



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO ESTADO DO PARÁ
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO E EXTENSÃO
CURSO DE MEDICINA

ISABELA PARENTE E SILVA DE MEDEIROS
TOMAZ JOSÉ AQUINO VASCONCELOS DO CARMO

**ANÁLISE COMPARATIVA DE CONTROLES POSITIVOS NO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS.**

BELÉM-PARÁ

2021

ISABELA PARENTE E SILVA DE MEDEIROS
TOMAZ JOSÉ AQUINO VASCONCELOS DO CARMO

**ANÁLISE COMPARATIVA DE CONTROLES POSITIVOS NO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Centro Universitário do Pará – CESUPA,
como requisito parcial para conclusão da
graduação em Medicina.
Orientadora: Prof^a Dra. Rosa Helena de
Figueiredo Chaves.

BELÉM-PARÁ
2021

**Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
Biblioteca do CESUPA, Belém – PA**

Medeiros, Isabela Parente e Silva de.

Análise comparativa de controles positivos no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos / Isabela Parente e Silva de Medeiros, Tomaz José Aquino Vasconcelos do Carmo; orientadora Rosa Helena de Figueiredo Chaves. – 2021.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Centro Universitário do Estado do Pará, Medicina, Belém, 2021.

1. Cicatrização de feridas. 2. Ferida cirúrgica. 3. Ratos como animais de laboratório. I. Carmo, Tomaz José Aquino Vasconcelos do. II. Chaves, Rosa Helena de Figueiredo, orient. III. Título.

CDD 23° ed. 617

AGRADECIMENTO

À Deus primeiramente, por me proporcionar fé e perseverança para batalhar pela realização dos meus sonhos, por não me permitir desistir e me conceder forças até mesmo quando eu achava que não teria mais.

Aos meus pais, por tamanha dedicação, amor e abdicção, sei que foram 6 anos difíceis. Obrigada pelo suporte para que eu conseguisse estudar, para minhas distrações e por estarem sempre presentes em cada etapa dessa jornada. Obrigada por cada sacrifício e renúncia que fizeram por mim, sei que não foi fácil e espero recompensar cada um desses anos.

Aos meus irmãos e família, obrigada por existirem em minha vida, por terem paciência e compreensão em meus momentos de estresse e ansiedade, por entenderem minhas ausências em alguns momentos, por também terem feito abdicções para que eu conseguisse realizar meu sonho, serei eternamente grata.

Aos meus amigos antigos e de curso, agradeço por tornarem nossas obrigações e responsabilidades algo prazeroso e leve, por terem feito parte dessa trajetória inesquecível.

Ao meu namorado e companheiro de curso André Fernandes, por estar ao meu lado em todos os momentos da faculdade, sendo meu grande amigo, por nunca ter deixado eu me sentir sozinha e por sempre ter sido minha segurança, ajuda e companhia para horas e horas de estudo. Sem você não seria possível.

À Dra. Rosa Helena pelas orientações, paciência inigualável e ajuda que nos forneceu durante o processo de criação desse projeto. Para essa profissional incrível, o meu muito obrigada.

Ao meu grande amigo e irmão que a faculdade me proporcionou tomaz vasconcelos, por todas as caronas, resumos, ensinamentos, por ser meu grande companheiro desde o início da minha jornada e motivo de confiança extrema. Obrigada por confiar em mim para concluir esse caminho.

Isabela Parente e Silva de Medeiros.

AGRADECIMENTO

Começo por agradecer a Deus e a nossa senhora de nazaré por, ao longo deste processo complicado e desgastante, me ter feito ver o caminho, nos momentos em que pensei em desistir.

Aos meus pais, eu devo a vida e todas as oportunidades que nela tive e que espero um dia poder lhes retribuir, sem o auxílio de vocês não poderia ter chegado tão longe. Sei que foram muitas abdições, sacrifícios e esforços até esse momento, sempre serei eternamente grato e espero retribuir todo os esforços e expectativas que vocês depositaram em mim.

Ao meu irmão e a minha madrinha, que na ausência física dos meus pais, sempre foram meu suporte em todos os momentos que necessitei. Não há dúvidas que sem o acolhimento e cuidado de vocês, essa caminhada teria sido bem mais complicada, serei eternamente grato.

Às minhas avós, que sempre me apoiaram e se orgulharam por eu ter escolhido esse caminho. Vocês são motivo de imensa admiração e inspiração de vida para mim, muito obrigado por tudo.

Aos meus amigos, vocês são a minha família e sempre vou repetir isso, todo o suporte que vocês me proporcionam, são imensamente importantes nos momentos em que mais estive abalado e desestabilizado. Meu coração é repleto de gratidão por cada um que está nessa caminhada comigo.

Deixo também um agradecimento especial aos meus professores, pois vocês foram o meio pelo qual eu me moldei na graduação e consegui adquirir conhecimento para chegar até aqui. Cada ensinamento será eternamente lembrado.

À Dra. Rosa Helena, nossa querida e admirável orientadora, sem o seu auxílio esse trabalho de conclusão não seria possível. Agradecemos muito pela sua paciência e por se fazer presente ao longo de todo esse processo.

Por fim, gostaria de agradecer à minha companheira nesse trabalho, Isabela, por todo o companheirismo nessa jornada, que não foi fácil, sem seu apoio nada disso seria possível. Sou eternamente grato pela faculdade ter me presenteado com uma amiga que se tornou irmã, muito obrigado por nunca desistir de mim.

Tomaz José Aquino Vasconcelos do Carmo

RESUMO

Introdução: A cicatrização é um processo fisiológico do organismo que envolve diversos mecanismos complexos, como a interação entre células e fatores inflamatórios que visam restaurar as características morfológicas e fisiológicas desse tecido lesado. Vários fatores interferem nesse processo, como a hidratação da ferida e o uso de substâncias com potencial cicatrizante. Além disso, no campo experimental ainda não está bem estabelecido qual a substância ideal para auxiliar no processo de cicatrização a ser utilizada como controle positivo padrão em pesquisas experimentais. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi analisar o efeito na cicatrização de feridas cutâneas em ratos dos seguintes controles positivos: iodopovidona, clorexidine, soro fisiológico, hidrogel e óleo de girassol. **Objetivos:** Comparar o efeito observado no tratamento com soro fisiológico 0,9%, do óleo de girassol, do hidrogel, da clorexidina e do PVPI aquoso na cicatrização de feridas cutâneas induzidas em ratos. **Metodologia:** Estudo experimental, prospectivo, longitudinal, estatístico-comparativo. Foram utilizados 35 ratos, 5 animais destinados ao grupo piloto e os demais distribuídos randomicamente em 5 grupos de estudo, com 5 animais cada, submetidos a ferimento na região dorsal. Para isso, foi realizada, com auxílio de um bisturi frio, uma ferida cirúrgica na região dorsal dos animais e aplicadas diariamente em cada grupo experimental, a cada 12 horas, as substâncias citadas. No 3º, 7º, 14º e 21º dia foi realizada a análise macroscópica da ferida e após a última análise foi feita a eutanásia dos animais e processamento histológico do tecido para análise microscópica. **Grupo Controle Negativo (GCN):** animais que receberam a aplicação de solução fisiológica. **Grupo Óleo de Girassol (GOG):** animais que receberam o tratamento com óleo de girassol. **Grupo Hidrogel (GH):** animais que receberam tratamento da ferida com Hidrogel. **Grupo Clorexidina (GC):** animais que foram tratados com clorexidina. **Grupo PVPI aquoso (GPA):** animais que foram tratados com PVPI aquoso. **Resultados:** Na avaliação macroscópica, observou-se diminuição nas áreas de lesão média no decorrer dos dias, em todos os grupos, mais acentuada do 7º ao 14º dia. Ao 7º dia, o grupo **GOG** apresentou área significativamente maior (média de 560,6 mm²) quando comparado isoladamente ao grupo **GSF** (média de 302,8 mm²); os demais grupos não diferiram significativamente entre si neste dia. Ao 14º dia, encontrou-se também variação significativa ($p = 0,0093$, teste de Kruskal-Wallis), de forma que o grupo **GC** foi estatisticamente superior ao grupo **GSF** (médias de área 148,4 mm² e 66,4 mm², respectivamente). Não houve diferença significativa entre demais grupos. Na análise histológica, observou-se que as proporções de proliferação vascular não diferiram significativamente entre os grupos, com p-valor não significativo ($p = 0,07755$). Houve associação significativa apenas entre os grupos e a intensidade das células mononucleares ($p = 0,0169$) e entre os grupos e a intensidade das fibras colágenas ($p = 0,0486$). Quanto às células mononucleares, observou-se mais casos com manifestação acentuada de células mononucleares no grupo **HG** e discreta no **SF**. Quanto às fibras colágenas, observou-se proliferação mais discreta no **GSF** e nos animais dos grupos **HG** e **PVPI** mais acentuada. **Conclusão:** Concluiu-se que houve redução significativa dentro de cada grupo, em relação à área da ferida, macroscopicamente mais acentuada no grupo **SF**. Porém, não se pode concluir que esse seria o melhor grupo para controle devido proliferação de colágeno mais discreta.

Palavras chave: Cicatrização, Ratos, Tratamento, Ferida cirúrgica.

ABSTRACT

Introduction: Healing is a physiological process that involves several complex mechanisms, such as the interaction between cells and inflammatory factors that aim to restore the morphological and physiological characteristics of this injured tissue. Many factors interfere in this process, such as wound hydration and use of substances with healing potential. Furthermore, both in practice and in a situation in the experimental field, it is not yet well established which is the ideal substance to assist in the healing process. Therefore, the objective of this work will be to analyze the effect on the healing of skin wounds in rats with the following positive controls: PVPI, Chlorhexidine, Saline, Hydrogel and Sunflower Oil. **Objectives:** To compare the effect observed in the treatment with 0.9% saline solution, Sunflower Oil, Hydrogel, Chlorhexidine and aqueous PVPI on the healing of induced skin wounds in rats. **Methodology:** Experimental, prospective, longitudinal, statistical-comparative study. Thirty-five rats, 5 animals destined for the pilot group and the others were randomly distributed in 5 study groups, with 5 animals each. For this, a surgical wound in the dorsal region of the animals was performed and the substances mentioned were applied daily in each experimental group, every 12 hours. On the 3rd, 7th, 14th and 21st day, macroscopic analysis of the wound was performed and after the last analysis the animals were euthanized and histological tissue processing was performed for microscopic analysis. **Negative Control Group (GCN):** animals that receive an application of saline solution. **Sunflower Oil Group (SOG):** animals that receive treatment with Sunflower Oil. **Hydrogel Group (HG):** animals receiving wound treatment with hydrogel. **Chlorhexidine Group (CG):** animals that were treated with chlorhexidine. **Aqueous PVPI group (APG):** animals that were treated with aqueous PVPI. **Results:** In the macroscopic evaluation, there was a decrease in the areas of mean injury over the course of days, in all groups, more pronounced from the 7th to the 14th day. On the 7th day, the OG group presented significantly larger area (mean of 560.6 mm²) when compared alone to the SF group (mean of 302.8 mm²), but the other groups did not differ significantly from each other on this day. On the 14th day, significant variation was also found ($p = 0.0093$, Kruskal-Wallis test), so that the LC group was statistically superior to the SF group (area means 148.4 mm² and 66.4 mm², respectively). There was no significant difference between other groups. In histological analysis, it was observed that the proportions of vascular proliferation did not differ significantly between the groups, with p-value not significant ($p = 0.07755$). There was a significant association only between the groups and the intensity of mononuclear cells ($p = 0.0169$) and between the groups and the intensity of collagen fibers ($p = 0.0486$). As for mononuclear cells, more cases were observed with marked manifestation of mononuclear cells in the HG group and discrete in the SF. There was a significant association only between the groups and the intensity of mononuclear cells ($p = 0.0169$) and between the groups and the intensity of collagen fibers ($p = 0.0486$). As for mononuclear cells, more cases were observed with marked manifestation of mononuclear cells in the HG group and discrete in the SF. **Conclusion:** It was concluded that there was a significant reduction within each group, in relation to the wound diameter, macroscopically more accentuated in the SF group. However, it cannot be concluded that this would be the best group for control due to more discrete collagen proliferation.

Keywords: Wound Healing, Rats, Treatment, Surgical Wound.

LISTA DE SIGLAS

CESUPA - Centro Universitário do Estado do Pará

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CL – Clorexidine

HG – Hidrogel

SF – Soro Fisiológico

OG – Óleo de Girassol

PVPI – Iodopovidona

GC – Grupo Clorexidine

GHG – Grupo Hidrogel

GSF – Grupo Soro Fisiológico

GOG – Grupo Óleo de Girassol

GPVPI – Grupo Iodopovidona

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	OBJETIVO GERAL.....	13
2.2	ESPECÍFICOS.....	13
3	METODOLOGIA.....	14
3.1	ASPECTOS ÉTICOS.....	14
3.2	AMOSTRA.....	14
3.3	LOCAL E PERÍODO.....	14
3.4	DISTRIBUIÇÃO.....	15
3.5	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	16
3.6	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	16
3.7	OBTENÇÃO DO MATERIAL.....	16
3.8	PROCEDIMENTOS.....	16
3.9	ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	19
3.10	ANÁLISE MICROSCÓPICA.....	20
3.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
3.12	DESTINO DOS ANIMAIS.....	21
4	RESULTADOS.....	22
5	DISCUSSÃO.....	29
6	CONCLUSÃO.....	34
	REFERÊNCIAS.....	35
	APÊNDICES.....	37
	ANEXOS.....	40

1 INTRODUÇÃO:

As feridas são lesões que resultam na quebra da solução de continuidade da pele, podendo ser ocasionadas por agentes físicos, químicos, mecânicos e bacterianos¹. A cicatrização é um processo fisiológico do organismo que envolve diversos mecanismos complexos, como a interação entre células e fatores inflamatórios² que visa restaurar as características morfológicas e fisiológicas desse tecido lesado³.

Clark³ em 1993 classificou o processo de cicatrização em três fases: (1) inflamação, (2) formação de tecido de granulação com deposição de matriz extracelular e (3) remodelação, se mostrando um processo dinâmico.

A fase inflamatória é caracterizada pela presença dos eventos vasculares, como a vasodilatação e recrutamento dos mediadores inflamatórios, tendo destaque as plaquetas por liberarem quimiocinas e fatores de crescimento, em resposta à lesão tecidual, essa fase dura em média 24 a 48 horas, podendo persistir até 2 semanas².

Na fase de formação de tecido de granulação com deposição de matriz de fibrina, ocorre uma redução celular, dando espaço ao processo de formação de novos vasos sanguíneos, a proliferação de tecido fibroso e a reepitelização. Essa fase dura de 14 a 21 dias. Nesse momento da cicatrização, os fatores de crescimento derivados das plaquetas (PDGF) promovem a proliferação de fibroblastos que são responsáveis pela nova formação de colágeno e matriz extracelular².

Por fim, o processo de remodelação é a última e mais longa fase de todo o processo, iniciando ainda na fase de formação do tecido de granulação e podendo durar a vida toda da ferida. Nela ocorre a substituição do colágeno do tipo I, predominante na fase de granulação, pelo colágeno do tipo III, que será responsável pela força tênsil da ferida².

A utilização de substâncias que aceleram ou retardam a cicatrização de feridas é um assunto muito discutido pelos profissionais de saúde e na literatura. Muitas vezes, as soluções usadas para limpeza antes da síntese de feridas variam bastante de local para local, demonstrando certa dúvida em quais seriam mais adequadas, tanto para síntese, quanto para a continuação da limpeza da região pós sutura.

De modo geral, uma solução de limpeza de feridas ideal tem as seguintes características: não ser tóxica para os tecidos humanos; continuar a ser eficaz na presença de material orgânico; reduzir o número de microrganismos; não causar

reações de sensibilidade; estar amplamente disponível; ser eficaz em termos de custo; e permanecer estável durante um grande prazo de validade⁴.

Tem sido também sugerido que a limpeza da ferida ajuda a otimizar o ambiente de cicatrização e a diminuir o potencial de infecção. A limpeza da ferida liberta e desbrida resíduos celulares, tais como bactérias, exsudado, material purulento e resíduos de agentes tópicos dispersos anteriormente aplicados⁵.

Segundo Cuzzel e Krasner⁶ existem hoje no mercado aproximadamente 2500 itens que se destinam ao tratamento de feridas agudas e crônicas, desde a mais simples cobertura, soluções para higienização e antisepsia, até os mais complexos tipos de curativos, chamados de curativos inteligentes ou bioativos, que interferem de forma ativa nas diversas fases do processo cicatricial dos vários tipos de ferida, justificando os vários e controversos, portanto polêmicos, estudos sobre o assunto, tanto clínicos, quanto experimentais.

Dentre as substâncias usadas para potencializar a cicatrização adequada de feridas, existem os antissépticos, como o PVPI e a clorexidina. A grande parte dos autores acredita que o PVPI reduza infecção de feridas, mas lentifique a cicatrização. Sobre a clorexidina, parte da literatura mostra que há o combate a contaminação da lesão, melhorando a cicatrização, entretanto, outras pesquisas apontam para um possível atraso do processo devido a citotoxicidade local da clorexidina frente a fibroblastos e queratinócitos. O uso de soluções antissépticas, como iodopovidona, vem sendo desencorajado em diversos estudos, pois, na maioria dos casos, não estimulam uma correta cicatrização, mas, pelo contrário, compromete o processo cicatricial.

O soro fisiológico (0,9%) é a solução mais utilizada para limpeza por se tratar de uma solução isotônica que não intervém com o processo normal de cicatrização, sendo assim, não produz lesão em tecidos, reações de sensibilidade, alergias e nem compromete a flora bacteriana natural da pele.

Em relação aos hidrogéis e ao óleo de girassol, sua ação deriva da elevada capacidade de absorção do exsudato em excesso na ferida, pois permitem a manutenção da umidade no ambiente, favorecendo o crescimento celular e, conseqüentemente, o processo de cicatrização.

Esse estudo experimental visa comparar em nível macroscópico e histológico as reações causadas por cada uma dessas substâncias citadas – PVPI, clorexidina, hidrogel, óleo de girassol e SF (0,9%) - na cicatrização das feridas, verificando qual

destas se mostra mais eficaz para acelerar o processo de cicatrização mediante a experiência em animais manipulados em laboratório, com controles positivos e negativos, sendo o controle positivo, o grupo usado para comparação que usa o tratamento convencional e o controle negativo, o grupo em uso de SF (0,9%).

2 OBJETIVOS:

2.1 Objetivo Geral:

Comparar o efeito observado no tratamento com soro fisiológico 0,9%, Óleo de Girassol, Hidrogel, Clorexidina e PVPI aquoso na cicatrização de feridas cutâneas induzidas em ratos.

2.2 Objetivo Específicos:

Avaliar macroscopicamente e histologicamente o processo de cicatrização das feridas cutâneas em ratos tratados com PVPI aquoso;

Avaliar macroscopicamente e histologicamente o processo de cicatrização das feridas cutâneas em ratos tratados com Óleo de Girassol;

Avaliar macroscopicamente e histologicamente o processo de cicatrização das feridas cutâneas em ratos tratados com Clorexidine;

Avaliar macroscopicamente e histologicamente o processo de cicatrização das feridas cutâneas em ratos tratados com Hidrogel;

Comparar microscopicamente, através da análise histológica, a resposta cicatricial cutânea dos ratos, entre os grupos que utilizaram SF 0,9%, Óleo de Girassol, Hidrogel, PVPI aquoso e clorexidine;

Avaliar o processo de cicatrização em ratos macroscopicamente, através da determinação métrica das feridas com paquímetro até o dia da eutanásia de acordo com os grupos e datas pré-estabelecidas (3, 7, 14 e 21 dias).

3 METODOLOGIA:

3.1 Aspectos éticos:

A pesquisa foi regida segundo os preceitos da lei 11.794/08, que normatiza a utilização e criação de animais para experimentação e os Princípios Éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), em seguida, o projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - CESUPA), sendo aprovado sob o protocolo número 01/2021 (ANEXO A). A pesquisa foi realizada e acompanhada pela médica veterinária Prof^a Dra. Rosa Helena de Figueiredo Chaves (APÊNDICE B).

3.2 Amostra:

O presente projeto caracteriza-se como um estudo experimental, prospectivo, longitudinal, estatístico-comparativo, grupo controle presente, pesquisa em sujeitos, com dor ou desconforto para o sujeito, coleta de material biológico em único centro, local, sem financiamento.

Foram utilizados 35 ratos machos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, adultos, com idade de aproximadamente 90 dias, pesando entre 250 a 350g, provenientes do Biotério de Reprodução do Instituto Evandro Chagas, Belém-PA. Estes foram previamente adaptados ao Biotério do Centro Universitário do Pará (CESUPA) por um período de 15 dias.

Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar em torno de $55 \pm 10\%$, luminosidade artificial de um fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando-se o período de luz das 6:00 às 18:00 horas e ruído controlados, e foram acondicionados em gaiolas plásticas forradas com maravalha de acordo com seu grupo, desta forma cada gaiola manteve 5 animais, com água e ração oferecidos *ad libitum* durante todo o estudo. A limpeza das gaiolas foi realizada em dias alternados.

3.3 Local e Período:

O Projeto de Pesquisa foi realizado nas dependências do Biotério do Centro Universitário do Estado do Pará (CESUPA) e do Laboratório de Habilidades Cirúrgicas do Centro Universitário do Estado do Pará (CESUPA), de janeiro a junho de 2021.

3.4 Distribuição:

Foram utilizados 35 ratos machos Wistar, sendo 5 animais alocados ao grupo piloto, para o aprimoramento da técnica, e os demais distribuídos aleatoriamente em 6 grupos de estudo com 5 animais cada, sendo:

Grupo Piloto (GP): Antes do prosseguimento da pesquisa os animais foram submetidos aos procedimentos pré-operatório e anestesia, técnica cirúrgica e pós-operatório de forma a realizar os ajustes metodológicos pertinentes e treinamento da equipe que realizou o procedimento. Como tudo ocorreu corretamente, o mesmo procedimento foi realizado nos grupos incorporados no trabalho. (N= 5 animais).

Grupo Controle Negativo (SF): Os animais foram submetidos ao procedimento no qual foi criado um ferimento na região dorsal de 2x2cm com o auxílio de um bisturi frio. Posteriormente, foram tratados com gotejamento de soro fisiológico 0,9% com o auxílio de seringa de insulina 1 ml diariamente de 12/12 horas. Este grupo foi analisado macroscopicamente em quatro momentos específicos: No 3º dia, 7º dia, 14º dia e 21º dia. No último dia da análise macroscópica, os animais foram submetidos à anestesia seguida de eutanásia, para coleta do material e envio para análise microscópica. (N=5 animais).

Grupo Óleo de Girassol (OG): Os animais foram submetidos ao procedimento no qual foi criado um ferimento na região dorsal de 2x2cm com o auxílio de um bisturi frio. Posteriormente, foram tratados com óleo de girassol diariamente de 12/12 horas em quantidade suficiente para cobrir toda a área da lesão. Este grupo foi analisado macroscopicamente em quatro momentos específicos: No 3º dia, 7º dia, 14º dia e 21º dia. No último dia da análise macroscópica, os animais foram submetidos à anestesia seguida de eutanásia, para coleta do material e envio para análise microscópica. (N=5 animais).

Grupo Hidrogel (HG): Os animais foram submetidos ao procedimento no qual foi criado um ferimento na região dorsal de 2x2cm com o auxílio de um bisturi frio. Posteriormente, foram tratados com hidrogel diariamente de 12/12 horas em quantidade suficiente para cobrir toda a área da lesão. Este grupo foi analisado macroscopicamente em quatro momentos específicos: No 3º dia, 7º dia, 14º dia e 21º dia. No último dia da análise macroscópica, os animais foram submetidos à anestesia seguida de eutanásia, para coleta do material e envio para análise microscópica. (N=5 animais).

Grupo Clorexidine (CL): Os animais foram submetidos ao procedimento no qual foi criado um ferimento na região dorsal de 2x2cm com o auxílio de um bisturi frio. Posteriormente, foram tratados com clorexidine aquoso diariamente de 12/12 horas em quantidade suficiente para cobrir toda a área da lesão. Este grupo foi analisado macroscopicamente em quatro momentos específicos: No 3º dia, 7º dia, 14º dia e 21º dia. No último dia da análise macroscópica, os animais foram submetidos à anestesia seguida de eutanásia, para coleta do material e envio para análise microscópica. (N=5 animais).

Grupo PVPI aquoso (PVPI): Os animais foram submetidos ao procedimento no qual foi criado um ferimento na região dorsal de 2x2 cm com o auxílio de um bisturi frio. Posteriormente, foram tratados com PVPI diariamente de 12/12 horas em quantidade suficiente para cobrir toda a área da lesão. Este grupo foi analisado macroscopicamente em quatro momentos específicos: No 3º dia, 7º dia, 14º dia e 21º dia. No último dia da análise macroscópica, os animais foram submetidos à anestesia seguida de eutanásia, para coleta do material e envio para análise microscópica. (N=5 animais).

3.5 Critérios de inclusão:

Ratos Wistar, machos, adultos, com peso entre 250 - 350 gramas, saudáveis e livres de alterações que interfiram no processo cicatricial.

3.6 Critérios de exclusão:

Foram excluídos do projeto de pesquisa ratos do sexo masculino com alguma lesão ou deformidade na região dorsal, ou que apresentaram qualquer alteração fisiológica que interfiram no processo de cicatrização.

3.7 Obtenção do material:

O material usado para o projeto foi obtido do biotério localizado no Centro Universitário do Estado do Pará, localizado no centro de Belém-PA.

3.8 Procedimentos:

- Pré-operatório e Anestesia:

Os animais foram anestesiados com 60 mg/kg de cloridrato de cetamina, 8 mg/kg de Cloridrato de Xilazina e 0,03 mg/kg de fentanil pela via intraperitoneal, de

acordo com o protocolo anestésico seguido pelo Grupo de Pesquisa Experimental de CESUPA, sob supervisão de um médico veterinário durante os procedimentos realizados. Os animais mantiveram respiração voluntária durante todo o procedimento, estando a frequência respiratória entre 80 e 100irpm e para verificar se os animais estavam em plano anestésico foram testados o reflexo caudal, por meio do pinçamento caudal, o reflexo podálico, por meio da pressão interdigital e o reflexo das vibrissas, os quais deveriam estar ausentes para que se iniciasse o procedimento cirúrgico. Em 3 animais foi necessária a realização de repique anestésico, com 1/3 da dose inicial de anestésico pela via intraperitoneal, a fim de que os animais voltassem ao plano anestésico.

Dois animais morreram após a administração da anestesia, sendo substituídos.

- Epilação e Antissepsia:

Já anestesiados, os animais foram posicionados em decúbito ventral, sendo colocados em uma prancha cirúrgica (20x30 cm). Os pêlos dos animais, que poderiam atrapalhar o procedimento cirúrgico, foram retirados momentos antes da criação da ferida na região dorsal, por meio de epilação, seguido de antissepsia com poliviniliodopirrolidona tópico e colocação de campo estéril fenestrado.

- Criação de feridas:

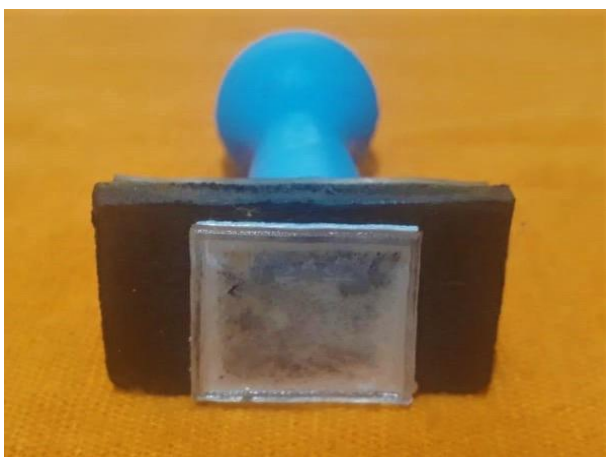
Foi realizada uma incisão cirúrgica na pele do dorso do animal com bisturi frio, medindo 2 cm de comprimento por 2 cm de largura e 2 mm de profundidade, na pele dos animais (Figura 1), suportada por um carimbo criado com o comprimento e largura descritos anteriormente (Figura 2). A incisão não foi suturada, cicatrizando por segunda intenção e a hemostasia foi realizada através do tamponamento com gaze estéril. O tratamento foi iniciado no momento da criação da ferida e continuou até a eutanásia do animal.

Figura 1 - Ferida operatória medindo 2 x 2 cm realizada no dorso dos animais.



Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

Figura 2 - Carimbo mostrando um quadrado medindo 2 x 2 cm para delimitação da ferida operatória nos animais.



Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

- Pós-operatório:

Os animais foram mantidos isolados em gaiolas individuais após o procedimento cirúrgico, evitando assim a ocorrência de qualquer manipulação (mordida e arranhão) por outro animal, no local da ferida cirúrgica. Foi realizada a primeira aplicação tópica dos agentes de acordo com seus respectivos grupos.

- Tratamento:

No Grupo Controle Negativo, foi realizada aplicação tópica de 0,5 ml de soro fisiológico com seringa de plástico de 1mL, sem agulha, na ferida cutânea dos ratos, a cada 12 horas, durante 21 dias em todos os animais do grupo.

Os animais do Grupo Óleo de Girassol, Clorexidina, PVPI aquoso e Hidrogel receberam aplicação tópica na ferida, de acordo com a substância destinada a cada grupo, até que a mesma estivesse totalmente preenchida. Esta aplicação foi repetida diariamente, a cada 12 horas, durante 21 dias, em todos os animais do grupo.

Em nenhum momento as feridas foram cobertas, permanecendo, assim, as lesões expostas durante todo o período das pesquisas.

- Analgesia:

Foi realizada com o uso de Dipirona, na dose de 30 mg/kg, via subcutânea, a cada 12 horas, durante 5 dias no período pós-operatório, para analgesia e maior conforto dos animais.

- Eutanásia:

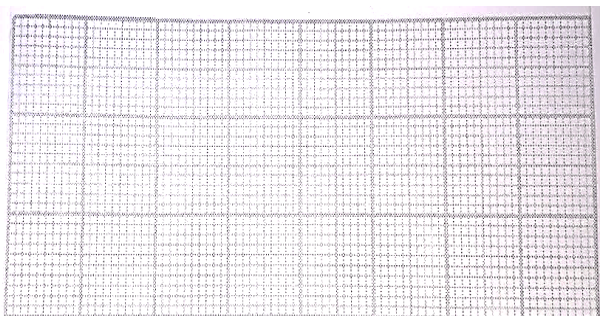
Os animais foram submetidos à eutanásia através da superdosagem anestésica (triplo da dose utilizada para atingir o plano anestésico de Cloridrato de Cetamina e Cloridrato de Xilazina). A eutanásia ocorreu no 21º dia de procedimento. Para confirmar a morte foram adotados parâmetros de ausência de frequência respiratória e cardíaca.

3.9 Análise macroscópica:

Todos os animais foram examinados diariamente, realizando a avaliação macroscópica da ferida operatória, observando a presença ou ausência de secreção, sinais flogísticos ou necrose. Além disso, foi realizada a medição das feridas com folha milimetrada (Figura 3) nos dias 3º, 7º, 14º e 21º dia de procedimento, sendo os animais submetidos ao protocolo de anestesia descrito anteriormente, para a avaliação macroscópica. Os dados foram anotados em formulário próprio (APÊNDICE A).

Os animais foram fotografados com máquina fotográfica digital, fixada em tripé, mantida a uma distância constante de 15cm da ferida. Os valores de diâmetro encontrados foram transferidos para o Software Excel, com posterior confecção de planilhas e tabelas, a fim de comparar os resultados obtidos entre todos os grupos.

Figura 3 - Papel milimetrado utilizado para medir a ferida operatória no dorso dos animais.



Fonte: Arquivo pessoal, 2021

3.10 Análise microscópica:

As peças cirúrgicas foram retiradas logo após a eutanásia dos animais, sendo constituída da cicatriz ou lesão cutânea, com margem de 1cm de pele em torno da lesão, com profundidade até a musculatura dorsal do animal. As peças foram identificadas com o uso de letras aleatórias, para que não houvesse correlação com o grupo tratado durante avaliação pelo patologista, sendo fixadas no formol a 10%.

As lâminas foram confeccionadas no Laboratório de Histologia e Embriologia Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia e avaliadas por patologista experiente. O processo de reparação tecidual foi avaliado mediante técnica de coloração com hematoxilina-eosina (HE), para analisar morfológicamente os tecidos, e Tricrômio de Masson (TM), para melhor caracterização das fibras colágenas. Posteriormente, foram enviadas para serem analisadas à microscopia óptica por um médico veterinário patologista, sem o prévio conhecimento deste sobre o grupo pertencente cada rato, para verificar os diversos indicadores tais como proliferação vascular, células polimorfonucleares, células mononucleares, proliferação fibroblástica, fibras colágenas e reepitelização segundo o protocolo de Sanchez Neto⁷ *et al.* (APÊNDICE B).

Figura 4 – Recorte da peça cirúrgica para análise histoplógica.



Fonte: acervo dos pessoal, 2021.

3.11 Análise estatística:

Os dados foram organizados no programa Microsoft Excel 2010. Os gráficos e tabelas foram construídos com as ferramentas disponíveis nos programas Microsoft Word, Excel e Graphpad Prism versão 9.1.2. Todos os testes foram executados com o auxílio dos *softwares* Graphpad Prism versão 9.1.2 e Bioestat versão 5.3. As variáveis quantitativas foram descritas por mínimo, máximo, desvio padrão, mediana e média \pm desvio padrão. A normalidade das distribuições numéricas foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. Para comparar uma variável numérica entre mais de dois grupos, foi usado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, sendo que o resultado significativo foi detalhado por múltiplas comparações (por meio de testes de Dunn) entre grupos tomados dois a dois, com ajuste do p-valor. No caso em que os grupos eram dependentes, o teste de Friedman foi empregado. No caso de variáveis categóricas, a análise de associação entre os grupos independentes e as categorias da variável sob investigação foi efetuada pelo teste G de independência, com pós-teste da Análise de Resíduos do Qui-Quadrado em caso de significância estatística. Os resultados com $p \leq 0,05$ (bilateral) foram considerados estatisticamente significativos.

3.12 Destino dos animais:

Após a eutanásia, as carcaças dos animais foram devidamente embaladas em sacos apropriados e mantidos em biotério refrigerado, onde foram descartados no lixo biológico do Centro Universitário do Estado do Pará (CESUPA).

4 RESULTADOS:

Durante o processo de observação das feridas operatórias, notou-se a formação de crosta em todos os grupos, sobretudo no 3º e 4º dia após o procedimento, contudo, houve divergências no aspecto do tecido de granulação entre os grupos, em que alguns apresentaram áreas de necroses mais evidentes que outros.

Os grupos **PVPI**, **CL** e **OG** apresentaram crostas mais escurecidas, grosseiras e com áreas de necrose, enquanto os grupos **SF** e **HG** apresentaram crosta de aparência delgada e mais clara, com processo de necrose em menor intensidade (Tabela 1). Além disso, no 7º dia evidenciou-se que nos grupos **PVPI**, **CL**, **HG** e **OG** houve um aumento da área da ferida operatória recoberta por crosta, superando os limites da lesão, enquanto no grupo **SF** não houve mudança no tamanho do tecido de granulação em relação aos limites da ferida operatória realizada anteriormente (Tabela 1).


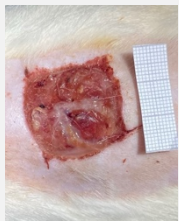
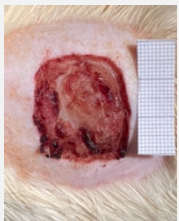

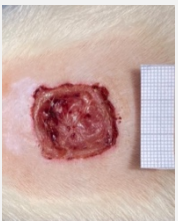

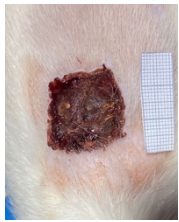






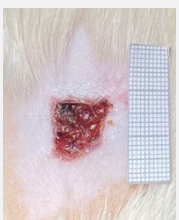
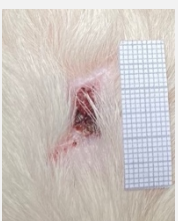
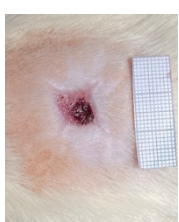
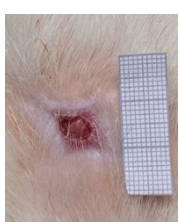

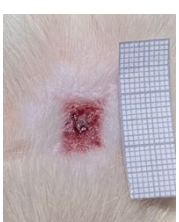
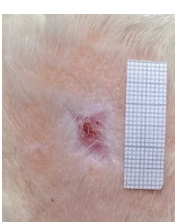
Ademais, no 7º dia de acompanhamento pós operatório, os animais dos grupos **PVPI**, **HG** e **CL** apresentaram crosta com presença de exudação de característica serosa, contudo, não houveram sinais indicativos de infecção (Tabela 1). Os grupos **SF** e **OG** manifestaram uma ferida operatória com ausência de exudação no tecido de granulação. Dois animais do Grupo **SF** apresentaram uma falha no processo de formação da crosta no 7º dia, com presença de pequenas áreas desnudas.

Ao 14º dia de avaliação, observou-se divergências no desprendimento de crostas dentro dos grupos avaliados. No **SF** houve ausência de sinais inflamatórios e desprendimento parcial da crosta em um dos ratos do grupo, porém completo nos demais. Em relação aos animais do grupo **PVPI**, notou-se desprendimento completo da crosta, exceto em um dos ratos que observou-se manutenção da crosta com sinais infecciosos e áreas de necrose. No grupo **OG** houve desprendimento da crosta, sem sinais de contaminação. Já quando avaliado o grupo **HG**, observou-se manutenção da crosta na maior parte do grupo, sendo alguns com presença de coágulo, exceto dois ratos, em que houve o desprendimento completo. Sobre os animais do grupo **CL**, não se observou desprendimento das crostas, havendo coágulo no tecido de granulação, exceto em um dos animais avaliados. Em todos os grupos avaliados, houve redução do tamanho da lesão e ausência de exudação.

Na avaliação clínica do 21º dia observou-se que, em todos os grupos houve redução da ferida operatória, desprendimento completo das crostas e epitelização.

Contudo, no grupo **PVPI** houve manutenção do tamanho da lesão com presença de crosta com sinais de necrose e contaminação em um dos animais. Além disso, no grupo **CL** um dos animais apresentou resquícios de crosta, sem sinais de contaminação e necrose.

Tabela 1 - Imagens das feridas operatórias de acordo com seus respectivos grupos que demonstraram melhor o padrão encontrado em cada grupo e períodos de avaliação.

Tempo de cicatrização	GCL	GPVPI	GOG	GHG	GSF
3º dia					
7º dia					
14º dia					
21º dias					

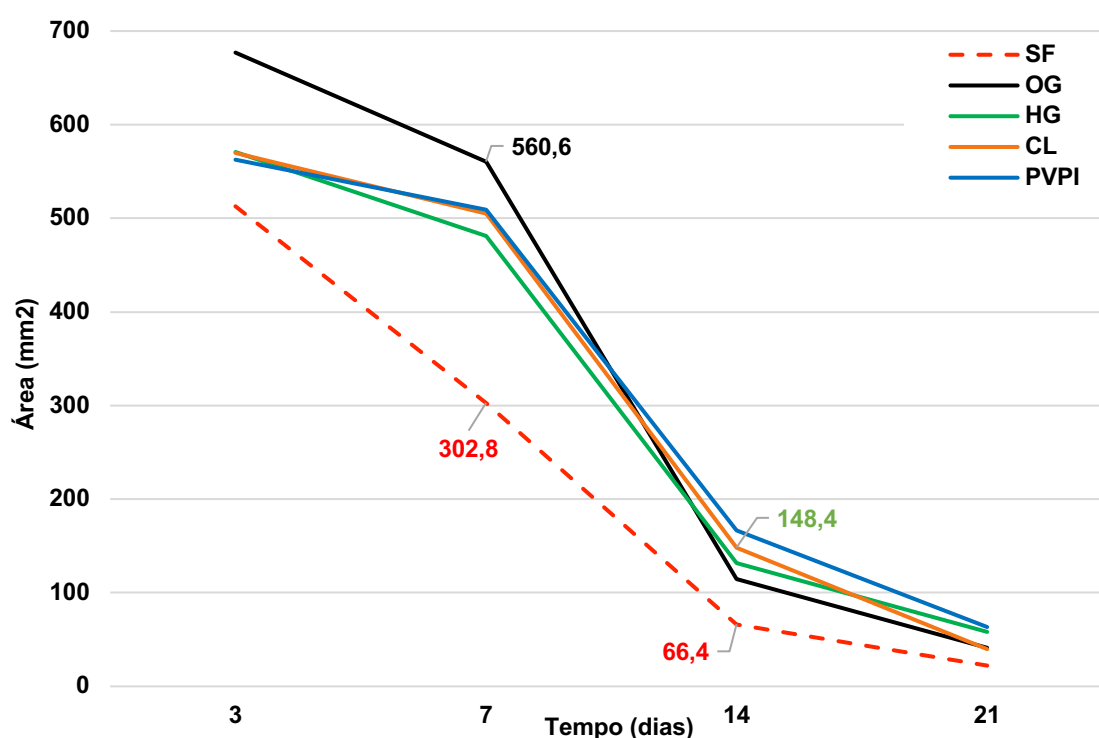
Fonte: Acervo pessoal, 2021.

Os cinco grupos experimentais (**SF**, **OG**, **HG**, **CL**, **PVPI**) foram comparados quanto à área macroscópica das feridas, em mm², por mensuração utilizando um papel milimetrado, conforme resumido no **gráfico 1** e na **tabela 2**. Ao 3º dia, não

houve diferenças significativas nas áreas de feridas entre nenhum dos grupos. Porém, ao 7º dia, encontrou-se variação significativa entre os grupos ($p = 0,0137$, teste de Kruskal-Wallis), de forma que o grupo **OG** apresentou área significativamente maior (média de $560,6 \text{ mm}^2$) quando comparado isoladamente ao grupo **SF** (média de $302,8 \text{ mm}^2$). Ao 14º dia, encontrou-se também variação significativa ($p = 0,0093$, teste de Kruskal-Wallis), de forma que o grupo **CL** foi estatisticamente superior em relação à área de ferida comparado ao grupo **SF** (médias de área $148,4 \text{ mm}^2$ e $66,4 \text{ mm}^2$, respectivamente).

Comparando as áreas de um mesmo grupo em função do tempo, foram observadas diferenças significativas em todos os grupos, sendo que nos grupos SF e OG as diferenças foram encontradas entre as áreas medidas no 3º e 21º dia e, nos grupos HG, CL e PVPI, as diferenças foram observadas entre os dias 3º e 7º em relação ao 21º.

Gráfico 1 - Comparação da área das feridas, em mm^2 , segundo o grupo e o tempo de mensuração.



$p=0,0137$ (7º dia) e $p=0,0093$ (14º dia). Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). Apenas as médias significativamente diferentes entre os grupos quando comparadas estão apresentadas.

SF: soro fisiológico. **OG**: óleo de girassol. **HG**: hidrogel. **CL**: clorexidina. **PVPI**: iodopovidona.

Fonte: Acervo pessoa, 2021.

Tabela 2 - Comparação da área das feridas, em mm², segundo o grupo e o tempo de mensuração.

GRUPO	Tempo (dias)				p-valor** (intragrupo)
	3	7	14	21	
SF					
Mín. – Máx.	480 – 572	272 – 324	54 – 99	9 – 50	
Média ± dp	512,8 ± 45,5 [§]	302,8 ± 18,9 ^a	66,4 ± 18,7 ^b	22,2 ± 16,3 [§]	<0,0001 [†]
IC 95%	456,3 – 569,3	279,3 – 326,3	43,2 – 89,6	2,0 – 42,4	
OG					
Mín. – Máx.	550 – 840	324 – 675	96 – 154	28 – 64	
Média ± dp	677 ± 112,3 [§]	560,6 ± 143,4 ^a	114,4 ± 22,8	41,2 ± 14,0 [§]	<0,0001 [†]
IC 95%	537,5 – 816,5	382,6 – 738,6	86,1 – 142,7	23,0 – 58,6	
HG					
Mín. – Máx.	441 – 810	400 – 575	108 – 160	48 – 64	
Média ± dp	570,8 ± 141,7 [§]	480,8 ± 86,2 [¶]	131,8 ± 19,7	58,2 ± 6,5 ^{§,¶}	<0,0001 [†]
IC 95%	394,8 – 746,8	373,8 – 587,8	107,4 – 156,2	50,1 – 66,3	
CL					
Mín. – Máx.	400 – 625	400 – 625	120 – 169	4 – 72	
Média ± dp	569,8 ± 97,3 [§]	505 ± 100,9 [¶]	148,4 ± 20,9 ^b	39,8 ± 26,0 ^{§,¶}	<0,0001 [†]
IC 95%	449 – 690,6	379,8 – 630,2	122,5 – 174,3	7,5 – 72,1	
PVPI					
Mín. – Máx.	441 – 667	400 – 648	96 – 323	15 – 156	
Média ± dp	562,6 ± 87,9 [§]	509,2 ± 101,4 [¶]	166,6 ± 91,7	63,4 ± 54,1 ^{§,¶}	<0,0001 [†]
IC 95%	453,5 – 671,7	383,2 – 635,2	52,7 – 280,5	-3,8 – 130,6	
p-valor* (entre grupos)	0,1712	0,0137 [†]	0,0093 [†]	0,0968	

SF: soro fisiológico. **OG:** óleo de girassol. **HG:** hidrogel. **CL:** clorexidina. **PVPI:** iodopovidona.

*Teste de Kruskal-Wallis (Dunn). [†]Estatisticamente significativo. Letras sobrescritas iguais indicam os grupos que apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparados entre si.

**Teste de Friedmann (Dunn). [†]Estatisticamente significativo. Caracteres especiais sobrescritos iguais indicam os tempos que apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparados entre si.

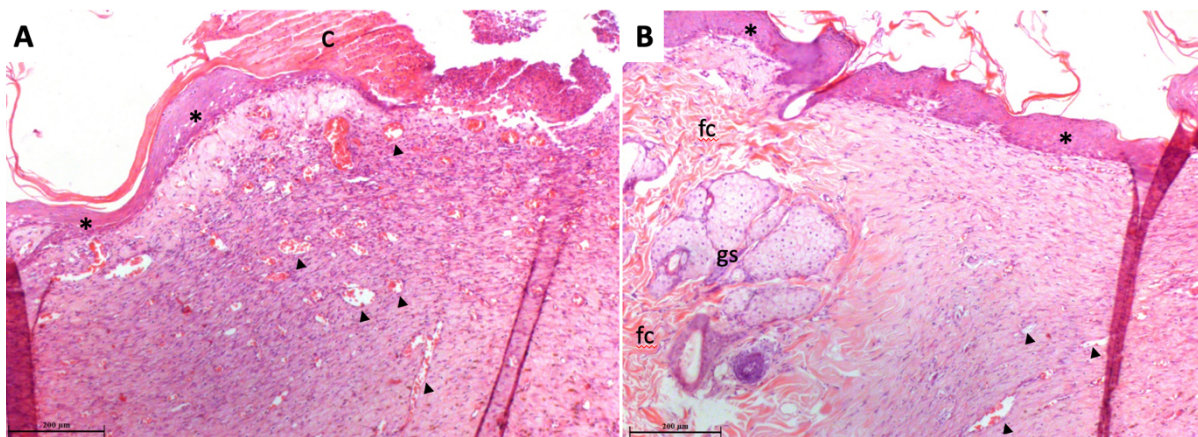
Fonte: Acervo pessoal, 2021.

O **Gráfico 2** resume os resultados da análise histológica das lâminas das feridas. Observou-se que, quanto à proliferação vascular, 100% dos animais nos grupos **HG**, **CL** e **OG** tiveram proliferação acentuada, enquanto que, no grupo **PVPI**, somente 20% tiveram proliferação discreta e 80% acentuada, e no grupo **SF**, 25% tiveram proliferação discreta, 25% tiveram proliferação moderada e 50% tiveram proliferação acentuada.

No entanto, as proporções de proliferação vascular não diferiram de forma significativa entre os grupos experimentais, dado que o p-valor foi não significativo ($p = 0,07755$). Houve associação significativa apenas entre os grupos experimentais e a intensidade das células mononucleares ($p = 0,0169$) e entre os grupos experimentais e a intensidade das fibras colágenas ($p = 0,0486$). Quanto às células mononucleares, observou-se maior frequência de casos com manifestação acentuada de células mononucleares no grupo **HG** e manifestação discreta no grupo **SF**. Quanto às fibras

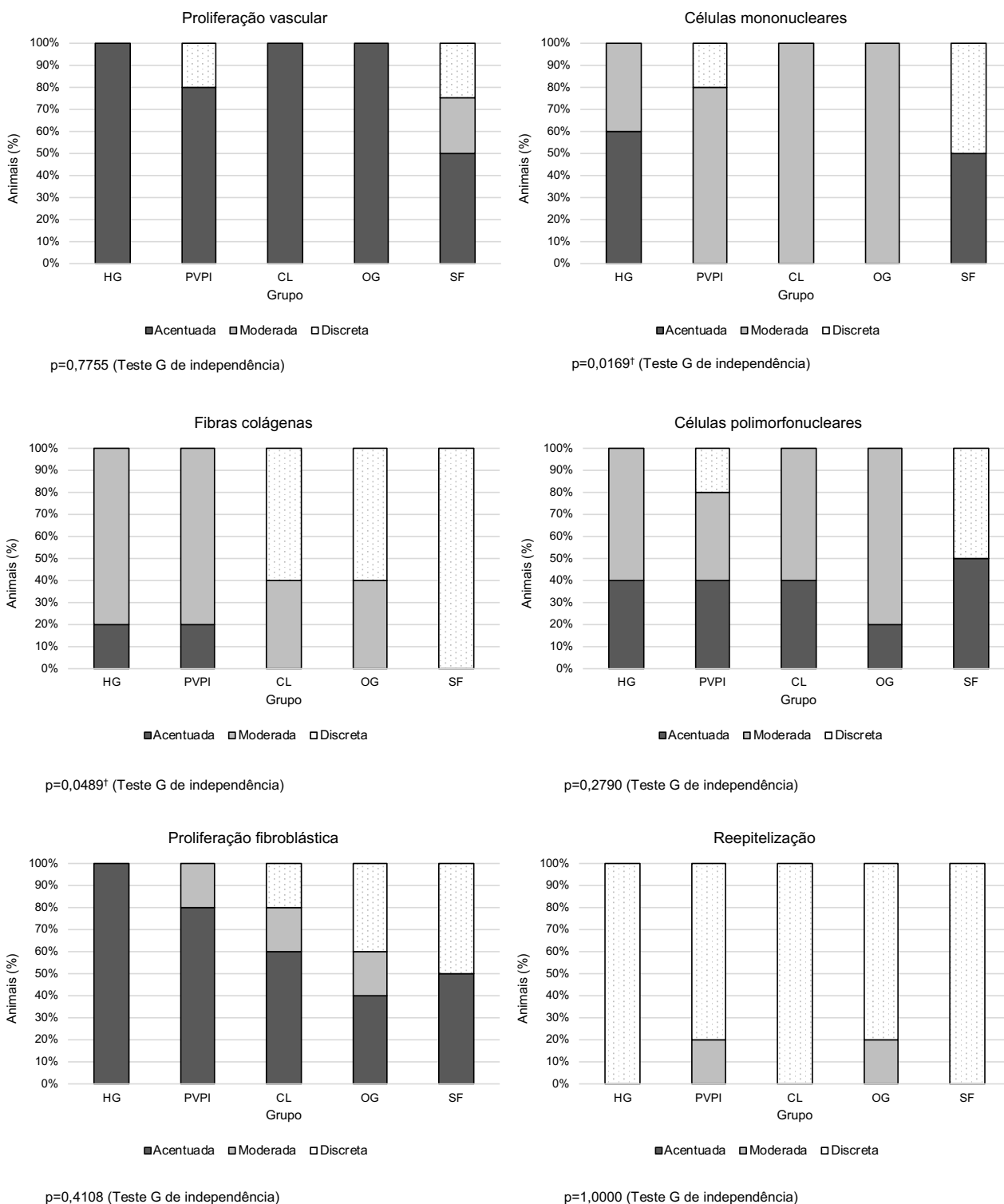
colágenas, observou-se menor frequência de casos discretos quanto às fibras colágenas entre os animais dos grupos **HG** e **PVPI** e frequência significativamente maior de manifestação discreta no grupo SF.

Figura 5 - Aspectos histopatológicos das feridas dos grupos experimentais.



A4 (2053). Fotomicrografias de fragmentos de pele de ratos. (A) Visão geral do órgão. Evidencia-se epitélio típico com estruturas morfológicas parcialmente preservadas (*) com presença de tampão hemostático (c), sendo sustentada por tecido de granulação ricamente celular e vascularizado por capilares sanguíneos (cabeça de seta). (B) Epiderme típica, com estruturas morfológicas preservadas (*), sendo sustentada por tecido de granulação, ricamente celular, com presença capilares sanguíneos (cabeça de seta), sendo possível observar glândulas sebácea (gs) e tecido conjuntivo denso não modelado com fibras colágenas (fc) espessas de aspecto eosinofílico. Fase Proliferativa

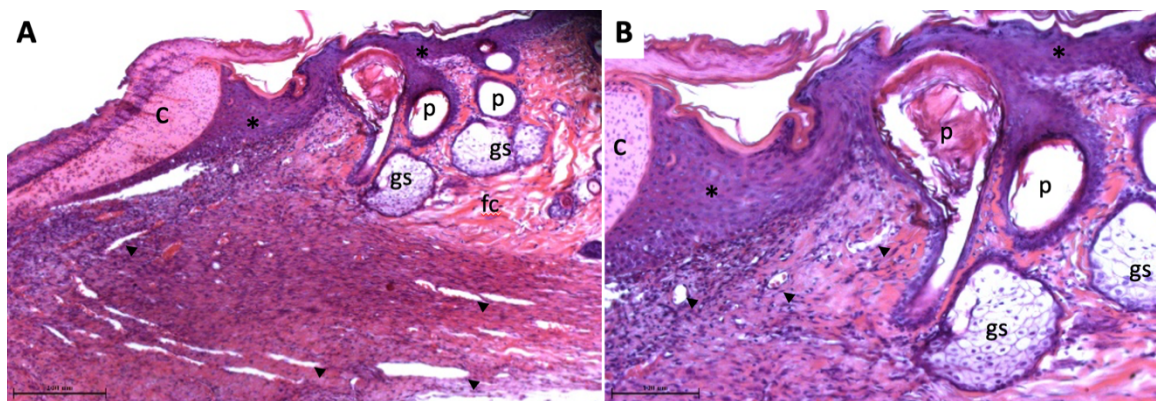
Gráfico 2 - Distribuição dos animais segundo a aspecto microscópico analisado, o grupo e a intensidade do evento.



SF: soro fisiológico. **OG:** óleo de girassol. **HG:** hidrogel. **CL:** clorexidina. **PVPI:** iodopovidona.
†Estatisticamente significativo.

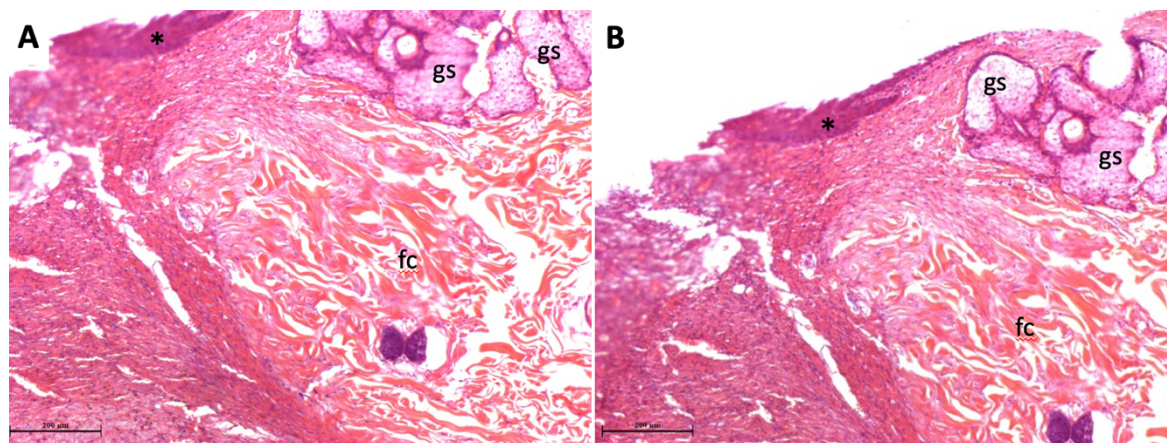
Fonte: Isabela Parente Silva de Medeiros e Tomaz Aquino Vasconcelos do Carmo, 2021.

Figura 6 - Aspectos histopatológicos das feridas dos grupos experimentais



B3 (2021). Fotomicrografias de fragmentos de pele de ratos. (A e B) Epitélio típico com estruturas parcialmente preservadas, apresentando relativo espessamento no estrato espinhoso sugestivo para acantose (*), com presença de tampão hemostático (c). A derme apresenta tecido de granulação ricamente celular e vascularizado, contendo capilares sanguíneos neoformados (cabeça de seta), apresenta ainda tecido conjuntivo denso não modelado com fibras colágenas de aspecto eosinofílico (fc), e presença de glândulas sebáceas (gs), adjacentes a folículo piloso (p). Fase proliferativa

Figura 7 - Aspectos histopatológicos das feridas dos grupos experimentais



B5 (2056) Fotomicrografias de fragmentos de pele de ratos. (A e B) Epitélio típico (*) pouco preservado, sendo sustentado por tecido conjuntivo frouxo, onde é possível observar glândulas sebáceas (gs) e tecido conjuntivo denso não modelado, apresentando fibras colágenas (fc) espessas de aspecto eosinofílico pouco celular e pouco vascularizado. Fase remodelação.

5 DISCUSSÃO

A cicatrização de feridas é um processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos a fim de estabelecer a restauração tecidual. A lesão local é o principal fator para essa operação se iniciar, esse dano pode ser local com ou sem perda tecidual, a qual o organismo se mobiliza para realizar o reparo do dano causado pela perda da integridade tissular.

Dentre os fatores que influenciam nesse processo destaca-se a infecção, além de fatores endógenos (DM, idade, estado nutricional, alterações circulatórias e no sistema de coagulação, infecção sistêmica e uso de drogas) e exógenos (técnica operatória, limpeza adequada do material, formação de hematomas e reação a corpo estranho). Assim, o uso da antissepsia deixou de ser algo questionável para ser algo rotineiro na prática operatória.

Neste estudo foram escolhidos ratos machos da linhagem Wistar devido à fácil obtenção, manuseio e manutenção, além de serem animais resistentes a eventos adversos. Essas características fizeram com que fosse possível analisar de forma mais objetiva o processo inflamatório, formação do tecido de granulação e reparação maior ou menor, dependendo do agente envolvido.

No momento da escolha do agente ideal, fatores como preço, efeito residual, ação contra os microrganismos, efeito colateral e biocompatibilidade foram levados em consideração.

Assim, o PVPI e a Clorexidina têm propriedades antissépticas bem estabelecidas, apresentando ação antibacteriana e prevenindo infecção. São bastante eficazes em combater a contaminação da ferida devido ao seu efeito residual. Contudo, alguns autores questionam o uso de substâncias iodadas no tratamento contínuo da ferida devido o iodo poder causar danos teciduais, tal efeito não é observado nos antissépticos compostos unicamente por Clorexidina.

Sobre o grupo **OG**, o presente estudo demonstrou uma capacidade moderada de estimular proliferação tanto de células polimorfonucleares, quanto de mononucleares, fato esse que vai ao encontro com alguns estudos encontrados. Como o estudo de Marques⁸, que avaliou o efeito da aplicação tópica do óleo de girassol em feridas cutâneas em carneiros e demonstrou que o ácido linoleico presente no óleo de girassol é um poderoso mediador pró inflamatório, além de estimular fatores de crescimento e neovascularização.

Outro estudo, realizado por Rodrigues⁹, que avaliou por 7 dias as propriedades antimicrobianas e cicatrizantes do óleo de girassol em ratos comparando com um grupo tratado com neomicina, concluiu também que o óleo tem propriedade anti-inflamatória e de cicatrização. Como este estudo contém nas substâncias testadas o ácido linoleico, provavelmente este exerceu ação antimicrobiana durante a realização do tratamento.

No que diz respeito aos animais do grupo **HG**, observou-se na análise microscópica que foi o grupo, junto com **CL** e **OG**, que obteve 100% dos animais com proliferação vascular acentuada. Tal resultado concorda com o estudo de Faria¹⁰, realizado que avaliou a aplicação de hidrogel na cicatrização de feridas em equinos e demonstrou que em relação a neovascularização, apesar de diferenças não muito significativas, grupos de feridas tratadas com hidrogel à base de biocelulose a 1%, em comparação ao grupo controle, obtiveram maior vascularização local aumentando a concentração de citocinas associadas à cicatrização na região¹⁰.

Quando avaliada a proliferação fibroblástica, o grupo **HG** foi o único que teve 100% dos animais com proliferação acentuada e produção de fibras colágenas com 80% de proliferação moderada e 20% acentuada, valor semelhante ao grupo **PVPI** e superior aos outros grupos. Esse resultado também foi observado por Freitas²¹, que utilizou curativo de hidrogel em feridas de ratos, evidenciando que os fibroblastos contribuem para formação de colágeno tipo III para cicatrização e a angiogênese garante oxigênio e nutrientes para o tecido recém formado¹¹.

Outro fator observado durante a realização do trabalho foi o aumento inicial da área da ferida. Isso ocorre devido à retração das bordas da lesão por ação das linhas de força, conhecidas como “Linhas de Langer”, determinadas pelos sistemas fibrilares da pele, principalmente das fibras elásticas. Na confecção de feridas quadrangulares, a pele foi incisada em ambos os sentidos, longitudinal e transversal, determinando o aumento da área, devido à distensão provocada pela incisão transversal às “Linhas de Langer”¹²

A mensuração da área de uma ferida consiste em um indicador para avaliar a evolução do processo de cicatrização²¹. Além disso, de acordo com Bryant¹³, outra forma de avaliar o processo cicatricial é monitorando parâmetros como, tempo de evolução, profundidade, vitalidade do leito, vitalidade dos tecidos vizinhos, presença de secreção e/ou necrose, presença de crosta, entre outros.

Nesse estudo houve uma tendência de redução da área da lesão no decorrer dos dias, apresentando relevância estatística significativa ($p < 0.0001$) quando se comparava os valores médios das áreas das feridas operatórias, principalmente no grupo soro fisiológico, o qual obteve redução evidente entre o 3° e o 21° dia, reduzindo em média de 512,8mm² para 22,2mm². Esse resultado corrobora com Santos²⁹ que demonstrou as propriedades benéficas do soro fisiológico no processo de cicatrização, como não alterar a flora bacteriana normal da pele, não causar reações de hipersensibilidade, sendo amplamente indicado para a limpeza de feridas diferente de alguns antissépticos.

No estudo de Lira¹⁴ foi comparado o uso de extrato e pomada de Aloe Vera com o soro fisiológico e obteve-se regressão semelhante da lesão. Os mesmos resultados foram observados por Silva¹⁵ no estudo em que comparou o soro fisiológico com o PVPI e a Clorexidina no processo de cicatrização de ferida contaminada. Isso comprova que os mecanismos de cicatrização e remodelagem tecidual são capazes, até certo ponto, de reestabelecer a matriz cutânea sem a necessidade de agentes adicionais. Tal fato corrobora os resultados do presente estudo, em que no grupo **SF** observou-se a maior redução no tamanho da ferida e melhores condições microscópicas, mesmo não apresentando propriedades antissépticas, antimicrobiana ou anti-inflamatória como outros agentes.

Além disso, neste estudo observou-se aparecimento de crosta abundante no Grupo **PVPI**, **OG** e **CL** quando comparado aos demais (Tabela 1). Alguns estudos explicam que a formação da crosta após ferida resulta de processo inflamatório agudo e do exsudato que ao entrar em contato com o ar causa ressecamento da ferida. Ainda, que a crosta facilite o desenvolvimento de infecções na lesão, pois dificulta a visualização da ferida¹⁶.

Em lesões agudas o tratamento mais indicado se dá por meio de soluções ao invés de formulações farmacêuticas já que elevam a umidade da lesão, como as pomadas, unguentos, óleos e cremes. Isso ocorre porque o excesso de umidade ou exsudato podem gerar maceração e descamação das bordas da ferida, aumentando seu tamanho.

Na fase proliferativa do processo de cicatrização, a angiogênese corresponde ao crescimento de novos vasos mediante a proliferação de vasos pré-existentes localizados no bordo da ferida. Quando é restabelecido o fluxo de sangue e a pressão parcial de oxigênio, o incentivo para formação de novos vasos é inibido e os vasos

neoformados tendem a reduzir, sendo que por volta do 21º dia num processo adequado de cicatrização, a vascularização já está reduzida¹⁷.

Na avaliação microscópica deste estudo foram encontradas quantidades acentuadas de proliferação vascular em 100% dos animais dos grupos **HG**, **CL** e **OG**, enquanto no Grupo **SF** 25% tiveram proliferação discreta, 25% tiveram proliferação moderada e 50% tiveram proliferação acentuada e no grupo **PVPI** 20% tiveram proliferação discreta e 80% acentuada. Contudo, essa diferença entre os grupos não obteve significância estatística ($p=0,07755$).

Em relação a proliferação de células mononucleares, notou-se que o **HG** apresentou maior frequência de manifestação acentuada, diferente do **SF** que a predominância foi de manifestação de discreta ($p=0,0169$). A presença acentuada dessas células e de polimorfonucleares demonstra uma tendência a cronificação da ferida operatória. Assim, observa-se que o hidrogel apresentou um impacto negativo comparado com o soro fisiológico no processo de cicatrização.

A presença abundante de células polimorfonucleadas e monomorfonucleadas é característica da fase inflamatória, fase precoce da cicatrização, a presença abundante de leucócitos sinalizam para um prolongamento da fase exsudativa, demonstrando uma reparação cicatricial tardia.

Os dados obtidos nessa pesquisa mostram que o uso do antisséptico no tratamento das feridas crônicas, é hoje uma problemática que deixa muitos profissionais com dúvidas referente a sua correta utilização e a sua eficácia. No estudo de Oliveira¹⁸, onde os pacientes foram divididos em grupos, e em cada grupo foi utilizada uma substância diferente no tratamento de úlceras venosas, 65% dos pacientes do grupo que utilizou o **PVPI**, tiveram suas úlceras venosas completamente cicatrizadas, quando comparados a 50% no grupo que fazia uso apenas de um outro tipo de cicatrizante. Apesar dos autores observarem maior redução da ferida entre os pacientes do grupo que fez o uso do antisséptico, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa, concluído que o **PVPI** não foi superior no tratamento das úlceras venosas. Também em outro estudo realizado por Piérard¹⁹, os autores obtiveram conclusões similares já que não foi observada diminuição significativa no tamanho da úlcera durante as primeiras seis semanas de tratamento tanto com o uso do antisséptico, quanto com a utilização do cicatrizante de acordo com os testes estatísticos²⁰.

Sobre as vantagens e desvantagens do uso do antisséptico, segundo alguns artigos estudados por Alves²², não existe comprovação de que o uso deste agente em feridas acelere a cicatrização ou a torne mais eficaz, pelo contrário, sendo necessário avaliar a ferida, visto que o antisséptico pode não ser necessário pois o próprio exsudado pode conter fatores de crescimento que contribuem para a cicatrização da ferida²⁰.

Uma limitação importante diz respeito ao tamanho da amostra, haja vista os regulamentos exigidos pelo CEUA, em reduzir ao máximo o número de animais utilizados nas pesquisas. Ao se apresentar um número reduzido, permite considerar possíveis resultados não observados na presente pesquisa.

Ainda, um dos principais impasses para realização desse estudo foi a escassez de estudos realizados atuais e antigos sobre o tema, problema citado em grande parte dos artigos usados para embasamento desta pesquisa. Além disso, somado a limitação do número de artigos atualizados sobre o tema, foram encontrados outros entraves, como por exemplo, a falta de artigos sobre o assunto. Contudo, devido ao número reduzido de estudos, sugere-se que sejam feitos mais estudos acerca do tema proposto, principalmente na área da pesquisa experimental.

6 CONCLUSÃO

Assim, considerando que todos os animais começaram o experimento com mesmo tamanho de ferida medido pelo carimbo, ao avaliar a evolução macroscopicamente, o grupo que estava sendo tratado com **SF** acabou tendo uma área de ferida menor comparado aos demais grupos e uma redução mais acentuada ao longo dos dias, contudo ao 21º dia a comparação entre os grupos não obteve resultado significativo.

Além disso, durante análise histológica não foi verificada diferença na proliferação vascular entre os grupos, não sendo possível inferir qual controle seria melhor para fase de neovascularização da cicatrização. Sendo assim, pode-se inferir que a pele possui mecanismos próprios capazes de realizar uma cicatrização adequada sem a necessidade de agentes adicionais, ou seja, conclui-se que nenhum dos agentes testados aumentou significativamente a velocidade de cicatrização de feridas, necessitando de mais estudos para melhor embasamento do conhecimento científico.

REFERÊNCIAS:

- 1 Balbino CA, Pereira IM, Curi R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2005; 41(1): 27-51.
- 2 Laureano A, Rodrigues AM. Cicatrização de feridas. *Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia*. 2011; 69(3): 355.
- 3 Clark RAF. Biology of dermal wound repair. *Dermatologic clinics*. 1993; 11(4):. 647-666.
- 4 Flanagan M.). Wound cleansing. In M. Morison, C. Moffat, J. Bridel-Nixon & S. Bale (Eds.), *A color guide to the nursing management of chronic wounds*. London, England: Mosby; 1997.
- 5 Baranoski S, Ayello E. O essencial sobre o tratamento de feridas: Princípios práticos. Loures, Portugal: Lusodidacta; 2006.
- 6 Cuzzel J, Krasner D. Curativos. In: Gogia P. *Feridas - tratamento e cicatrização*. Rio de Janeiro: Livraria Editora Revinter Ltda. cap 9, p. 103-114; 2003.
- 7 Sanchez Neto R, Barone B, Teves DC, Simões MJ, Novo NF, Juliano Y. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2 por cento. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 1993; 8(1):18-23.
- 8 Marques SR, Peixoto CA, Messias JB, Albuquerque AR, Silva Junior VA. Efeitos da aplicação tópica de óleo de semente de girassol em feridas cutâneas, em carneiros. *Acta Cir. Bras*. 2004;19 (3).
- 9 Rodrigues KL, Cardoso CC, Caputo LR, Carvalho JCT, Fiorini JE, Scneedorf JM. Cicatrizing and antimicrobial properties of na ozonised oil from sunflower seeds. *Inflammopharmacology*. 2004; 12(3): 261-270.
- 10 Faria APPA. Avaliação do hidrogel de celulose bacteriana na cicatrização de feridas em equinos. Dissertação. Universidade Estadual Paulista; Araçatuba; 2021.
- 11 Gupta A. Characterisation and in vitro antimicrobial activity of biosynthetic silver-loaded bacterial cellulose hydrogels. *J microencapsul*. 2016; 33: 725-34.
- 12 Coelho COM, Rezende CMDF, Tenório APM. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. *Ciência rural*. 1999; 29(2):297- 303.
- 13 Monteiro FMF. Avaliação do tratamento tópico de lesões cutâneas com filmes obtidos do polissacarídeo da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). Tese. Universidade Federal Rural de Pernambuco; Recife. 2006.
- 14 Faleiro CC, Elias STH, Cavalcanti LC, Cavalcanti ASS. O extrato das folhas de babosa, *Aloe vera* na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos, num ensaio controlado por placebo. *Natureza on line*. 2009; 7 (2): 56- 60.

- 15 Silva MT et al. Análise da cicatrização após o uso de três diferentes agentes para a limpeza de feridas infectadas: estudo experimental. 2004.
- 16 Florianópolis. Secretaria Municipal de Saúde. Vigilância em Saúde. Protocolo de cuidados de feridas. Florianópolis: IOESC; 2007.
- 17 Mendonça RJ, Coutinho-Netto J. Aspectos celulares da cicatrização. Anais Brasileiros de Dermatologia. 2009; 84(3): 257-262.
- 18 Oliveira AS, Santos VLCG. Uso de iodóforo tópico em feridas crônicas: revisão da literatura. Rev Latino-am Enfermagem. 2007; 15(4).
- 19 Piérard-Franchimont C, Paquet P, Arrese JE, Piérard GE. Healing rate and bacterial necrotizing vasculitis in venous leg ulcers. Dermatology. 1997;194(4):383-7.
- 20 Mandelbaum SH, Di SantisMaria ÉP, Mandelbaum HS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. Educação Médica Continuada - EMC • An. Bras. Dermatol. 2003; 78 (4).
- 21 Freitas AL. "Avaliação da cicatrização de feridas por hidrogel contendo extrato seco padronizado de *Hyptis pectinata* (L.) em ratos." (2018).
- 22 Alves FF, Morita ABPS. "Uso dos antissépticos no tratamento das feridas crônicas:: revisão integrativa." *Revista Saúde e Biociências* 1.2 (2019).
- 23 SOUSA, Rafael Damiane Santos. "Estudo de substâncias químicas em óleos de coco, copaíba, calêndula e girassol utilizados no tratamento de feridas: uma abordagem teórica." (2018).
- 24 de Lima, Luiggi Adriani, et al. "Avaliação do potencial de cicatrização do óleo de semente de girassol associado ao ultrassom terapêutico em ratos (*Rattus norvegicus*) com ferida cutânea induzida." *Medicina Veterinária (UFRPE)* 14.4 (2020): 254-260.
- 25 Torres, Sabrina Bezerra, et al. "Óleo de girassol (*Helianthus annuus* L.) como cicatrizante de feridas em idosos diabéticos." *Brazilian Journal of Health Review* 4.2 (2021): 4692-4703.
- 26 Teixeira, Dieni da Silveira. "Efeito da aplicação tópica de clorexidina, iodopovidona e eritromicina no reparo de úlceras traumáticas em ventre lingual de ratos: análise clínica, histológica e microbiológica." (2017).
- 27 Araújo, Juliano Gonçalves de. "Eficácia do curativo de hidrogel com nanopartículas de prata na cicatrização de feridas crônicas: estudo clínico randomizado." (2017).
- 28 Freitas, Anderson Leite. "Avaliação da cicatrização de feridas por hidrogel contendo extrato seco padronizado de *Hyptis pectinata* (L.) em ratos." (2018).
- 29 Santos E . "A eficácia das soluções de limpeza para o tratamento de feridas: uma revisão sistemática." *Revista de Enfermagem Referência* 4.9 (2016): 133-144.

APÊNDICES

APÊNDICE A - FICHA PROTOCOLO (ANÁLISE MACROSCÓPICA)

Grupo XXX/Nº do animal	Tamanho da ferida (medição pelo paquímetro) /dia	Observação quanto a presença ou ausência de secreção e necrose	
		S	N
3 dias		S	N
R1			
R2			
R3			
R4			
R5			
7 dias		S	N
R1			
R2			
R3			
R4			
R5			
14 dias		S	N
R1			
R2			
R3			
R4			
R5			
21 dias		S	N
R1			
R2			
R3			
R4			
R5			

APÊNDICE B – FICHA PROTOCOLO (MICROSCOPIA)

Proliferação vascular
Ausente
Discreta
Moderada
Acentuada
Células polimorfonucleares
Ausente
Discreta
Moderada
Acentuada
Células mononucleares
Ausente
Discreta
Moderada
Acentuada
Proliferação fibroblástica
Ausente
Discreta
Moderada
Acentuada
Fibras colágenas
Ausente
Discreta
Moderada

Acentuada
Reepitelização
Ausente
Parcial
Completa

ANEXO A



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “**Análise comparativa de controles positivos no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos**”, protocolo nº **01/2021** sob a orientação da **Profª. Drª. Rosa Helena de Figueiredo Chaves** – que envolve a produção manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO CESUPA, em 14/01/2021.

Vigência do Projeto	01/12/2020 à 30/12/2021.
Espécie/linhagem	Ratos (<i>Rattus norvegicus</i>)
Nº de animais	35
Peso/idade	150-250 g / 60 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério de Reprodução do Instituto Evandro Chagas

Belém, 14 de janeiro de 2021.

2021.01.14

19:45:14 -03'00'

2020.013.20074

Profª. Drª. Rosa Helena de Figueiredo Chaves

**Coordenadora
CEUA - CESUPA**

ANEXO B**PARECER DO ORIENTADOR SOBRE A VERSÃO PRELIMINAR DO TC
PARA ANÁLISE PRÉVIA****ISABELA PARENTE E SILVA DE MEDEIROS****TOMAZ JOSÉ AQUINO VASCONCELOS DO CARMO****ANÁLISE COMPARATIVA DE CONTROLES POSITIVOS NO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**

Declaro junto a Coordenação do Trabalho de Curso do CESUPA que li a versão preliminar do TC que tem como título : **"ANÁLISE COMPARATIVA DE CONTROLES POSITIVOS NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS"** e considero que a mesma se encontra em condições de submissão à análise prévia por parte de um dos membros da banca examinadora, assim como, aguardo sugestões para correção e/ou aprimoramento da qualidade do trabalho.

Belém, 20/09/2021

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Rosa Helena', is written over a horizontal line. The signature is stylized and includes horizontal flourishes on either side.

Prof.(a) Dr(a) Rosa Helena de Figueiredo Chaves
Orientador(a)

ANEXO C**PARECER DO ORIENTADOR SOBRE A VERSÃO DO TC PARA DEFESA PÚBLICA****ISABELA PARENTE E SILVA DE MEDEIROS****TOMAZ JOSÉ AQUINO VASCONCELOS DO CARMO****ANÁLISE COMPARATIVA DE CONTROLES POSITIVOS NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**

Declaro junto a Coordenação do Trabalho de Curso do CESUPA que li a versão final do TC que tem como título : **“ANÁLISE COMPARATIVA DE CONTROLES POSITIVOS NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS”** e considero que a mesma se encontra em condições de submissão à banca examinadora durante a Jornada de Defesa do Trabalho do Curso de Bacharelado em Medicina do CESUPA.

Belém, 20/10/2021

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Rosa Helena de Figueiredo Chaves', is written over a horizontal line. The signature is stylized and includes a large flourish at the end.

Prof.(a) Dr(a) Rosa Helena de Figueiredo Chaves
Orientador(a)