma iônica da prata

Ibu – Ibuprofeno

AgNO₃ – Nitrato de Prata

AgSd - Nitrato de prata com sulfadiazina

% - percentual

h – hora

cm – centímetro

cm³ - centímetro cúbico

°C – grau Celsius

J – joule

ml – mililitros

g – grama

kg – quilograma

mg – miligrama

µm – micrômetro

T – tempo

G – grupo

>- maior

<- menor

‡ – conclusão

α – nível de significância

= – igual

CO₂ – dióxido de carbono

LISTA DE FIGURAS

Figuras 1- Gaiolas identificadas e mantidas com ração e água.....	31
Figura 2 - Cloridato de Cetamina	32
Figura 3 - Cloridato de Xilazina.....	32
Figura 4 - Digluconato de Clorexidina 2%.....	32
Figura 5 - Pentabiótico Veterinário.....	33
Figura 6 – Butorfanol	33
Figura 7 - Motor Elétrico.....	33
Figura 8 - Lesões realizadas	33
Figura 9 - Curativos realizados	34
Figura 10 - Remoção das Peças	35
Figura 11 - Frascos de Formol 10%.....	35
Figura 12 - Câmara de CO ₂	35
Figura 13 - Neoangiogênese (Objetiva 50x)	37
Figura 14 - Neoangiogênese (Objetiva 100x)	37
Figura 15 - Infiltrado Inflamatório (Objetiva 100x)	38
Figura 16 - Infiltrado Inflamatório (Objetiva 400x)	38
Figura 17 - Reepitelização (Objetiva 50x)	39
Figura 18 - Reepitelização (Objetiva 100x)	39
Figura 19 - Reepitelização (Objetiva 400x)	39
Figura 20 - Anexos Cutâneos (Objetiva 50x)	40
Figura 21 - Anexos Cutâneos (Objetiva 100x)	40

Lista de Tabelas

Tabela 1: Descrição dos escores utilizados para a avaliação da neoangiogênese.....	37
Tabela 2: Descrição dos escores utilizados para a avaliação do infiltrado inflamatório	38
Tabela 3: Descrição dos escores utilizados para a avaliação da reepitalização.....	39
Tabela 4: Descrição dos escores utilizados para a avaliação dos anexos cutâneos	40
Tabela 5: Valores avaliados nos diferentes períodos para neoangiogênese.....	41
Tabela 6: Valores avaliados nos diferentes períodos para infiltrado inflamatório....	42
Tabela 7: Valores avaliados nos diferentes períodos para reepitelização.....	43

Lista de Gráficos

Gráfico 1: Valores dos diferentes materiais estudados nos diferentes períodos para neoangiogênese	42
Gráfico 2: Valores dos diferentes materiais estudados nos diferentes períodos para infiltrado inflamatório.....	43
Gráfico 3: Valores dos diferentes materiais estudados nos diferentes períodos para reepitelização.....	44
Gráfico 4: Valores dos diferentes materiais estudados nos diferentes períodos para anexos cutâneos	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1. CURATIVOS EPITELIAIS.....	21
2.2. CURATIVOS COM PRATA.....	23
2.3. CURATIVO COM ANTI-INFLAMATÓRIO.....	25
2.4. CURATIVO HIDROCOLÓIDE.....	26
3. OBJETIVOS.....	29
4. MATERIAL E MÉTODO.....	30
4.1. MATERIAIS.....	30
4.2. ANIMAIS.....	31
4.3. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO.....	32
4.3.1. PREPARO DOS ANIMAIS.....	32
4.3.2. CONFECÇÃO DAS LESÕES.....	33
4.3.3. COLETA DAS PEÇAS.....	34
4.4. PROCEDIMENTO HISTOLÓGICO.....	35
4.5. PROCEDIMENTO ESTÁTISTICO.....	36
5. RESULTADOS.....	41
5.1. NEOANGIOGÊNESE.....	41
5.2. INFILTRADO INFLAMATÓRIO.....	42
5.3. REEPITELIZAÇÃO.....	43
5.4. ANEXOS CUTÂNEOS.....	44
6. DISCUSSÃO.....	45
7. CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS.....	49
ANEXOS.....	52

1. INTRODUÇÃO

O reparo epitelial é um processo fisiológico essencial para a recuperação da integridade de órgãos e tecidos do organismo humano, bem como na manutenção de sua homeostase (ETHRIDGE et al., 2014).

A reparação constitui a última fase de uma inflamação bem sucedida, decorrente da eliminação do agressor. Ela compreende três fases evolutivas: inflamação e coagulação sanguínea; formação de tecido de granulação e maturação ou remodelação tecidual (CAMPOS et al., 2007). Na fase de inflamação, os eventos iniciais deste processo de reparo estão voltados para o tamponamento dos vasos sanguíneos rompidos, quase concomitantemente ao estímulo lesivo e devido à influência nervosa e ação de mediadores, ocorre uma vasoconstrição como primeira resposta. A injúria do endotélio dispara uma sequência de eventos, iniciando pela deposição de plaquetas, o resultado dessa sequência é a formação de um trombo, principal responsável pela oclusão do vaso sanguíneo. Os mediadores liberados pelas plaquetas ativadas se difundem nesta matriz formando um gradiente quimiotático que orienta a migração das células envolvidas com a instalação da resposta inflamatória. Uma vez que os neutrófilos são as células mais abundantes no sangue, um número significativo deles é passivamente coletado pelo trombo provisório durante o rompimento dos vasos. Esses neutrófilos migram então para a superfície da ferida e formam uma barreira contra invasão de micro-organismo. Vinte e quatro horas após a lesão eles constituirão 50% das células migradas ao local. Também por ação desses mediadores inflamatórios, os capilares não lesados se dilatam, tornando mais lento a circulação sanguínea, diminuindo sua força de arraste, permitindo assim, a marginalização dos leucócitos e sua ligação com moléculas de adesão presentes nas células epiteliais.

Na fase de formação do tecido de granulação, a produção e liberação dos mediadores químicos produzidos pelos macrófagos intensificam a migração e ativação dos fibroblastos, que por sua vez, irão realizar a maior produção de colágeno, fazendo com que a matriz extracelular comece a ser substituída por um tecido conjuntivo mais forte e mais elástico. Este processo é denominado de fibroplasia. E para a sua eficiência é necessário a ocorrência em paralelo à formação de novos vasos, essencial para a troca de novos gases e nutrição das células

metabolicamente ativas. Esse tecido formado por volta de quatro dias é caracterizado pela presença de muitos espaços vazios, devido a imaturidade dos vasos, os quais, são extremamente exudativos e sangram com facilidade. Ao final, o leito da ferida está totalmente preenchido pelo tecido de granulação, a circulação é reestabelecida pela neovascularização e a rede linfática está passando por regeneração. Lentamente o tecido de granulação é enriquecido com mais fibras colágenas que começam a dar à região lesada a aparência de cicatriz devido ao acúmulo de massa fibrosa.

Por volta do décimo dia, o leito da ferida está totalmente preenchido e inicia-se a fase de remodelamento. Nesta etapa surgem as primeiras fibras de colágeno tipo I, acentuando a sua deposição e ocorrendo o desaparecimento da maioria das células (processo de apoptose), formando-se então finalmente a cicatriz. A derme contém aproximadamente 80% de colágeno tipo I e 20% de colágeno tipo III. Já o tecido de granulação expressa 30 a 40% do tipo III, sendo considerado colágeno imaturo. Para o consenso atual, a resolução completa de uma ferida, somente pode ser considerada após a maturação e remodelagem da matriz extracelular. Essas fibras são subsequentemente digeridas pela colagenase, e resintetizadas de acordo com a orientação das fibras do tecido conjuntivo adjacente. Ao final desta etapa, os anexos da pele, como folículos pilosos e glândulas sofrem regeneração e a coloração da cicatriz permanece pálida, pois a regeneração dos melanócitos é deficiente.

O uso de biomaterias, membranas curativas, pode favorecer essa resposta no processo de reparo epitelial. A espuma antibacteriana (Biatain Ag®) é uma cobertura de poliuretano com uma estrutura 3D que promove a absorção de exsudato, tendo em sua composição a prata como principal agente. A espuma anti-inflamatória (Biatain Ibu®) apresenta-se com a mesma composição, porém embebida de ibuprofeno. Os curativos da linha Biatain Ag® e Ibu® são liberados de forma contínua, na medida em que o exsudato é absorvido, devido a uma tecnologia de absorção do curativo secundário que permite a absorção vertical do exsudato, evitando a saturação da espuma. Essas espumas ou almofadas são compostas por três camadas sobrepostas, sendo uma central de hidropolímero, que se expande delicadamente à medida que absorve o exsudato, e duas outras, formadas por tecido não aderente, o que evita agressão aos tecidos na remoção. Tem a sua principal indicação em feridas muito exudativas, pois, além da capacidade absorptiva,

mantém um ambiente úmido que favorece o processo de cicatrização e não requer cobertura secundária. Por ser um curativo novo no mercado, não dispõe ainda de literatura baseada em evidências sendo a maioria das publicações de apresentações em congressos e relatos de casos, e necessita, portanto, de mais avaliações para incorporação na prática clínica diária. (MOSER et al., 2013)

Já os curativos hidrocolóides (Comfeel Plus®) são polímeros que em contato ao meio úmido apresentam grande poder de absorção, sendo utilizado em feridas agudas e crônicas (DEMIRTAS et.al., 2010).

Diante da busca literária espera-se que esta pesquisa com o uso das membranas curativas selecionadas, possa trazer resultados positivos nos critérios a serem avaliados dentro do processo de reparo epitelial.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Todo o processo lesivo promove perda de massa tecidual e o leito de uma ferida aberta necessita ser preenchido através de duas estratégias diferentes. Na primeira, a própria natureza anatômica da ferida proporciona um estímulo para a migração e proliferação das células a partir das suas margens. Ou seja, as células basais ao perderem a interação com as células adjacentes, são ativadas, adquirindo propriedades mitóticas e proliferam em direção ao centro da lesão. Na segunda, mesmo quando o espaço da lesão está preenchido por tecido de granulação, as margens se movem uma em direção à outra, como se houvesse uma força de tração. Isto ocorre devido à diferenciação de alguns fibroblastos das margens da ferida para miofibroblastos, portanto, fibroblastos com capacidade contrátil (PEACOCK, 1984).

Esse processo ocorre lentamente levando muitos meses e até anos, e mesmo assim, uma cicatriz cutânea completamente madura possui apenas 70% da resistência da pele normal. (BALBINO et al., 2005). A resistência de uma cicatriz é dada pela quantidade de colágeno depositada e pela forma com que as fibras estão organizadas. Quanto maior o número de ligações covalentes transversais, maior a resistência da cicatriz. A deposição do colágeno é feita de uma maneira aleatória tendo como orientação a organização da fibronectina e dependendo da natureza e direção das tensões aplicadas ao tecido.

Fatores locais e sistêmicos podem influenciar negativamente a cicatrização. Destacam-se dentre os locais: isquemia, infecção, técnica cirúrgica, corpo estranho e edema. Já sistemicamente são citados a diabetes mellitus, deficiências vitamínicas, hipotireoidismo, doenças hereditárias (síndrome de Ehler-Danlos), alterações de coagulação, idade, sepse, insuficiência hepática, respiratória e renal, tabagismo, radioterapia, desnutrição e o uso de corticosteróide, drogas antineoplásicas, ciclosporina A, Colchicina e penicilamina (CAMPOS et. al., 2007).

As feridas podem ser classificadas como agudas ou crônicas, onde as agudas são aquelas que ocorre a ruptura de vasos sanguíneos que levam ao desencadeamento imediato do processo cicatricial, incluem as feridas cirúrgicas e traumáticas e geralmente ocorrem sem complicações. As feridas crônicas são as

que não cicatrizam em até seis semanas e são caracterizadas por defeito na remodelação epitelial. Na verdade, todas as feridas iniciam de forma aguda, o que ocorre é que patologias de base, infecções e isquemias retardam os efeitos agudos do processo, pois alteraram o ambiente celular e molecular impedindo a progressão para a cura. Desta forma, nas feridas crônicas não há proliferação normal nas margens, onde os seus fluidos são diferentes bioquimicamente, e há um retardamento da proliferação celular, como os queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais, o que causa um efeito negativo na cicatrização. Desta forma suas abordagens devem ser diferenciadas, pois seu microambiente apresenta grandes particularidades (OLIVEIRA, 2011).

O princípio dos tratamentos epiteliais pós-lesão baseia-se na reepitelização do tecido de revestimento a partir da reserva epitelial dos anexos dérmicos localizados no bulbo capilar onde estão presentes as células tronco epiteliais (MOSER, 2013),

2.1 – Curativos epiteliais

Os materiais a base de polímeros podem ser classificados como bioestáveis ou permanentes e bioabsorvíveis ou temporários. Os bioestáveis são materiais utilizados na substituição, por tempo indeterminado, de um tecido lesado, devendo possuir, portanto características mecânicas e físico-químicas compatíveis com tal função. Os materiais bioabsorvíveis são aqueles degradados tanto *in vitro* quanto *in vivo* sendo, portanto, utilizados como dispositivos temporários. (ROKKANEN et. al., 1998).

Dealey em 2001 refere que as qualidades de um produto eficaz para o tratamento de feridas devem incluir: facilidade de remoção; conforto; não exigência de trocas frequentes; boa relação custo-benefício; manter o leito da ferida com umidade ideal e as áreas periféricas secas e protegidas; facilidade de aplicação e adaptabilidade (conformação às diversas partes do corpo).

Uma revisão sistemática realizada por Borges e colaboradores no ano de 2007, avaliou o uso de tratamentos compressivos e tópicos em pacientes com úlceras venosas, visando assim avaliar o método mais eficaz nos tratamentos destas lesões. Dentre as amostras selecionadas, o uso do hidrocolóide nos tratamentos tópicos atingiu 21,1%, as espumas de poliuretano 5,3%. Os resultados sugerem que

o tratamento com compressão aumenta a taxa de cicatrização, já o tratamento tópico não permitiu concluir o melhor tratamento.

Dentro da bioengenharia tecidual muitos produtos têm sido desenvolvidos para melhor restauração e função dos tecidos. A partir destas disponibilidades atuais podemos classifica-los em duas gerações, os da 1ª geração, são produtos com base na terapia sem células-troncos, enxertos e transplantes, estes podem ainda ser subdividido em interativos, coberturas que interagem com o leito da ferida e levam a redução da dor, protegendo de infecções, controlam exsudato, hemostasia e preenchimentos de espaço cavitário e os bio-ativos coberturas feitas através de derivados naturais ou artificiais, normalmente combinam com polímero, e agem ativamente na cicatrização e na formação de novos tecidos. Os de 2ª geração, também chamados de substitutos biológicos da pele, são produtos baseados em células-troncos, elaborados para reproduzir fielmente a estrutura e função da pele (GOBO-OLIVEIRA, 2011).

As espumas são polímeros de matriz de poliuretano. Elas podem ser classificadas como coberturas semi-abertas ou como curativos passivos. As espumas são indicadas em feridas mais profundas ou em feridas muito exsudativas.(SMANIOTTO et al., 2012).

O uso dos curativos de proteção epitelial tem como objetivo principal não agredir mais a pele, ou seja, propiciar um ambiente adequado para a reepitalização, preferencialmente estéril, úmido e protegido do contato com o meio externo (PEREIMA MJL, 2013).

Segundo Moser, Pereima e Pereima (2013) descrevem que as preparações com prata vêm ganhando mais espaço no tratamento de queimaduras, visando principalmente uma atividade bactericida mais duradoura no leito da ferida e menor toxicidade para as células lesadas na queimadura.

Além da resposta fisiológica, o controle do micro-organismo no leito da ferida favorece a cicatrização, uma vez que a presença e a proliferação de bactérias e fungos nas feridas agudas podem rapidamente contaminar e retardar o processo de cicatrização. Concentrações elevadas de bactérias competem com as células do hospedeiro por nutrientes e oxigênio, além de liberar toxinas que lesam as células. Sistemicamente, a infecção bacteriana eleva os níveis séricos de citocinas e metaloproteases na matriz extracelular, diminuindo os fatores de crescimento,

quimiotaxia e fagocitose, que tem efeitos adversos na cicatrização das feridas. Como consequência da infecção local, ocorre a morte tissular, aumento do tamanho da ferida, hipóxia, oclusão vascular, isquemia e gangrena e necrose tecidual (MCDOUGALL R.J., 2013).

Os biomateriais podem ser definidos como todo material utilizado para substituir, no todo ou em parte, sistemas biológicos. Estes devem possuir a capacidade de permanecer em contato com o tecido vivo e recompor partes lesadas do organismo, ou ainda, auxiliar na recuperação. Podem agir de modo contínuo ou intermitente, entrando em contato com fluidos corpóreos, mesmo que localizados fora do corpo. Eles são compostos a partir de produtos metálicos, cerâmicos, polímeros sintéticos ou naturais (NUNES HC, 2014).

2.2 - Curativo com prata

No final da década de 60, FOX (1968), introduziu o creme de sulfadiazina de prata (Ag-SD) que é a combinação do Nitrato de prata com sulfadiazina, um agente antibiótico de amplo espectro que age na parede bacteriana. Atualmente é comercializada na forma de 1% de creme ou suspensão aquosa, sendo muito utilizado nos tratamentos de queimaduras, porém por possuir um tempo curto de ação requer reaplicações diárias.

Dentre as opções de curativos para tratamento de feridas em geral, o uso de prata como agente antimicrobiano vem sendo utilizado para desinfecção desde a idade antiga, com referências da civilização grega utilizando moedas de prata associada à conservação de líquidos armazenados, sendo indicado de uma forma preventiva. A partir do século XVII, a prata passou a ser utilizada terapêuticamente para tratamento de feridas e diversas doenças como conjuntivite, úlceras e outras doenças infectocontagiosas. A prata é biologicamente ativa na sua forma solúvel de Ag^+ , que é sua forma iônica (FONG et al., 2006). Inicialmente utilizava-se nitrato de prata 0,5%, para realizar a limpeza das feridas, seguindo com os cremes ou pomadas com sulfadiazina de prata e atualmente com os curativos com gaze, membranas de celulose entre outras. Essas são impregnadas de diferentes formas, podendo ser ionizada (processo químico ao qual produz os íons); micronizada (processo de redução dos cristais através de ar comprimido sem remover suas

propriedades ativas) e nanocristalina (redução ainda maior do cristal de prata). O nitrato de prata (AgNO_3) é a solução mais popular para o tratamento tópico das queimaduras, porém quando a concentração excede 1% pode ser tóxico as feridas. Além disso, atualmente ele mostra um retardo no processo de cicatrização comparado com outros tipos de tratamento. (ATIYEH et al., 2007).

Recentemente outras opções com prata vêm ganhando espaço nos tratamentos, visando principalmente uma ação bactericida mais duradoura no leito da ferida e menor toxicidade das células lesadas. Com o desenvolvimento de tecnologia polimérica, resultou grande numero de curativos compostos de uma cadeia polimérica impregnada com sal ou metal de prata. Ao escolher um curativo contendo prata deve-se levar em consideração as suas características, sendo o ideal promover um ambiente úmido e ter amplo espectro antimicrobiano com baixo potencial de resistência. Além de baixa toxicidade, ação rápida, não provocar irritação ou sensibilidade, não promover aderência e ser efetivo mesmo na presença de importante exsudato (JONES et al., 2004).

Guthrie et al.(2012) avaliaram a eficiência antibacteriana de curativos biológicos impregnadas com nanopartículas de prata em ratos com feridas infectadas. Após realizar feridas de 6 mm de diâmetro inoculou topicamente *Estafilococos áureos* na lesões e sobre pôs curativos Biobrane® e Biobrane® Ag. Após 72 horas quantificou a sua performance. Os resultados mostrados nas feridas tratadas com a membrana Biobrane® Ag obteve uma redução significativa na formação de colônias bacteriana. Concluindo que o uso pode ser promissor, porém mais estudos devem ser realizados em humanos.

Um estudo clínico randomizado feito por Leaper et al. em 2013, avaliou através de uma meta análise o pós-tratamento de feridas ulcerativas com o uso do curativo Biatain Ag® e curativas não ativas. Foram incluídos 685 pacientes com úlceras venosas na perna e concluiu que há evidências significativas para a utilização do curativo antimicrobiano no tratamento de úlceras venosas crônicas. Apresentando uma redução da área cruenta maior ou igual a 40% comparados com outros grupos. Sendo a cura completa em 12% dos casos que utilizaram Biatain Ag e 6% outros grupos.

O uso de curativo impregnado com prata foi avaliado num estudo retrospectivo de delineamento transversal por Moser e colaboradores, onde foram analisados 132

prontuários de crianças acometidas por queimaduras de espessura parcial. Onde a sulfadiazina de prata foi a mais utilizada (44,7%), seguido pela prata nanocristalina (25%). O tempo decorrido para a maioria da população na reepitelização foi menor que 21 dias, tendo assim um processo de reparo em um curto espaço de tempo. O número de trocas foi menor naqueles que utilizaram a prata nanocristalina comparado ao tratamento padrão.

Lee et al., em 2015, avaliaram curativos de poliuretano analisando suas propriedades de cicatrização em feridas e suas características físicas e morfológicas. Para este estudo, ele selecionou 11 membranas de poliuretano, incluindo a Biatain. Espessura, densidade, resistência à tração, umidade, retenção e absorção foram os critérios a serem analisados, além da análise em ratos no processo de cicatrização. A membrana Mediofarm[®] N teve os melhores resultados nas propriedades físicas e melhor capacidade de absorção. Sendo que essas características melhorou o processo de cicatrização promovendo um excelente potencial angiogênico.

2.3 - Curativo com anti-inflamatório

O curativo Biatain-Ibu[®] é constituído por uma espuma de poliuretano hidrofílico macio contendo ibuprofeno (concentração de ibuprofeno: 0,5mg/cm²) como parte integrante da matriz. A espuma é ligada a um filme do poliuretano semipermeável.

Um estudo proposto em 2008 por Steffansen & Herping teve como objetivo avaliar a resposta das feridas com alto e baixo nível de exsudato *in vitro*, fazendo uso de curativos compostos com ibuprofeno em diferentes tempos e concentração. A variação proposta foi avaliada nos dias 1 e 3 com concentração de 0.0147mg/cm² e 0.038 mg/cm² respectivamente. Assim, sugere-se que o nível de exsudato pode interferir no processo de absorção, quanto maior o nível de exsudato menor a absorção. Com isso ambos as situações podem ser utilizados o curativo de ibuprofeno, porém deve ser regulada a concentração conforme a capacidade de absorção.

Souza et al., no ano de 2014 elaboraram um estudo prospectivo avaliando o uso de espumas de poliuretano nas áreas doadoras de enxertos em 11 pacientes, onde a escolha do material se fez devido a não necessidade de troca do curativo e

sua permeabilidade a líquidos. Porém na maioria dos casos, o uso foi desanimador, pois os materiais tendiam a deslocar do local, além de um forte odor assim que as espumas eram molhadas. No entanto não houve complicações, tendo a reepitelização normal, num intervalo de 10 a 35 dias, não havendo infecção ou reação alérgica.

Segundo Liberato et. al., 2016, a utilização de curativo contendo ibuprofeno demonstrou ter relação direta com a diminuição da intensidade da dor e, além disso, com o aumento do tecido de granulação saudável, diminuição de eritema perilesional, capacidade de mobilização de exsudato, como também, a melhoria da qualidade de vida dos pacientes.

2.4 - Curativo hidrocolóide

A partir dos estudos de Winter (1962) e Roove (1972), que demonstrou que a taxa de epitelização era 50% mais rápida em ambiente úmido, comparada com a presença de crostas nas feridas secas, houve um avanço e grande revolução nos conceitos de curativos. Destacando-se o surgimento dos curativos oclusivos de hidrocolóide, primeiramente descrito no Reino Unido em 1982, os hidrocolóides são curativos compostos por uma camada externa de poliuretano e internamente sua composição apresenta carboximetilcelulose sódica, gelatina e pectina. Tendo como indicações feridas com pouco ou médio nível de exsudato. Seus mecanismos de ação se deve a formação de um gel hidrofílico, quando em contato com o exsudato, propiciando um meio úmido. Além de promover um isolamento térmico e sensorial (terminações nervosas) e reduzir o risco de infecção (oclusivo), pois a camada externa atua como uma barreira. Não requer troca diária, somente quando há extravasamento ou deslocamento. Por diminuir a tensão de oxigênio, estimulam a angiogênese, acelerando a granulação e epitelização. Sua limitação está em feridas fúngicas ou infectadas, podendo provocar odor desagradável, por reação do exsudato com o ativo. (MANDELBAUM et al., 2003).

Para Blanes (2004), o hidrocolóide interage com o exsudato para formar um gel, e o mesmo cria um meio úmido na superfície da ferida, que estimula a síntese do colágeno e acelera o crescimento e a migração das células epiteliais. O gel evita a aderência à ferida e proporciona alívio da dor, por manter úmidas as terminações

nervosas. A camada impermeável à água e gases promove isolamento térmico e meio hipóxico, que estimula a angiogênese. A inibição do crescimento bacteriano é potencializada pelo microambiente ácido promovido pela oclusão com este polímero.

No ano de 2010, Pinheiro et al., realizaram uma revisão integrativa da literatura, com o objetivo de analisar e comparar o uso de hidrocolóides e alginato de cálcio no tratamento de lesões cutâneas. Fizeram parte da amostra 12 estudos e o desfecho foi de redução da área de cicatrização em menor tempo e infecção. Os resultados permitiram estabelecer três recomendações ao uso do hidrocolóide, usar para coberturas de feridas abdominais ou neurocirurgia ou cicatrização por segunda intenção; usar para tratar úlceras por pressão de estágio II e III; uso associado à terapia compressiva.

Os estudos realizados por Dermitas et al. (2010), propôs avaliar o uso de diferentes membranas curativas no processo de reparo em áreas doadoras de enxertos epiteliais, isto se deve ao grande número de procedimentos realizados e a extensa variedade de produtos disponíveis anualmente no mercado, não apresentando ainda um consenso. O estudo selecionou 100 pacientes que foram submetidos ao procedimento de enxerto, tendo a coxa como área doadora. Os curativos foram realizados após hemostasia e mantidos por 4 dias. Casos que apresentaram infecção purulenta, odor ruim ou dor intensa foram descartados e excluídos do estudo. Até o processo final de epitelização os curativos eram trocados a cada dois dias. Os materiais foram os seguintes Aquacel Ag® (20 pacientes); Bactigras® com Melolin (24 pacientes); Comfeel® Plus Transparente (20 pacientes); Opsite® Flexigrid (19 pacientes) Adaptic® (14 pacientes). A metodologia apresentada comparou os seguintes critérios: o tempo necessário para epitelização de 90% das áreas doadoras, a presença de dor no 4,7e 14 dias (escala VAS); ao longo do prazo a qualidade da cicatrização (Escala VSS); o fácil manuseio e aplicação do material; avaliação clínica de infecção, como eritema, endurecimento, presença de pus e odor; custo por cm² do curativo. Um sistema de pontuação global comparou os critérios selecionados e utilizou um ranking para cada parâmetro. Dividi-se o resultado em três grupos, melhor desempenho, moderada e fraca, os resultados obtidos mostraram que a Comfeel® Plus transparente apresentou o melhor desempenho no controle da dor e custo e moderado nos outros parâmetros. Sendo a mais indicada para uso diário.

Os curativos de hidrocolóide são utilizados para tratamento de várias condições, incluindo diversos tipos de úlceras, feridas cirúrgicas, feridas oriundas de áreas doadoras de enxerto de pele, feridas superficiais e queimaduras. Uma revisão de literatura de 1980 a 2011 por Thomás (2012) mostrou que os curativos de hidrocolóide têm sido usados para a cicatrização de feridas operatórias por primeira e segunda intenção com resultados favoráveis.

Um estudo multicêntrico randomizado comparou os curativos de poliuretano com os curativos hidrocolóide em pacientes com úlceras venosas grau II nos braços. Foram triados 820 pacientes atendidos a nível hospitalar e em atendimentos domiciliares, com o objetivo de analisar a melhor eficácia na cura da lesão em 8 semanas e seu melhor custo-benefício. Os resultados nesta abordagem mostrou que houve uma melhora 10% da cura nas lesões com hidrocolóide e também tendo um melhor custo benefício comparado com os poliuretanos (GUILLÉN-SOLÁ et al., 2013).

A efetividade do hidrocolóide comparado com outras coberturas na cicatrização de úlceras por pressão foi analisada por Pott et al., no ano de 2014, através de uma revisão sistemática e metanálise. A busca realizada na base de dados selecionou nove artigos com uso de hidrocolóide sendo quatro com metanálise. Não havendo diferença significativa entre os grupos hidrocolóide e espumas ($p=0,84$). Tendo uma discreta superioridade nos curativos de poliuretano. Porém sugere-se que ensaios clínicos randomizados sejam realizados.

O uso dos curativos de hidrocolóide associado ou não a laser terapia de baixa potência foi analisado por Martins et al (2015), no processo de cicatrização de feridas em ratos. Quarenta animais machos foram divididos em 4 grupos: LG (recebeu 2 J/cm²); HG(tratado com hidrocolóide); LHG (laser + hidrocolóide) e CG (1ml de solução salina). As feridas foram avaliadas nos períodos pré-determinados três e sete dias. Onde foi considerado a macroscópica e histológica. Dentre os resultados obtidos pôde-se concluir que o curativo de hidrocolóide assim com o laser terapia favoreceu o processo de cicatrização dos ratos.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar histologicamente o reparo epitelial das feridas na região da calvária dos ratos, com a utilização de curativos de espuma antibacteriana, anti-inflamatória, hidrocolóide transparente, e coágulo (grupo controle).

3.1.1 Específico

Avaliar o estímulo que os biomateriais exercem sobre os tecidos epiteliais durante o processo de reparo, analisando qualitativamente o processo de neoangiogênese, infiltrado inflamatório, reepitelização e anexos cutâneos.

4. MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Materiais

Para o desenvolvimento desta pesquisa foram necessários alguns materiais, que estão relacionados abaixo:

- Analgésico butorfanol (Torbugesic[®], Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, Iowa, Estados Unidos);
- Anestésico de Cloridrato de Cetamina (Dopalen[®]) associado ao cloridrato de Xilazina (Anasedan[®])
- Antibiótico de uso veterinário reforçado (Pentabiótico Veterinário Reforçado[®], Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, Iowa, Estados Unidos);
- Digluconato de Clorexidina a 2% (Farmácia de Manipulação Orgânica, Mato Grosso do Sul, Brasil);
- Motor de Implante (Driller[®], BLM 600 Plus, Driller[®] Dental, Carapicuíba, São Paulo);
- Contra-ângulo 20:1 (Kavo[®], Kavo Kerr Group. Alemanha);
- Bisturi circular manual com 4.1mm de diâmetro (Conexão[®], São Paulo, Brasil);
- Curativo de Espuma Antibacteriana com Prata (Biatain[®]Ag, Rio de Janeiro, Coloplast do Brasil Ltda);
- Curativo de Espuma Anti-inflamatória (Biatain[®]Ibu, Rio de Janeiro, Coloplast do Brasil Ltda);
- Curativo Hidrocolóide Transparente (Comfeel[®] Plus, Rio de Janeiro, Coloplast do Brasil Ltda);
- Máquina de tosa (ProClip Agc2, andis[®],USA);
- Luva cirúrgica (Embramac[®], Itapira, São Paulo, Brasil);
- Cola de Cianocrilato (Super Bonder[®], Loctite, Brasil);
- Rações para animais de laboratório (Nuvilab CR - 1[®], Nuvital Nutrientes SA, Colombo, Paraná, Brasil);
- Formaldeído tamponado a 10 % (Farmácia de Manipulação, Mato Grosso do Sul, Brasil);
- Álcool 70%, 80%, 95% e absoluto (Farmácia de Manipulação, Mato Grosso do Sul, Brasil);

- Xylo (Farmácia de Manipulação, Mato Grosso do Sul, Brasil);
- Parafina (Farmácia de Manipulação, Mato Grosso do Sul, Brasil);
- Hematoxilina – Eosina (Farmácia de Manipulação, Mato Grosso do Sul, Brasil);
- Micrótomo Rotativo (LEICA 818 Perfil Alto – Alemanha)
- Lamínulas para Microscopia

4.2 Animais

Foram utilizados 40 ratos machos da raça Wistar (*Rattus norvegicus albinus wistar*), de procedência do biotério da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Campo Grande), com peso de aproximadamente 250g. Os animais foram mantidos em gaiolas unitárias de 25cm³, possibilitando espaço suficiente para sua movimentação e descanso, sob temperatura ambiente, iluminação e higiene controlada; alimentados com ração balanceada (Nuvilab CR - 1[®]) e água a vontade durante todo o experimento. Os animais permaneceram isolados, para certificar que fiquem estáveis e saudáveis, mantendo contato apenas com as pessoas envolvidas no trabalho.



Figura -1: Gaiolas identificadas e mantidas com ração e água.

Os procedimentos foram realizados após aprovação pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da UFMS sob o protocolo de número 742/2015 (em anexo). Todo o procedimento cirúrgico foi realizado na sala de experimentação do biotério da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, sob a supervisão de um veterinário

responsável. Os cuidados e medicamentos usados nos animais, bem como sua posologia, foram indicados pelo médico veterinário responsável pelo Projeto, com base na literatura (DAMY *et al.*, 2010).

4.3 Procedimentos cirúrgicos

4.3.1. Preparo dos animais

Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal com associação de Cloridrato de Cetamina - 75 mg/kg (Dopalen[®]) e Cloridrato de Xilazina - 10 mg/kg (Anasedan[®]). Foi feita anti-sepsia com digluconato de clorexidina a 2% (Farmácia de Manipulação Orgânica, Mato Grosso do Sul, Brasil) na região. Previamente a confecção das lesões foi realizada a tricotomia total da região a ser operada com auxílio de uma maquina de tosa (Proclip Agc2, andis[®]).



Figura 2: Cloridrato de Cetamina



Figura 3: Cloridrato de Xilazina



Figura 4: Digluconato de Clorexidina 2 %

Com os animais anestesiados foi aplicada uma dose de antimicrobiano de amplo espectro (Pentabiótico Veterinário Reforçado[®], Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, Iowa, Estados Unidos), via intramuscular, com posologia de 1 ml/kg e aplicação de uma dose de analgésico butorfanol (Torbugesic[®]) na dosagem de 0,1ml/300g peso.



Figura 5: Pentabiotico Veterinario



Figura 6: Butorfanol

4.3.2. Confeção das lesões

A pesquisa foi realizada nos animais, com quatro lesões na calvária de cada rato. Os grupos tiveram as lesões teciduais padronizadas em extensão, pelo diâmetro do bisturi circular 4.1mm (Conexão[®]), e profundidade, de 2 mm, por um “stop” confeccionado no bisturi, auxiliado por um motor elétrico (Driller[®], Blm 600 Plus. Brasil) pré-programada a 300rpm e um contra ângulo redutor 20:1(Kavo[®] Concept Brasil). As lesões foram divididas conforme o tratamento em quatro grupos: A – Curativo de Espuma Antibacteriana com Prata; B– Curativo de Espuma Anti-inflamatória C – Curativo Hidrocolóide Transparente; D – Coágulo (Controle).



Figura 7: Motor Elétrico

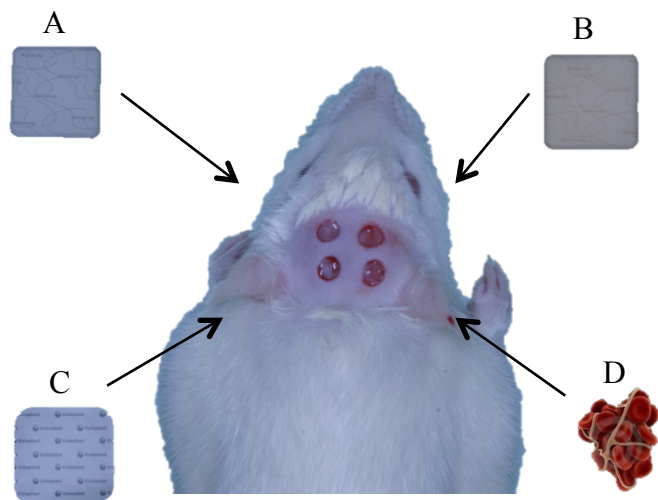


Figura 8: Lesões realizadas

A fixação dos curativos foi realizada com o auxílio da cola de Cianocrilato (Super Bond[®]) aplicada à distância das lesões e revestida para melhor proteção com fita micropore (3M[®]).



Figura 9: Curativos realizados

Os animais foram divididos em quatro grupos, T1, T2, T3, T4 com dez animais cada, sendo cada grupo sacrificado nos tempos de, sete, quatorze, vinte e um e vinte e oito dias, respectivamente após a primeira cirurgia.

4.3.3. Coleta das peças

Para remoção das peças foi realizado todo o preparo pré-cirúrgico estabelecido anteriormente e após-ação anestésica foi removida uma peça única da calvária incluindo as quatro lesões, na sequencia a divisão das peças em quatro e fixando as mesmas em frasco identificado com presença de formaldeído a 10%.

Sob o efeito do anestésico os animais foram colocados em uma câmara de dióxido de carbono (CO²), e o processo de eutanásia ocorreu em poucos minutos.



Figura 10: Remoção da peça

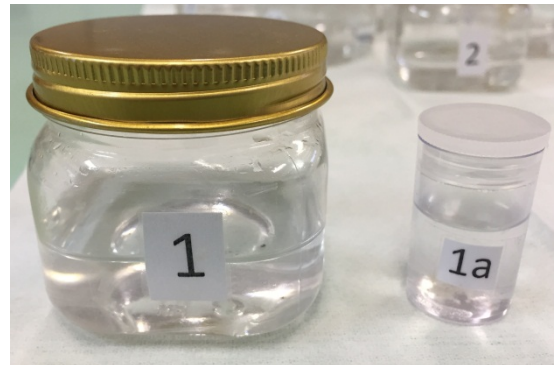


Figura 11: Frascos de formol 10%



Figura 12: Câmara de CO₂

4.4 Procedimentos histológicos

O processo de confecção das lâminas foi por fixação dos tecidos com formaldeído tamponado a 10% (Fosfato de Sódio 0,1 molar) por 48 horas. Após, foi realizada a desidratação das lesões com a série de álcoois (70%, 80%, 95% e absoluto), por 30 minutos em cada concentração. Em seguida, realizou-se a diafamação pelo xylol, por 30 minutos e impregnação com parafina à 60°C, por 30 minutos para inclusão dos blocos.

A microtomia dos blocos foi realizada em um micrótomo rotativo (Micron HM 325-ZEISS- Brasil), com navalhas descartáveis (LEICA 818 perfil alto – Alemanha) com secção de 5µm de espessura, semi-seriada, com intervalo de 20µm.

Os cortes foram corados com hematoxilina (30 segundos) – eosina (1 minuto) (HE), e em seguida foi feita a montagem dos cortes com resina (Entelan – MERCK – Brasil) em lamínulas. A análise histológica das lâminas foi realizada por microscópio ótico. (ZEISS, Microscópio, Brasil).

4.5 Procedimentos estatísticos

O estudo realizado foi cego, onde a leitura das lâminas foi feita pelo avaliador previamente calibrado, e em seguida, os escores foram comparados.

Os escores selecionados para a avaliação foram neoangiogênese; infiltrado inflamatório; reepitelização ,anexos cutâneos (somente a partir do 14° dia). Critérios baseados em Freitas (2013):

Neoangiogênese

Tabela 1: Descrição dos escores utilizados para a avaliação da neoangiogênese

0	quantidade de vasos igual ao tecido normal
1	pouca quantidade de vasos em relação ao tecido normal
2	moderada quantidade de vasos em relação ao tecido normal
3	grande quantidade de vasos em relação ao tecido normal

Figura 13: Neoangiogênese

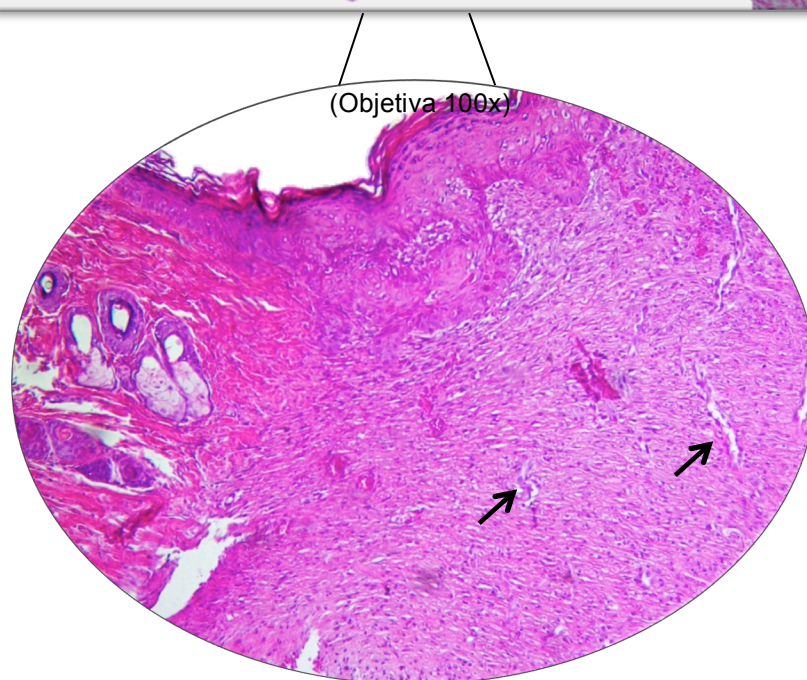
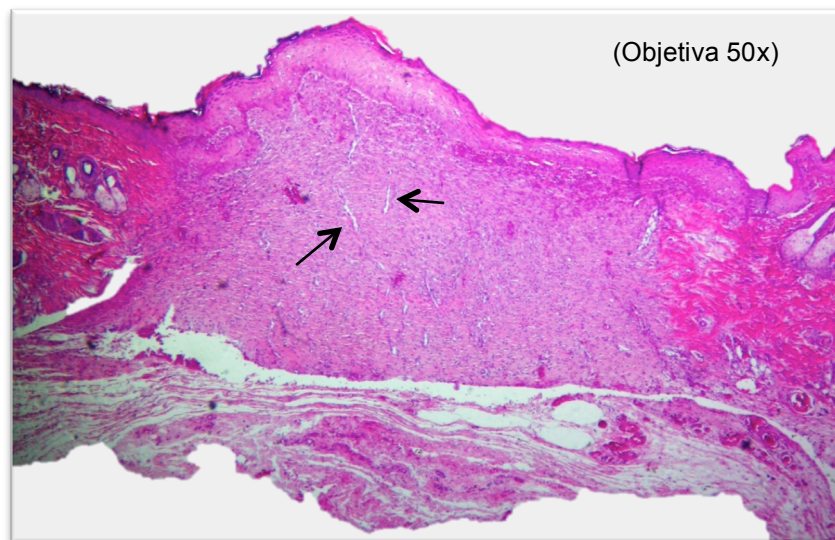


Figura 14: Neoangiogênese

Infiltrado Inflamatório

Tabela 2: Descrição dos escores utilizados para a avaliação da infiltrado inflamatório

0	quantidade de células inflamatórias iguais ao tecido normal
1	pouca quantidade de células inflamatórias em relação ao tecido normal
2	moderada quantidade de células inflamatórias em relação ao tecido normal
3	grande quantidade de células inflamatórias em relação ao tecido normal

Figura 15: Infiltrado Inflamatório

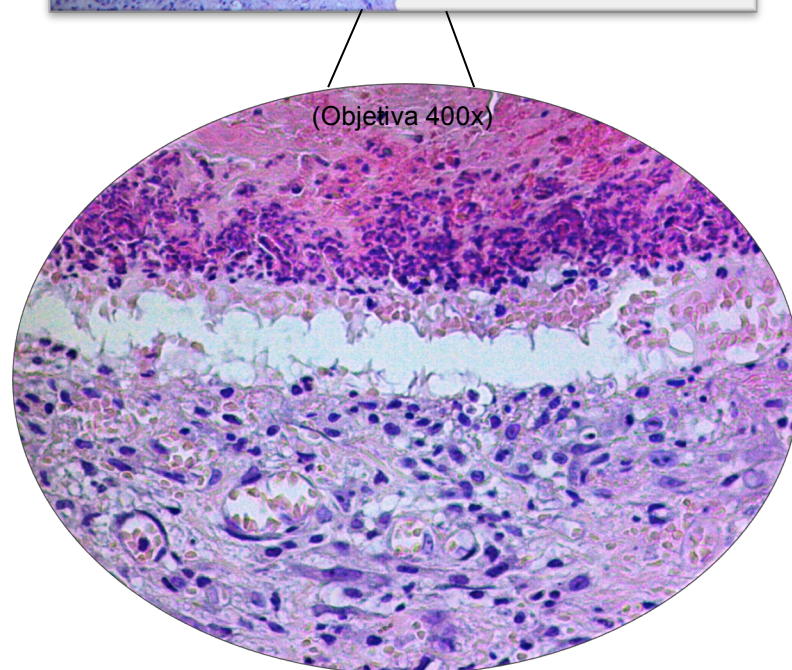
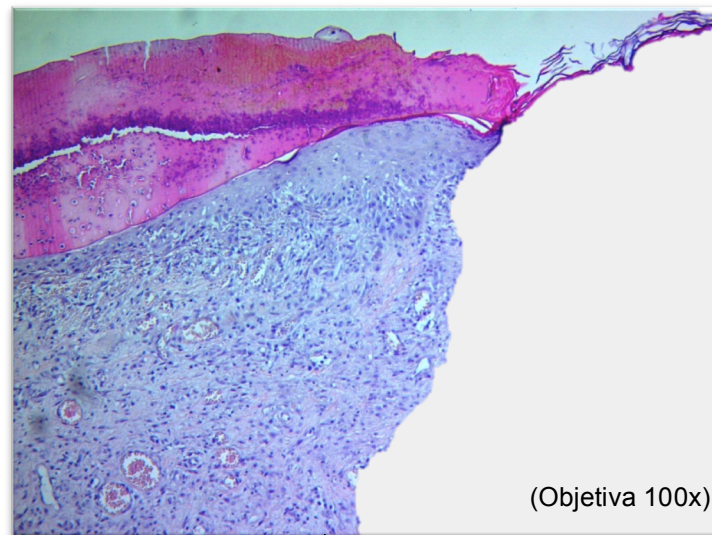


Figura 16: Infiltrado Inflamatório

Reepitelização

Tabela 3: Descrição dos escores utilizados para a avaliação da reepitelização

0	lesão sem revestimento epitelial
1	< 50% da lesão revestida por epitélio
2	> 50% da lesão revestida por epitélio
3	100% da lesão revestida por epitélio

Figura 17: Reepitelização

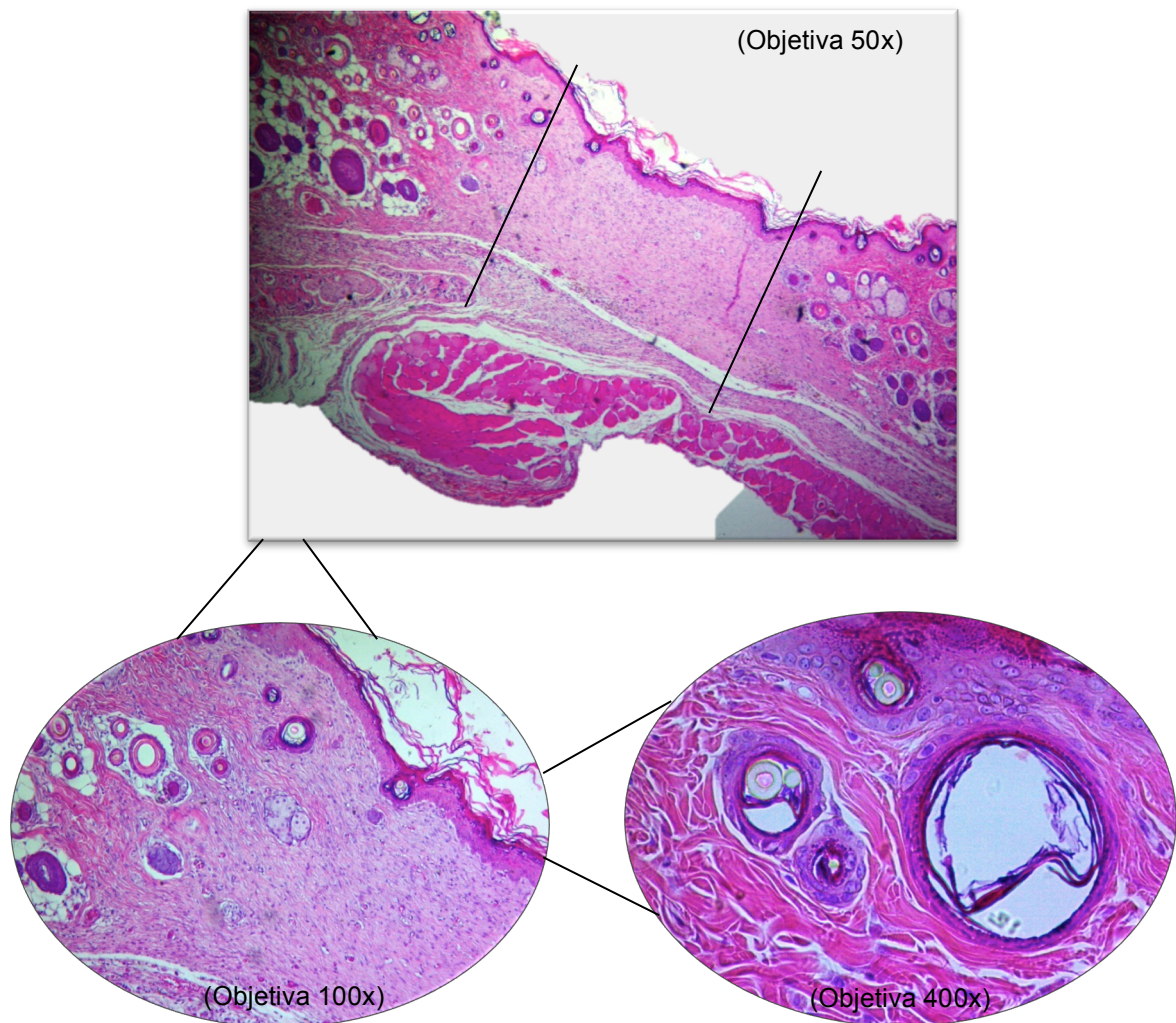


Figura 18: Reepitelização

Figura 19: Reepitelização

Anexos Cutâneos

Tabela 4: Descrição dos escores utilizados para a avaliação dos anexos cutâneos

0	ausência de anexos cutâneos
1	formação inicial dos anexos cutâneos
2	poucos anexos cutâneos
3	mesma quantidade de anexos cutâneos que o tecido normal

Figura 20: Anexos Cutâneos

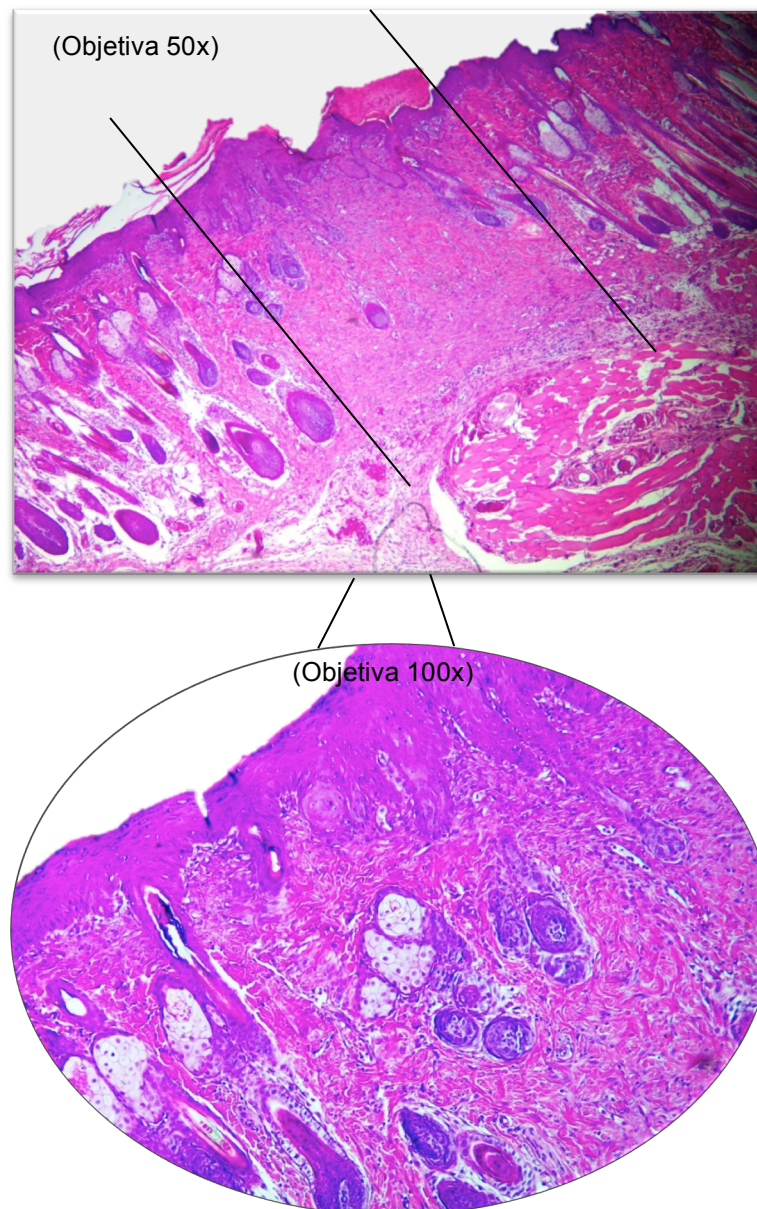


Figura 21: Anexos Cutâneos

A análise partiu de um delineamento experimental contendo quatro grupos com vínculo intra-grupos, as quatro variáveis independentes são de natureza qualitativa ordinal. O programa utilizado foi Biostat (Versão 5.0), sendo os testes de Kruskal-Wallis para os seguintes critérios: neoangiogêneses; infiltrado inflamatório; reepitelização e anexos cutâneos. Quando avaliado a evolução cronológica de cada membrana e o grupo controle, as variáveis independente tempo (7, 14, 21 e 28 dias) foi submetido ao teste estatístico de Friedman para os critérios analisados: neoangiogênese, infiltrado inflamatório e reepitelização. O nível de significância é de 5% ($\alpha=0,05$)

5. RESULTADOS

5.1 Neoangiogênese

No intervalo de 7 dias não houve diferença estatística entre as membranas. Com 14 dias, houve diferença entre as membranas C e D ($p<0,05$), sendo que a membrana C apresentou melhor resultado. Nos períodos de 21 e 28 dias, não houve diferenças entre as membranas ($p>0,05$).

Na avaliação das membranas houve diferenças estatísticas entre os períodos 7 e 21 ($p<0,05$) e entre 7 e 28 dias ($p<0,05$), sendo os melhores resultados foram observados com 7 dias. Além disso, as membranas B e C apresentaram diferenças entre os períodos 14 e 21 dias ($p<0,05$) e 14 e 28 dias ($p<0,05$), sendo 14 dias o melhor resultado.

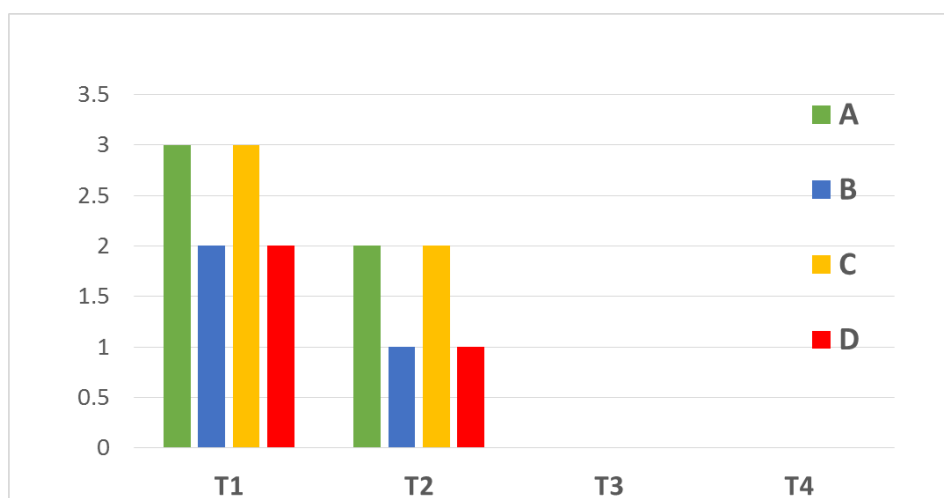
Tabela 5: Valores das medianas dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação, para a neoangiogênese.

Tempo de avaliação	A	B	C	D
T1	3(2 e 3) ^{aA}	2(1 e 3) ^{aA}	3(1 e 3) ^{aA}	2(1 e 3) ^{aA}
T2	2(1 e 2) ^{aAB}	1(1 e 3) ^{aA}	2(1 e 3) ^{aA}	1(0 e 2) ^{aAB}
T3	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}
T4	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}

* valores da mediana (mínimo e máximo)

** Os valores representados por letras minúsculas iguais nas linhas e letras maiúsculas iguais nas colunas não diferem estatisticamente.

Gráfico 1: Valores das medianas dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação, para a neoangiogênese.



5.2 Infiltrado inflamatório

Dados referentes ao infiltrado inflamatório detectado nos diferentes tratamentos por 7,14,21 e 28 dias estão apresentados na Tabela 4. Nos intervalos de tempo 7, 14, 21 e 28 dias não houve diferenças estatísticas entre as membranas ($p>0,05$).

Todas as membranas apresentaram o mesmo comportamento nos intervalos de tempo analisados. Com diferenças estatísticas entre os períodos 7 e 21 ($p<0,05$) e entre 7 e 28 dias ($p<0,05$), sendo os melhores resultados foram observados para 21 e 28 dias, respectivamente.

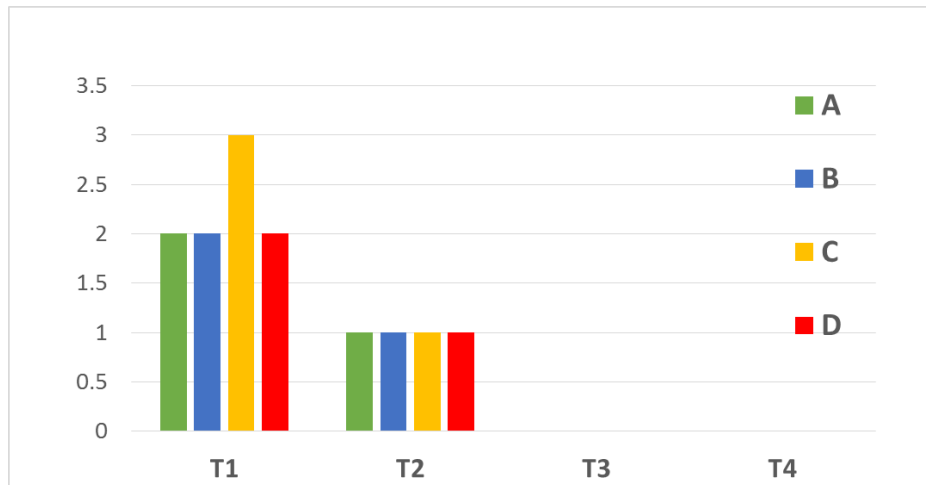
Tabela 6: Infiltrado inflamatório dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação.

Tempo de avaliação	A	B	C	D
T1	2(2 e 3) ^{aA}	2(1 e 3) ^{aA}	3(1 e 3) ^{aA}	2(1 e 3) ^{aA}
T2	1(0 e 1) ^{aAB}	1(0 e 2) ^{aAB}	1(0 e 2) ^{aAB}	1(0 e 3) ^{aAB}
T3	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}
T4	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}	0(0 e 0) ^{aB}

* valores da mediana (mínimo e máximo)

** Os valores representados por letras minúsculas iguais nas linhas e letras maiúsculas iguais nas colunas não diferem estatisticamente.

Gráfico 2: Infiltrado inflamatório dos diferentes materiais estudados, nos diferentes períodos de avaliação.



5.3 Reepitelização

Os valores obtidos para reepitelização estão presentes na Tabela 2. Nenhuma membrana mostrou diferença significativa em relação às outras nos períodos analisados, porém, todas as membranas apresentaram 100% de reepitelização com 14, 21 e 28 dias.

Para a membrana A nenhuma diferença estatística foi vista entre os períodos de tempo ($p=0,361$). O mesmo resultado foi observado para as membranas B ($p=0,951$), C ($p=0,209$) e D ($p=0,410$).

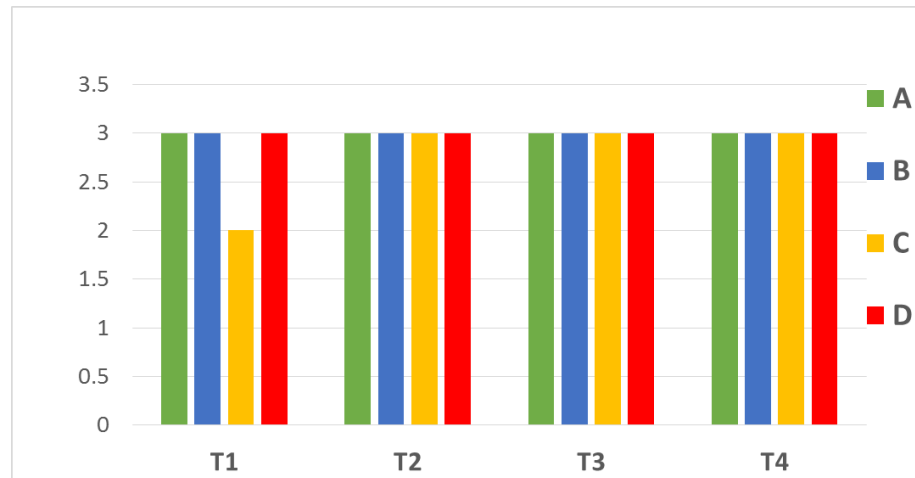
Tabela 7: Medianas da reepitelização aplicados os materiais distintos da pesquisa, nos diferentes períodos de tempo.

Tempo de avaliação	A	B	C	D
T1	3(1 e 3) ^{aA}	3(1 e 3) ^{aA}	2(1 e 3) ^{aA}	3(1 e 3) ^{aA}
T2	3(3 e 3) ^{aA}	3(1 e 3) ^{aA}	3(1 e 3) ^{aA}	3(0 e 2) ^{aA}
T3	3(3 e 3) ^{aA}	3(3 e 3) ^{aA}	3(3 e 3) ^{aA}	3(3 e 3) ^{aA}
T4	3(3 e 3) ^{aA}	3(3 e 3) ^{aA}	3(3 e 3) ^{aA}	3(3 e 3) ^{aA}

* valores da mediana (mínimo e máximo)

** Os valores representados por letras minúsculas iguais nas linhas e letras maiúsculas iguais nas colunas não diferem estatisticamente.

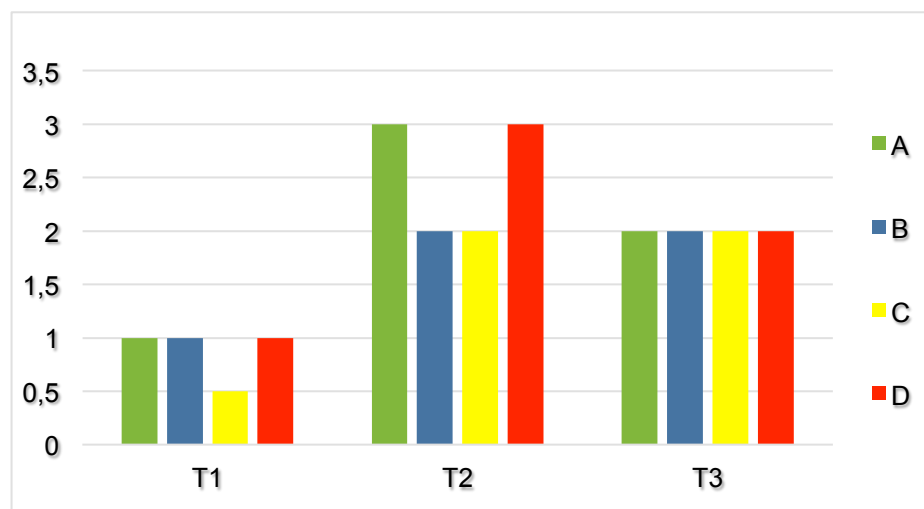
Gráfico 3: Medianas da reepitelização aplicados os materiais distintos da pesquisa, nos diferentes períodos de tempo.



5.4 Anexos cutâneos

Os dados obtidos para a ação dos diferentes materiais, nos diferentes períodos de tempo estudados, para os anexos cutâneos, estão apresentados no gráfico 4. Na análise dos intervalos de tempo (14, 21 e 28 dias) nenhuma membrana mostrou diferença significativa em relação às outras ($p=0,125$).

Gráfico 4: Medianas dos anexos cutâneos quando aplicados os materiais estudados, nos diferentes períodos de tempo.



6. DISCUSSÃO

No presente estudo, utilizou-se o modelo experimental animal para a indução da lesão tecidual, com o objetivo de padronizar algumas características intrínsecas das lesões, como área, profundidade e localização, características estas difíceis de encontrar em um modelo experimental humano. Optou-se por realizar a lesão na região da calvária, por ser uma área de difícil acesso ao animal, dificultando o auto ferimento. (SILVA et al.,2010).

A análise proposta neste estudo histológico com os tempos de 7,14,21 e 28 dias, buscou observar as diferentes etapas no processo de reparo, embora haja variações entre os animais, porém com objetivo aproximado do comportamento tecidual em cada fase evolutiva.

O reparo tecidual é um processo fisiológico complexo que compreende em três fases evolutivas fundamentais para a boa recuperação dos tecidos lesados, seja este dano traumático ou intervenção cirúrgica. A estratégia de reparo pode evoluir conforme a natureza anatômica da lesão, além dos fatores locais e sistêmicos do individuo (CAMPOS et al., 2007). Quando há alguma interferência neste processo, o ciclo não se completa, levando a cronificação da lesão (OLIVEIRA, 2011). O presente estudo buscou a padronização de todo o processo cirúrgico, além da semelhança entre os animais, para que de uma forma preventiva não houvesse interferências nos resultados, levando assim a uma resposta inflamatória inicial até o reparo final. Porém o fato de uma evolução natural não significa que não possa haver desconfortos e riscos neste período. O uso de membranas curativas pode favorecer esta reposta, trazendo um maior conforto, com menor risco e menor tempo.

A utilização das espumas de poliuretano vem como opção pelo de fato de ser um acessório de interface delicada, não traumática e não aderente ao leito receptor. Além da capacidade de absorção de exsudato e a incorporação de novas tecnologias como as partículas de prata e ibuprofeno. O uso durante o processo de cicatrização não esta associada a trocas frequentes, podendo se estender por todo o processo que leva de 21 a 28 dias, tornando-se assim economicamente viável. (MOSER, 2013).

O uso da prata com agente antimicrobiano, já esta consolidado na literatura (JONES et al.,2004; FONG et al., 2006; ATIYEH et al., 2007; GUTHRIE et al., 2012; LEAPER et al., 2013) porém diversas aplicabilidades ainda são estudadas em busca de melhores resultados. Corroborando os autores citados, o uso das nano partículas se mostra promissor pela lenta liberação e conseqüentemente maior tempo de ação com menores trocas, além da menor toxicidade. Mesmo os resultados demonstrados da membrana A (Biatain® AG) não ter apresentado diferença significativa, uma possível ação preventiva pode favorecer a cicatrização, já que todas as feridas obtiveram um reparo completo, ou seja, sem sinais de infecção e retardo no processo cicatricial.

Análise física e morfológica realizada por Lee et al., 2015, avaliando espessura, densidade, resistência a tração, humidade , retenção e absorção, se mostrou fiel no comportamento da membrana por nós utilizada, Biatain® Ag, onde desenvolveu dentro de suas características todo o período necessário para o experimento.

O uso das membranas de poliuretano impregnada com ibuprofeno, diferente dos resultados obtidos por Souza et al., em 2014, não apresentou o forte odor relatado pelo autor, porém da mesma forma, não obtivemos diferenças significativas nos critérios avaliados, o processo de reepitalização ocorreu normalmente, sem nenhum tipo de complicação.

A literatura demonstra a relação direta dos curativos do ibuprofeno na diminuição do controle da dor, Liberato et al., 2016. Porém dentro dos nossos objetivos não buscamos esse critério. Com isso o fato da resposta cicatricial ter ocorrido normalmente, o seu uso ainda se torna promissor perante esta possibilidade de promover um maior conforto aos nossos pacientes.

Os curativos hidrocolóides apresentam como principal agente o gel formado ao contato úmido, favorecendo assim o processo cicatricial. Por ser um curativo oclusivo diminui tensão de oxigênio acelerando a angiogênese, resposta esta demonstrada no intervalo de quatorze dias comparado ao grupo controle. Corroborando resultados apresentados por Manbelbaum et al., em 2003.

As lesões realizadas no experimento proporcionaram um reparo epitelial por segunda intenção, seguindo a literatura de Pinheiro et al., em 2010, o uso dos

hidrocolóides reduziu o tempo de reparo sem nenhuma alteração infecciosa comparada as membranas de alginato. Neste experimento o mesmo não ocorreu comparando as membranas por nós utilizadas, porém houve a reepitelização completa sem sinais de infecção. Confirmando assim a indicação por Thomás (2012), do seu uso em lesões por primeira e segunda intenção.

A efetividade dos hidrocolóides comparado às espumas de poliuretanos não apresentou diferenças significativas no processo final de cicatrização dentre os métodos por nós aplicados. Confirmando assim a metanálise realizada por Pott et al., 2014, onde os resultados se mostraram semelhantes. Porém dentre os parâmetros avaliados por Dermitas et al., 2010, o custo pode ser um critérios relevante, sendo assim os hidrocolóides seria o mais indicado para uso contínuo.

O critério da neoangiogênese a diferença se fez com 14 dias, onde a membrana Comfeel® Plus promoveu uma maior formação de novos vasos comparados ao grupo controle. Confirmando assim Blane (2004), que afirma que o meio hipóxico estimula a angiogênese. Dentre os períodos avaliados, sete dias apresentou melhores resultados, porém condiz com a evolução natural do processo de reparo, onde neste período, formação de tecido de granulação, ocorre à proliferação de novos vasos.

A resposta inflamatória não apresentou diferenças entre as membranas no mesmo período, confirmando a não ação de corpo estranho das membranas comparado ao grupo controle. Já na evolução entre os tempos, os melhores resultados de 21 e 28 dias mostram que o reparo está na fase final, ou seja, resposta semelhante ao tecido normal adjacente.

O processo de reepitelização não apresentou nenhuma diferença significativa entre as membranas, onde todos os grupos estavam totalmente reepitelizados a partir do 14° dia, cronologia essa relatada por Campos et al., 2007, onde a partir do 10° dia o leito da ferida esta totalmente preenchido mesmo havendo ainda um tempo indeterminado de maturação e remodelamento da matriz extracelular.

Nenhuma membrana apresentou diferença significativa entre elas e o grupo controle na análise dos anexos cutâneos, critério esse que se manteve estável, ou seja, sem interferência dos curativos utilizados nos períodos de quatorze, vinte e um e vinte e oito dias.

7. CONCLUSÕES

- O uso das membranas curativas não apresentou melhoras no processo de reparo epitelial.

- Dentre os critérios avaliados histologicamente a membrana Comfeel Plus® apresentou uma melhor resposta na atividade angiogênica comparada ao grupo controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN, Dibo SA. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. *Burns*. 2007; 33(2): 139-48.

Balbino CA, Pereira LM, Curi R. Mecanismo envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Rev. Bras. Cienc. Far.* 2005; 41(1): 27-51.

Blanes, L. Tratamento de feridas. Baptista-Silva JCC, editor. *Cirurgia vascular: guia ilustrado*. São Paulo: 2004.

Borges EL, Caliri MHL, Haas VJ, Revisão sistemática do tratamentos tópico da úlcera venosa. *Rev. Latino Americana em Enferm.* 2007; 15(6).

Campos ACL, Branco AB, Groth AK. Cicatrizacao de feridas. *ABCD Arq Bras Cir Dig* 2007; 20(1): 51-8.

Damy SB, Camargo RS, Chammas R, Figueiredo LFP. Artigo de Revisão *Rev. Assoc Med Bras* 2010; 56(1):103-11.

Dermitas Y, Yagmur C, Soylemez F, Ozturk N, Demir A. Management of split-thickness skin clinical trial for comparison of five different dressing materials. *J. of the Int. Society of Burn Inj.* 2010; 36(7):999-1005.

Dealey C, *Cuidando de feridas. Um guia para as enfermeiras*. São Paulo: Ed. Atheneu, Segunda Edição, 2001.

Ethridge RT, Leong M, Phillips, LG. Cicatrização de Feridas. In: Townsend, CM et al. Sabiston, *Tratado de cirurgia*. 19 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2014. P. 179-201.

Fong J, Wood F, Nanocrystalline silver dressings in wound management: a review. *Int. J Nanomedicine*. 2006;1(4):441-9.

Fox, C L.: Silver Sulfadiazine – A New Topical Therapy of Pseudomonas infection. *ARCH SURG* – Feb 1, Vol. 96, 1968.

Gobo-Oliveira M. Estudo comparativo de gel de plaquetas home madre versus hidrocolóide no processo de cicatrização de úlceras crônicas de etiologia venosa. *Dissertação Mestrado, Faculdade de Medicina Botucatu*, 2011, 78p.

Guillén-Solà M, Mieras AS, Tomàs-Vidal AM. A multi-center, randomized, clinical trial comparing adhesive polyurethane foam dressing and adhesive hydrocolloid dressing in patients with grade II pressure ulcers in primary care and nursing homes. *BMC Family Practice* 2013; 14:196.

Guthrie KM, Agarwal A, Tackes DS, Johnson KW, Abbott NL, Murphy CJ, Czuprynski CJ, Kierski PR, Schurr MJ, Mcanulty JF. Antibacterial Efficacy of Silver-Impregnated Polyelectrolyte Multilayers Immobilized on a Biological Dressing in a Murine Wound Infection Model. *Ann Surg.* 2012; 256(2): 371-377.

Jones SA, Bowler PG, Walker M, Parsons D, Controlling wound bioburden with a novel silver-containing Hydrofiber dressing. *Wound repair Regen.* 2004;12(3): 288-94.

Karas JA, Tkachenko O. Standardizing an *in vitro* procedure for the evaluation of the antimicrobial activity of wound dressings and the assessment of three wound dressings. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 6(7):1697-1700.

Leaper D, Munter C, Meaume S, Scalise A, Mompó N B, Jakobsen P, Gottrup F. The use of Biatain Ag in hard-to-heal venous leg ulcers: Meta-analysis of randomized controlled trials. *Plos One* 2013; 8(7) 1-6.

Lee SM, Kim YS, Kim HJ, Moon H, Mueller S, Jeong Y. Physical, morphological and wound healing properties of a polyurethane foam-film dressing. *Biomaterials Research* 2015; 1(2) 1-11.

Liberato SMD, Souza AJG, Costa IKF, Torres GV, Vitor AF, Lira ALBC A enfermagem no manejo da dor em pessoas com úlceras venosas: revisão integrativa *J. Res. Fundam. Care* 2016; 8(2): 4109-4120.

Mandelbaum SH, Di Santis EP, Mandelbaum MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte II *An bras Dermatol*, Rio de Janeiro, 2003 78(5) :525-542.

Martins SS, Torres OJM, Santos OJ, Limeira Jr. FA, Sauia Filho N, Melo SPC, Santos RHP, Silva VB, Analysis of the healing process of the wounds occurring in rats using laser therapy in association with hydrocolloid. *Acta Cirúrgica Brasileria.* 2015 30(10); 681.

McDougall RJ, Paediatric emergencies. *Anaesthesia.* 2013;68 Suppl 1:61-71.

Moser H, Pereima RR, Pereima MJL. Evolução dos curativos de prata no tratamento de queimaduras de espessura parcial. *Rev Bras Queimaduras.* 2013;12(2):60-67.

Nunes HC. Estudo comparativo de três diferentes Scaffolds para crescimento de célula tronco mesenquimal, fibroblastos e quartinocitos. *Dissertação Mestrado, UNESP –SP*, 2014; 110p.

Oliveira MG. Estudo comparativo de gel de plaquetas Home Made versus hidrocolóide no processo de cicatrização de úlceras crônicas de etiologia venosa, *Dissertação em Biotecnologia Médica, Botucatu*, 2011, 82p.

Peacock Jr., E.E *The wound repair.* Philadelphia: W.B Saunderd, 1984. P. 76-859

Pereima MJL, Goulart BC, Pereima RR, Feijó R, Freitas JL Diminuição do tempo de maturação de matriz de regeneração dérmica quando associado a uso de curativos de pressão negativa. *Rev. Bras. Queimaduras.* 2013; 12(3):145

Pinheiros LS, Borges EL, Donoso MTV. Uso de hidrocolóide e alginato de cálcio no tratamento de lesões cutâneas. *Rev. Bras. de Enfermagem*, 2013; 66(5) p. 760-770.

Pott FS, Meier MJ, Stocco JGD, Crozeta K, Ribas JD. A efetividade do hidrocolóide versus outras coberturas na cicatrização de úlceras por pressão em adultos e idosos: revisão sistemática e metanálise. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 2014; 22(3):511-20.

Rokkanen, P.; Törmälä, P.; Pohjonen, T. Bioabsorbable polymers: materials technology and surgical applications - *Proc. Instn. Mech. Engrs (Part H)*, 212, p.101 1998.

Rovee ET, Kurowsky CA, Labun J; Effect of local wound environment on epidermal healing. In: Maibach HI, Rovee DT (eds). *Epidermal Wound Healing*. Yearbook Medical Publishers, Chicago: 159–84 1972.

Thomas SS, Lawrence JC, Thomas A. Evaluation of hydrocolloids and topical medication in minor burns. *J Wound Care*.4(5):218-2; 2012.

Silva TS, Mendes F, Alves AMA, Alves EP, Bertolini GRF. Estudo microscópico da lesão tecidual em pele de ratos Wistar, tratados com laser de baixa potência. *R. bras. Bioc.*, Porto Alegre, v.8, n.3, p.264-267, jul/set.2010.

Smaniotto PH, Ferreira MC, Issac C, Galli R. Sistematização de curativos para o tratamento clínico de feridas. *Rev. Soc. Bras. Cir. Plást*. 2012; 27(4):623-6.

Souza SC, Briglia C, Mendonça M. Uso de espumas em áreas doadoras de enxertos. *Rev. Bras. Cir. Plast*. 2014; 29(1): 136-41.

Steffansen B, Herping SPK. Novel wound models for characterizing ibuprofen release from foam dressings. *International. J. of Pharmaceutics*. 364(2008) 150-155.

Winter GD; Formation of a scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature* 193: 293–34 1962.

