



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

LIDELCI FIGUEREDO BENTO

**BIOPOLÍMERO DE QUITOSANA/XANTANA/B-GLICANA E PLASMA RICO
EM PLAQUETAS AUTÓLOGO EM GEL NO TRATAMENTO DE FERIDAS:
ANÁLISE FRACTAL**

Presidente Prudente - SP
2024



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

LIDELCI FIGUEREDO BENTO

**BIOPOLÍMERO DE QUITOSANA/XANTANA/B-GLICANA E PLASMA RICO
EM PLAQUETAS AUTÓLOGO EM GEL NO TRATAMENTO DE FERIDAS:
ANÁLISE FRACTAL**

Tese apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia e Saúde Animal - Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientadora: Prof^a Dr^a Rosa Maria Barilli
Nogueira

Presidente Prudente - SP
2024

636.089 Bento, Lidelci Figueredo.

B478b Biopolímero de Quitosana/Xantana/B-Glicana e plasma rico em plaquetas autólogo em gel no tratamento de feridas: análise fractal / Lidelci Figueredo Bento. – Presidente Prudente, 2024.

100f.: il.

Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Saúde Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2024.

Bibliografia.

Orientadora: Rosa Maria Barilli Nogueira

1. Cicatrização. 2. Colágeno. 3. Feridas. 4. Abordagens cirúrgicas. 5. Fractal. I. Título.

LIDELCI FIGUEREDO BENTO

**BIOPOLÍMERO DE QUITOSANA/XANTANA/B-GLICANA E PLASMA RICO EM
PLAQUETAS AUTÓLOGO EM GEL NO TRATAMENTO DE FERIDAS: ANÁLISE
FRACTAL**

Tese apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia e Saúde Animal – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 21 de Maio, 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Rosa Maria Barilli Nogueira
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof^a. Dr^a. Karina Basso –
Centro Universitário Filadélfia-UNIFIL
Londrina – PR

Prof. Dr. Valter Dias da Silva
Centro Universitário de Adamantina – UniFAI
Adamantina-SP

Prof^a. Dr^a. Cecília Laposy Santarem
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof^a. Dr^a. Adriana Falco de Brito
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente – SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, fonte de sabedoria e inspiração, pela Sua graça e orientação constante durante esta jornada acadêmica.

Dedico este trabalho, a minha família; presença constante em minha vida; fonte de amor, inspiração.

Ao meu esposo Edson Bento, meu companheiro de vida, meu apoio incondicional e minha fonte constante de amor e felicidade.

Ao meu amado filho Arthur Figueredo Bento, que na sua inocência de criança, soube sabiamente compreender todos meus momentos de ausência desde o mestrado até a finalização do doutorado, mamãe te ama.

Aos amigos "irmãos" que presentes nos mais diversos momentos de desafios e conquistas, seguraram minhas mãos, me incentivando a ser melhor sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por minhas conquistas, pelas oportunidades únicas concedidas e desafios que me fazem “crescer” em muitos aspectos.

Ao meu esposo e filho, que participaram e se doaram durante todo processo para que eu pudesse chegar até aqui.

Aos meus pais, os principais norteadores nos momentos de desafios, celebração de conquistas e disciplina; aqueles que me acompanham com zelo em cada etapa e projetos de vida.

A minha orientadora e amiga Rosa Maria Barilli Nogueira, pela oportunidade, de mais uma vez, poder estar ao seu lado, aprendendo que apesar da complexidade dos trabalhos científicos, a vida é simples; e que os melhores momentos são aqueles em que compartilhamos sorrisos frente as adversidades. Obrigado por seu carinho!

A professora e amiga Cecilia Laposy Santarem, que me incentivou a realizar esse trabalho e me instruiu no experimento e considerações que enriqueceram o trabalho.

Em especial a uma grande amiga Magda Neves, para sempre minha professora, dedico este doutorado a você, a luz constante em minha jornada acadêmica. Sua amizade, apoio e inspiração foram fundamentais para meu sucesso. Cada vitória é compartilhada contigo, e este título representa não apenas conquistas acadêmicas, mas também a força da nossa amizade. Obrigado por ser a âncora nos dias turbulentos e a chama nos dias sombrios, com gratidão sincera.

Aos amigos Valter Dias, Liliane Giroto e Nathalia Gonzaga, pela participação no desenvolvimento do experimento e companheirismo e convivência em cada etapa.

A professora Marcia Zilioli Bellini, que nos forneceu as membranas poliméricas para realizar esse trabalho.

A professora e amiga Suellen Umbelino que realizou a estatística desse trabalho com grande excelência. Aos docentes e colegas do curso de Graduação em Medicina, em especial as amigas de sala Gabriela Haro de Melo, Ana Tereza de Araújo, Elaine Dornelas e Daniela Mizusaki Iyomasa, pelos momentos de convivência, desabafos, choros, experiências e ensinamentos compartilhados.

Ao funcionário do Biotério Central Sidmar pela disponibilidade e colaboração.

A Universidade do Oeste Paulista, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, pelo apoio financeiro.

A todos que, de alguma maneira, colaboraram direta ou indiretamente para que eu pudesse alcançar essa conquista.

Meu carinho e gratidão

*“Deus será sua rocha quando você tiver que
enfrentar as marés difíceis da vida.”.*

(Jesus Cristo)

RESUMO

Biopolímero de Quitosana/Xantana/ β -Glicana e plasma rico em plaquetas autólogo em gel no tratamento de feridas: análise fractal

Esta tese constitui-se de: uma revisão de literatura que investiga o papel crucial do colágeno no complexo processo de cicatrização de feridas, cujo papel vital é a recuperação de lesões cutâneas e a manutenção da integridade do tecido, e um experimento, descrito em um artigo, que abrange as evidências científicas relacionadas ao papel do colágeno na cicatrização de feridas, com foco nos diferentes tipos de colágeno, suas funções específicas e implicações clínicas. O colágeno é uma parte fundamental desse processo, uma proteína estrutural que desempenha um papel central na matriz extracelular (MEC) e na organização do tecido conjuntivo. Exploramos os principais tipos de colágenos e seu papel específico em diferentes fases do processo de cicatrização, distribuição em diversos tecidos incluindo a pele, ossos, tendões e cartilagens, destacando suas interações com outros componentes da MEC. Também incluímos as técnicas de análise e avaliação do colágeno, que permite a diferenciação entre colágeno tipo I e III. Entender o papel do colágeno na cicatrização de feridas é essencial para o avanço das estratégias terapêuticas, considerando sua importância na formação e maturação das cicatrizes, na migração celular, na aderência da epiderme, na reepitelização e na regeneração dos tecidos. Este estudo reflete um esforço abrangente para reunir e sintetizar a literatura existente relacionada à importância do colágeno na cicatrização de feridas. Espera-se que este trabalho contribua para o avanço contínuo na compreensão e no tratamento de feridas e que abra portas para futuras pesquisas e inovações na área da medicina regenerativa.

Palavras-chave: Cicatrização, Colágeno, Feridas, Abordagens Cirúrgicas, Fractal.

ABSTRACT

Chitosan/Xanthan/ β -Glucan biopolymer and autologous platelet-rich plasma gel in wound treatment: fractal analysis

This thesis consists of: a literature review that investigates the crucial role of collagen in the complex wound healing process, whose vital role is the recovery of skin injuries and the maintenance of tissue integrity, and an experiment, described in a article, which covers the scientific evidence related to the role of collagen in wound healing, focusing on the different types of collagen, their specific functions and clinical implications. Collagen is a fundamental part of this process, a structural protein that plays a central role in the extracellular matrix (ECM) and the organization of connective tissue. We explore the main types of collagen and their specific role in different phases of the healing process, distribution in different tissues including skin, bones, tendons and cartilage, highlighting their interactions with other components of the ECM. We also include collagen analysis and evaluation techniques, which allow the distinction between type I and III collagen. Understanding the role of collagen in wound healing is essential for the advancement of therapeutic strategies, considering its importance in the formation and maturation of scars, cell migration, epidermal adhesion, re-epithelialization and tissue regeneration. This study reflects a comprehensive effort to gather and synthesize the existing literature related to the importance of collagen in wound healing. It is hoped that this work will contribute to continued advancement in the understanding and treatment of wounds and will open doors for future research and innovation in the area of regenerative medicine.

Keywords: Healing, Collagen, Wounds, Surgical Approaches, Fractal.

LISTA DE SIGLAS

AINEs	Antiinflamatórios não esteroides
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
COL-1	Colágeno tipo I
COL-3	Colágeno tipo III
COREN	Conselho Regional de Enfermagem
Decs	Descritores em Ciências da Saúde
GC	Grupo Controle
GM	Grupo Membrana
GPRPa	Grupo Plasma Rico em Plaquetas autólogo
GPRPa+M	Grupo Plasma Rico em Plaquetas autólogo + Membrana
MEC	Matriz extracelular
MG	Minas Gerais
MMII	Membros inferiores
MMPs	Metaloproteinases
MS	Ministério da Saúde
NIH	Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PRPa	Plasma Rico em Plaquetas autólogo
SBQ	Sociedade Brasileira de Queimaduras
SIM	Sistema de Informações sobre Mortalidade
SUS	Sistema Único de Saúde
UFRJ	Universidade Federal Rio de Janeiro
UNOESTE	Universidade do Oeste Paulista
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 - Fases da cicatrização.....	23
Figura 2 - A tripla-hélice do colágeno.....	28
Figura 3 - Colágeno durante as fases da Cicatrização.....	30

LISTA DE QUADROS

REVISÃO DE LITERATURA

Quadro 1 – Principais Fatores Etiológicos de Úlceras Cutâneas Crônicas nos Membros Inferiores.	18
Quadro 2 - Fatores Locais e Sistêmicos que influenciam a cicatrização.....	24
Quadro 3 - Principais fatores locais que influenciam a cicatrização.....	25
Quadro 4 - Principais fatores sistêmicos que influencia a cicatrização.	25

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Cicatrizações de feridas: uma visão global	20
2.2	Colágeno	27
3	ANÁLISE DAS IMAGENS	36
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
	REFÊRENCIAS.....	39
	ARTIGO	47
	ANEXO A- PARECER FINAL DO PROJETO (CEUA).....	89
	ANEXO B- NORMAS DE PUBLICAÇÃO.....	90

1 INTRODUÇÃO

Considerando a importância do colágeno em cada etapa do processo de cicatrização, este tem sido alvo de pesquisas para explorar novas estratégias terapêuticas que visam aprimorar a imunidade tecidual. Além disso, diversas tecnologias e tratamentos têm sido incorporados para fornecer colágeno exógeno diretamente na área da ferida, a fim de acelerar o processo de cicatrização e melhorar a qualidade do tecido formado (Ferreira *et al.*, 2023).

O desafio no contexto da cicatrização de feridas representa uma questão séria em termos de saúde pública. Quando a dificuldade de cicatrização se manifesta de maneira clínica e severa, ela contribui para um processo de recuperação longo e complicado, ao mesmo tempo em que eleva os custos associados à assistência médica. Assim, dada à complexidade das lesões e seus impactos na vida diária dos pacientes, surge uma necessidade evidente de uma abordagem de cuidados abrangentes (Azevedo, 2023).

A cicatrização de feridas é um processo vital para a sobrevivência humana e a manutenção da saúde. A pele, sendo o maior órgão do corpo humano, desempenha um papel fundamental na proteção contra invasores externos, regulação da temperatura e prevenção da perda de fluidos. Quando a integridade da pele está comprometida devido a feridas ou lesões, a restauração eficaz torna-se uma necessidade. Caso contrário, o risco de infecções, complicações sistêmicas e, em casos graves, ameaça à vida e pode aumentar significativamente. Portanto o tratamento de feridas tem evoluído ao longo do tempo, com o desenvolvimento de novas tecnologias, produtos e abordagens clínicas que melhoraram de forma significativa os resultados dos pacientes (Silva *et al.*, 2023).

Além disso, a renovação condicionada de feridas também pode levar a resultados estéticos e atraentes. Cicatrizes hipertróficas ou queloides podem impactar a qualidade de vida dos pacientes, causando desconforto físico e emocional. Portanto, compreender os mecanismos subjacentes à cicatrização de feridas é de importância crítica, não apenas para a saúde geral, mas também para melhorar a qualidade de vida dos indivíduos afetados por feridas crônicas ou graves. Os eventos de cicatrização de feridas são processos complexos que envolvem a capacidade de um organismo regenerar e reparar o tecido após lesão sendo essencial para sua sobrevivência e bem-estar. Nesse contexto, o colágeno, uma

proteína estrutural fundamental no corpo humano, surge como um elemento fundamental na reparação de feridas. A relevância do colágeno está relacionada à sua participação na integridade estrutural dos tecidos, bem como no seu papel na regulação das várias fases da cicatrização (Oliveira *et al.*, 2022).

O colágeno é encontrado nos tecidos conjuntivos do corpo, tais como os ossos, tendões, cartilagens, veias, pele, dentes, músculos e na camada córnea dos olhos. Porém, com o início da fase adulta, a deficiência de colágeno começa a ser notada, pois o organismo diminui sua produção, sendo necessária a sua suplementação (Benedito *et al.*, 2023).

A compreensão aprofundada do papel do colágeno na cicatrização não apenas aprimora os protocolos de tratamento, mas também oferece oportunidades para o desenvolvimento de terapias direcionadas, melhorando a qualidade de vida dos pacientes e as complicações relacionadas à cicatrização afetada (Sampaio *et al.*, 2018).

A regeneração eficaz dos tecidos é uma preocupação de saúde pública global, pois afeta milhões de pessoas todos os anos, especialmente aquelas que enfrentaram doenças crônicas, decorrentes de condições como diabetes ou úlceras de pressão, mortes decorrentes de cirurgias ou traumatismos representam um desafio significativo na recuperação de pacientes. Portanto, a compreensão profunda do papel do colágeno na cicatrização de feridas torna-se essencial, uma vez que pode levar a avanços no desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes e direcionadas (Sousa *et al.*, 2021; Sen, 2019).

A relevância do colágeno nesse contexto é inquestionável. O colágeno é a proteína mais abundante no tecido conjuntivo do corpo humano e desempenha um papel fundamental na estrutura e na função da pele. Ele atua como uma espécie de "tijolo" na construção do tecido conectivo, fornecendo resistência e suporte estrutural. Durante a cicatrização, a propriedade e a organização do colágeno desempenham um papel central na restauração da integridade da pele (Carbinatto; Coelho, 2019).

Nesta perspectiva, este artigo explora o papel fundamental do colágeno na cicatrização de feridas, destacando suas propriedades resilientes e saudáveis, bem como as possíveis aplicações clínicas que podem ser desenvolvidas para potencializar a transformação de tecidos danificados. Visa abordar lacunas críticas e fornecer uma visão aprofundada da importância do colágeno na cicatrização de

feridas, contribuindo assim para avanços na prática clínica e na pesquisa científica (Peralta *et al.*, 2023).

O objetivo desta revisão é oferecer uma análise abrangente da influência do colágeno na cicatrização de feridas, explorando as interações entre essa proteína estrutural e os processos de reparo. Além disso, destacaremos as implicações dessa relação clínica, apresentando as mais descobertas recentes e inovações no campo da cicatrização de feridas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Nas últimas décadas, houve um aumento significativo nas pesquisas sobre a cicatrização de feridas. Uma ampla gama de estudos tem investigado os processos celulares e moleculares envolvidos em cicatrização. Isso inclui a identificação de fatores de crescimento, citocinas e proteínas específicas que desempenham papéis cruciais na sinalização celular, migração de células, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno (Ferreira, 2023).

Além disso, uma revisão por estudo existente também revelou uma série de desafios na cicatrização de feridas, como a resistência à terapia em feridas crônicas, a influência de fatores sistêmicos na cicatrização e o impacto de condições subjacentes, como diabetes e doenças vasculares. À medida que o campo avança, novas abordagens terapêuticas estão sendo exploradas, incluindo terapias regenerativas baseadas em colágeno e a utilização de biomateriais avançados (Pedroso, 2022).

A pele é o maior órgão do corpo humano e sua principal função é proteger os órgãos internos contra danos do ambiente. Este órgão vital atua como um escudo protetor, prevenindo danos e a invasão de microrganismos patogênicos, ao mesmo tempo em que regula meticulosamente o equilíbrio de fluidos corporais, eletrólitos e nutrientes essenciais (Zhang; Zhao, 2020).

Uma ferida é uma condição que se caracteriza pela descontinuidade da pele ou da continuidade celular, acarretando a interrupção anatômica e funcional de um tecido vivo. Ela pode ser originada de diversos agentes, incluindo insultos físicos, químicos, térmicos, microbianos ou imunológicos. Em essência, uma ferida representa a quebra da integridade epitelial, frequentemente acompanhada pela alteração na estrutura e função do tecido subjacente normal (Masson-Meyers *et al.*, 2020). As feridas são ocorrências frequentes na prática clínica, apresentando uma ampla gama de etiologias, abrangendo traumas, intervenções cirúrgicas, úlceras por pressão, queimaduras e outras causas diversas. Os objetivos primários do tratamento de feridas são o fechamento rápido da ferida e uma cicatriz funcional e esteticamente satisfatória (Mendonça; Coutinho-Netto, 2009).

Epidemiologia

As feridas crônicas são caracterizadas por uma fisiopatologia complexa e multifatorial que leva a um atraso significativo e frequentemente descoordenado no

processo de regeneração tecidual, em comparação com as fases normais de cicatrização. Essas feridas tendem a persistir na fase inflamatória por períodos prolongados como o caso de feridas crônicas. Em escala global, as feridas crônicas relatadas representam um desafio substancial para a saúde pública, com uma prevalência estimada de aproximadamente 1,15 casos por mil habitantes, acarretando custos significativos para o sistema de saúde, bem como para os indivíduos afetados e seus cuidadores (Moreno *et al.*, 2022).

De acordo com informações disponibilizadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2023) esse conjunto diversificado de doenças encontra-se difundido em 149 países situados em regiões tropicais e subtropicais, afetando uma população que ultrapassa 1 bilhão de indivíduos em todo o globo. Um exemplo destacado dentre essas afecções é a úlcera crônica que acomete membros inferiores (MMII), evidenciando uma alta prevalência. É importante ressaltar que esse cenário pode acarretar despesas consideráveis para os sistemas de saúde públicos, dada a necessidade de tratamentos frequentemente prolongados e com eficácia limitada, especialmente quando administrados por sistemas de saúde não interconectados e sem uma padronização nos protocolos assistenciais (OPAS, 2020).

Estima-se que nos Estados Unidos da América, aproximadamente 6 milhões de indivíduos sejam acometidos por feridas crônicas em membros inferiores (MMII), com uma prevalência de cerca de 15% na população idosa. Projetando-se esses dados para o futuro, é possível antes que, até o ano de 2050, aproximadamente 25% da população idosa seja afetada por essa condição. Além disso, o aumento dos casos de obesidade tem resultado em um incremento significativo na ocorrência de úlceras decorrentes do diabetes mellitus, com uma taxa de incidência na ascensão, estimada em cerca de 14% ao ano (Okamoto *et al.*, 2020).

Estudos científicos demonstraram que aproximadamente 10% da população com diabetes desenvolvem feridas crônicas, e alarmantemente, 84% desses casos evoluem para a necessidade de amputações. Entre os pacientes submetidos à amputação, o tempo médio de sobrevivência após o procedimento é de 50%, no período de três anos. No contexto da Inglaterra, estima-se que a ocorrência de úlceras nas pernas afetadas de 1,5 a 3 indivíduos a cada 1000 habitantes anualmente (OAS, 2020). É importante ressaltar que no Brasil, não dispomos de estudos epidemiológicos que forneçam dados precisos sobre essa prevalência. Ainda assim, considerando uma extrapolação a partir das informações disponíveis na Inglaterra, é

possível estimar que aproximadamente 570 mil brasileiros desenvolvam novas feridas crônicas a cada ano. Notavelmente, entre a população com idade superior a 80 anos, essa prevalência se eleva para 20 casos a cada 1000 indivíduos (Aquino Júnior; Coelho; Bragnato, 2019; OMS, 2010).

Os tipos mais prevalentes de feridas crônicas (Quadro 1) que afetam membros inferiores (MMII) podem ser categorizados em diversas origens, tais como:

Quadro 1 – Principais Fatores Etiológicos de Úlceras Cutâneas Crônicas nos Membros Inferiores.

Tipos de Feridas	Origem
Vasculares	Que inclui etiologias venosas, arteriais ou de natureza mista.
Doenças Sistêmicas	Diabetes mellitus; Neuropáticas; Hipertensão arterial.
Neuropáticas	Relacionadas a condições como diabetes, hanseníase e alcoolismo.
Infeciosas	Bacterianas (erisipela bolhosa, fascite necrosante, gangrena gasosa, Micobacterioses (hanseníase, tuberculose) Viral (herpes simples, varicela zoster, citomegalovírus) Fúngica (tinea pedis bolhosa, micetoma) Protozoários (leishmaniose, amebíase).

Fonte: Adaptado de Abbade *et al.* (2020).

É fundamental ressaltar que qualquer tipo de intervenção pode evoluir para uma condição crônica, enfatizando a necessidade premente de identificar a causa subjacente para orientar a seleção do tratamento mais adequado. No contexto do Brasil, merece destaque a prevalência significativa do pé diabético, afetando 9% da população diabética. É relevante observar que a insuficiência venosa é apontada como a principal etiologia subjacente às feridas crônicas em membros inferiores, correspondendo a aproximadamente 75% dos casos, enquanto as causas de origem arterial também desempenham um papel relevante. O diagnóstico preciso da etiologia da lesão é de extrema importância, uma vez que isso orienta a escolha do tratamento mais adequado (Santos *et al.*, 2020).

A insuficiência venosa crônica, em particular, tem grande repercussão socioeconômica levando à perda de dias de trabalho, aposentadoria precoce e tratamentos prolongados. No contexto brasileiro, ela figura como a 14ª causa mais comum de afastamento do trabalho (Okamoto, 2020).

Entretanto, a presença de condições subjacentes, que podem abranger desde a desnutrição até o estresse e a síndrome metabólica, torna os pacientes mais propensos ao desenvolvimento de feridas crônicas que não cicatrizam. Sob uma perspectiva econômica, está previsto que o mercado anual de produtos destinados ao tratamento de feridas alcance valores entre US\$ 15 a 22 bilhões até o ano de 2024 (Armelin *et al.*, 2020).

No Brasil, conforme apontado pela Sociedade Brasileira de Queimaduras (SBQ) em 2015 estima-se que cerca de um milhão de indivíduos sejam afetados por queimaduras (Rocha, 2022). Dados preliminares do Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), fornecidos pelo Ministério da Saúde e referentes ao ano de 2013, indicam que 2.774 óbitos foram atribuídos a queimaduras nesse período, equivalendo a aproximadamente 2% do total de óbitos por causas externas, quando comparados aos dados do SIM, 2015 (Adorno, 2019; Souza *et al.*, 2019). No ano subsequente, 2014, observou-se um registro de mais de 120.000 internações no Sistema Único de Saúde (SUS), devido a queimaduras provocadas por diversas causas, como fogo/chamas, substâncias químicas, eletricidade, radiação, variações de temperatura, pressão extrema e contato com fontes térmicas, correspondendo a 18% do total de internações no grupo de causas externas (Cruz; Cordovil; Batista, 2012).

As queimaduras não fatais emergem como uma das principais causas de morbidade, constituindo um significativo desafio para a saúde pública. Além das implicações substanciais para a saúde, essas ocorrências demandam consideráveis recursos financeiros para tratamento e à necessidade de infraestrutura adequada. O custo médio diário de um leito em uma unidade especializada para queimados atinge R\$ 2.800,005, superando o investimento médio em um leito de Unidade de Terapia Intensiva (UTI) convencional, avaliado em R\$ 1.600,06 (Smolle *et al.*, 2017). Isso as torna um problema de saúde pública significativo, particularmente em nações classificadas como de renda média e baixa (Damaso; Minini; Souza, 2023).

Não se restringindo apenas ao ônus financeiro, as queimaduras exercem um impacto abrangente nos domínios físico, psicológico e social do indivíduo. As consequências manifestam-se em internações prolongadas, muitas vezes dolorosas e potencialmente traumáticas, com o risco significativo de desfigurações e sequelas físicas (OMS, 2023). Tais sequelas podem resultar em incapacidades substanciais, induzindo implicações subjetivas que transcendem as fronteiras físicas da condição.

A complexidade das queimaduras impõe não apenas desafios tangíveis, como dificuldades de socialização, mas também repercute em aspectos intangíveis, com prejuízo incalculável para a saúde mental dos pacientes (Anami *et al.*, 2017).

No contexto brasileiro e em países de renda média ou baixa, a maioria das queimaduras ocorre em ambiente doméstico, afetando predominantemente crianças com até oito anos de idade, geralmente do sexo masculino. As áreas mais comuns de lesão são a cabeça e o pescoço, com o fogo sendo a principal causa de queimaduras. Embora os idosos representem apenas 10% dos casos, apresentam a maior taxa de mortalidade relativa (OMS, 2023; Rocha, 2022).

O processo de cicatrização envolve interações intrincadas entre células, mediadores químicos e a matriz extracelular, abrangendo várias fases de reparos (Masi *et al.*, 2016). No contexto do tratamento de feridas, a prioridade é obter um fechamento eficiente da lesão, resultando em cicatrização funcional e esteticamente garantida (Mendoza, 2009; Reinke; Sorg, 2012).

Devido às notáveis propriedades regenerativas da pele, tecidos cutâneos lesionados ou feridas cirúrgicas podem ser recuperados por meio do processo natural de cicatrização, que abrange eventos fisiológicos distintos, a saber: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (Lee *et al.*, 2022). O processo de cicatrização não se divide, suas fases se sobrepõem, acontecendo concomitantemente, porém como ferramenta didática, subdividem-se em: fase da hemostasia, fase inflamatória, fase proliferativa e fase de maturação ou remodelação (Lee *et al.*, 2022; Albert, 2016) (Figura 1). Essas fases são dinâmicas e podem ocorrer simultaneamente, envolvendo interações complexas entre fatores como coagulação, crescimento, citocinas e quimiocinas. A matriz extracelular, especialmente o colágeno, e diversas células, incluindo plaquetas, leucócitos, células endoteliais, monócitos, linfócitos, macrófagos, fibroblastos e queratinócitos desempenham papéis cruciais (Moralez-Gonzalez *et al.*, 2022).

2.1 Cicatrizações de feridas: uma visão global

Fases da cicatrização

Fase de hemostasia e Inflamatória

Na presença de uma lesão na pele, as plaquetas desempenham uma função importante ao estimular a cascata da coagulação, e iniciam a hemostasia por meio

da formação de coágulos de fibrina (Thiruvoth *et al.*, 2015). Além disso, elas liberam mediadores que atraem macrófagos e fibroblastos para a área da lesão tecidual. O coágulo é composto por colágeno, plaquetas e trombina, ocorrendo como um reservatório proteico para a síntese de citocinas e fatores de crescimento, o que amplifica seus efeitos. Esse processo dá início à resposta inflamatória, caracterizada por vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, facilitando a quimiotaxia, ou seja, a migração de neutrófilos em direção à ferida (Thiruvoth *et al.*, 2015; Campos; Borges-Branco; Groth, 2007).

O colágeno tem uma importância fundamental ao estabelecer uma espécie de 'estrutura direcional', que orienta o deslocamento das células e preenche o espaço vazio gerado pela ferida. Os neutrófilos são as primeiras células a chegarem ao local da ferida, com sua concentração atingindo o pico aproximadamente 24 horas após a ocorrência da lesão. Sua atração para o local da ferida é mediada por agentes quimiotáticos liberados pelas plaquetas. Uma vez no local, esses neutrófilos estabelecem adesão à parede endotelial por meio de interações com selectinas, receptores de membrana especializados. Essas células desempenham um papel vital na produção de radicais livres, atuando para a eliminação de agentes bacterianos invasores. Com o passar do tempo, ocorre uma transição gradual, na qual os neutrófilos são substituídos progressivamente pelos macrófagos (Campos; Borges-Branco; Groth, 2007).

Entre 48 e 96 horas após a lesão, os macrófagos predominam na ferida, originando-se de monócitos que migraram para fora dos vasos sanguíneos. Os macrófagos são essenciais no processo de cicatrização, desempenhando múltiplas atividades durante os estágios inflamatórios e na fase de proliferação. Da mesma forma que os neutrófilos, os macrófagos são responsáveis pela remoção de detritos da ferida por meio de fagocitose e pela interrupção de proteases. Além disso, eles representam uma fonte primária de diversas citocinas e fatores de crescimento, desempenhando um papel essencial no recrutamento e ativação celular, na síntese da matriz extracelular, na angiogênese e na remodelação do tecido. Os macrófagos estimulam a formação de fibroblastos, a síntese de colágeno pelos fibroblastos e neovascularização na ferida (Campos; Borges-Branco; Groth, 2007).

Fase proliferativa

A fase proliferativa da cicatrização de feridas é um momento de importância significativa, marcado por diversos processos fundamentais, como a reepitelização, a formação de tecido de granulação e a matriz extracelular (MEC).

Esses eventos resultaram da migração e supervisão coordenada de fibroblastos e células endoteliais em direção ao local da lesão (Campos; Borges-Branco; Groth, 2007).

Campos *et al.* (2007) descreve que esse estágio compreende quatro etapas importantes: epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. A proliferativa tem seu início por volta do 4º dia após a fase de lesão e se prolonga até o término da segunda semana, cerca de 14 dias. Nesse período, a epitelização, considerada um processo precoce, ocorre quando a membrana basal permanece íntegra, possibilitando que as células epiteliais migrem em direção à superfície, restaurando as camadas normais da epiderme em aproximadamente três dias. Em situações em que há lesões na membrana basal, as células epiteliais situadas nas margens da ferida iniciam um processo ativo de lesão, restaurando a barreira protetora (Morales-González *et al.*, 2022).

A regeneração da epiderme, a criação de tecido de granulação, bem como da MEC, resultam da migração da migração coordenada de fibroblastos e células endoteliais em direção à área lesionada. A regeneração da epiderme e a formação de tecido de granulação assumem uma importância especial nessa fase (Morales-González *et al.*, 2022). Conforme as células envolvidas no processo de cicatrização sintetizam novas fibras de colágeno, isso assume uma importância na reconstrução da matriz extracelular, que fornece suporte para o desenvolvimento de vasos sanguíneos e estimula a angiogênese (Oliveira *et al.*, 2022).

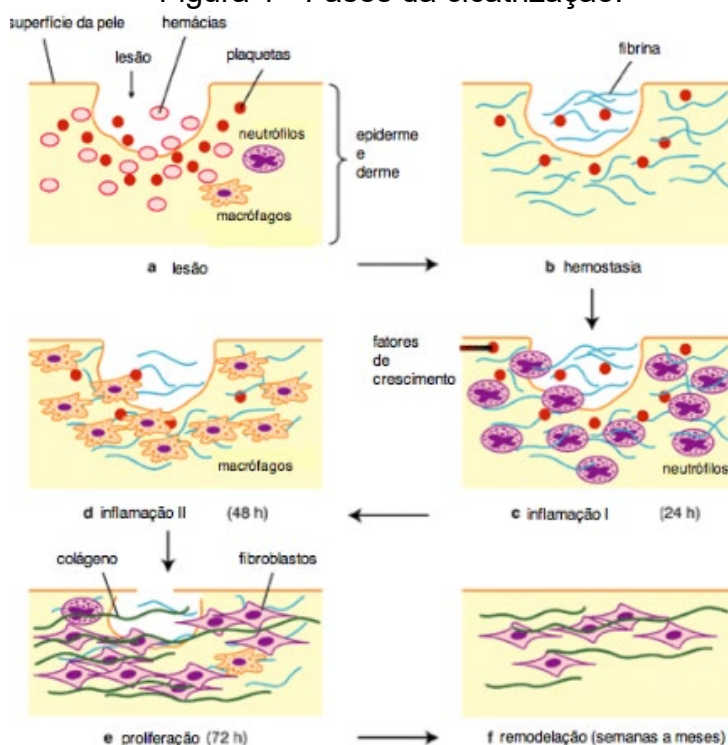
Fase maturação ou remodelamento

Na fase de remodelação, também conhecida como fase de maturação, ocorre tanto a contração da ferida quanto a reorganização do colágeno. Isso envolve a substituição do colágeno tipo III pela formação de colágeno tipo I, resultando em um tecido mais resistente e estável. A fase de remodelação pode ser um processo demorado, variando de semanas a meses, dependendo do tamanho e da profundidade da ferida, conforme indicado por Mirhaj *et al.* (2022).

Esta fase, se inicia aproximadamente após 3 semanas e pode se estender por até dois anos, embora a literatura mais aceita amplamente sugira um período de seis meses a um ano. Durante esse intervalo de tempo, o miofibroblasto se destaca como uma célula, contribuindo significativamente para a realização do processo fisiológico chamado de contração da ferida. Vale destacar que, mesmo em casos de propriedades primárias, a cicatrização progride com o fechamento das bordas em direção ao centro, graças à atuação determinante do miofibroblasto, impulsionada por sua notável composição, que inclui fibras de actina, conferindo-lhe notável capacidade contrátil (Carbinatto; Coelho, 2019).

Fatores que determinam e/ou influenciam o equilíbrio entre a síntese da nova MEC, com maior deposição de colágeno. Mesmo após um ano, a ferida apresentará um colágeno menos estruturado do que a pele saudável, e a resistência à tração nunca retornará completamente a marca de 100%, alcançando cerca de 80% após três meses desse processo (Oliveira *et al.*, 2022; Campos; Borges-Branco; Groth, 2007).

Figura 1 - Fases da cicatrização.



Fonte: Alberti (2016).

Fatores que influenciam a cicatrização

A deposição do colágeno descreve a qualidade de cicatrização porém outros fatores devem ser considerados e que podem influenciar a cicatrização (Guo; DiPietro, 2010). Dos fatores que podem influenciar negativamente ou positivamente a cicatrização é importante para a avaliação da capacidade de cicatrização de um indivíduo e para determinar a abordagem de tratamento mais adequada. Eles podem ser divididos em locais e sistêmicos (Quadro 2).

Quadro 2 - Fatores Locais e Sistêmicos que influenciam a cicatrização.

Fatores Locais	Extensão e profundidade Infecção Corpos estranhos Vascularização
Fatores Sistêmicos	Idade e sexo Hormônios sexuais Estresse Isquemia Doenças: diabetes, queloides, fibrose, distúrbios hereditários de cura, icterícia, uremia Obesidade Medicamentos: esteróides glicocorticóides, antiinflamatórios não esteróides, quimioterapia Alcoolismo e tabagismo Condições imunocomprometidas: câncer, radioterapia, AIDS Nutrição

Fonte: Adaptado de Guo e DiPietro (2010).

Fatores locais

Segundo Guo e DiPietro (2010), a cicatrização de feridas é influenciada por diversos fatores. Feridas mais profundas ou extensas podem requerer um processo de cicatrização mais prolongado e complexo. A presença de microrganismos invasores pode levar a infecções, o que retarda significativamente o processo de cicatrização. Além disso, uma boa vascularização local favorece os nutrientes necessários e remove os resíduos do local da ferida.

Quadro 3 - Principais fatores locais que influenciam a cicatrização.

Extensão e Profundidade da Ferida	A gravidade da lesão influencia significativamente na cicatrização. Feridas extensas e profundas dificultam o processo de cicatrização e podem resultar em cicatrizes mais visíveis.
Infecção	A invasão de microrganismos, como bactérias, pode resultar em infecções locais que afetam negativamente a cicatrização. O sistema imunológico é ativado para combater a infecção, o que pode atrasar o processo de cicatrização.
Corpos Estranhos	A presença de corpos estranhos como lascas de vidro, metal, gazes ou algodão, pode atrasar a cicatrização e aumentar o risco de infecção no local da ferida.
Vascularização	Uma circulação sanguínea eficiente na região é fundamental para fornecer nutrientes essenciais e eliminar resíduos da área da ferida. Feridas em locais com suprimento sanguíneo deficiente podem apresentar um processo de cicatrização mais lento.

Fonte: Adaptado de Guo e Dipietro (2010).

Fatores sistêmicos

Além dos fatores locais, os fatores sistêmicos também desempenham um papel crucial na cicatrização de feridas. Isso inclui condições médicas subjacentes ao paciente, como diabetes, que podem comprometer a circulação sanguínea e retardar a cicatrização. Além disso, certos medicamentos como os corticosteroides, podem inibir a resposta inflamatória necessária para a cicatrização adequada. Fatores nutricionais, como a ingestão de proteínas e vitaminas, podem influenciar o processo de cicatrização. Vejamos cada item em detalhes e como o colágeno acaba por não desempenhar de forma desejável seu papel (Guo; Di Pietro, 2010).

Quadro 4 - Principais fatores sistêmicos que influencia a cicatrização.

Condições Médicas Subjacentes	Câncer e outras doenças crônicas podem comprometer a cicatrização devido a alterações no sistema imunológico e circulatório. Quimioterapia e radioterapia, empregados no combate ao câncer, podem gerar efeitos colaterais que comprometem a formação de colágeno, impactando sua produção, capacidade de cicatrização, resultando em um processo de cicatrização mais lento (Simões, 2023).
Idade	Pessoas mais jovens tendem a cicatrizar mais rapidamente devido à sua maior capacidade de regeneração celular em comparação com indivíduos mais velhos devido à diminuição da produção de colágeno associada ao envelhecimento. No entanto, a cicatrização é um processo complexo e pode variar de pessoa para pessoa, independentemente da idade. Fatores

	como o estado geral de saúde, presença de doenças crônicas, hábitos de vida, nutrição e cuidados com a ferida também desempenham um papel significativo no processo de cicatrização em todas as faixas etárias (Garcia Alves; Zatti Fedrizzi, 2023).
Doenças Crônicas	Diabetes, doenças autoimunes e doenças cardiovasculares, afetam à cicatrização de feridas devido a problemas de circulação, inflamação crônica e comprometimento do sistema imunológico. Pacientes diabéticos muitas vezes têm níveis de glicose descontrolados, o que pode prejudicar a produção de colágeno e retardar a cicatrização (Stamborowski <i>et al.</i> , 2023).
Nutrição	Dieta pobre em nutrientes essenciais, tais como proteínas, vitaminas e minerais, pode prejudicar o processo de cicatrização, uma vez que esses elementos são importantes para a produção de colágeno e saúde geral da pele. Deficiências nutricionais, falta de colágeno, proteínas, vitaminas e minerais, podem afetar significativamente a capacidade do corpo de reparar os tecidos (Costas, 2023).
Medicamentos	Corticosteroides, imunossupressores, antiinflamatórios podem inibir a cicatrização de feridas. Os <i>corticosteróides em uso</i> prolongado inibem a elasticidade do colágeno, porque suprimem o sistema imunológico e evitam a resposta inflamatória, que é essencial para a cicatrização adequada. Os <i>antiinflamatórios</i> não esteroides (AINEs) como o ibuprofeno, embora sejam frequentemente usados para aliviar a dor e a inflamação, seu uso prolongado também pode inibir a formação de colágeno e retardar a cicatrização, por bloquear a atividade das enzimas envolvidas na síntese do colágeno (Ortiz, 2023).
Tabagismo	Fator de risco reconhecido que retarda a cicatrização de feridas, devido a componentes tóxicos do tabaco que prejudicam o fornecimento de sangue e de oxidação aos tecidos, dificultando a recuperação e reduzindo a capacidade de produção de colágeno e cicatrização (Giesel, 2023).
Obesidade	Pode aumentar o estresse na pele devido à pressão adicional sobre os tecidos prejudicando a circulação sanguínea e ao risco de infecção, conseqüentemente a elasticidade do colágeno. Isso pode resultar em cicatrização mais lenta e com maior risco de complicações (Stamborowski, <i>et al.</i> , 2023; American Diabetes Association, 2021).
Sistema Imunológico	A exemplo do lupus ou infecção pelo HIV pode afetar adversamente a cicatrização pela produção de anticorpos que atacam o colágeno, prejudicando a qualidade da matriz extracelular e a formação de cicatrizes. Infecções graves, como a septicemia, podem levar a uma resposta inflamatória generalizada e descontrolada, afetando níveis de produção de colágeno, retardando a cicatrização (Almeida; Wandeerley, 2023).
Hormônios	Alterações hormonais, como aquelas que ocorrem durante a gravidez ou mesmo na menopausa, também podem afetar a cicatrização. Os hormônios sexuais, como o estrogênio e a

	testosterona, desempenham um papel na regulação da produção de colágeno (Joly, 2023).
Estresse	O estresse aumenta os níveis de cortisol, afetam o sistema imunológico e a produção de colágeno, retardando a cicatrização por vasoconstrição e diminuição do fluxo sanguíneo para as áreas afetadas, diminuindo o fornecimento de nutrientes e oxigênio aos tecidos, o que é vital para uma cicatrização adequada (Antelo <i>et al.</i> , 2023).

Fonte: Adaptado de Guo e Dipietro (2010).

É importante notar que esses fatores podem interagir entre si, tornando a cicatrização um processo complexo que varia de pessoa para pessoa. Compreender esses fatores para o desenvolvimento de estratégias eficazes no auxílio à cicatrização de feridas (Ferraz, 2013). A relevância do colágeno em todos esses fatores sistêmicos está relacionada à sua função fundamental na formação da matriz extracelular, que é essencial para a cicatrização (COREN-MG, 2023). O colágeno fornece a estrutura e a resistência para que o tecido cicatricial se forme específico. Qualquer interrupção na produção ou na qualidade do colágeno pode resultar em cicatrizes deficientes, cicatrização atrasada ou maior risco de complicações durante o processo de cicatrização. Portanto, manter uma produção adequada de colágeno é essencial para um processo de cicatrização eficaz e com boa qualidade (Peralta *et al.*, 2023).

Em resumo, o colágeno desempenha um papel multifacetado na cicatrização de feridas, influenciando tanto os fatores locais, como a qualidade da MEC e a formação do tecido de granulação, quanto os fatores sistêmicos, como nutrição e idade. Compreender a importância do colágeno nesses processos é fundamental para melhorar a eficácia da cicatrização de feridas em diversos contextos clínicos (Garcia, 2022).

2.2 Colágeno

Estrutura e funções específicas do colágeno

A estrutura molecular primária da proteína colágeno é composta por uma tripla hélice de polipeptídios paralelos, onde cada terceira secreção de aminoácido é glicina (GLY), resultando na sequência XY-GLY. Comumente, os aminoácidos X e Y são prolina (PRO) e 4-hidroxiprolina (HYP), respectivamente. Isso leva à formação

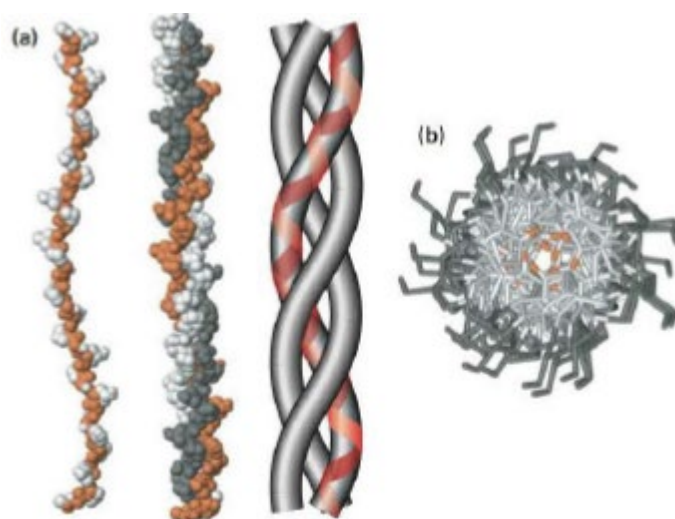
da sequência PRO-HYP-GLY, que é a cadeia tripla mais prevalente encontrada no colágeno (Papaiordanou *et al.*, 2022).

A característica distintiva dos colágenos é sua estrutura de tripla hélice. Em humanos adultos, a taxa de renovação do colágeno é notavelmente reduzida. A manipulação intracelular está associada principalmente a processos fisiológicos, ao passo que a manipulação extracelular está mais relacionada a processos patológicos (Araújo *et al.*, 2011).

A molécula de colágeno é formada pelas reuniões helicoidais de três cadeias alfa polipeptídicas, que são ricas em aminoácidos como glicina, prolina, hidroxiprolina e hidroxilisina. Existem aproximadamente 46 tipos diferentes de cadeias alfa polipeptídicas, o que resulta na formação de 29 tipos distintos de colágeno (Junqueira; Carneiro, 2005).

Portanto o colágeno é dividido em três partes distintas: na parte esquerda, observamos uma representação gráfica da tripla hélice de colágeno, com uma estrutura que lembra a organização cristalina. No centro e à direita da imagem, enfatiza-se a estrutura da tripla hélice, com destaque para a torção das cadeias individuais de colágeno, identificadas em vermelho. A visão (b) proporciona um corte transversal do eixo da tripla hélice, permitindo uma perspectiva interna da estrutura (Souza; Castro; Silva, 2021). (Figura 2).

Figura 2 - A tripla-hélice do colágeno.



Fonte: Souza *et al.* (2021).

As moléculas de colágeno apresentam uma resistência específica às ações proteolíticas devido à sua estrutura helicoidal. No entanto, é importante destacar que existem enzimas proteolíticas com alta especificidade para o colágeno. Um exemplo desse grupo de enzimas são as metaloproteinases (MMPs), das quais são conhecidos 23 tipos diferentes. A maioria das MMPs é produzida e secretada na forma de pró-enzimas inativas (Araújo *et al.*, 2011).

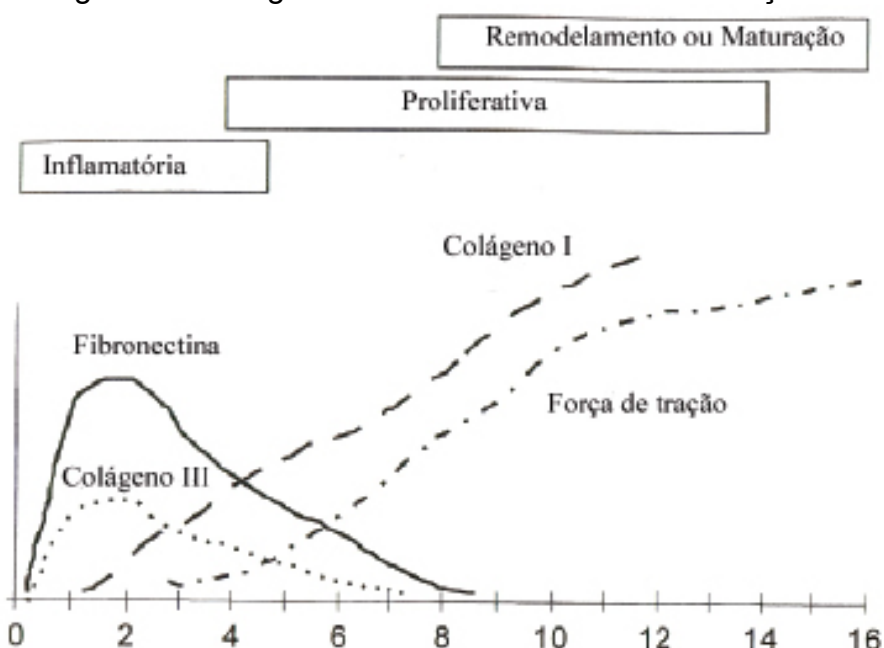
A complexidade das distintas formas de colágeno é atribuída à variação na composição e na sequência de aminoácidos que compõem as cadeias moleculares do colágeno, resultando na criação de níveis diversos de organização supramolecular. As fibras de colágeno exibem características notáveis, sendo altamente alongadas, birrefringentes, não elásticas e não ramificadas, embora, em algumas instâncias, grupos de fibrilas colágenas possam interconectar-se, sugerindo a possível presença de ramificações (Birk; Mayne, 1997; Van Der Rest; Garrone, 1991).

As metaloproteinases da matriz (MMPs) responsáveis pela liberação do colágeno fibrilar incluem MMP-1 (colagenase 1), MMP-2 (gelatinase A), MMP-8 (colagenase 2), MMP-12 (colagenase 3), MT1- MMP e MT3M. Por outro lado, a manipulação do colágeno tipo 3 é atribuída à MMP-3, MMP-10 e às metaloproteinases da matriz associada à membrana (MP) (Araújo *et al.*, 2011).

O colágeno, sendo uma proteína estrutural amplamente presente no tecido conjuntivo do corpo humano e desempenhando diversas funções importantes na manutenção da integridade estrutural e funcional dos tecidos, desempenha várias funções fundamentais durante o processo de cicatrização de feridas (Papaiordanou *et al.*, 2022).

Na matriz extracelular (MEC), o colágeno é essencial como suporte tridimensional dos tecidos e na facilitação da migração celular, regulação dos processos de cicatrização e manutenção da integridade tecidual. Durante a fase de cicatrização, o colágeno age como um agente adesivo ao unir as bordas da ferida, promovendo o crescimento de células especializadas, como os fibroblastos, e contribuindo para a maturação e remodelação do tecido cicatrizado (Figura 3). A quantidade e qualidade do colágeno produzido têm um impacto direto na aparência final da cicatrização, podendo resultar em diferentes tipos de cicatrizes (Papaiordanou *et al.*, 2022).

Figura 3 – Colágeno durante as fases da Cicatrização.



Fonte: Adaptado de Witte e Barbul (1997).

A compreensão da estrutura e das funções específicas do colágeno é essencial para desenvolver abordagens terapêuticas que visam melhorar a cicatrização de feridas. Pesquisas e avanços nesse campo têm o potencial de melhorar significativamente a qualidade de vida de pacientes com feridas crônicas ou graves (Sousa *et al.*, 2021).

Fisiopatologia do colágeno na Cicatrização

A investigação das relações entre o colágeno e o processo de cicatrização revela insights cruciais para compreender a fisiopatologia associada a deficiências e excessos dessa proteína estrutural. No cenário de deficiências de colágeno, evidências indicam que determinadas condições médicas podem comprometer significativamente a eficácia do processo cicatricial do organismo. Distúrbios genéticos, exemplificados pela síndrome de Ehlers-Danlos, (Lages; Lima; Ximenes, 2007) destacam-se como manifestações em que a síntese de colágeno é afetada, desafiando a capacidade intrínseca do corpo de promover uma cicatrização eficiente (Isaac *et al.*, 2010).

As proteínas colagênicas representam a classe mais abundante, constituindo aproximadamente 25% a 30% de todas as proteínas presentes no organismo. Contrastando com as deficiências, situações que envolvem a produção

exacerbada de colágeno suscitam preocupações significativas. O fenômeno da fibrose patológica emerge como uma consequência desse excesso, desencadeando a formação de cicatrizes hipertróficas ou queloides. Essas manifestações, embora representem uma resposta adaptativa do organismo, podem, paradoxalmente, resultar em complicações e disfunções teciduais (Cambroner Ulate; Cerdas Fernández; Chang Chen, 2022).

Essas moléculas se organizam em grupos específicos com base em suas semelhanças estruturais e em suas associações supraestruturais, uma vez que cada tipo de colágeno tem a tendência de se associar com outros tipos na matriz extracelular. A compreensão dos tipos de colágeno envolvidos no processo de cicatrização de feridas é um aspecto fundamental na pesquisa relacionada aos processos de regeneração de tecidos. Nesta seção, iremos examinar em detalhes os principais tipos de colágeno que desempenham funções diversas e interligadas durante o complexo processo de cicatrização (Junqueira; Carneiro, 2005).

Tipos de colágeno envolvidos na cicatrização de feridas

A composição da pele é descrita pela presença dos colágenos do tipo I e III, com uma proporção de 80% para 20% ao nascimento. Essa proporção sofre modificações à medida que envelhecemos o que justifica as alterações na qualidade da pele. Estes dois tipos de colágeno são abundantemente expressos na derme e são essenciais para a integridade estrutural da pele e tecidos conectivos (Carbinatto; Coelho, 2019).

Os tipos predominantes de colágenos fibrilares incluem os tipos I, II, III, V, XI, XXIV e XXVII, os quais formam agregados fibrilares. Esses colágenos são encontrados em diversas matrizes fibrosas, tais como na derme, ossos, tendões, ligamentos e cápsulas de órgãos, entre vários outros locais (UFRJ, 2018).

O colágeno tipo I desempenha um papel central na fase proliferativa da cicatrização, conferindo resistência e solidez à matriz extracelular. Suas características incluem fibras densas, espessas e altamente resistentes, resultando em uma derme mais robusta e menos propensa à flacidez (UFRJ, 2018; Ricard-Blum, 2011). Enquanto o colágeno tipo I é o tipo mais prevalente, formando fibras grossas, ele é encontrado no tecido conjuntivo propriamente dito, na pele, tendões, ossos, dentina e cemento. Por outro lado, o colágeno tipo II forma fibras mais finas e

é predominantemente encontrado nas matrizes da cartilagem hialina e elástica (Feitosa, 2023).

O colágeno tipo III é mais proeminente na fase inicial da cicatrização, conferindo elasticidade ao tecido de granulação. O colágeno do tipo III, frequentemente associado ao tipo colágeno tipo I, é denominado, também, de fibra reticular mais delgada. O colágeno tipo III apresenta fibras mais finas e menos resistentes, semelhantes à consistência de uma goma de mascar. A interação entre esses dois tipos de colágeno desempenha um papel fundamental na transição de uma cicatrização imatura para uma mais madura (UFRJ, 2018). Essas características são explicadas por que a pele dos idosos tende a ser mais fina frágil e menos elástica, com uma capacidade de retração reduzida, uma vez que a proporção de colágeno tipo III é significativamente elevada nessa faixa etária (Carbinatto; Coelho, 2019). Durante a fase proliferativa, há uma maior produção de colágeno tipo III, que se assemelha a uma "cola", e posteriormente ocorre uma transição para o colágeno tipo I na fase de maturação (Carbinatto; Coelho, 2019).

Diferentes tipos de colágeno desempenham papéis distintos na estrutura e função dos tecidos do organismo. O colágeno do Tipo IV, por exemplo, é uma molécula que não forma fibras, mas em vez disso, compõe as membranas basais, onde cria uma rede de moléculas de pró-colágeno interconectadas, servindo como base de sustentação para a lâmina basal (Feitosa, 2023).

O colágeno do Tipo V, embora presente em pequena quantidade, origina fibrilas muito delicadas e é frequentemente encontrado em associação com o colágeno do Tipo I, que é predominante no tecido intersticial. Além disso, o colágeno do Tipo VI está responsável na regulação da adesão celular e da migração. Ambos contribuem para a complexa rede de interações necessária para a regeneração tecidual (Feitosa, 2023).

O colágeno do Tipo VII, por sua vez, é uma parte integral da lâmina basal, trabalhando na integridade da epiderme. Sua presença é importante para promover a aderência das células epiteliais, possibilitando a migração e a restauração eficaz da epiderme durante a fase de reepitelização (Feitosa, 2023).

Além disso, o colágeno do Tipo XI é encontrado nas cartilagens, incluindo as do tipo hialina e elástica, onde participa na estrutura das fibrilas de colágeno, juntamente com o colágeno do Tipo II. Esses diversos tipos de colágeno

desempenham funções interligadas, garantindo a integridade e a restauração adequada dos tecidos durante o processo de cicatrização (Feitosa, 2023).

A compreensão da interação coordenada entre esses tipos de colágeno é de fundamental importância em pesquisas avançadas sobre cicatrização de feridas. Suas especificidades, quando e onde são expressas e como interação na matriz extracelular, são áreas críticas de investigação que podem fornecer insights significativos para melhorar as terapias destinadas a cicatrização de feridas em nível molecular. Esta análise detalhada dos tipos de colágeno envolvidos na cicatrização de feridas busca preencher uma lacuna no conhecimento atual e fornecer uma base sólida para futuras pesquisas na área de regeneração tecidual (Feitosa, 2023).

Ao explorar esses aspectos, esta revisão contribui para uma compreensão das implicações fisiopatológicas associadas ao colágeno na cicatrização de feridas, abrindo portas para estratégias terapêuticas inovadoras visando modular a expressão do colágeno e otimizar o processo de cicatrização de feridas de maneira clinicamente eficaz.

Métodos de Avaliação do Colágeno

A determinação do êxito de uma modalidade terapêutica para o tratamento de cicatrizes hipertróficas e contraturas pós-queimaduras é de extrema importância, tanto para o paciente como para o profissional envolvido no processo. Nesse contexto, a metodologia de análise se concentra na avaliação, seja de forma macroscópica ou microscópica, da reepitelização e migração celular. Essa avaliação abrange tanto a direção longitudinal, a partir das margens saudáveis, quanto a direção transversal, incluindo o fenômeno de migração "bottom-up" de queratinócitos, angiogênese, contração da ferida e depósito de colágeno (Rocha, 2022).

No estudo realizado por Bedoya *et al.* (2019), a investigação do colágeno é abordada, e são várias as técnicas histológicas e colorações que são mencionadas como ferramentas essenciais nesse processo. Dentre essas técnicas, destaca-se a coloração especial denominada Picrosirius Red, que se mostra seletiva em relação ao colágeno, permitindo a diferenciação entre seus tipos com base nas tonalidades vermelhas e verdes resultantes da birrefringência (Bedoya *et al.*, 2016). A crescente

popularidade dessa técnica histológica se deve à sua simplicidade de execução e à consistência e adequação de seus resultados.

No trabalho de Rocha (2022), também é citado que para a análise do colágeno, destaca-se a descrição do método de picrossírius polarização, conforme previamente delineado por Montes (1996). Esse método envolve a observação sob microscópio de luz polarizada de secções histológicas de pele coradas com Sirius Red F3BA e tratadas com ácido pícrico sob um microscópio de luz polarizada. Esse procedimento se mostra eficaz na diferenciação entre o colágeno Tipo I e Tipo III, com base na relação entre a birrefringência e a estrutura das fibras colágenas (Montes, 1996; Cuttle *et al.*, 2005).

De acordo com Rocha (2022), pelo método mencionado, o colágeno Tipo I se apresenta como fibras densamente compactadas, exibindo uma intensa birrefringência e adquirindo uma coloração amarela ou vermelha, enquanto o colágeno Tipo III é observado como fibras mais finas e dispersas, tingidas em tons de verde. A birrefringência intrínseca de um material específico é determinada pela orientação e pela força das oscilações de todas as transições eletrônicas das moléculas. A birrefringência textural do colágeno, por sua vez, depende da concentração, da geometria, do estado organizacional e da orientação dos feixes de fibras. O brilho exibido por um objeto birrefringente, como o colágeno, quando submetido à luz polarizada, é resultado do retardo óptico e exibe um comportamento não linear (Ribeiro; Vidal, 1986).

Ainda em seu estudo Rocha (2022), aponta que a técnica do Picrossírius, possibilita a obtenção de informações detalhadas sobre a densidade e os tipos de colágeno presente na cápsula, tudo isso através da identificação da birrefringência, que se traduz na capacidade das fibras colágenas de brilhar em contraste com um fundo escuro. Quando examinado sob um microscópio de luz polarizada, o colágeno tipo I (COL-1), que é considerado colágeno maduro, apresenta fibras densas e aglomeradas que exibem uma forte birrefringência, refletindo uma tonalidade avermelhada. Por outro lado, o colágeno tipo III (COL-3), que é considerado colágeno imaturo, exibe fibras mais finas e dispersas no parênquima, com uma birrefringência menos acentuada e uma coloração esverdeada.

A análise quantitativa baseada na Geometria Fractal, desenvolvida por Benoit Mandelbrot, 1984, complementa os métodos quantitativos convencionais

baseados na Geometria Euclidiana, estabelecida por Euclides de Alexandria há mais de 2400 anos (Rocha, 2022; Mesquita, 2014).

Essa abordagem fractal tem se mostrado particularmente ser uma valiosa ferramenta na quantificação de estruturas que são difíceis (ou impossíveis) de medir. Sua principal vantagem está na capacidade de fornecer uma medida única, a dimensão fractal (DF), para quantificar estruturas complexas. A dimensão fractal permite descrever e medir a autossimilaridade do objeto analisado, possibilitando a comparação entre partes da estrutura e a estrutura como um todo. De maneira geral, valores mais altos de DF indicam uma maior complexidade na estrutura analisada. A principal atração da geometria fractal é sua habilidade em descrever as formas irregulares, rugosas, complexas e fragmentadas de objetos naturais ou artificiais, que a geometria tradicional ou euclidiana não consegue analisar adequadamente. Esse fenômeno é expresso através de leis de escala estatisticamente estabelecidas no domínio espacial ou temporal, caracterizadas por leis de potência que ocorrem no mundo físico real (Rocha, 2022; Mandelbrot, 1984).

Devido a essas características, a dimensão fractal tem sido aplicada para quantificar estruturas biológicas complexas, como vasos retinianos (Mayne *et al.*, 1993), cicatrização de feridas (Artzi; Tal; Dayan; 2001; Roush; Breur; Wilson, 1988), fibrose em diversos órgãos (Whittaker, 1994), regeneração de tecido ósseo (Rocha, 2022), diferenciação entre tecido mamário normal e neoplásico em mamografias, classificação da osteoporose em radiografias e em diversas outras aplicações (Rocha, 2022; Bedoya *et al.*, 2019).

A técnica de detecção de colágeno tem ganhado destaque como um potencial biomarcador em diversas áreas da medicina. Estudos têm demonstrado sua utilidade na identificação de colágeno em neoplasias de mama em seres humanos (Kakkad *et al.*, 2012) e próstata (Docheva *et al.*, 2010) bem como em casos de carcinoma de células escamosas em cães (Bedoya *et al.*, 2019). Esse avanço na detecção de colágeno tem o potencial de revolucionar o diagnóstico e o tratamento de várias condições médicas (Bedoya *et al.*, 2019).

3 ANÁLISE DAS IMAGENS

No estudo de Machado, 2022, a metodologia empregada na análise das imagens obtidas através das lâminas histológicas coradas com o Picrosirius, são submetidas à binarização para fins de análise, e a dimensão fractal (DF), é calculado por meio do método "box-counting" utilizando o software ImageJ, desenvolvido pelo Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (NIH) e disponível gratuitamente na internet (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>). As imagens capturadas dos campos histológicos na área de cada lesão em um aumento de 400x.

O software emprega a técnica de "box-counting" bidimensional para quantificar a distribuição de pixels no espaço da imagem, sem considerar a textura da mesma. Observa-se que em vários estudos, são selecionadas duas imagens com a mesma distribuição de pixels, uma após binarização e outra em tons de cinza, terão a mesma dimensão fractal. A análise da dimensão fractal em lâminas histológicas baseia-se na relação entre a resolução da imagem e a escala avaliada, e o resultado é expresso quantitativamente como a dimensão fractal do objeto, calculada pela fórmula $DF = (\text{Log } Nr / \log r - 1)$, onde Nr representa o número de elementos idênticos necessários para preencher o objeto original na escala aplicada. Assim, a dimensão fractal calculada com o software ImageJ varia entre 0 e 2, não diferenciando texturas distintas. A análise morfométrica de imagens histológicas é uma ferramenta essencial para a obtenção de dados precisos por meio da contagem e avaliação de células e componentes teciduais, e esses dados podem oferecer informações diagnósticas e prognósticas valiosas, dependendo do contexto da análise (Andrea; Bleggi-Torres; Alves, 2008).

Diversos estudos têm explorado a avaliação do colágeno utilizando técnicas como planimetria por contagem de pontos e segmentação de cor. Essas técnicas são aplicadas com o auxílio de softwares específicos, como o Image Pro Plus, desenvolvido pela Media Cybernetics. (Fachinelli, 2005), e o Image J (Bedoya *et al.*, 2019), criado pelo National Institute of Health e disponibilizado gratuitamente online (<https://imagej.nih.gov/ij/>) (Schindelin; Rueden; Hiner *et al.*, 2015). Essas ferramentas computacionais possibilitam a avaliação da birrefringência do colágeno de maneira eficiente e confiável. No entanto, é importante observar que a falta de padronização nas configurações de análise pode representar um desafio significativo. Isso ocorre porque a ausência de critérios uniformes pode limitar a repetibilidade e a

comparabilidade dos resultados entre diferentes estudos. Portanto, estabelecer diretrizes padronizadas para essas análises pode ser uma área relevante para futuras pesquisas no campo (Bedoya *et al.*, 2019).

A revisão de literatura realizada neste estudo sobre a importância do colágeno na cicatrização de feridas revelou a complexidade e a interconexão dos processos envolvidos na reparação de tecidos. O colágeno, como componente estrutural fundamental da matriz extracelular, desempenha um papel crucial em várias fases do processo de cicatrização.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Essa investigação destacou a diversidade de tipos de colágeno encontrados nos tecidos e sua distribuição específica em diferentes contextos anatômicos. A presença de colágeno tipo I foi associada à formação de fibras densas e resistentes, essenciais para a integridade dos tecidos, já o colágeno tipo III foi identificado em locais de reparação tecidual, onde fibras mais finas e imaturas são necessárias para promover a regeneração eficaz. Além disso, a metodologia utilizada na análise do colágeno, como a técnica de picrossírius polarização, mostrou-se uma ferramenta valiosa para diferenciar os diferentes tipos de colágeno e avaliar suas características estruturais. A birrefringência resultante revela informações cruciais sobre a maturidade e a organização das fibras colágenas, permitindo uma compreensão mais profunda dos processos de reparação tecidual.

Nossa pesquisa sublinhou a importância de avaliar a cicatrização de feridas de forma abrangente, considerando não apenas o colágeno, mas também outros fatores, como a migração celular, angiogênese, contração da ferida e depósito de colágeno. A análise fractal, que fornece uma medida única da complexidade da estrutura, mostrou-se uma ferramenta valiosa para quantificar aspectos difíceis de serem mensurados pelas metodologias tradicionais. No contexto clínico, a compreensão das complexas interações do colágeno e sua relevância para a cicatrização de feridas é fundamental. Isso tem implicações diretas no desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais eficazes, especialmente no tratamento de cicatrizes hipertróficas e contraturas pós-queimaduras.

Em resumo, esta revisão de literatura destaca o papel multifacetado do colágeno na cicatrização de feridas e a importância de técnicas avançadas de análise na pesquisa e na prática clínica. À medida que continuamos a aprofundar nosso conhecimento nesse campo, é imperativo reconhecer a relevância do colágeno como um biomarcador potencial em várias condições médicas, incluindo neoplasias e patologias cutâneas.

Concluimos, portanto, que a pesquisa contínua nessa área é fundamental para o avanço da medicina e da cirurgia, visando melhorar a qualidade de vida dos pacientes e otimizar os resultados clínicos no tratamento de feridas e condições relacionadas ao colágeno.

REFÊRENCIAS

- ABBADE, L.P.F. *et al.* Consensus on the diagnosis and management of chronic leg ulcers - Brazilian Society of Dermatology. **An Bras Dermatol.**, v. 95, n. (S1), p. 1-18, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abd.2020.06.002>.
- ADORNO, J. Sociedade Brasileira de Queimaduras (SBQ) e queimaduras no Brasil. **Rev Bras Queimad.**, v. 18, p. 1, 2019. Disponível em: <http://www.rbqueimaduras.com.br/summary/45>
- ALBERTI, T.B. **Development of nanofibrous scaffolds of polyvinyl alcohol with propolis for wound healing.** 2016. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/348337933_Development_of_nanofibrous_scaffolds_of_polyvinyl_alcohol_with_propolis_for_wound_healing.
- ALMEIDA, E.A.; WANDEERLEY, J.S. **Semiologia médica e as síndromes clínicas.** 1. ed. Rio de Janeiro: Thieme Revinter, 2023.
- ALVES, D.G.; FEDRIZZI, G.Z. Cicatrizes e seus efeitos psicológicos nas vítimas de agressões. **Rev Int Vitimol Just Restaurat.**, v. 1, n. 2, p. 313-328, 2023. DOI: <https://doi.org/10.58725/rivjr.v1i2.47>
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetes-2021 abridged for primary care providers. **Clin Diabet.**, v. 39, p.14-43, 2021. Disponível em: <https://diabetesjournals.org/clinical/article/39/1/14/32040/Standards-of-Medical-Care-in-Diabetes-2021>
- ANAMI, E.H.T. *et al.* Treatment costs of burn victims in a university hospital. **Burns.**, v. 43, p. 350-356, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305417916303217>
- ANDREA, C.E.D.; BLEGGI-TORRES, L.F.; ALVES, M.T.D.S. Análise da morfometria nuclear: descrição da metodologia e o papel dos softwares de edição de imagem. **J Bras Patol Med Lab.**, v. 44, p. 51-57, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpm/la/TvqQ6zWZKts7NwwPXDm6Lrk/>
- ANTELO, D.A.P. *et al.* Impactos do exossoma na pele de mulheres na menopausa: da fisiologia ao manejo. **Surg Cosmet Dermatol.**, v. 15, a240, 2023. DOI: <http://www.dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.2022150240>.
- ARAÚJO, R.V.D.S. *et al.* Metaloproteinases: aspectos fisiopatológicos sistêmicos e sua importância na cicatrização. **CMBIO.**, v. 10, p. 82, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/22792>
- ARMELIN, A.P.M. **Proposta de intervenção para melhorar o cuidado de feridas crônicas em membros inferiores, no território da Estratégia de Saúde da Família Rural em Campos Gerais/Minas Gerais.** Monografia (Especialização) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2020.

ARTZI, Z.; TAL, H.; DAYAN, D. Porous Bovine Bone Mineral in Healing of Human Extraction Sockets: 2. Histochemical Observations at 9 Months. **J Periodontol.**, v. 72, p. 152-159, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1902/jop.2001.72.2.152>

AQUINO JÚNIOR, A.E.; COELHO, V.H.M.; BRAGNATO, V.S. **Feridas** - um desafio para a saúde pública. São Carlos: Suprema Gráfica, 2019. Disponível em: <https://www.ifsc.usp.br/cepof/wp-content/uploads/2023/06/Feridas-um-desafio-para-saude-publica.pdf>.

AZEVEDO, A.S. **Uso de tecnologias em saúde voltada para o diabetes mellitus**. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB, 2023. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/31096>.

BEDOYA, S.A.O. *et al.* Quantificação do colágeno dérmico equino por duas técnicas morfométricas: contagem de pontos e segmentação de cor. **Arq Bras Med Vet Zootec.**, v. 71, p. 761-769, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/x8YsVSyP67f6jvhqqPmKhjj/#>

BEDOYA, S.A.O. *et al.* Caracterização de colágenos tipos I e III no estroma do carcinoma de células escamosas cutâneo em cães. **Arq Bras Med Vet Zootec.**, v. 68, p. 147-154, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/yvPywGzsz5vNn6sJ8DQkWLM/?lang=pt>

BENEDITO, M.R.S.; POZZI, F.S.; SILVA, L.O.B. Substâncias consolidadas para bioestimuladores de colágeno: forma de ação, indicação e intercorrência-revisão literária. **RECIMA21.**, v. 4, e414191, 2023. Disponível em: <https://recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/4191>

BIRK, D.E.; MAYNE, R. Localization of collagen types I, III and V during tendon development. Changes in collagen types I and III are correlated with changes in fibril diameter. **Eur J Cell Biol.**, v. 72, p. 352-361, 1997. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/9127735>

CAMBRONERO ULATE, P.; CERDAS FERNÁNDEZ, A.; CHANG CHEN, V. Fisiopatología de la cicatrización patológica. **Rev Méd Sinerg.**, v. 7, e820, 2022. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8859968>

CAMPOS, A.C.L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A.K. Cicatrização de feridas. **ABCD Arq Bras Cir Dig.**, v. 20, p. 51-58, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-67202007000100010>

CARBINATTO, F.M.; COELHO, V.H.M. **Feridas**: um desafio para a saúde pública. São Carlos: Instituto de Física de São Carlos, 2019. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/002967704>

COREN-MG. **Cuidado à pessoa com ferida cutânea**: manual de orientações quanto à competência técnico-científica, ética e legal dos profissionais de enfermagem. 2. ed. Belo Horizonte: Coren-MG, 2023. Disponível em: manual_cuidadoapessoa-2.pdf (corenmg.gov.br).

COSTA, S.R. **Carnes vermelhas e a saúde humana: uma perspectiva médica.** 2023. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade da Beira Interior, Covilhã, PO, 2023. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.6/13548>.

CRUZ, B.F.; CORDOVIL, P.B.L.; BATISTA, K.N.M. Perfil epidemiológico de pacientes que sofreram queimaduras no Brasil: revisão de literatura. **Rev Bras Queimad.**, v. 11, p. 246-250, 2012. Disponível em: <http://www.rbqueimaduras.com.br/details/130/pt-BR/perfil-epidemiologico-de-pacientes-que-sofreram-queimaduras-no-brasil--revisao-%20de-literatura>

CUTTLE, L. *et al.* Collagen in the scarless fetal skin wound: Detection with Picrosirius-polarization. **Wound Repair Regen.**, v. 13, p. 198-204, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1067-1927.2005.130211.x>

DAMASO, A.L.A.; MININI, R.M.; SOUZA, S.D.D. Frequência de sintomas sugestivos de transtorno de estresse agudo em pacientes queimados. **Espac Saúde.**, v. 24, p. 1-11, 2023. DOI: <https://doi.org/10.22421/1517-7130/es.2023v24.e937>

DOCHEVA, D. *et al.* Effect of collagen I and fibronectin on the adhesion, elasticity and cytoskeletal organization of prostate cancer cells. **Biochem Biophys Res Comm.**, v. 402, p. 361-366, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.10.034>

FACHINELLI, A. **Avaliação qualitativa e quantitativa do colágeno total, tipo I e III da linha Alba em pacientes portadores de hérnia da parede abdominal anterior.** 2005. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2005. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/5080>.

FEITOSA, V.L.C. **Matriz extracelular.** 2023. Disponível em: https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/11241916022012Biologia_Celular_aula_5.pdf.

FERRAZ, J.B. **Capacitação para profissionais de enfermagem quanto ao manejo clínico de feridas de difícil cicatrização.** 2023. Dissertação (Mestrado em Práticas de Saúde e Educação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/54513>

FERREIRA, L.C. **Fatores que interferem na produção e características do concentrado sanguíneo - PRF (Fibrina Rica em Plaquetas).** 2023. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/38031>

GARCIA, P.G.M. **Efetividade de Polihexametileno-Biguanida versus soluções cristalóides na carga microbiana em pacientes com feridas: uma revisão sistemática quantitativa.** 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências do Cuidado em Saúde) - Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, RJ, 2022. Disponível em: <http://app.uff.br/riuff/handle/1/30982>.

GIESEL, C.O. **Perfil das pessoas acometidas por lesões crônicas que utilizam o ambulatório de lesões de pele do município de Chapecó.** 2023. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, SC, 2023. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/6459>.

GUO, S.; DIPIETRO, L.A. Factors Affecting Wound Healing. **J Dent Res.**, v. 89, p. 219-229, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>

ISAAC, C. *et al.* Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Rev Med.**, n. 89, p. 125, 2010. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v89i3/4p125-131>

MAIS, J., *et al.* The influence of growth factors on skin wound healing in rats. **Braz Jf Otorhinol.**, n. 82, p. 512-521, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2015.09.011>

JOLY, L.C.L. **A influência das hormonas femininas na saúde periodontal Revisão integrativa.** 2023. Dissertação (Mestrado em Medicina Dentária) - Instituto Universitário em Ciências da Saúde, Granada, ES, 2023. Disponível em: <http://hdl.handle.net/20.500.11816/4347>.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular.** 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

KAKKAD, S.M. *et al.* Collagen I fiber density increases in lymph node positive breast cancers: pilot study. **J Biomed Opt.**, v. 17, p. 116017, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.11.116017>

LAGES, P.S.M.; LIMA, B.M.M.; XIMENES, A.C. Síndrome de Ehlers-Danlos: atualização. **Rev Est Vida Saúde**, v. 33, p. 853-861, 2007. DOI: <https://doi.org/10.18224/est.v33i6.26>

LEE, S.Y. *et al.* Combinatorial wound healing therapy using adhesive nanofibrous membrane equipped with wearable LED patches for photobiomodulation. **Sci Adv.**, v. 8, eabn1646, 2022. DOI: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abn1646>

MACHADO, R.G. **Dimensão fractal das lesões provocadas por queimaduras e tratadas com fibrina rica em plaquetas autóloga em coelhos.** 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, 2022. Disponível em: <http://bdtd.unoeste.br:8080/tede/handle/jspui/1476>.

MANDELROT, B.B. The fractal geometry of nature. **Am Mathemat.**, v. 91, n. 9, 1984. DOI: <https://doi.org/10.1080/00029890.1984.11971507>

MASSON-MEYERS, D.S. *et al.* Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. **Int J Exp Path.**, v. 101, p. 21-37, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/iep.12346>

MAYNE, R. *et al.* Isolation and characterization of the chains of type V/type XI collagen present in bovine vitreous. **J Biol Chem.**, v. 268, p. 9381-9386, 1993. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)98361-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)98361-4)

MENDONÇA, R.J.D.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **An Bras Dermatol.**, v. 84, p. 257-262, 2009. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)98361-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)98361-4)

MESQUITA, C.J.G. **Dimensão fractal e histometria digital na avaliação dos efeitos do propranolol sobre a reação capsular ao implante de silicone.** 2014. Tese (Doutorado em Cirurgia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2014. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/10163/3/2014_tese_cjgmesquita.pdf.

MIRHAJ, M. *et al.* Emerging treatment strategies in wound care. **Int Wound J.**, v. 19, p. 1934-1954, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/iwj.13786>

MONTES, G.S. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. **Cell Biology Int.**, v. 20, p. 15-27, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1006/cbir.1996.0004>

MORALES-GONZÁLEZ, M. *et al.* Insights into the design of polyurethane dressings suitable for the stages of skin wound-healing: a systematic review. **Polymers.**, v. 14, 2990, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14152990>

MORENO, D.R. *et al.* Platelet-rich plasma in venous ulcer healing: case report. **Estima – Braz J Enterost Ther.**, v. 20, p. 1-8, 2022. Disponível em: <https://www.revistaestima.com.br/estima/article/view/1158>

OKAMOTO, R. **Caso Ilha das Flores:** fundamentação teórica: feridas. Monografia (Especialização em Saúde da Família) - UNIFESP UNA – SUS, São Paulo, Disponível em: https://www.unasus.unifesp.br/biblioteca_virtual/esf/1/casos_complexos/Ilha_das_Flores/Complexo_03_Ilha_das_Flores_Feridas.pdf

OLIVEIRA, A. *et al.* Therapeutic advances in wound healing. **J Dermatol Treatment.**, v. 33, p. 2-22, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/09546634.2020.1730296>

OMS. **Burns.** 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns>.

OMS. **Linhas de cuidado:** hipertensão arterial e diabetes. 2010. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/linhas_cuidado_hipertensao_diabetes.pdf

OPAS. **Doenças Tropicais.** 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/30-1-2024-doencas-tropicais-negligenciadas-dia-mundial-chama-atencao-para-fortalecimento#:~:text=A%20OPAS%20vem%20apoiando%20os,de%20medicamentos%20e%20outras%20ferramentas>

ORTIZ, L.J.C. **Estudo da relação entre a interrupção de bifosfonatos antes de procedimentos dentários invasivos e a manifestação de osteonecrose: revisão integrativa.** 2023. Dissertação (Mestrado em Medicina Dentária) - Instituto Universitário em Ciências da Saúde, Granada, ES, 2023. Disponível em: <http://hdl.handle.net/20.500.11816/4290>.

PAPAIORDANOU, F. *et al.* Colágeno e pele: da estrutura às evidências de sua suplementação oral. **S&CD.**, v. 14, p. 1-8, 2022. Disponível em: <https://www.redalyc.org/journal/2655/265570220031/265570220031.pdf>.

PERALTA, R.F.S. *et al.* Viabilidade do uso da nanocelulose bacteriana no tratamento de feridas induzidas em ratos wistar. **RSD.**, v. 12, e2912943175, 2023. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i9.43175>

PEDROSO, R. **Uso de biomateriais na regeneração e engenharia de tecido ósseo: uma revisão de literatura.** 2022. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/237146>.

ROCHA, J.L.C. **Quantificação da organização e arquitetura do colágeno em queimaduras cutâneas por meio da dimensão fractal, lacunaridade e transformada rápida de Fourier.** 2022. Tese (Doutorado em Ciências Médico-Cirúrgicas) –Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2022. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/ri/handle/riufc/63332?locale=pt_BR.

REINKE, J.M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. **Eur Surg Res.**, v. 49, p. 35-43, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1159/000339613>

RIBEIRO, J.F. *et al.* Skin collagen fiber molecular order: a pattern of distributional fiber orientation as assessed by optical anisotropy and image analysis. **PlosOne.**, v. 8, e54724, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054724>

RICARD-BLUM, S. The collagen family. **Cold Spr Harbor Perspect Biol.**, v. 3, a004978-a004978, 2011. Disponível em: <https://cshperspectives.cshlp.org/content/3/1/a004978.short>

ROUSH, J.K.; BREUR, G.J.; WILSON, J.W. Picrosirius red staining of dental structures. **Stain Technol.**, v. 63, p. 363-367, 1988. DOI: <https://doi.org/10.3109/10520298809107612>

SAMPAIO, L.A.S. *et al.* Influence of protein malnutrition on cutaneous wound healing in rats. **Rev Nutr.**, v. 31, p. 433-442, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-98652018000500001>

SANTOS, C.G.L.D. *et al.* Processamento e esterilização da pele de rã-touro utilizada como leito para curativo no tratamento de feridas infecciosas. **RSD.**, v. 9, e151996902, 2020. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.6902>

SCHINDELIN, J. *et al.* The imagej ecosystem: an open platform for biomedical image analysis. **Molec Reprod Devel.**, v. 82, p. 518-529, 2015. DOI:

<https://doi.org/10.1002/mrd.22489>

SEN, C.K. Human wounds and its burden: an updated compendium of estimates. **Adv Wound Care.**, v. 8, p. 39-48, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1089/wound.2019.0946>

SILVA, E.A. *et al.* Uma revisão abrangente de abordagens cirúrgicas e não cirúrgicas para tratamento de feridas crônicas: estratégias atuais e inovações emergentes. **CLCS.**, v. 16, p. 14899-14909, 2023. DOI: <https://doi.org/10.55905/revconv.16n.9-064>

SIMÕES, T.S.S. **Implantologia e carcinoma na cavidade oral.** 2023. Dissertação (Mestrado em Medicina Dentária) - Instituto Universitário Egas Moniz, Portugal, 2023. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.26/48041>.

SOUSA, J.P. *et al.* Estudo sobre a intervenção do uso de colágeno em cicatrizes hipertróficas e quelóides. **Rev Casos Consult.**, v. 12, e25842, 2021. Disponível em: <https://periodicos.ufrn.br/casoseconsultoria/article/view/25842>

SOUZA, F.S.L. *et al.* Abordagem de enfermagem ao paciente vítima de queimaduras: uma revisão integrativa. **Braz J Surg Clin Res.**, v. 27, p. 134-141, 2019. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190704_103523.pdf

SOUZA, P.G.D.; CASTRO, M.S.D.; SILVA, L.P.D. The biology of fibroblastic proliferation: excessive extracellular collagen deposition during skin injury repair. **BJD.**, v. 7, p. 28989-29010, 2021. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/26781/21202>

SMOLLE, C. *et al.* Recent trends in burn epidemiology worldwide: a systematic review. **Burns.**, v. 43, p. 249-257, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.burns.2016.08.013>

STAMBOROWSKI, S.F. *et al.* A utilização da fibrina rica em plaquetas em úlcera cutânea causada por diabetes. **Braz J Hea Rev.**, v. 6, p. 28446-28464, 2023. DOI: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n6-149>

Thiruvoth, F.M. *et al.* Current concepts in the physiology of adult wound healing. **Plast Aesthet Res.**, v. 2, p. 250, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/282656481_Current_concepts_in_the_physiology_of_adult_wound_healing

UFRJ. **A matriz extracelular.** 2018. Disponível em: <http://patologia.medicina.ufrj.br/index.php/metodos-de-estudo/414-matriz-extracelular/176-matriz-extracelular2>.

VAN DER REST, M.; GARRONE, R. Collagen family of proteins. **FASEB J.**, v. 5, p. 2814-2823, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1096/fasebj.5.13.1916105>

VIDAL, B.C. Evaluation of the carbohydrate role in the molecular order of collagen

bundles: microphotometric measurements of textural birefringence. **Cell Mol Biol.**, v. 32, p. 527-535, 1986. Disponível em: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571980074496102656>

WHITTAKER, P. *et al.* Quantitative assessment of myocardial collagen with picosirius red staining and circularly polarized light. **Basic Res Cardiol.**, v. 89, p. 397-410, 1994. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/bf00788278>

ZHANG, M.; ZHAO, X. Alginate hydrogel dressings for advanced wound management. **Int J of Biol Macromol.**, v. 162, p. 1414-1428, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.311>

ARTIGO**Dimensão fractal do colágeno em feridas dérmicas induzidas e tratadas com plasma rico em plaquetas autólogo e membrana de quitosana, xantana e β -glicana**

Lidelmi de Figueredo Bento¹, Valter Dias da Silva¹, Liliâne Giroto Pereira¹, Cecília Laposy Santarém¹, Suelen Umbelino da Silva¹, Márcia Zilioli Bellini² e Rosa Maria Barilli Nogueira¹

Resumo

Este estudo avaliou o colágeno em feridas induzidas e tratadas com plasma rico em plaquetas autólogo em gel (PRPa) e biocurativo de quitosana, xantana e β -glicana por meio da dimensão fractal em coelhos. Antes do experimento, seguimos um planejamento amostral aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais sob nº6157. Vinte e quatro coelhos saudáveis foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, controle, membrana, PRPa em gel, membrana com PRPa em gel e tratados ao longo de 28 dias, com avaliações nos intervalos M0, M7, M14, M21 e M28 dias. As feridas foram tratadas nos dias 07, 14, 21 e 28 e as biópsias foram realizadas com um punch de 8 mm, para análise das fibras de colágeno com Picrosirius-red. A dimensão fractal foi quantificada usando o método Box-counting no software Image J®, avaliando a distribuição de pixels na imagem bidimensional. Resultados: No centro da lesão, o tratamento com PRPa em gel mostrou maior eficácia na reparação e colagenização. Houve diferenças significativas no colágeno tipo III, favorecendo o PRPa em gel. Na fase final, o PRPa em gel demonstrou melhor organização do colágeno. Na borda das lesões, não houve alterações significativas nas dimensões fractais. Não houve diferenças para colágeno tipo I, quando comparado ao longo do tempo com colágeno do tipo III. Associação da biomembrana de quitosana, xantana e β -glicana não potencializou o efeito do PRPa gel, porém isoladamente

apresentou eficácia no processo de cicatrização. Conclusão: A análise de dimensão fractal (DF) mostrou eficácia na avaliação dos tratamentos de cicatrização. O plasma rico em plaquetas (PRP) foi mais eficiente na colagenização e organização das fibras colágenas do que a biomembrana de quitosana, xantana e β -glicana.

Palavras-chave: plasma rico em plaquetas, colágeno, cicatrização, coelho

*Artigo elaborado segundo normas da revista Laboratory Animals

¹ Universidade do Oeste Paulista, Department of Postgraduate Studies in Animal Science, Presidente Prudente, São Paulo, Brazil

² Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Centro Universitário de Adamantina, Adamantina, 17800-000, SP, Brasil

Corresponding author: R M B Nogueira, Postgraduate Program in Animal Sciences, Oeste Paulista University, Rua Santo Brugnoli, 249, Bairro São Matheus, CEP: 19025-160, Presidente Prudente, Brazil. Email: rosa@unoeste.br

Introdução

A pele, como o maior órgão do corpo humano, desempenhando um papel fundamental na proteção e na manutenção das funções homeostáticas do organismo. Ela atua como uma barreira contra ameaças externas, desempenhando um papel na regulação da temperatura corporal, na transmissão de estímulos sensoriais e na preservação da autoestima e da saúde. No entanto, sua exposição constante a diversos fatores ambientais a torna vulnerável a possíveis danos em sua integridade, especialmente quando sujeita a impactos agressivos que podem resultar em lesões nesse tecido complexo que comprometam suas funções homeostáticas.¹

A avaliação da cicatrização de feridas abertas é de extrema relevância no campo da medicina, uma vez que a eficácia desse processo contribui na recuperação do paciente e na melhoria de sua qualidade de vida a longo prazo. A cicatrização de feridas é um processo altamente complexo para a restauração da integridade das estruturas do corpo, tanto interna quanto externamente. A compreensão dos mecanismos subjacentes à cicatrização e a identificação de abordagens terapêuticas são objetivos de destaque nas pesquisas biomédicas.²

Quando uma ferida surge, desencadeia-se imediatamente uma série de processos biológicos intrínsecos, dinâmicos, organizados e altamente complexos para reparar os danos teciduais, culminando na formação de um novo tecido com estrutura e função semelhante à pele íntegra. Esse processo envolve interações intrincadas entre diversas células, mediadores químicos e a matriz extracelular, abrangendo múltiplas fases de reparo.³

O colágeno desempenha um papel essencial na cicatrização de feridas, sendo um componente fundamental na regeneração de tecidos danificados. O interesse

crecente na comunidade científica em entender seu papel se justifica por ser uma proteína estrutural presente em abundância no corpo humano e em tecidos animais. O colágeno é o principal componente da matriz extracelular, fornecendo suporte estrutural e resistência aos tecidos. Em particular, o colágeno tipo I e tipo III são conhecidos por sua importância na formação de cicatrizes. O colágeno tipo I, com fibras espessas e resistentes, contribui para a força do tecido cicatricial, enquanto o colágeno tipo III, com fibras mais finas, desempenha um papel na fase inicial da cicatrização.⁴

No contexto do tratamento de feridas, a prioridade é alcançar um fechamento eficaz da lesão, resultando em uma cicatrização garantida com funcionalidade e estética.⁵

No entanto, falhas nesse processo podem ocorrer, resultando em feridas de difícil cicatrização que impactam a qualidade de vida do indivíduo, tanto do ponto de vista estético como causando limitações funcionais. Dado o risco associado às complicações e às elevadas taxas de morbimortalidade relacionadas às alterações no curso da cicatrização, foram desenvolvidos diversos tipos de tratamentos.^{6,7}

O plasma rico em plaquetas (PRP), é uma terapia promissora no campo da medicina regenerativa, com destaque crescente nas pesquisas sobre cicatrização de feridas cutâneas. O PRP é uma preparação obtida através da centrifugação da fração plasmática do sangue total, rico em plaquetas, fatores de crescimento (fator de crescimento derivado de plaquetas-PDGF; fator de crescimento de transformação beta-TDFb; fator de crescimento semelhante a insulina-IGF; fator de crescimento epidérmico-EGF), citocinas, integrinas e proteínas bioativas. Esses componentes desempenham um papel fundamental na modulação da resposta inflamatória, na terapia celular e na regeneração dos tecidos.^{8,9}

O PRP pode ser derivado do próprio sangue do paciente, denominado plasma rico em plaquetas autólogo (PRPa), de outro paciente da mesma espécie, denominado homólogo ou de outras espécies, heterólogo.¹⁰

Diversos estudos na literatura têm explorado alternativas terapêuticas para o tratamento de feridas, como os curativos dérmicos bioativos à base de polissacarídeos naturais. Estes incluem quitina, quitosana, alginato, pectina, xantana, celulose e seus derivados, como metilcelulose e carboximetilcelulose, em formulações isoladas ou complexadas.^{11, 12, 13}

O uso desses biocurativos como a membrana de quitosana, xantana e β -glucana, tem surgido como uma estratégia adicional no tratamento de feridas, proporcionando propriedades notáveis, tais como atividade antimicrobiana, absorção de exsudato e estímulo à regeneração tecidual. Esses curativos são reconhecidos por sua atoxicidade, alta biocompatibilidade, biodegradabilidade e por criar um microambiente favorável, hidratado e com isolamento térmico.^{14, 15, 16} Além disso, auxiliam na remoção do excesso de exsudato e facilitam as trocas gasosas.^{16, 17}

A quitosana desempenha um papel essencial na regeneração de tecidos, pois promove a estabilização da ferida, aumentando a aderência e agregação das plaquetas, reduzindo a resposta inflamatória e favorecendo a proliferação das células endoteliais dos vasos sanguíneos. Além disso, ela aumenta a expressão de fatores de crescimento e citocinas. Esses processos aceleram a formação de tecido de granulação e, conseqüentemente, o processo de cicatrização.^{18, 19}

A quitosana também pode acelerar sinergicamente a cicatrização em comparação com outros tratamentos, ativando a via TGF- β /Smad e induzindo a expressão de genes relacionados à angiogênese. Isso resulta no crescimento precoce do

tecido de granulação e na deposição de colágeno, além de criar um ambiente úmido e respirável na ferida, juntamente com a aplicação adequada de compressão física.^{20,21,22,23,24}

É relevante mencionar que a quitosana é degradada pela enzima lisozima, cujos produtos de degradação estimulam macrófagos, influenciam positivamente a organização do colágeno e, conseqüentemente, aceleram a cicatrização de feridas.²⁴

A Xantana, é um polissacarídeo produzido pela fermentação de carboidratos por bactérias do gênero *Xanthomonas*, é amplamente utilizada como um agente espessante e estabilizador em diversas indústrias, incluindo a farmacêutica e cosmética. No contexto de biocurativos, a xantana destaca-se por sua alta viscosidade, capacidade de formar géis em presença de cátions e excelente biocompatibilidade. Essas propriedades permitem a criação de uma barreira física protetora sobre a ferida, que ajuda a manter um ambiente úmido, essencial para a cicatrização. Além disso, a xantana possui propriedades hidratantes e capacidade de interação com outros biopolímeros, como a quitosana, para formar matrizes de curativos que combinam os benefícios de ambos os materiais, potencializando a eficácia no tratamento de feridas.²⁵

A β -glicana é um polissacarídeo natural encontrado na parede celular de cereais, leveduras, fungos e algumas bactérias. Ela é conhecida por suas propriedades imunomoduladoras, antioxidantes e de aceleração da cicatrização. No uso em biocurativos, a β -glicana contribui significativamente para a regeneração tecidual devido à sua capacidade de estimular a atividade dos macrófagos, células-chave na resposta inflamatória e na fagocitose de detritos celulares. A β -glicana também promove a produção de colágeno e de fatores de crescimento, essenciais para a formação de novo tecido. Sua aplicação em curativos proporciona um ambiente que favorece a

reepitelização e a formação de tecido de granulação, além de possuir propriedades antimicrobianas que ajudam a prevenir infecções secundárias.²⁶

Paralelamente, a análise da dimensão fractal (DF) emergiu como uma importante ferramenta para quantificar a complexidade estrutural dos tecidos biológicos. A DF oferece uma perspectiva única de avaliação sobre a organização e a distribuição dos componentes da matriz extracelular, incluindo o colágeno, mostrando a qualidade da cicatrização e regeneração tecidual sem interferência do avaliador.^{27,28}

A hipótese desse estudo é que a DF, como método auxiliar na avaliação da fisiopatologia da reparação tecidual, pode contribuir na tomada de decisão do protocolo terapêutico mais eficiente para cicatrização de feridas utilizando diferentes fontes de tratamento e que a associação do PRPa em gel e o bicourativos de quitosana, xantana e β -glicana resulte em efeito sinérgico alterando de forma quanti-qualitativa a colagenização tecidual.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi utilizar o método da dimensão fractal na quantificação de colágeno do tipo I e colágeno do tipo III em feridas experimentalmente induzidas e tratadas com plasma rico em plaquetas autólogo (PRPa) na forma gel e com membrana de quitosana, xantana e β -glicana, e sua combinação, na cicatrização de feridas cutâneas em coelhos.

Materiais e métodos

O estudo foi protocolado sob o número 6157 e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista, além de seguir os princípios éticos estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e também as diretrizes apresentadas no "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" publicado pelo National Research Council.

Delineamento Experimental

Previamente ao experimento, foi realizado planejamento amostral, com o objetivo de reduzir ao mínimo necessário o número de animais a ser utilizado.

Tamanho Amostral

Para calcular o tamanho amostral, foi utilizada a seguinte equação:

$$n = \left(z \times \frac{s}{e} \right)^2$$

n = número de elementos da amostra

z = valor tabelado obtido da Tabela da Distribuição Normal $\rightarrow Z \sim N(0;1)$

s = desvio-padrão

e = erro padrão

O cálculo foi realizado considerando um nível de confiança de 99% e uma taxa de erro de 1,8%. Em relação ao desvio-padrão, usou-se $s=0,0469$, considerando o desvio-padrão obtido em trabalho semelhante.²⁹

O tamanho amostral obtido foi de 24 animais, sendo distribuídos em 06 animais cada grupo.

Animais

Foi utilizado um total de 24 coelhos ($n=24$) machos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), clinicamente saudáveis, com 2 anos de idade, peso médio $3,5 \pm 1,0$ kg. Com o intuito de garantir o bem-estar e a saúde dos coelhos, os mesmos foram alojados em gaiolas individuais, em um ambiente com temperatura controlada de $22^\circ\text{C} \pm 2$, fotoperíodo claro/escuro de 12 horas, controlado, alimentados com ração

peletizada comercial (Supra[®]) e água *ad libitum*. Antes do início do experimento, foi concedido um período de aclimação de sete dias para que os coelhos se adaptassem ao ambiente de estudo.

Preparo do PRP

Para a obtenção do Plasma Rico em Plaquetas Autólogo em gel (PRPa), os animais foram submetidos a um procedimento anestésico por via intramuscular (IM), empregando uma combinação de Cloridrato de Xilazina 2% (Xilazin[®] 2%) na dose de 5 mg/Kg e Cloridrato de Cetamina 100mg/mL (Syntec[®]) na dose de 30 mg/kg.³⁰ Posteriormente, realizou-se a coleta de 9 mL de sangue da veia marginal auricular dos coelhos, utilizando um cateter de calibre 23 G.³¹

Ao término da coleta de sangue aplicou-se por via tópica o gel Polissulfato de Mucopolissacarídeo (Topcoïd[®]) como medida de prevenção de flebites, tromboflebites, hematoma e edema nas veias superficiais como a da orelha. (Figura 1).

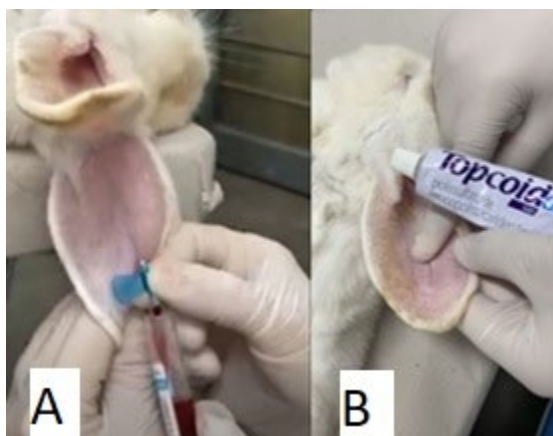


Figura 1- Coleta de sangue para obtenção do Plasma Rico em Plaquetas Autólogo em gel (PRPa).

A) Coleta de sangue por gotejamento da veia marginal auricular do coelho utilizando cateter calibre 23G e vacutainer; B) Aplicação de Polissulfato de Mucopolissacarídeo (Topcoïd[®]) gel tópico após coleta de sangue. Fonte: O autor.

A amostra sanguínea coletada foi em dois tubos estéreis, previamente preparados com citrato de sódio a 3,2% (Greiner Bio-one Brasil - tubo estéril com citrato de sódio 3,2%). Após a divisão da amostra, procedeu-se à homogeneização por inversão constante, o que resultou na obtenção de 4,5 mL de sangue total em cada frasco. Para preservar a integridade da amostra, os frascos foram mantidos à temperatura aproximada de 22°C. Uma alíquota foi retirada de cada frasco com a finalidade específica de realizar a contagem do número de plaquetas, empregando um contador automático Sysmex Poch Diff 100iV da Roche®.

Na fase inicial, a centrifugação do sangue foi a 200 gravidades (G) utilizando uma centrífuga Excelsa II, modelo 206-BL da Fanem®, durante 10 minutos, resultando na separação das três camadas distintas: a camada superior, denominada sobrenadante de coloração amarelada denominada plasma pobre em plaquetas-PPP, a camada leucoplaquetária ou zona de névoa, caracterizada por sua coloração esbranquiçada e rica em plaquetas; e a camada inferior, composta pelas hemácias, que exhibe cor vermelha. Tanto o sobrenadante de plasma quanto a camada leucoplaquetária de cada um dos dois tubos foram cuidadosamente pipetados e transferidos para tubos secos e estéreis, em preparação para a segunda fase do processo de centrifugação, realizado a 400 G por 10 minutos. Do sobrenadante obtido, dois terços (2/3) foram descartados, representando a fração PPP, enquanto o terço restante (1/3) foi destinado à homogeneização com a finalidade de dispersar as plaquetas e assim dar origem ao plasma rico em plaquetas autólogo (PRPa), em seguida foi adicionado gluconato de cálcio a 10% na proporção de 4:1 para transformação em gel. O volume final do gel PRPa foi de 0,5 mL em ambos os frascos. Foi realizado à contagem do número de plaquetas, adotando como referência o valor mínimo de 1.000.000 plaquetas por milímetro cúbico, conforme critérios

estabelecidos para a classificação de plasma enriquecido.^{32,33} (Figura 2).

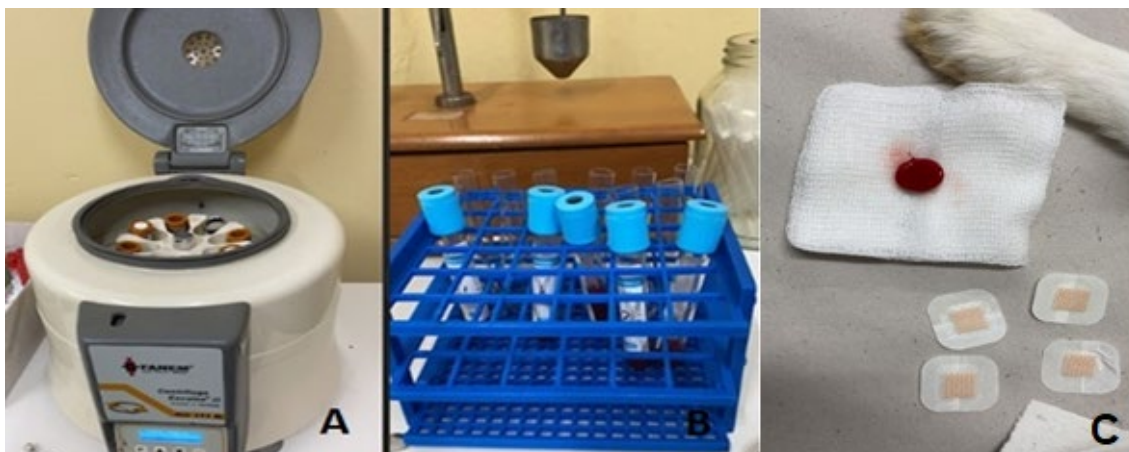


Figura 2- Preparo do Plasma Rico em Plaquetas autólogo (PRPa) em gel.

A) Centrifugação do sangue de coelho, etapa para preparação do plasma rico em plaqueta autólogo (PRPa); B) Tubos vacuteianer com PRPa; C) PRPa na forma gel a ser colocado sobre a ferida. Fonte: O autor.

Indução e tratamento das feridas

Após a coleta de sangue para a preparação do PRPa, enquanto os animais ainda permaneciam anestesiados, procedeu-se à tricotomia da região dorsal de cada coelho, e a identificação numericamente (Figura 3). Essa tricotomia foi realizada com um tricotomizador elétrico (AGC®), equipado com uma lâmina número 40. Para garantir a higienização da área da ferida, fez-se uma antissepsia da pele utilizando álcool 70%, antes da intervenção cirúrgica, a área da ferida foi previamente demarcada com o auxílio de uma caneta retroprojeter Pilot®, em seguida aplicado 1,0 mL de anestésico local por via subcutânea (SC) (cloridrato de lidocaína 2% com vasoconstritor) no local de indução de cada lesão. Foram feitas quatro feridas em cada animal e identificadas em M7, M14, M21 e M28 de acordo com os momentos de avaliação e realização da biópsia de cada uma das feridas.³ As feridas foram então confeccionadas na região dorsal, utilizando um punch dermatológico de 8 mm de diâmetro, foi retirado um fragmento de pele,

divulsionando a tela subcutânea com tesoura de ponta romba com auxílio de uma pinça kocher, preservando a musculatura.³⁴ Como parte do protocolo para o controle da dor pós-cirúrgica, foi administrado cloridrato de tramadol (Tramal®) na dose de (0,5 mg/kg) por via intramuscular (IM), a cada 12 horas, durante três dias consecutivos o objetivo de minimizar o desconforto e promover o bem estar animal.³⁵

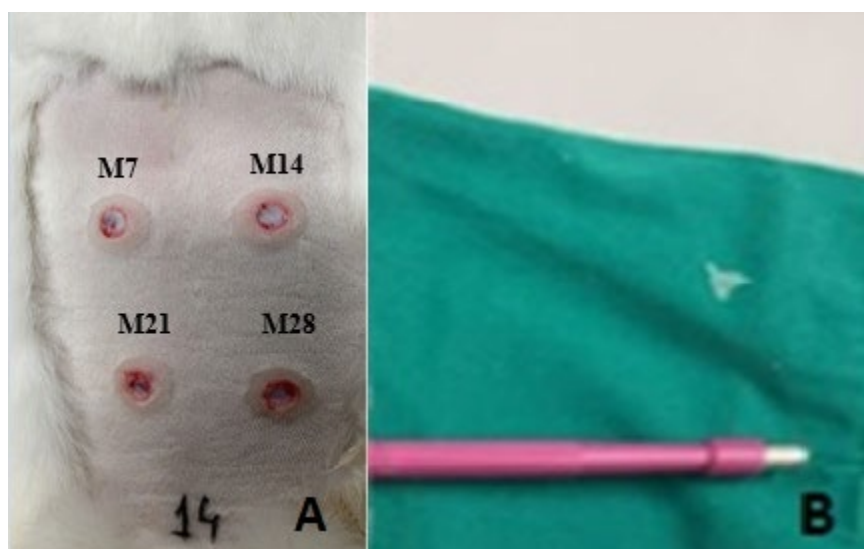


Figura 3- Preparo dos coelhos para indução das feridas.

A) Quatro feridas induzidas com punch de 8mm (M7-momento 7 dias, M14-momento 14 dias, M21-momento 21 dias, M28-momento 28 dias); B) Punch de 8mm utilizado para indução das feridas na região dorsal do coelho. Fonte: O autor.

Os animais foram devidamente identificados numericamente e alocados aleatoriamente em quatro grupos experimentais distintos, que foram denominados como grupo controle (GC), grupo membrana (GM), grupo PRPa em gel (GPRPa) e grupo membrana com PRPa em gel (GM+PRPa). Cada um desses grupos de animais foi submetido a um tratamento (Tabela 1) e foram acompanhados diariamente ao longo do período experimental de 28 dias. O processo de cicatrização, resultante dos tratamentos, foi minuciosamente avaliado em diferentes intervalos de tempo, sendo denominados como M0 (indução da ferida), M7, M14, M21 e M28 (28 dias).

Tabela 1 - Distribuição dos animais nos grupos (GC-controle; GM-membrana; GPRPa-plasma rico em plaqueta autólogo em gel; GM+GPRPa: membrana + plasma rico em plaqueta autólogo em gel) e tratamento instituído para cada grupo.

Grupo	Animais	Feridas	Tratamento
GC	6	24	Solução de NaCl (0,9%)
GM	6	24	Membrana
GPRPa	6	24	PRPa
GM+PRPa	6	24	Membrana + PRPa

Fonte: O autor.

Efetuuou-se inicialmente a limpeza as lesões com solução de cloreto de sódio a 0.9%[®] em todas as feridas de todos os grupos, posteriormente o tratamento foi realizado de acordo com o seu grupo.

No GC, após a limpeza, as feridas foram protegidas com rayon estéril (1.0 cm²) e o uso de curativos do tipo band-aid[®] (Figura 4).

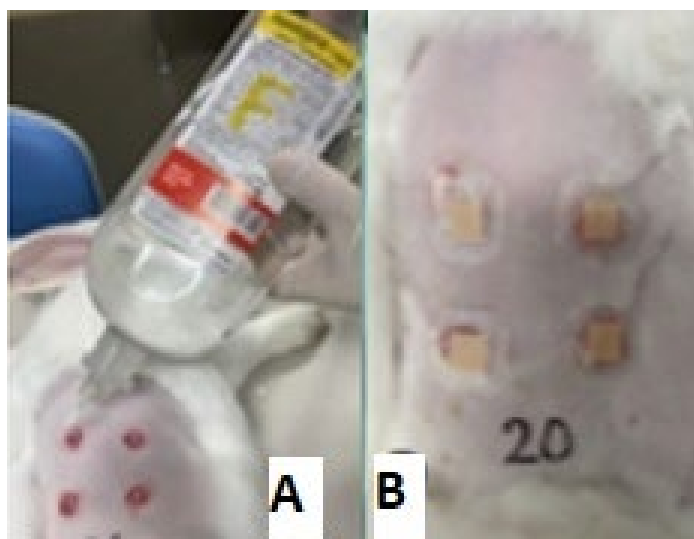


Figura 4- Tratamento das feridas do grupo controle (GC).

A) Solução de cloreto de sódio 0,9% para limpeza da ferida do grupo controle; B) Curativo com rayon estéril e band-aid. Fonte: o autor.

No GM, as feridas foram cobertas com membranas densas e porosas, compostas por quitosana, xantana e β -glicana, com um diâmetro de 8mm. Essas membranas foram previamente cortadas manualmente com auxílio do punch de mesmo diâmetro e hidratadas em uma solução salina 0,9% (Figura 5).



Figura 5- Tratamento das feridas do grupo membrana (GM).

A) Corte da membrana quitosana, xantana e β -glicana com punch de 8mm; B) Hidratação da membrana com solução de cloreto de sódio 0,9%; C) Retirada da membrana da hidratação com auxílio de pinça anatômica; D) Colocação da membrana sobre as feridas. Fonte: O autor.

No GPRPa em gel, as feridas foram tratadas com o PRPa na forma de gel tópico, e um curativo do tipo band-aid[®] foi aplicado sobre as mesmas. No GM+GPRPa, as feridas foram cobertas com o PRPa em forma de gel tópico, e uma membrana previamente cortada e hidratada, composta por quitosana, xantana e β -glicana, foi aplicada sobre as feridas. As feridas foram protegidas com rayon e o uso de curativos do tipo band-aid[®] (Figura 6).

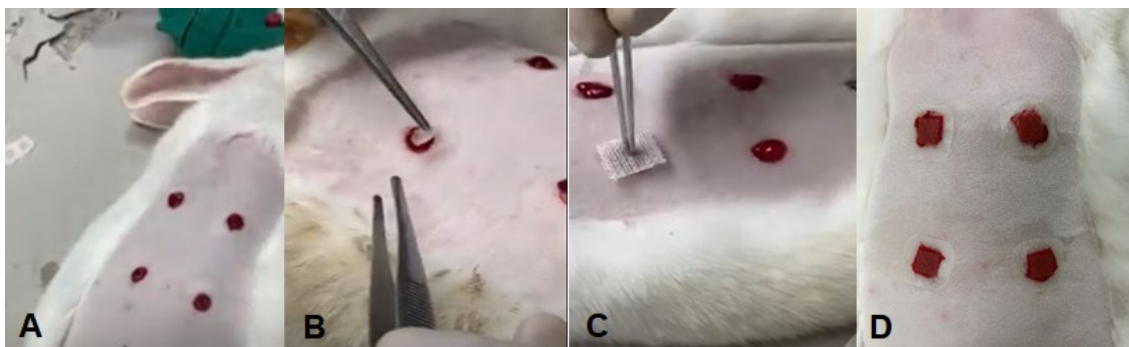


Figura 6- Tratamento das feridas do grupo membrana e grupo plasma rico em plaqueta autólogo gel (GM+PRPa gel).

A) Colocação do PRPa gel sobre a ferida; B) Colocação da membrana circular sobre o PRPa gel; C) Colocação do rayon sobre a membrana e o PRPa gel; D) Colocação do curativo tipo band-aid® sobre o rayon. Fonte: O autor.

Processamento e avaliação histológica das amostras

As biópsias das feridas nos momentos M7, M14, M21 e M28 dias de todos os grupos foram realizadas após a anestesia dos animais empregando o mesmo protocolo de indução da ferida.¹³ Para a realização da biópsia, foi utilizado um punch de 6 mm de diâmetro, abrangendo a área central da ferida até suas margens, para avaliação histológica.¹⁰

Os fragmentos de tecido cutâneo removidos foram devidamente imersos em uma solução de formalina tamponada a 10%, onde soluções definidas por um período de 24 horas. Posteriormente, esses fragmentos foram incluídos em parafina. A partir desses tecidos incluídos em parafina, foram obtidos cortes com espessura de 5 μ m. Esses cortes foram, então, submetidos a processos de coloração, utilizando a coloração específica com Picrosirius-red F3BA, considerada de alta especificidade para caracterização fibras colágenas Tipo I e tipo III e as lâminas foram avaliadas de forma cega.³⁶

Para a captura das imagens, foi utilizado um microscópio específico (Leica DMLB 80), ligado a uma câmera (DFC 300 FX) sob luz normal. As imagens foram obtidas com o analisador de imagem Leica Q-Win e comprovadas por meio de um

software (versão 3 para Windows para análise histológica). As imagens foram capturadas com padronização de objetiva de aumento de 40 vezes, intensidade máxima de luz do específico e polarização em plano de 90°, a partir de três campos da área de seleção, selecionados aleatoriamente.³⁷

A técnica de polarização utilizando o corante picrosirius possibilita uma análise quantitativa altamente sensível para a medição dos colágenos maduros (Tipo I) e imaturos (Tipo III) como demonstra na figura 7.³⁸

Utilizando o sistema de núcleos RGB (Red, Green, Blue), as fibras de colágeno maduras do tipo I foram identificadas pelas tonalidades de amarelo, laranja e vermelho, caracterizando-se por sua maior espessura e intensa birrefringência. Em contrapartida, as fibras de colágeno imaturo, do tipo III, foram representadas em tons de verde, sendo mais finas distribuídas de forma mais dispersa e apresentando uma birrefringência mais fraca. Esse método permitiu a quantificação da área ocupada por cada tipo de colágeno em campos específicos predefinidos nos cortes histológicos.^{32,39}

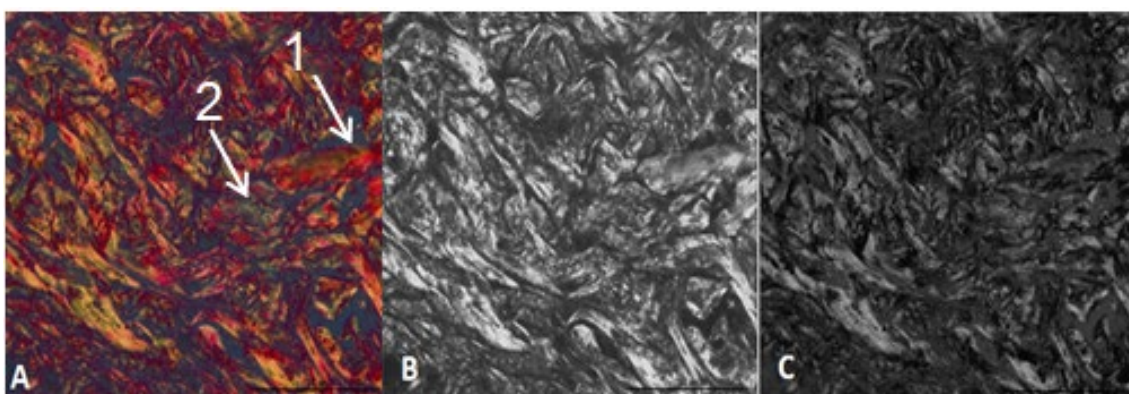


Figura 7- Avaliação histológica para medição dos colágenos tipos I e III, por meio da técnica de Picrosirius.

A- Imagem das fibras colágenas birrefringentes, coradas com Picrosirius, obtida por microscópio de luz polarizada. Na imagem é possível visualizar as fibras birrefringentes de - 1- Colágeno tipo I Col-1 (maduro) vermelhas; 2- Colágeno tipo III Col3 (imaturo) verde; indicadas por seta. Aumento de 40x. Imagem RGB Original - Representação do processo *Split Channel*: Imagem dividida para os componentes red e green, respectivamente B e C. Fonte: O autor.

A análise das lâminas histológicas baseou-se na relação entre a resolução e a escala avaliada, e o resultado quantitativo é expresso como a dimensão fractal do objeto ($DF = \log Nr / \log r-1$), onde Nr representa a quantidade de elementos iguais necessários para preencher o objeto original é uma escala aplicada ao objeto. Portanto, a dimensão fractal calculada com o software Image J® varia sempre entre 0 e 2, não permitindo a distinção de diferentes texturas.^{40,41}

Após o término do experimento os animais foram eutanasiados com overdose de Cloridrato de Xilazina 2% (Xilazin® 2%) e Cloridrato de Zolazepan (Zoletil® 50) em associação.

Análise da Dimensão fractal

Com objetivo de avaliar as fibras de colágenos tipos I e III, as lâminas histológicas coradas com Picrosirius-red F3BA e fotografadas foram submetidas a um processo de binarização e, em seguida, à análise da dimensão fractal utilizando o método Box-counting. Para realização dessa análise, foi utilizado o software Image J® do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (NIH), que está disponível gratuitamente na internet (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>).⁴² O software considera duas dimensões, permitindo a quantificação da distribuição de pixels no espaço, sem considerar a textura da imagem. Isso implica que duas imagens com a mesma distribuição de pixels, uma binarizada e outra em níveis de cinza, tenham a mesma dimensão fractal (DF).⁴³

Para a DF as lâminas foram fotografadas em 4 campos histológicos da área de cada lesão/animal/grupo, sendo 2 imagens da área da borda e 2 imagens da área do centro.

Para a análise da dimensão fractal, inicialmente, as imagens foram submetidas ao processo de Split Channel, que fragmenta os canais da imagem. Em imagens RGB, as cores são empregadas para representar múltiplos canais, refletindo as cores verdadeiras presentes na amostra (<http://imagej.net>). A função Split Channel possibilita a divisão de uma imagem RGB em seus componentes individuais, ou seja, red (vermelho), green (verde) e blue (azul).⁴²

Em seguida, as imagens foram submetidas ao processo de binarização transformando-as em imagens em preto e branco. Esse procedimento foi mostrado necessário, uma vez que a análise fractal quantifica a área da imagem em preto. Por fim, a análise da dimensão fractal foi conduzida por meio do método de box-counting. O programa adota um modelo bidimensional que possibilita a quantificação da distribuição de pixels no espaço da imagem, sem levar em consideração a textura da imagem.⁴⁴ Isso implica que duas imagens com a mesma distribuição de pixels, seja uma delas binarizada e outra em tons de cinza, resultarão na mesma Dimensão Fractal (DF). Como resultado desse processo, o DF calculado utilizando o software ImageJ® sempre se situará em uma faixa entre 0 e 2, incapaz de distinguir entre diferentes texturas.⁴⁵

Análise da Dimensão fractal

Durante nossas pesquisas, identificamos uma ampla variedade de estudos em quais diversos autores descreveram a análise da Dimensão Fractal (DF) de fibras de colágeno de diversas maneiras, sem seguir um roteiro metodológico unificado. Diante desse cenário, desenvolvemos o seguinte protocolo para conduzir uma análise fractal e quantificar essa proteína essencial.

Com objetivo de avaliar as fibras de colágenos tipos I e III, as lâminas

histológicas coradas com Picrosirius-red F3BA e fotografadas foram submetidas a um processo de binarização e, em seguida, à análise da dimensão fractal utilizando o método Box-counting. Para realização dessa análise, foi utilizado o software Image J® do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (NIH), que está disponível gratuitamente na internet (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>).⁴² O software considera duas dimensões, permitindo a quantificação da distribuição de pixels no espaço, sem considerar a textura da imagem. Isso implica que duas imagens com a mesma distribuição de pixels, uma binarizada e outra em níveis de cinza, tenham a mesma dimensão fractal (DF).⁴³

Para a DF as lâminas foram fotografadas em 4 campos histológicos da área de cada lesão/animal/grupo, sendo 2 imagens da área da borda e 2 imagens da área do centro, 1 imagem com luz polarizada e com birrefringência e outra sem luz respectivamente. Na microscopia de polarização, as fibras colágenas, coradas com Picrosirius, exibem uma rede densa, notável pela propriedade birrefringente da molécula de colágeno, o que permite a distinção entre o colágeno imaturo e o colágeno maduro.³⁸

No sistema de cores RGB (Red, Green, Blue), as fibras de colágeno maduro (tipo I) se destacam por serem fortemente birrefringentes e mais espessas, aparecendo justapostas e com variações de cores que incluem características de amarelo, laranja e vermelho. Por outro lado, as fibras de colágeno imaturo (colágeno tipo III) apresentam-se mais finas e dispersas, exibindo uma birrefringência menos intensa e adotando uma coloração predominantemente verde, escolha desse método deve ter sua capacidade de quantificar a área ocupada por cada tipo de fibra colágena nos cortes histológicos.³⁹

Todos os procedimentos relacionados à análise da dimensão fractal foram realizados pelo software ImageJ®, desenvolvido pelo Instituto Nacional de Saúde dos

Estados Unidos (NIH) e amplamente acessível na internet (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>). Devido à coloração com Picosirius, as fibras de colágeno são esperadas tonalidades predominantes de vermelho e verde, como mostrado no estudo de Collor, 2015.⁴²

Para a análise da dimensão fractal, inicialmente, as imagens foram submetidas ao processo de Split Channel, que fragmenta os canais da imagem. Em imagens RGB, as cores são empregadas para representar múltiplos canais, refletindo as cores verdadeiras presentes na amostra (<http://imagej.net>). A função Split Channel possibilita a divisão de uma imagem RGB em seus componentes individuais, ou seja, red (vermelho), green (verde) e blue (azul).⁴²

Em seguida, as imagens foram submetidas ao processo de binarização (Figura 8), transformando-as em imagens em preto e branco. Esse procedimento foi mostrado necessário, uma vez que a análise fractal quantifica a área da imagem em preto. Por fim, a análise da dimensão fractal foi conduzida por meio do método de box-counting. O programa adota um modelo bidimensional que possibilita a quantificação da distribuição de pixels no espaço da imagem, sem levar em consideração sua textura.⁴⁴ Isso implica que duas imagens com a mesma distribuição de pixels, seja uma delas binarizada e outra em tons de cinza, resultarão na mesma Dimensão Fractal (DF). Como resultado desse processo, o DF calculado utilizando o software ImageJ® sempre se situará em uma faixa entre 0 e 2, incapaz de distinguir entre diferentes texturas.⁴⁵

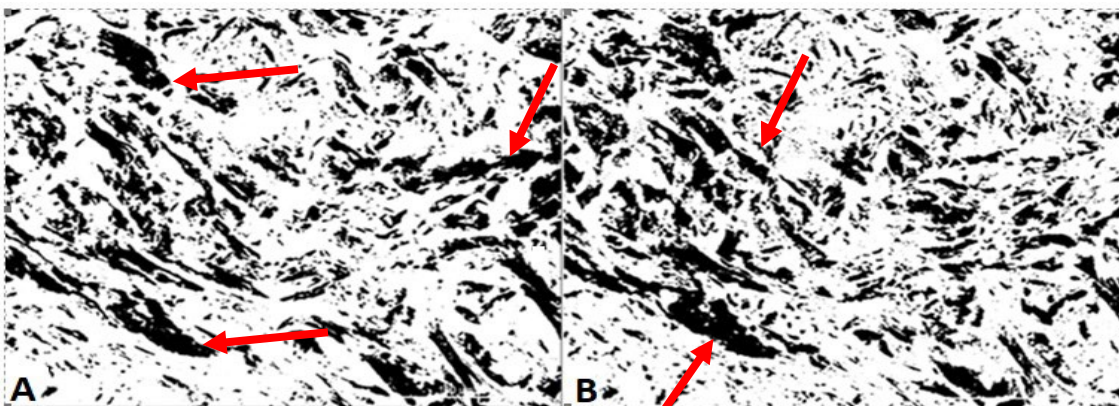


Figura 8- Representação do processo de binarização.

A imagem torna-se preto e branco. As fibras colágenas aparecem em preto e o restante da imagem em branco. Imagem dividida para os componentes red (colágeno tipo I) e green (colágeno tipo III), respectivamente A e B. Fonte: O autor.

Análise Estatística

Os dados das dimensões fractais foram comparados entre os grupos e momentos de tratamento por meio do teste da ANOVA de medidas repetidas mista (split-plot). O pressuposto de normalidade foi verificado por meio do teste de Shapiro-Wilk, a homogeneidade das variâncias por meio do teste de Levene e a esfericidade por meio do teste de Mauchly. As comparações múltiplas entre grupos, em caso de significância apontada pela ANOVA, foi testada por meio do teste post-hoc de Bonferroni. O nível de significância adotado em todos os testes foi $\alpha = 5\%$, e o software utilizado nas análises foi o RStudio, versão 2023.06.1+524. Foi utilizado o teste de Shapiro Wilk para testar as normalidades dos dados para cada grupo. Uma vez não verificada normalidade, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis com comparar as médias das feridas entre grupos e momentos, e como post-hoc foi utilizado o teste de Dunn. O nível de significância adotado foi de 5%, e o software utilizado foi o RStudio.⁴⁶

Resultados e Discussão

Centro das lesões

Os resultados indicam que todos os tratamentos foram eficientes na reparação tecidual e contribuíram na colagenização tecidual, no entanto o grupo tratado somente com plasma rico em plaquetas (PRP) mostrou ter sido melhor, indicando uma colagenização mais organizada. Nenhum efeito colateral foi observado nos tratamentos utilizados.

No início do processo de cicatrização as fibras de colágeno tipo III (imaturas) aparecem com birrefringência verde, são as primeiras a se formar durante o processo de cicatrização e posteriormente são substituídas pelas fibras colágenas tipo I que aparecem com birrefringência laranja-avermelhada. (Figura 9).

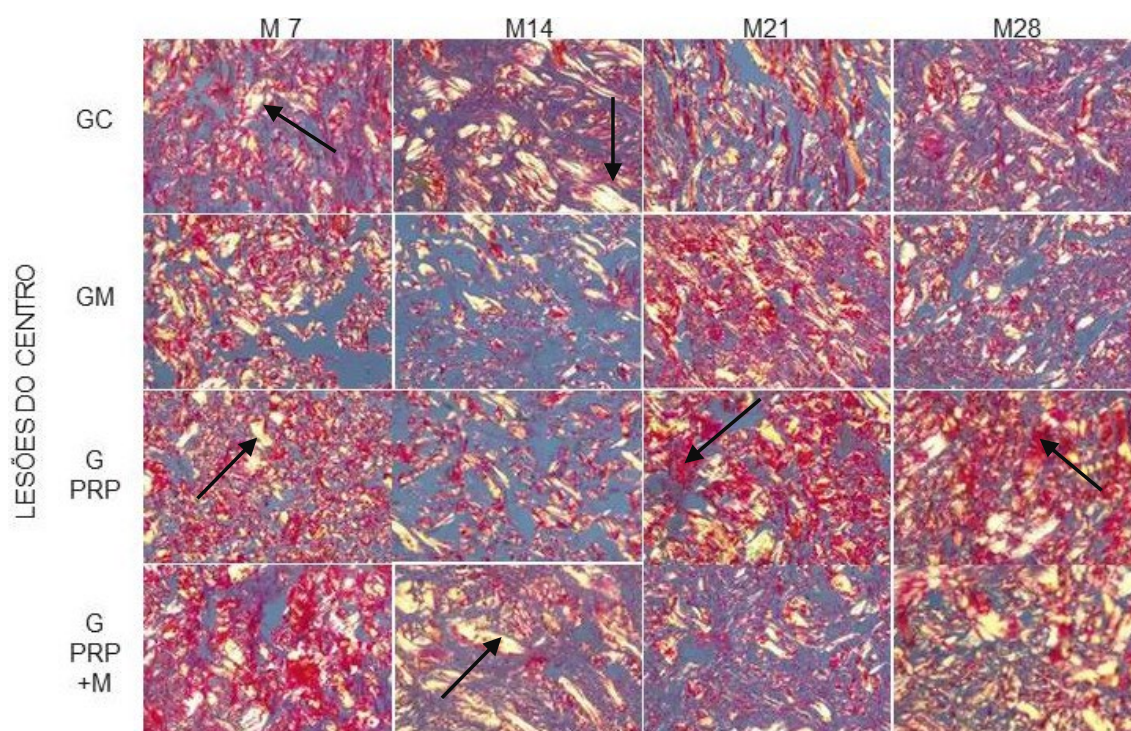


Figura 9- Técnica de polarização utilizando corante picosirius para a medição quantitativa dos colágenos maduros (Tipo I) e imaturos (Tipo III) do centro das lesões para os diferentes grupos (controle-GC, membrana-GM, plasma rico em plaquetas autólogo-PRPa, PRPa + membrana-GPRP+M) nos diferentes momentos (M7, M14, M21, M28 dias). Fonte: O autor.

De forma positiva os tratamentos influenciaram a organização da matriz extracelular (MEC), durante o processo de cicatrização provavelmente por conta das diferentes propriedades dos materiais utilizados e sua capacidade de estimular a síntese de colágeno (Figura 10).

Na amostra colhida do centro da lesão, o colágeno tipo III diferiu de forma significativa entre os grupos de tratamento, efeito este demonstrado pelos valores encontrados nas dimensões fractais [$F(3,20) = 8,24$; $p = 0,001$], porém nos momentos avaliados não foi considerado significativo [$F(3,60) = 0,83$; $p = 0,483$] (Figura 11).

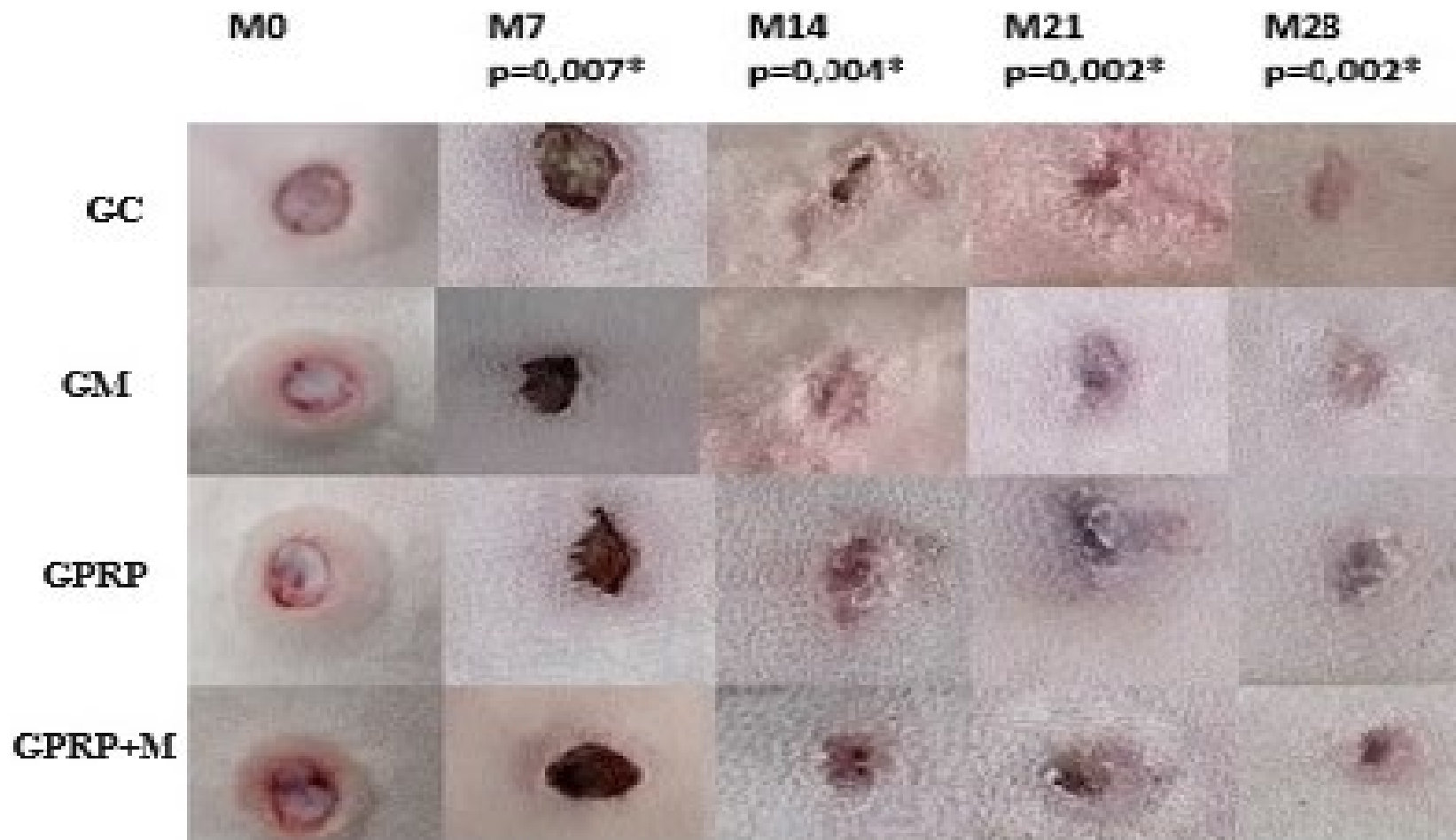
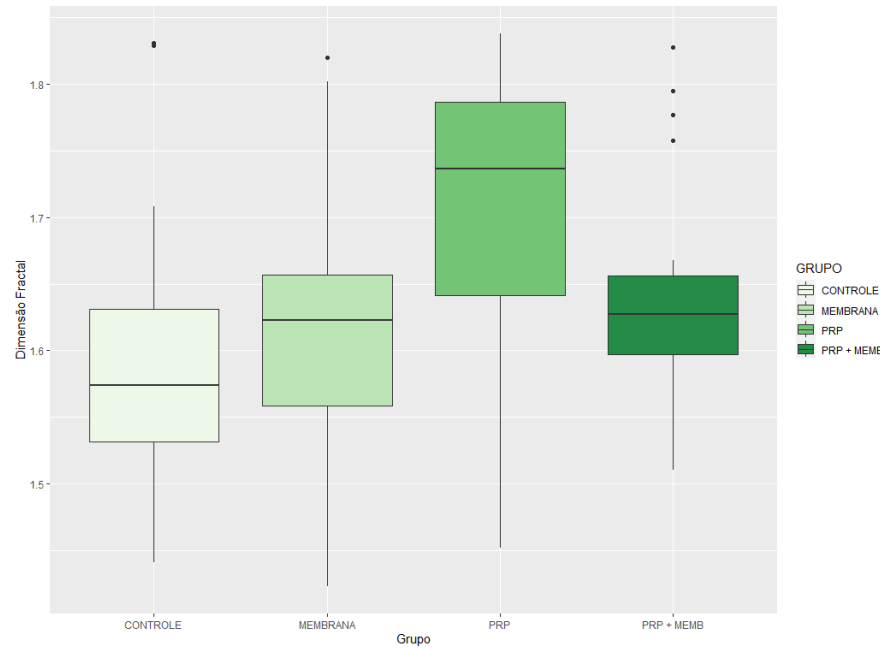
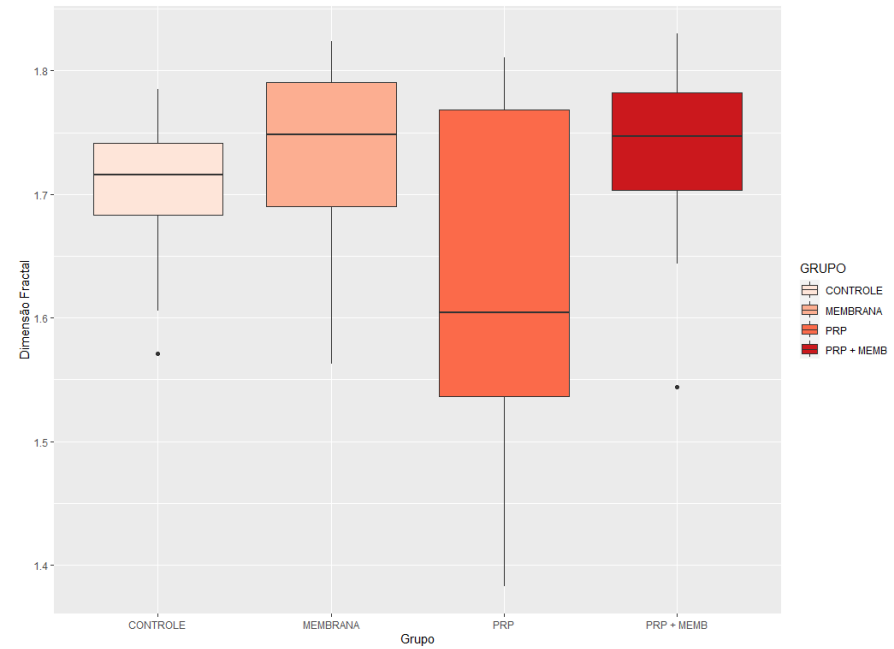


Figura 10- Imagens macroscópicas das lesões induzidas em coelhos nos diferentes grupos: controle (GC), grupo membrana (GM), grupo plasma rico em plaquetas autólogo em gel (GPRP), grupo plasma rico em plaquetas autólogo em gel + membrana nos diferentes momentos de tratamento 0 (M0), 7 (M7), 14 (M14), 21 (M21), 28 (M28) dias. Fonte: O autor.



colágeno tipo III (Centro)



colágeno tipo I (Centro)

Figura 11- Análise gráfica da dimensão fractal (DF) nos diferentes tratamentos para o colágeno tipo III e tipo I, centro das lesões.

Colágeno tipo III (Controle X Membrana: $p=1,0$; Controle X PRP: $p=0,0002$. Controle X PRP+Membrana: $p=0,585$; Membrana X PRP: $p=0,005$; Membrana X PRP+Membrana: $p=1,0$; PRP x PRP+Membrana: $p=0,0565$).

Colágeno tipo I, (Controle X Membrana: $p=1,0$; Controle X PRP: $p=0,009$. Controle X PRP+Membrana: $p=1,0$; Membrana X PRP: $p=0,0004$; Membrana X PRP+Membrana: $p=1,0$; PRP x PRP+Membrana: $p=0,0002$). Fonte: O autor.

A organização do colágeno tipo III no centro lesões foi caracterizado pelo aumento da dimensão fractal no grupo PRPa em gel ($1,71\pm 0,10$) diferindo significativamente do grupo controle ($1,59\pm 0,10$) e grupo membrana ($1,62\pm 0,09$), no entanto não diferiu do grupo PRP+membrana ($1,64\pm 0,08$) (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores médios e desvio padrão da dimensão fractal (DF) para o colágeno tipo III e tipo I do centro das lesões dos animais dos grupos: controle, membrana, plasma rico em plaquetas autólogo em gel (PRPa) e PRP+membrana.

TIPOS DE COLÁGENO	GRUPOS			
	GC	GM	GPRPa	GPRPa+M
COLÁGENO TIPO III	$1,59\pm 0,10$	$1,62\pm 0,09$	$1,71\pm 0,10$	$1,64\pm 0,08$
COLÁGENO TIPO I	$1,71\pm 0,06$	$1,73\pm 0,07$	$1,62\pm 0,14$	$1,74\pm 0,06$

Fonte: O autor.

O maior valor da DF do colágeno tipo III no grupo PRP denota uma complexidade maior para este tipo de colágeno na fase inicial para este tratamento e mostra que o tratamento associando do PRP + membrana não favoreceu para diminuição desta complexidade inicial.

Para o colágeno tipo I, o grupo PRPa em gel apresentou uma diminuição mais acentuada ($1,62\pm 0,14$) nos valores da DF no final da cicatrização, em comparação com os grupos controle ($1,71\pm 0,06$), grupo membrana ($1,73\pm 0,07$) e grupo PRP+membrana ($1,74\pm 0,06$) indicando uma maior preservação da arquitetura da matriz extracelular, devido aos efeitos promotores de cicatrização do PRPa em gel, o que sugere que o tratamento com PRP resultou em uma distribuição diferente, menos complexa e mais organizada do colágeno tipo I em comparação com os demais grupos, inclusive o controle (Tabela 2).

Este achado está alinhado com a compreensão da cicatrização de feridas, conforme discutido por Rodrigues et al.⁴⁷ A importância do colágeno tipo I na formação da rede estrutural na região lesionada foi destacada, indicando que as diferenças observadas nos tratamentos podem refletir variações na síntese de colágeno tipo I ou na resposta inflamatória.⁴⁸

Outros autores Qu e Wenchun et al.,⁴⁹ destacaram os benefícios do PRP no fechamento completo de feridas e redução do tempo de cicatrização, especialmente em pacientes com úlceras diabéticas nos membros inferiores. A diferença na distribuição do colágeno tipo I entre o grupo tratado com PRP e o grupo controle pode indicar uma resposta mais intensa, com um processo de cicatrização mais célere para este grupo. Este achado também foi relatado por outros autores Nascimento et al.⁵⁰, que também sugeriram que o PRP pode acelerar o processo de cicatrização de feridas. No estudo conduzido por Elbarbary, Hassan e Elbendak⁵¹, houve efetiva cicatrização da úlcera após uso do PRP, evidenciada pela notável redução na área da lesão.

Outros autores sugerem que a produção de colágeno pelo PRP cabe aos fatores de crescimento presente neste biomaterial o que estimula a proliferação de fibroblastos e angiogênese o que promove maior oxigenação tecidual do tecido em processo de regeneração.⁵⁰ Portanto, os resultados deste estudo corroboram com as descobertas anteriores, fornecendo mais evidências para a eficácia do PRP na cicatrização de feridas cutâneas.

Na comparação entre os momentos para o colágeno tipo III e tipo I, nenhuma diferença estatística foi observada (Figura 12).

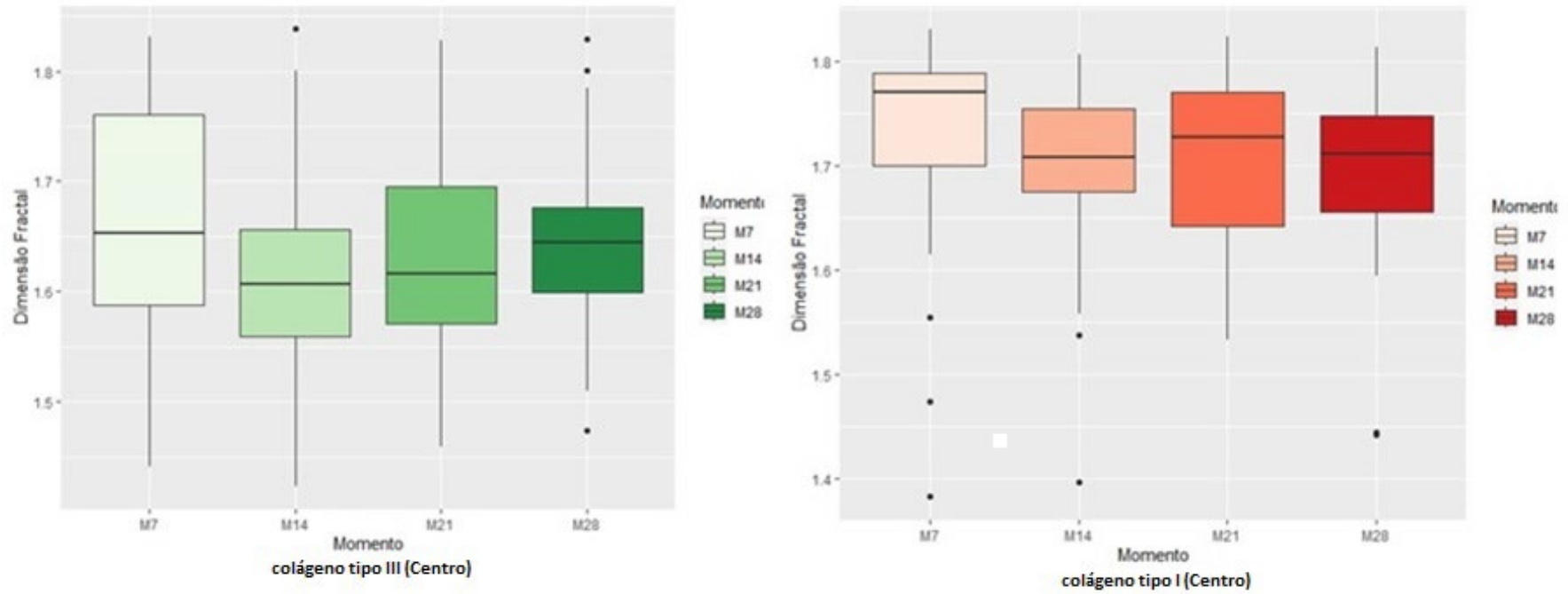


Figura 12- Análise gráfica da dimensão fractal (DF) nos diferentes momentos para o colágeno tipo III e tipo I, centro das lesões.

Colágeno tipo III: (Média \pm desvio-padrão dos momentos: M7 = $1,66 \pm 0,11$; M14 = $1,62 \pm 0,10$; M21 = $1,64 \pm 0,10$; M28 = $1,64 \pm 0,09$. $F(3,60) = 0,83$; $p = 0,483$)

Colágeno tipo I: (Média \pm desvio-padrão dos momentos: M7 = $1,72 \pm 0,11$; M14 = $1,69 \pm 0,10$; M21 = $1,70 \pm 0,09$; M28 = $1,69 \pm 0,09$. $F(3,60) = 1,14$; $p = 0,338$). Fonte: O autor.

O estudo de Taniguchi et al.⁴¹, relatam diferenças significativas após uma semana de tratamento, mas no atual estudo esta diferença não foi encontrada. Os valores menores da DF para o colágeno tipo III em comparação ao colágeno tipo I em todos os momentos de avaliação no centro da lesão pode estar relacionada a uma menor complexidade das fibras colágenas III, comparada ao tipo I,⁴⁸ uma vez que estas fibras são presentes em menor quantidade e fase inicial do processo de cicatrização. Podemos sugerir também que o tempo não influenciou esta mudança, resultados estes que diferem do estudo conduzido por Taniguchi et al.⁴¹ onde houve estabilização das dimensões fractais para o colágeno no 14º dia.

O grupo tratado com a membrana de quitosana, xantana e β -glicana, apresentou uma redução mais pronunciada da DF no M14, momento este que culmina com o pico de colágeno tipo I no final da fase proliferativa e início da fase de remodelação.^{40,53}

As biomembranas para reparação tecidual geralmente apresentam um impacto significativo na organização do colágeno tipo I e cicatrização de feridas cutâneas quando usadas como scaffold, podendo criar um ambiente favorável para a regeneração tecidual, promovendo a proliferação celular e a formação de um novo tecido.^{54,55,56}

Na associação de PRP com membrana não foi observado um efeito sinérgico ou que se potencializa o efeito do PRP, uma vez que a DF não foi inferior aos valores da DF encontradas no grupo PRP, pelo contrário, a DF foi maior no grupo PRP+membrana o que sugere maior complexidade do colágeno tipo I nesta associação.

Apesar do estudo atual não ter encontrado efeito sinérgico dos tratamentos, é importante considerar não apenas a eficácia individual de cada tratamento, mas também suas interações quando combinados. Outros estudos relatam o potencial de combinações de tratamentos pela busca na promoção de uma cicatrização mais eficaz o que pode

resultar em benefícios adicionais para a cicatrização de feridas, sugerindo uma abordagem promissora para otimizar os resultados clínicos.³⁴

Tetila¹³ em seu estudo constatou que o uso exclusivo de plasma rico em plaquetas resultou em uma neovascularização completa de 100%, enquanto a combinação de PRP com RSV (Rosuvastatina) alcançou 50% e a RSV isolada induziu neovascularização em 62,5% das feridas. Esses resultados indicam que neste estudo o PRP por si só também foi mais eficaz (Tabela 2).

As diferenças estatísticas significativas na comparação entre os grupos para o colágeno tipo III também foi mostrada pelo teste post-hoc onde o grupo controle apresentou uma redução média de 0,12 ($p=0,0002$) da DF em relação ao grupo que recebeu Plasma Rico em Plaquetas autólogo (PRPa). Da mesma forma, o grupo tratado com membrana de quitosana, xantana e β -glicana comparado ao grupo PRPa, exibiu uma redução média de de 0,09 ($p=0,005$) da dimensão fractal. Para os demais pares de grupos, as diferenças não foram consideradas significativas.

Para o colágeno tipo I, o teste post-hoc também evidenciou média 0,09 maior da DF no grupo controle em relação ao PRPa, no grupo membrana, DF a média foi 0,11 maior do que o grupo PRPa e no grupo PRPa, DF média foi de 0,12 menor do que o grupo PRPa+membrana.

Esses resultados sugerem que a eficácia dos tratamentos pode variar e que a combinação de PRPa com membrana pode ter um efeito diferenciado na organização da matriz extracelular.³⁹

Borda das lesões

Após análise das amostras da borda das lesões observou-se que não houve alteração significativa das dimensões fractais [$F(2,93) = 8,24$; $p = 0,058$] para os diferentes tratamentos em relação ao colágeno tipo III e colágeno tipo I (Figura 13) [$F(3,20) = 0,295$; $p = 0,828$], no entanto, os maiores valores da DF ($1,73 \pm 0,10$) para colágeno tipo III e menores valores da DF ($1,59 \pm 0,16$) para o colágeno tipo I ocorreu no grupo PRP. Estes achados sugerem uma melhor organização do colágeno na fase final da cicatrização para o grupo PRP, assim como verificado no centro das lesões.

Na avaliação dos diferentes momentos houve diferença considerada significativa [$F(4,17) = 4,16$; $p = 0,009$] para o colágeno tipo III, sugerindo uma marcante e maior organização das fibras colágenas a partir do M14 sem alterações da DF a partir deste momento com completa cicatrização das lesões 21 dias após início dos tratamentos (Figuras 13 e 14), corroborando com os achados de Taniguchi et al.⁴¹ que relatam que não houve alteração na avaliação da DF do colágeno a partir do 14º dia até o final do experimento. Para o colágeno tipo I não foi observado diferença estatística significativa na DF e momentos de avaliação [$F(3,60) = 2,01$; $p = 0,121$] (Figura 14).

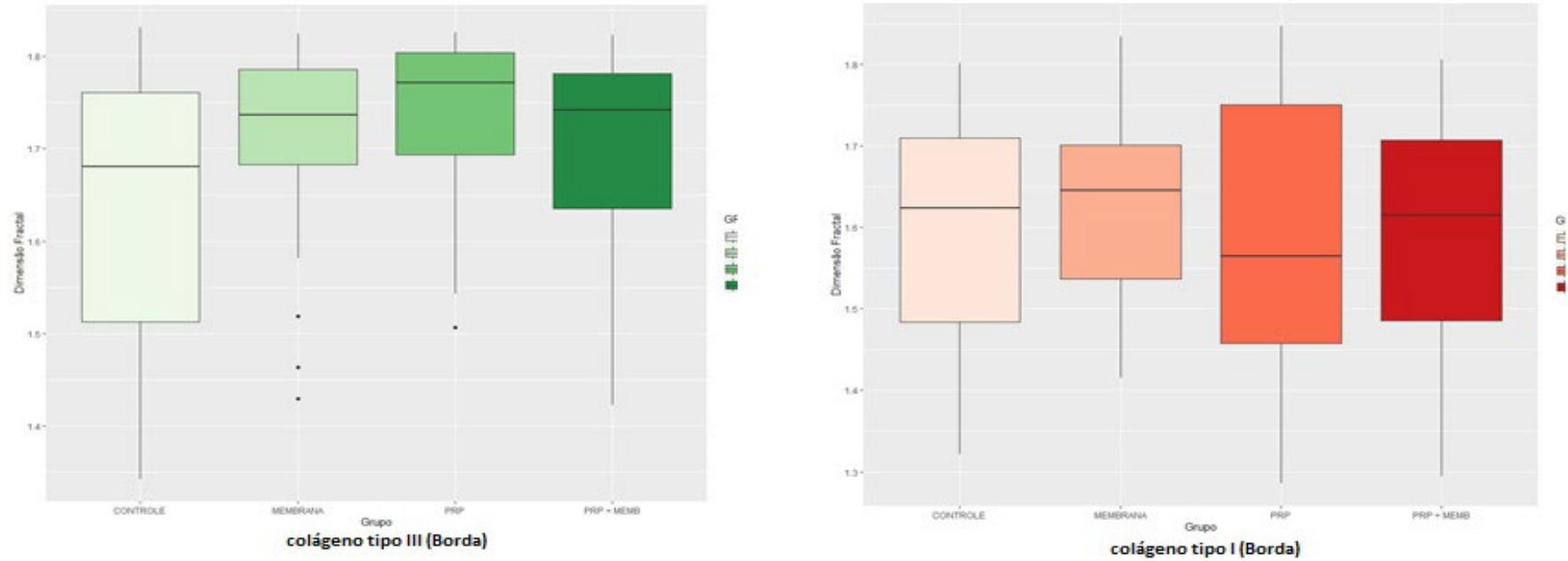


Figura 13- Análise gráfica da dimensão fractal (DF) nos diferentes tratamentos para o colágeno tipo III e tipo I, borda das lesões.

Colágeno tipo III: (Média \pm desvio-padrão dos grupos: Controle = $1,63 \pm 0,15$; Membrana = $1,71 \pm 0,11$; PRP = $1,73 \pm 0,10$; PRP+MEMB = $1,70 \pm 0,10$. $F(2,93) = 8,24$; $p = 0,058$)

Colágeno tipo I: (Média \pm desvio-padrão dos grupos: Controle = $1,60 \pm 0,14$; Membrana = $1,63 \pm 0,11$; PRP = $1,59 \pm 0,16$; PRP+MEMB = $1,60 \pm 0,14$. $F(3,20) = 0,295$; $p = 0,828$). Fonte: O autor.

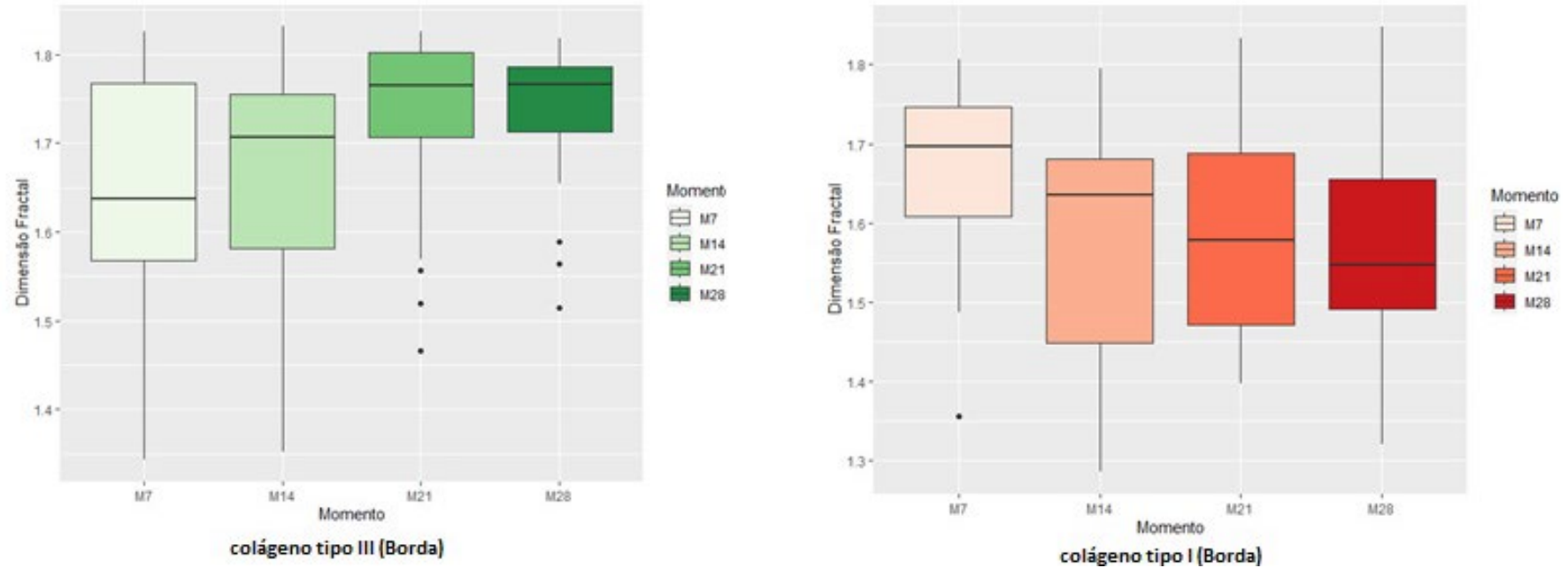


Figura 14- Análise gráfica da dimensão fractal (DF) nos diferentes momentos para o colágeno tipo III e tipo I, borda das lesões.

Colágeno tipo III: (Média \pm desvio-padrão dos momentos: M7 = 1,64 \pm 0,14; M14 = 1,66 \pm 0,14; M21 = 1,73 \pm 0,10; M28 = 1,74 \pm 0,08. M7 X M14: p= 1,0; M7 X M21: p= 0,084; M7 X M28: p= 0,05; M14 X M21: p= 0,343; M14 X M28: p=0,221; M21 X M28: p= 1,0)

Colágeno tipo I: (Média \pm desvio-padrão dos momentos: M7 = 1,66 \pm 0,11; M14 = 1,58 \pm 0,16; M21 = 1,59 \pm 0,13; M28 = 1,58 \pm 0,13. F(3,60) = 2,01; p = 0,121).Fonte: O autor.

Nas bordas das lesões foi realizada a técnica de polarização com o corante picosirius, que muito sensível para análise quantitativa e para a medição dos colágenos maduros (Tipo I) e imaturos (Tipo III), e a coloração predominante foi a semelhante as do centro das lesões, com predomínio das fibras colágenas tipo I que aparecem com birrefringência laranja-avermelhada (Figura 15).

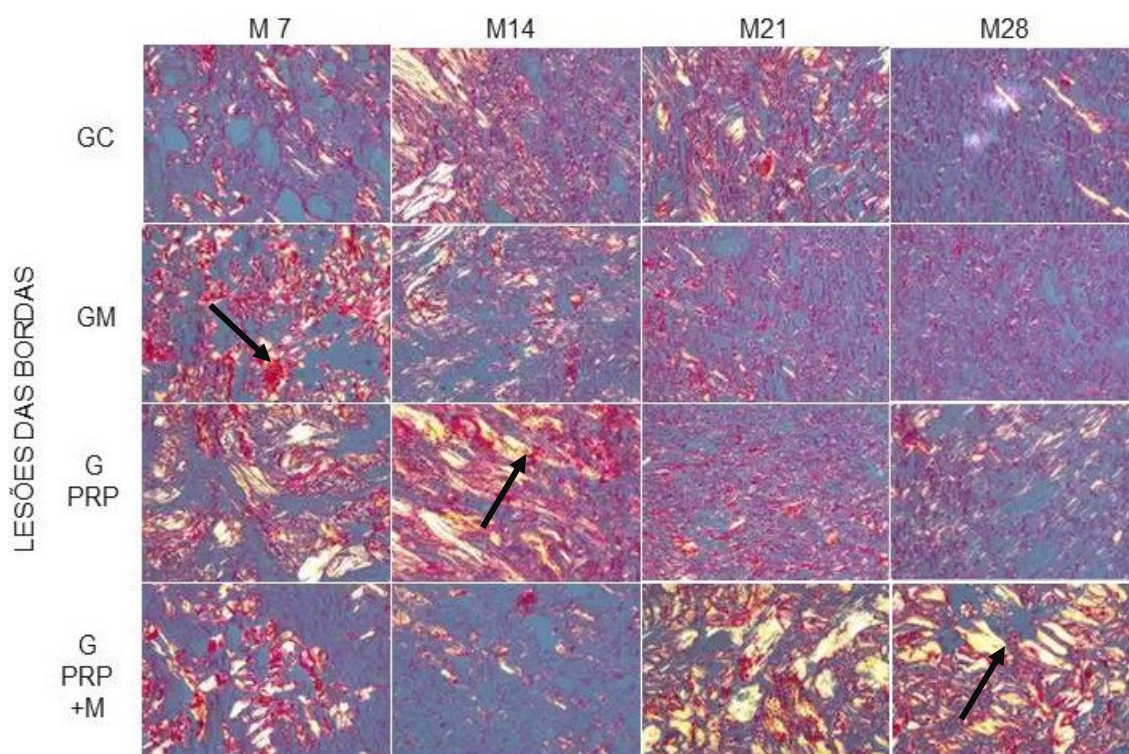


Figura 15- Técnica de polarização utilizando corante picosirius para a medição quantitativa dos colágenos maduros (Tipo I) e imaturos (Tipo III) das bordas das lesões nos diferentes grupos (controle-GC, membrana-GM, plasma rico em plaquetas autólogo-PRPa, PRPa + membrana-GPRP+M) e nos diferentes momentos (M7, M14, M21, M28 dias).- Fonte: O autor.

Esses resultados são semelhantes aos resultados de outro autor Machado⁵⁷, que verificou que os valores médios da DF não diferiram de forma significativa durante 30 dias de avaliação dos animais, tanto no grupo controle como no fibrina rica em plaquetas autólogo (FRPa). Entretanto, um estudo Rocha, 2022⁵⁸ com 21 dias de avaliação, encontrou variações significativas na estrutura do colágeno global, tanto nos

tratamentos como momentos de avaliação.

Os resultados do atual estudo indicam que, embora as bordas das feridas não tenham apresentado diferenças significativas para o colágeno tipo I, outras regiões da ferida tiveram alterações estruturais durante o processo de cicatrização, como evidenciado no centro das lesões. A hipótese para não ocorrência de diferenças da DF é que, a cicatrização ocorre de fora para dentro e desta forma as bordas ou periferia da lesão já se encontravam com uma organização colágena mais estruturada e homogênea.

O teste *post-hoc* evidenciou que as únicas diferenças significativas ocorreram entre os momentos 7 e 28, sendo que o momento 7 apresentou dimensão fractal em média 0,10 menor do que o momento 28 ($p=0,05$).

Isso sugere que a estrutura fractal do colágeno tipo III nas bordas das lesões foi significativamente alterada ao longo do tempo, o que corrobora em parte com o estudo de Tetila et al.,¹³ onde todas as lesões experimentais apresentaram maior percentual de fibras colágenas no 17º dia pós-lesão quando comparadas às feridas controle.

Conclusão

Conclui-se que todos os tratamentos foram eficazes no processo de cicatrização, no entanto o tratamento com plasma rico em plaquetas autólogo em gel (PRPa gel) mostrou uma colagenização mais eficiente e menor complexidade de organização das fibras colágenas uma vez que os valores da dimensão fractal ao final da avaliação foram inferiores aos demais grupos; a associação da biomembrana de quitosana, xantana e β -glicana não potencializou o efeito do PRPa gel, e que as diferenças dos valores da DF para os tipos de colágeno na borda e centro demonstram que a colagenização ocorreu sempre da periferia para o centro das lesões.

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

Financiamento

Esta pesquisa não recebeu nenhuma concessão específica de qualquer financiamento, seja de agência no setor público, comercial ou sem fins lucrativos.

Referências

1. Santos CJSF. Impactos das inovações tecnológicas ao Tratamento e cicatrização de feridas Crônicas/complexas: Uma revisão integrativa. *Revisões abertas do Repositório Ânima Educação*; 2022 <https://repositorio.animaeducacao.com.br/handle/ANIMA/23454>
2. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res.* 2012;49(1):35-43. doi: [10.1159/000339613](https://doi.org/10.1159/000339613)
3. Masi ECDJD, Campos ACL, Masi FDJD, Ratti MAS, Shin Ike I, Masi RDJD. The influence of growth factors on skin wound healing in rats. *Braz j otorhinolaryngol*, 2016 Sep; 82(5):512–21. doi:[10.1016/j.bjorl.2015.09.011](https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2015.09.011)
4. Silva TF, Penna ALB. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 2012; 71(3), 530–9. doi [doi:10.53393/rial.2012.v71.32461](https://doi.org/10.53393/rial.2012.v71.32461)
5. Mendonça RJ, Coutinho-Netto J. Aspectos celulares da cicatrização. *An Bras Dermatol.* 2009 Jul; 84(3):257–62. doi: [10.1590/S0365-05962009000300007](https://doi.org/10.1590/S0365-05962009000300007)
6. Rodrigues CF, Bezerra SMG, Calçada DB. Sistemas computacionais para auxílio na cicatrização de feridas: Revisão de escopo. *Estima, Braz. J. Enterostomal Ther.* 2022; 21: e1260. doi: [10.30886/estima.v21.1260_PT](https://doi.org/10.30886/estima.v21.1260_PT)
7. Laureano A, Rodrigues AM. Cura de feridas. *SPDV.* 2011 Set; 69(3):355. <https://revista.spdv.com.pt/index.php/spdv/article/view/71>
8. Pixley JN, Cook MK, Singh R. et al. A comprehensive review of platelet-rich plasma for the treatment of dermatologic disorders. *J Dermatolog Treat.* 2023 Dec;34(1):2142035. doi: [10.1080/09546634.2022.2142035](https://doi.org/10.1080/09546634.2022.2142035)
9. Yamada ALM, Carvalho AM, Oliveira PGG, et al. Plasma rico em plaquetas no tratamento de lesões condrais articulares induzidas experimentalmente em equinos: avaliação clínica, macroscópica, histológica e histoquímica. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2012Apr; 64(2):323–32. doi:[10.1590/S0102-09352012000200011](https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000200011)
10. Vendramin FS, Franco D, Franco TR. Utilização do plasma rico em plaquetas autólogo nas cirurgias de enxertos cutâneos em feridas crônicas. *Rev Bras Cir Plást.* 2010 Oct; 25(4):589–94. doi:[10.1590/S1983-51752010000400004](https://doi.org/10.1590/S1983-51752010000400004)
11. Meng, X.; Tian, F.; Yang, J.; Chun-Nian, H.; Xing, N.; Li, F.. Chitosan and alginate polyelectrolyte complex membranes and their properties for wound dressing application. *Journal of materials science. Materials in medicine*, v. 21, n. 5, p. 1751–1759, maio 2010. doi: [10.1007/s10856-010-3996-6](https://doi.org/10.1007/s10856-010-3996-6) <https://revista.spdv.com.pt/index.php/spdv/article/view/71>

12. Murakami K, Aoki H, Nakamura S, Nakamura S, Takikawa M, Hanzawa M, Kishimoto S, Hattori H, Tanaka Y, Kiyosawa T, Sato Y, Ishihara M. Hydrogel blends of chitin/chitosan, fucoidan and alginate as healing-impaired wound dressings. *Biomaterials*. 2010 Jan;31(1):83-90. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.09.031. Epub 2009 Sep 22. PMID: 19775748. Doi: [10.1016/j.biomaterials.2009.09.031](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.031)
13. Bellini, M. Z.; Oliva-Neto, P.; Moraes, A.M. Properties Of Films Obtained From Biopolymers Of Different Origins For Skin Lesions Therapy. *Brazilian Archives Of Biology And Technology*, V. 58, N. 2, P. 289–299, Abr. 2015. <https://doi.org/10.1590/S1516-8913201500305>
14. Burd, A.; Huang, L. Carbohydrates And Cutaneous Wound Healing. In: In: Garg, H. G.; Cowman, M. K., Hales, C. A. *Carbohydrate Chemistry, Biology And Medical Applications*. Elsevier Ltd., Amsterdam, 2008. <https://shop.elsevier.com/books/carbohydrate-chemistry-biology-and-medical-applications/garg/978-0-08-054816-6>
15. Bueno, C. Z.; Moraes, A. M. Development Of Porous Lamellar Chitosan-Alginate Membranes: Effect Of Different Surfactants On Biomaterial Properties. *Journal Of Applied Polymer Science*, V. 122, N. 1, P. 624–631, 5 Out. 2011. <https://doi.org/10.1002/app.34192>
16. Wittaya-Areekul, S.; Prahsarn, C. Development And In Vitro Evaluation Of Chitosan-Polysaccharides Composite Wound Dressings. *International Journal Of Pharmaceutics*, V. 313, N. 1–2, P. 123–8, 26 Abr. 2006. Doi: [10.1016/j.ijpharm.2006.01.027](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.01.027)
17. Jayakumar, R.; Prabakaran, M.; Sudheesh Kumar, P. T., Nair, S. V.; Tamura, H.; Biomaterials Based On Chitin And Chitosan In Wound Dressing Applications. *Biotechnology Advances*, V. 29, N. 3, P. 322–37, 2011. Doi: [10.1016/j.biotechadv.2011.01.005](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.005)
18. Reis Filho N, Ferreira M, Pascoli A, et al. Epitelização de enxertos cutâneos em feridas recentes de coelhos tratados com membrana amniótica canina e/ou laserterapia. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2017; 69(3): 603–612. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9337>
19. Bejenariu A, Popa M, Le Cerf D, et al. Stiffness xanthan hydrogels: synthesis, swelling characteristics and controlled release properties. *Polym Bull* 2008; 61(5): 631–641. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00289-008-0987-6>
20. Masson-Meyers DS, Andrade TAM, Caetano GF, et al. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. *Int J Exp Pathol* 2020; 01(1-2): 21–37. Doi: [10.1111/iep.12346](https://doi.org/10.1111/iep.12346)

21. Bellini MZ, Pires ALR, Vasconcelos MO, et al. Comparison of the properties of compacted and porous lamellar chitosan-xanthan membranes as dressings and scaffolds for the treatment of skin lesions. *J Appl Polym Sci* 2012; 125(S2): 421–431. Doi: <https://doi.org/10.1002/app.36693>
22. Matica MA, Aachmann FL, Tøndervik A, et al. Chitosan as a Wound Dressing Starting Material: Antimicrobial Properties and Mode of Action. *Int J Mol Sci* 2019; 20(23): 5889. Doi:[10.3390/ijms20235889](https://doi.org/10.3390/ijms20235889)
23. Bueno CZ, Moraes AM. Development of porous lamellar chitosan-alginate membranes: Effect of different surfactants on biomaterial properties. *J Appl Polym Sci* 2011; 122(1): 624–631. Doi: <https://doi.org/10.1002/app.34192>
24. Bano I, Arshad M, Yasin T, et al. Chitosan: A potential biopolymer for wound management. *Int J Biol Macromol* 2017; 102: 380–383. Doi: [10.1016/j.ijbiomac.2017.04.047](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.047)
25. Petri, DFS. Goma xantana: Um biopolímero versátil para aplicações biomédicas e tecnológicas. *J. Appl. Polim. Ciência*. 2015, 132, 42035, Doi: <https://doi.org/10.1002/app.42035>
26. Chan, G.CF., Chan, WK & Sze, D.MY. Os efeitos do β -glucano nas células imunológicas e cancerígenas humanas. *J Hematol Oncol* 2, 25 2009. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-2-25>
27. Ozaki G, Camargo RCT, Koike TE, et al. Fractal Analysis of Skeletal Muscle Tissue of Rats Subjected to Stretch Injury. *Int. J. Morphol.* 2015 Sep; 33(3): 908–13. doi: [10.4067/S0717-95022015000300017](https://doi.org/10.4067/S0717-95022015000300017).
28. Pacagnelli FL, Sabela AKDA, Mariano TB, et al. Fractal Dimension in Quantifying Experimental-Pulmonary-Hypertension-Induced Cardiac Dysfunction in Rats. *Arq Bras Cardiol* 2016; 107(1):33-9. doi:[10.5935/abc.20160083](https://doi.org/10.5935/abc.20160083)
29. Tetila AF, Breda MRS, Nogueira RMB, et al. The Use of Platelet-Rich Plasma and Rosuvastatin in Wound Healing in Rabbits: A Longitudinal Study. *Adv Skin Wound Care*. 2019 Sep;32(9):1-5. Doi: [10.1097/01.ASW.0000577136.88748.68](https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000577136.88748.68)
30. Kanashiro GP, Cassu RN. Anestesia em animais selvagens e de laboratório. In: *Manual de Terapêutica Médica*. São Paulo: Roca; 2008, pp.728–45. Doi: [10.1097/01.ASW.0000577136.88748.68](https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000577136.88748.68)
31. Donatti C, Brandão CVS, Ranzani JJT, et al. Uso do plasma rico em plaquetas no reparo de úlceras de córnea profundas induzidas em coelhos. Avaliação clínica e histomorfométrica. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2013Jun; 65(3):809–18. doi: [10.1590/S0102-09352013000300029](https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000300029)
32. Ferraciolli E, Laposy CB, Nogueira MR, et al. Avaliação das fibras colágenas de feridas dérmicas de coelhos tratadas com diferentes fontes de plasma rico em

- plaquetas. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2018 Jul; 70(4):1179–86. doi: [10.1590/1678-4162-9528](https://doi.org/10.1590/1678-4162-9528)
33. Souza MV, Pinto JO, Costa MBM, et al. Expressão gênica do colágeno em ferida cutânea de equinos tratada com plasma rico em plaquetas. *Pesq Vet Bras* 2014 Mar; 34(3):233–40. doi:[10.1590/S0100-736X2014000300006](https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000300006)
34. Ferreira N, Vicentini Y, Breda M, et al. Uso de biomateriais e rosuvastatina tópica aumenta angiogênese de feridas cirúrgicas em coelhos. *Research, Society and Development*. 2021; 10: e32510111327. doi: [10.33448/rsd-v10i1.11327](https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11327)
35. Paolozzi RJ, Cassu RN, Cruz FSF, et al. Diferentes doses de tramadol em cães: ações analgésicas, sedativas e sobre o sistema cardiorrespiratório. *Cienc Rural*. 2011Aug; 41(8):1417–23. doi: [10.1590/S0103-84782011000800019](https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000800019)
36. Lattouf R, Younes R, Lutomski D, et al. Picrosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. *J Histochem Cytochem*. 2014 Oct;62(10):751-8. doi: [10.1369/0022155414545787](https://doi.org/10.1369/0022155414545787)
37. Marques MEM, Laposy CB, Silva MLDS, et al. Collagen quantification in rabbit dermal wounds treated with heterologous platelet-rich plasma gel. *Semin Ciências Agrárias* 2017; 38: 249-258. doi: 10.5433/1679-0359.2017v38n1p249. <https://www.redalyc.org/pdf/4457/445749994021.pdf>
38. Valenti DMZ, Silva JA, Teodoro WR, et al. Avaliação da histoarquitetura do colágeno no tecido cutâneo após a utilização tópica da argila em ratos. *Rev Bra Ciências Saúde* 2010; 8:22-31. https://seer.uscs.edu.br/index.php/revista_ciencias_saude/article/view/960
39. Greca FH, Ramos EJB, Dallolmo VC, et al. Evaluation of Porcine Small Intestinal Submucosa in Achilles Tendon Repair. *J Appl Res* 2005; 5:115-123. https://www.academia.edu/17673973/Evaluation_of_Porcine_Small_Intestinal_Submucosa_in_Achilles_Tendon_Repair
40. Melo GH. Análise fractal na caracterização de colágenos tipos I e III em feridas dérmicas tratadas com diferentes fontes de plasma rico em plaquetas. [dissertação]. Presidente Prudente: Universidade do Oeste Paulista; 2017. <http://bdtd.unoeste.br:8080/jspui/handle/jspui/1065>
41. Taniguchi BAL. Análise fractal de feridas dérmicas de coelhos tratados com plasma rico em plaquetas e rosuvastatina. [dissertação] Presidente Prudente: Universidade do Oeste Paulista; 2018. <http://bdtd.unoeste.br:8080/jspui/handle/jspui/1114?mode=full>
42. Color Image Processing, http://imagej.net/Color_Image_Processing#RGB_color_merging (2015, accessed 2 november 2016) <https://imagej.net/imaging/color-image-processing>

43. Demandolx D, Davoust J. Análise multicolorida e correlação de imagens locais em microscopia confocal. *Journal of Microscopy*, 1997; 185 (1), 21–36. doi:[10.1046/j.1365-2818.1997.1470704.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2818.1997.1470704.x)
44. Zhao G, Denisova K, Sehatpour P, et al. Análise da dimensão fractal de estruturas subcorticais da matéria cinzenta na esquizofrenia. *PLoS One* 2016;11(5): e0155415. doi: [10.1371/journal.pone.0155415](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155415)
45. Oliveira MA, Brandi AC, Santos CA, et al. Comparison of fractal dimension and Shannon entropy in myocytes from rats treated with histidine-tryptophan-glutamate and histidine-tryptophan cetoglutarate. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2014 Apr-Jun; 29(2):156-62. doi: [10.5935/1678-9741.20140052](https://doi.org/10.5935/1678-9741.20140052)
46. Posit team. RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA; 2023. <http://www.posit.co/>.
47. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, et al. Wound Healing: A 309 Cellular Perspective. *Physiological Reviews*. 2019;99(1): 665–706. doi: [10.1152/physrev.00067.2017](https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017)
48. Feitosa VLC. Matriz Extracelular; 2023. https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/11241916022012Biologia_Celular_aula_5.pdf
49. QU W, Wang Z, Hunt C, et al. The effectiveness and safety of platelet-rich plasma for chronic wounds. *Mayo Clin Proc*. 2021 Sep;96(9):2407-2417. doi: [10.1016/j.mayocp.2021.01.030](https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2021.01.030)
50. Nascimento WO, Lima EJA, Ferreira MTS et al. Utilização do plasma rico em plaquetas e da fibrina rica em plaquetas na cicatrização de feridas crônicas. *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences* 2024;6(1):91-113. <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n1p91-113>
51. Elbarbary AH, Hassan A, Elbendak, EA. Autologous platelet-rich plasma injection enhances healing of chronic venous leg ulcer: a prospective randomised study. *International Wound Journal*, 2020;17(4):992-1001.doi: [10.1111/iwj.13361](https://doi.org/10.1111/iwj.13361)
52. Solakoglu Ö, Heydecke G, Amiri N, et al. The use of plasma rich in growth factors (PRGF) in guided tissue regeneration and guided bone regeneration. A review of histological, immunohistochemical, histomorphometrical, radiological and clinical results in humans. *Ann Anat*. Sep; 2020; 231:151528. doi: [10.1016/j.aanat.2020.151528](https://doi.org/10.1016/j.aanat.2020.151528)
53. Sivaraj D, Chen K, Chattopadhyay A, et al. Hydrogel scaffolds to deliver cell therapies for wound healing. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 2021;9:660145. doi: [10.3389/fbioe.2021.660145](https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.660145)

54. Palácio SB, Penello SO, Monteiro CTM, et al. Application of wound dressings based on bacterial cellulose in the healing of chronic and complex wounds: trends and perspectives. *Research, Society and Development*, 2024;13(2): e1813244920. doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v13i2.44920>
55. Golchin A, Nourani MR. Effects of bilayer nanofibrillar scaffolds containing epidermal growth factor on full-thickness wound healing. *Polymers for Advanced Technologies*, 2020; 31(11):2443-52. Doi:[10.1002/pat.4960](https://doi.org/10.1002/pat.4960)
56. Qin J, Chen F, Wu P, et al. Recent Advances in Bioengineered Scaffolds for Cutaneous Wound Healing. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022 Mar; 10:841583. doi: [10.3389/fbioe.2022.841583](https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.841583)
57. Machado RG. Dimensão fractal das lesões provocadas por queimaduras e tratadas com fibrina rica em plaquetas autóloga em coelhos. [dissertação] Presidente Prudente: Unoeste; 2022. <http://btd.unoeste.br:8080/jspui/handle/jspui/1476>
58. Rocha JLC. Quantificação da organização e arquitetura do colágeno em queimaduras cutâneas por meio da dimensão fractal, lacunaridade e transformada rápida de Fourier. [tese] Fortaleza: UFC; 2022. <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/63332>

ANEXO A- PARECER FINAL DO PROJETO (CEUA)

21/03/2024, 10:31

Certificado

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação
PEIC - Programa Especial de Iniciação Científica

Parecer Final

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "BIOPOLÍMERO DE QUITOSANA/XANTANA/B-GLICANA E PLASMA RICO EM PLAQUETAS AUTÓLOGO NO TRATAMENTO DE FERIDAS: ANÁLISE FRACTAL E TERMOGRÁFICA", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número nº 6157 e tendo como participante(s) VALTER DIAS DA SILVA (discente), PAMELLA GODINHO GUTIERRES (discente), MÁRCIA ZILJOLI BELLINI (participante externo), CECILIA LAPOSY SANTAREM (docente), ELISANGELA OLEGÁRIO DA SILVA (docente), ROSA MARIA BARILLI NOGUEIRA (orientador responsável), foi avaliado e APROVADO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Este Projeto de Pesquisa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, 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 da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido APROVADO em reunião realizada em 12/08/2020.

Vigência do projeto: 05/2020 a 10/2022.

ANIMAL VIVO

Espécie/Linhagem	Nº de Animais	Peso	Idade	Sexo	Origem
Coelho (Nova Zelândia)	22	3,5 quilos	150 dias	M	Biotério Unoeste
Coelho (Nova Zelândia)	22	3,5 quilos	150 dias	F	Biotério Unoeste

Presidente Prudente, 14 de Agosto de 2020.

Prof. Valter Rodrigues Garcia Jr.
Coordenador Científico da CPDI

Prof. Msc. Adriana Falcão de Brito
Coordenadora da CEUA - UNOESTE

Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação - CPDI - 18 3226-2079 - cpdi@unoeste.br
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP - 18 3226-2079 - cep@unoeste.br
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA - 183226-2079 - ceua@unoeste.br

valide este documento em www.unoeste.br/leg informando o código de segurança ba872f887a31702ba49da3fa61553701

<https://www.unoeste.br/SGP/certificados/ver.asp?h=ba872f887a31702ba49da3fa61553701>

1/1

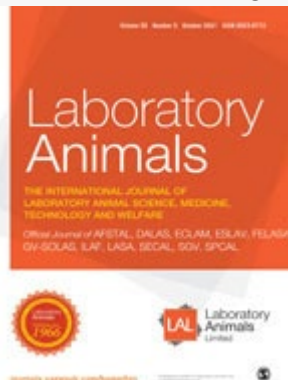
ANEXO B – NORMAS DE PUBLICAÇÃO

Manuscript Submission Guidelines: LABORATORY ANIMALS.

Fator de Impacto: **2,4** / Fator de impacto de 5 anos: **2,5**

[PÁGINA INICIAL DO JORNAL](#)

[ENVIAR TRABALHO](#)



[Ciência de Animais de Laboratório](#) | [Medicina Laboratorial](#) | [Pecuária](#)

eISSN: 17581117 | ISSN: 00236772 | Volume atual: 57 | Edição atual: 6 Frequência: Bimestral

Diretrizes para submissão de manuscritos: *animais de laboratório*

Esta revista é membro do [Comitê de Ética em Publicações](#)

Por favor, leia as diretrizes abaixo e visite o site de submissão da revista <http://mc.manuscriptcentral.com/la> para enviar seu manuscrito. Observe que os manuscritos que não estiverem em conformidade com essas diretrizes poderão ser devolvidos. Autores interessados em publicar em acesso aberto em *Animais de Laboratório*, por favor encontrem as informações necessárias aqui: <https://uk.sagepub.com/en-gb/eur/sage-choice>

Somente serão revisados manuscritos de qualidade suficiente que atendam aos objetivos e escopo dos *Animais de Laboratório*. Por favor, leia o Editorial intitulado '[Você e seu relatório de pesquisa: implementando as Diretrizes ARRIVE](#)'

Não há taxas a pagar para submeter ou publicar nesta Revista. Estão disponíveis opções de Acesso Aberto - consulte a seção 3.3 abaixo.

Como parte do processo de envio, você deverá garantir que está enviando seu trabalho original, que possui os direitos sobre o trabalho e que obteve e pode fornecer todas as permissões necessárias para a reprodução de quaisquer trabalhos protegidos por direitos autorais que não sejam de propriedade de você, que está submetendo o trabalho para primeira publicação na Revista e que ele não está sendo considerado para publicação em outro lugar e ainda não foi publicado em outro lugar. Por favor, consulte nossas diretrizes sobre publicação prévia e observe que *Laboratory Animals* aceita submissões de artigos que foram postados em servidores de pré-impressão; favor avisar a Editoria no momento da submissão (os dados de contato estão no final destas diretrizes) e incluir o DOI do preprint no campo designado no sistema de submissão de manuscritos. Os autores não

devem publicar uma versão atualizada de seu artigo no servidor de pré-impressão enquanto ele estiver sendo revisado por pares para possível publicação na revista. Se o

artigo for aceito para publicação, o autor poderá reutilizar seu trabalho de acordo com a política de arquivamento de autores da revista.

Certifique-se de seguir estritamente o estilo de referência de Vancouver. Na lista de referências, observe que poderão ser listados até três (3) autores por referência. Se houver mais de três (3) autores, liste os três primeiros nomes e represente o restante usando et al. Os títulos dos periódicos devem ser listados em itálico.

Além do corpo principal do manuscrito, a contagem de palavras inclui: os autores e suas afiliações; abstrato; palavras-chave; legendas de figuras/tabelas; o conteúdo das tabelas; referências; os agradecimentos; declaração de financiamento; e declaração de conflito de interesses.

1. [O que publicamos?](#)
 - 1.1 [Objetivos e escopo](#)
 - 1.2 [Tipos de artigos](#)
 - 1.3 [Redação do seu artigo](#)
 - 1.3.1 [Torne seu artigo detectável](#)
2. [Políticas editoriais](#)
 - 2.1 [Política de revisão por pares](#)
 - 2.2 [Autoria](#)
 - 2.3 [Agradecimentos](#)
 - 2.3.1 [Assistência na redação](#)
 - 2.4 [Financiamento](#)
 - 2.5 [Declaração de interesses conflitantes](#)
 - 2.6 [Ética em pesquisa](#)
 - 2.6.1 [Animais, materiais e métodos](#)
 - 2.7 [Diretrizes para relatórios](#)
 - 2.8 [Declaração de disponibilidade de dados de pesquisa](#)
3. [Políticas de publicação](#)
 - 3.1 [Ética de publicação](#)
 - 3.1.1 [Plágio](#)
 - 3.1.2 [Publicação prévia](#)
 - 3.2 [Acordo de publicação do colaborador](#)
 - 3.3 [Acesso aberto e arquivamento do autor](#)
4. [Preparando seu manuscrito](#)
 - 4.1 [Formatação](#)
 - 4.2 [Arte, figuras e outros gráficos](#)
 - 4.3 [Material suplementar](#)
 - 4.4 [Estilo de referência](#)
 - 4.5 [Serviços de edição em inglês](#)
5. [Enviando seu manuscrito](#)
 - 5.1 [ORCID](#)
 - 5.2 [Informações necessárias para completar sua submissão](#)
 - 5.3 [Permissões](#)
6. [Sobre aceitação e publicação](#)
 - 6.1 [Sage Production](#)
 - 6.2 [Online Primeira publicação](#)
 - 6.3 [Acesso ao seu artigo publicado](#)
 - 6.4 [Promoção do seu artigo](#)
7. [Outras informações](#)

1. O que publicamos?

1.1 Objetivos e Escopo

Antes de enviar seu manuscrito para *Laboratory Animals*, certifique-se de ter lido os [Objetivos e Escopo](#).

1.2 Tipos de artigos

Relatórios de grupos de trabalho

Artigos que descrevem as recomendações ou conclusões de grupos de trabalho ou grupos mandatados por uma ou mais associações assinantes. Devem ter até 7.500 palavras incluindo referências (das quais não devem ultrapassar 50), resumo, legendas de figuras/tabelas e o resumo. Um hiperlink para informações adicionais ou para as deliberações completas do Grupo de Trabalho será acomodado e hospedado como informação suplementar no site da revista. Todos os membros citados dos grupos de trabalho serão considerados autores para efeitos de direitos autorais.

Artigos de Revisão

Artigos de natureza substancial e atual. Devem ter até 7.500 palavras, incluindo resumo, legendas de figuras/tabelas e referências.

Artigos Originais

Artigos que descrevem pesquisas originais substanciais que se enquadram nos objetivos e escopo da revista. Devem ter até 5.500 palavras incluindo resumo, legendas de figuras/tabelas e referências e não ter mais de seis exibições (figuras e tabelas). Os títulos estruturados são obrigatórios e devem incluir: Introdução; Animais, Materiais e Métodos; Resultados; Discussão; Agradecimentos e Referências. O resumo deve ser desestruturado e composto por um único parágrafo com menos de 250 palavras. Consulte a seção 6.4 sobre as informações necessárias sobre os animais e suas condições de criação e cuidados. Para manuscritos cuja contagem de palavras exceda 5.500 ou mais de seis exibições, as informações adicionais e as exibições poderão ser enviadas como informações suplementares.

Relatos de casos A revista também publica relatos de casos ou séries de casos que relatam um dos seguintes:

a) Uma doença nova e/ou emergente; b) Uma nova associação ou variação num processo de doença; c) Uma reação adversa medicamentosa não relatada ou incomum; d) Uma apresentação inesperada ou incomum de um problema comum ou de um evento inesperado durante a observação ou tratamento de um animal experimental que não tenha sido relatado anteriormente; e) Resultados que lancem nova luz sobre a possível patogênese de uma doença ou de um efeito adverso; f) Um caso que poderá ser utilizado como exercício de ensino de raciocínio dedutivo e correlação clinicopatológica e/ou aula prática para investigação e/ou manejo de casos similares.

A contagem de palavras não deve exceder 3.000 palavras, incluindo resumo e referências. A contagem de palavras para o resumo deve ser de 250 palavras. Não mais que 4 displays (tabelas e/ou figuras). Até 30 referências.

Relatórios curtos

Notas técnicas e comunicações preliminares com detalhes metodológicos e conclusões adequadas. Devem ter menos de 1.500 palavras, incluindo resumo, legendas de figuras/tabelas e referências. O resumo deverá ter menos de 200 palavras e não mais que duas figuras ou tabelas.

Cartas ao Editor

Cartas ao Editor serão consideradas para publicação, mas apenas sobre questões relacionadas ao conteúdo científico ou ético da revista, e os autores terão a oportunidade de publicar uma resposta a quaisquer cartas.

LAS Perspectives

Perspectivas ou artigos de opinião, bem como notícias sobre tópicos atuais da ciência de animais de laboratório. A contagem de palavras não deve exceder 1.500 palavras, excluindo referências. Nenhum resumo é necessário, nem subtítulos. Não mais que 2 displays (tabelas e/ou figuras). Até 10 referências.

Envios de Itens de Notícias são aceitos apenas por [Sociedades Assinantes](#). As submissões não devem ter mais de 1.500 palavras, incluindo resumo e referências. Se duas imagens forem incluídas, o limite de palavras é reduzido para 1.000 palavras. Os artigos podem estar no idioma das sociedades e/ou em inglês. As contribuições para a secção Notícias não estão sujeitas a revisão por pares e reflectem a opinião da sociedade subscritora. Se aceito para publicação, os autores deverão fornecer detalhes de contato e assinar um formulário eletrônico de direitos autorais. Perguntas podem ser enviadas ao Escritório Editorial em laeditorial@sagepub.co.uk.

1.3 Escrevendo seu artigo

O Sage Author Gateway tem alguns conselhos gerais e sobre [como publicar](#), além de links para outros recursos. [O Sage Author Services](#) também oferece aos autores uma variedade de maneiras de melhorar e aprimorar seus artigos, incluindo edição em inglês, detecção de plágio e preparação de resumos de vídeo e infográficos.

1.3.1 Torne seu artigo detectável

Ao escrever seu artigo, pense em como você pode torná-lo detectável. O título, as palavras-chave e o resumo são fundamentais para garantir que os leitores encontrem o seu artigo através de motores de busca como o Google. Para obter informações e orientações sobre a melhor forma de intitular seu artigo, escrever seu resumo e selecionar suas palavras-chave, dê uma olhada nesta página no Gateway: [Como ajudar os leitores a encontrar seu artigo online](#).

[De volta ao topo](#)

2. Políticas editoriais

2.1 Política de revisão por pares

A Sage não permite o uso de revisores sugeridos (recomendados) pelo autor em qualquer fase do processo de submissão, seja através do sistema de submissão baseado na web ou outra comunicação. Os revisores devem ser especialistas em suas áreas e devem ser capazes de fornecer uma avaliação objetiva do manuscrito. Nossa política é que revisores não sejam designados para um artigo se:

- O revisor está baseado na mesma instituição que qualquer um dos coautores
- O revisor está baseado no órgão financiador do artigo
- O autor recomendou o revisor
- O revisor forneceu uma conta de e-mail pessoal (por exemplo, Gmail/Yahoo/Hotmail) e uma conta de e-mail institucional não pode ser encontrada após realizar uma pesquisa básica no Google (nome, departamento e instituição).

2.2 Autoria

Os artigos só devem ser submetidos para consideração após o consentimento de todos os autores colaboradores. Aqueles que enviam artigos devem verificar cuidadosamente se todos aqueles cujo trabalho contribuiu para o artigo são reconhecidos como autores colaboradores.

A lista de autores deve incluir todos aqueles que possam reivindicar legitimamente a autoria. São todos aqueles que:

1. Fez uma contribuição substancial para o conceito ou design do trabalho; ou aquisição, análise ou interpretação de dados,
2. Elaborou o artigo ou revisou-o criticamente quanto ao conteúdo intelectual importante,
3. Aprovada a versão a ser publicada,
4. Cada autor deve ter participado suficientemente do trabalho para assumir responsabilidade pública por partes apropriadas do conteúdo.

Os autores deverão atender às condições de todos os pontos acima. Quando um grupo grande e multicêntrico tiver conduzido o trabalho, o grupo deverá identificar os indivíduos que aceitam a responsabilidade direta pelo manuscrito. Esses indivíduos deverão atender integralmente aos critérios de autoria.

A aquisição de financiamento, coleta de dados ou supervisão geral do grupo de pesquisa por si só não constitui autoria, embora todos os colaboradores que não atendam aos critérios de autoria devam ser listados na seção Agradecimentos. Consulte as [diretrizes de autoria do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas \(ICMJE\)](#) para obter mais informações sobre autoria.

Observe que os chatbots de IA, por exemplo ChatGPT, não devem ser listados como autores. Para obter mais [informações, consulte a política sobre uso de ChatGPT e ferramentas generativas de IA](#).

2.3 Agradecimentos

Todos os colaboradores que não atendam aos critérios de autoria deverão ser listados na seção Agradecimentos. Exemplos daqueles que podem ser reconhecidos incluem uma pessoa que forneceu ajuda puramente técnica ou um chefe de departamento que forneceu apenas suporte geral.

2.3.1 Envios de terceiros

Quando um indivíduo que não esteja listado como autor submeta um manuscrito em nome do(s) autor(es), uma declaração deverá ser incluída na seção de Agradecimentos do manuscrito e na carta de apresentação que o acompanha. As declarações devem:

- Divulgue este tipo de assistência editorial – incluindo o nome do indivíduo, empresa e nível de contribuição
- Identifique quaisquer entidades que pagaram por esta assistência
- Confirme que os autores listados autorizaram a submissão do seu manuscrito através de terceiros e aprovaram quaisquer declarações ou declarações, por exemplo, interesses conflitantes, financiamento, etc.

Quando apropriado, a Sage reserva-se o direito de negar a consideração de manuscritos submetidos por terceiros e não pelos próprios autores.

2.3.2 Assistência na redação

Indivíduos que forneceram assistência na redação, por exemplo, de uma empresa especializada em comunicação, não se qualificam como autores e, portanto, devem ser incluídos na seção Agradecimentos. Os autores devem divulgar qualquer assistência por escrito – incluindo o nome do indivíduo, empresa e nível de contribuição – e identificar a entidade que pagou por esta assistência.

Não é necessário divulgar o uso de serviços de aprimoramento linguístico.

Forneça quaisquer agradecimentos pessoais separadamente do texto principal para facilitar a revisão anônima por pares.

2.4 Financiamento

Laboratory Animals exige que todos os autores reconheçam o seu financiamento de forma consistente em um título separado. Por favor, visite a página [de Agradecimentos de Financiamento](#) no Sage Journal Author Gateway para confirmar o formato do texto de agradecimento em caso de financiamento, ou declarar que: Esta pesquisa não recebeu subsídio específico de qualquer agência de financiamento no setor público, comercial ou não. -setores lucrativos.

2.5 Declaração de interesses conflitantes

É política da *Laboratory Animals* exigir uma declaração de interesses conflitantes de todos os autores, permitindo que uma declaração seja veiculada nas páginas paginadas de todos os artigos publicados.

Por favor, certifique-se de que uma declaração de 'Declaração de interesses conflitantes' seja incluída no final do seu manuscrito, após quaisquer agradecimentos e antes das referências. Se não existir conflito, indique que 'O(s) Autor(es) declara(m) que não há conflito de interesses'. Para obter orientação sobre declarações de conflito de interesses, consulte as recomendações do ICMJE

2.6 Ética em pesquisa

Todas as pesquisas envolvendo animais submetidas para publicação devem ser aprovadas por um comitê de ética supervisionado pela instalação onde os estudos foram conduzidos. A Revista adotou as diretrizes [ARRIVE](#) .

Os artigos só serão publicados se os procedimentos experimentais empregados estiverem em conformidade com os princípios aceitos de como os animais são usados na ciência biomédica. Normalmente, os princípios aplicados serão aqueles especificados na [Convenção Europeia para a Proteção de Animais Vertebrados](#) Utilizados para Fins Experimentais e Outros Fins Científicos e seus apêndices e/ou no [Guia do Conselho Nacional de Pesquisa para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório](#) .

Se o desenho experimental ou programa de trabalho relatado no manuscrito levantar preocupações éticas ou de bem-estar específicas, o Conselho Editorial considerará a [legislação atual do Reino Unido](#), Animals (Scientific Procedures) Act 1986 e sua interpretação contemporânea.

Os manuscritos enviados devem estar em conformidade com as [Recomendações do ICMJE para a Conduta, Relatórios, Edição e Publicação de Trabalho Acadêmico em Revistas Médicas](#) , e todos os artigos que relatam estudos em animais e/ou humanos devem declarar na seção de métodos que o Comitê de Ética ou Conselho de Revisão

Institucional relevante forneceu (ou renunciou) à aprovação. Certifique-se de fornecer o nome completo e a instituição do comitê de revisão, além do número de aprovação.

2.6.1 Animais, materiais e métodos

A revista exige informações detalhadas sobre os animais e suas condições de criação (ver [Laboratory Animals 1985;19:106–108](#)). A metodologia para a eutanásia de animais deve ser consistente com as recomendações de relatórios publicados anteriormente (ver [Laboratory Animals 1996;30:293–316](#) e [1997;31:1–32](#)). A revista recomenda consultar também o documento da Associação Médica Veterinária Americana sobre eutanásia (<https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>). Os protocolos e estudos envolvendo peixes devem ser relatados da forma detalhada em [Laboratory Animals 2000;34:131–135](#). Por favor, leia o Editorial intitulado '[Você e seu relatório de pesquisa: implementando as Diretrizes ARRIVE](#)' para maiores esclarecimentos.

É importante ressaltar que a nomenclatura de origem e cepa completa de qualquer estoque de animais de laboratório deve ser especificada de acordo com as recomendações internacionais. Os autores devem observar que esta informação está disponível nos laboratórios de origem e nos fornecedores de animais. Deve ser fornecida uma breve declaração descrevendo os controles legislativos sobre cuidados e uso de animais. As medidas para aperfeiçoar as técnicas experimentais em benefício do bem-estar animal podem ser descritas em detalhe e a disposição e o destino dos animais no final da experiência devem ser claros. Os produtos utilizados (por exemplo, medicamentos, equipamentos, rações, roupas de cama) devem ser descritos no formato “descrição genérica (nome comercial, nome do vendedor, cidade e país onde o vendedor está localizado)”, em relação ao uso apenas do número apropriado de animais (ver Festing M et al. [The Design of Animal Experiments: Reduzindo o uso de animais em pesquisas através de um melhor design experimental 2ª Edição](#), disponível na Sage). Análises de poder pré-teste devem ser apresentadas na justificativa do tamanho da amostra ou número de animais necessários sempre que possível. Análises de poder para muitos procedimentos estatísticos comuns, tanto paramétricos quanto não paramétricos, são fornecidas em Zar J. *Biostatistical Analysis*, 4ª ed. Ao relatar a variabilidade sobre a média, variâncias e/ou ao discutir a significância ou não significância de valores estatisticamente derivados, as recomendações do Zar devem ser consideradas, e as alegações de não significância estatística devem ser acompanhadas por análises de poder pós-teste sempre que possível.

2.7 Diretrizes para Relatórios

Se sua pesquisa envolve estudos pré-clínicos, confirme que você leu atentamente e seguiu todas as diretrizes e instruções aos autores fornecidas nas diretrizes ARRIVE antes de enviar seu manuscrito. Por favor, leia o Editorial intitulado '[Você e seu relatório de pesquisa: implementando as diretrizes ARRIVE](#)' para maiores esclarecimentos.

Você deve preencher e carregar a [lista de verificação ARRIVE](#) com seu envio.

As diretrizes relevantes para relatórios [da Rede EQUATOR](#) devem ser seguidas dependendo do tipo de estudo. Por exemplo, revisões sistemáticas e meta-análises devem incluir o fluxograma [PRISMA preenchido como uma figura citada e a lista de verificação PRISA preenchida deve ser carregada com a sua submissão como um arquivo suplementar](#). O [assistente EQUATOR](#) pode ajudá-lo a identificar a diretriz apropriada.

Outros recursos podem ser encontrados nas [Diretrizes e Iniciativas para Relatórios de Pesquisa da NLM](#).

2.8 Declaração de disponibilidade de dados de pesquisa

Todos os artigos de pesquisa devem incluir uma declaração de disponibilidade de dados no final do artigo, antes das referências ; isso deve indicar se os dados originais estão disponíveis e como podem ser acessados. A *Laboratory Animals* incentiva fortemente os autores a disponibilizarem quaisquer dados primários utilizados em seus artigos de pesquisa. Isso pode ser disponibilizado como material suplementar ou por meio de um link para um repositório de dados de terceiros e incluir informações de contato detalhadas para fontes de dados de terceiros. Exemplos de tipos de dados incluem, entre outros, arquivos de dados estatísticos, código de replicação, arquivos de texto, arquivos de áudio, imagens, vídeos, apêndices e tabelas e gráficos adicionais necessários para compreender a pesquisa original. Todos os dados enviados devem cumprir os requisitos do Conselho de Revisão Institucional ou Ética e os regulamentos governamentais aplicáveis.

[De volta ao topo](#)

3. Políticas de Publicação

3.1 Ética de publicação

A Sage está comprometida em manter a integridade do histórico acadêmico. Encorajamos os autores a consultar os [Padrões Internacionais para Autores](#) do Comitê de Ética em Publicações e a visualizar a página de Ética em Publicações no [Sage Author Gateway](#)

3.1.1 Plágio

A *Laboratory Animals* e a Sage levam muito a sério questões de violação de direitos autorais, plágio ou outras violações das melhores práticas de publicação. Procuramos proteger os direitos dos nossos autores e sempre investigamos alegações de plágio ou uso indevido de artigos publicados. Da mesma forma, procuramos proteger a reputação da revista contra práticas ilícitas. Os artigos submetidos podem ser verificados com software de verificação de duplicação. Quando for descoberto que um artigo, por exemplo, plagiou outro trabalho ou incluiu material protegido por direitos autorais de terceiros sem permissão ou com reconhecimento insuficiente, ou quando a autoria do artigo for contestada, reservamo-nos o direito de tomar medidas, incluindo, mas não se limitando para: publicar uma errata ou retificação (correção); retratando o artigo; abordar o assunto com o chefe de departamento ou reitor da instituição do autor e/ou órgãos ou sociedades acadêmicas relevantes; ou tomar as medidas legais apropriadas.

3.1.2 Publicação prévia

Se o material tiver sido publicado anteriormente, geralmente não é aceitável para publicação em uma revista Sage. No entanto, *Laboratory Animals* aceita material que tenha sido previamente publicado em um servidor de pré-impressão, arquivo institucional ou rede de colaboração acadêmica.

3.2 Contrato de publicação do Colaborador

Antes da publicação, a Sage exige que o autor, como detentor dos direitos, assine um Contrato de Publicação do Colaborador do Jornal. O Contrato de Publicação do Colaborador de Revista da Sage é um contrato de licença exclusivo, o que significa que o autor retém os direitos autorais do trabalho, mas concede à Sage o direito único e exclusivo e a licença para publicar durante todo o prazo legal dos direitos autorais. Podem existir exceções quando uma cessão de direitos autorais for exigida ou preferida por um proprietário que não seja a Sage. Neste caso os direitos autorais da obra serão cedidos do autor à sociedade. Para obter mais informações, visite o [Sage Author Gateway](#) .

3.3 Acesso aberto e arquivamento do autor

Laboratory Animals oferece publicação opcional em acesso aberto através do programa Sage Choice e acordos de acesso aberto, onde os autores podem publicar em acesso aberto com desconto ou gratuitamente, dependendo do acordo com a Sage. Descubra se a sua instituição participa visitando [Acordos de Acesso Aberto na Sage](#) . Para obter mais informações sobre as opções de publicação em Acesso Aberto na Sage, [visite Sage Open Access](#) . Para obter informações sobre a conformidade do órgão financiador e como depositar seu artigo em repositórios, [visite as Diretrizes de arquivamento e reutilização do autor](#) e [as Políticas de publicação](#) da Sage .

[De volta ao topo](#)

4. Preparando seu manuscrito para submissão

4.1 Formatação

Os formatos preferidos para o texto e tabelas do seu manuscrito são Word DOC, RTF, XLS. Arquivos LaTeX também são aceitos. O texto deverá estar em espaço duplo e com no mínimo 3cm nas margens esquerda e direita e 5cm no cabeçalho e no pé. O texto deve ter padrão 10 ou 12 pontos.

4.2 Arte, figuras e outros gráficos

Para obter orientação sobre a preparação de ilustrações, imagens e gráficos em formato eletrônico, visite as [Diretrizes para envio de manuscritos](#) da Sage .

As figuras fornecidas em cores aparecerão on-line em cores, independentemente de essas ilustrações serem ou não reproduzidas em cores na versão impressa. Para a reprodução a cores impressa especificamente solicitada, receberá informações sobre os custos da Sage após a recepção do artigo aceite.

4.3 Material suplementar

Esta revista é capaz de hospedar materiais adicionais online (por exemplo, conjuntos de dados, podcasts, vídeos, imagens, etc.) juntamente com o texto completo do artigo. Para obter mais informações, consulte nossas [diretrizes sobre o envio de arquivos suplementares](#) .

4.4 Estilo de referência

Laboratory Animals segue o estilo de referência da Sage Vancouver. Consulte as diretrizes [da Sage Vancouver](#) para garantir que seu manuscrito esteja em conformidade com este estilo de referência.

Se você usar [o EndNote](#) para gerenciar referências, poderá baixar o [arquivo de saída do Sage Vancouver EndNote](#) .

4.5 Serviços de edição em inglês

Autores que buscam assistência com edição, tradução ou formatação de figuras e manuscritos em inglês para atender às especificações da revista devem considerar o uso dos Sage Language Services. Visite [Sage Language Services](#) em nosso Journal Author Gateway para obter mais informações.

5. Enviando seu manuscrito

Laboratory Animals está hospedado no Sage Track, um sistema de submissão on-line e revisão por pares baseado na Web, desenvolvido pela ScholarOne™

Manuscripts. Visite <http://mc.manuscriptcentral.com/la> para fazer login e enviar seu artigo online.

IMPORTANTE: Verifique se você já possui uma conta no sistema antes de tentar criar uma nova. Se você revisou ou foi autor da revista no ano passado, é provável que você tenha criado uma conta. Para obter mais orientações sobre como enviar seu manuscrito on-line, visite [a Ajuda on-line do ScholarOne](#).

5.1 ORCIDA

Como parte do nosso compromisso de garantir um processo de revisão por pares ético, transparente e justo, a Sage é um membro apoiador do [ORCID](#), o Open Research and Contributor ID. ORCID fornece um identificador digital persistente que distingue os investigadores de todos os outros investigadores e, através da integração nos principais fluxos de trabalho de investigação, como submissão de manuscritos e subvenções, suporta ligações automatizadas entre investigadores e as suas atividades profissionais, garantindo que o seu trabalho é reconhecido.

A coleta de ORCID iDs dos autores correspondentes agora faz parte do processo de submissão desta revista. Se você já possui um ORCID iD, será solicitado que você o associe ao seu envio durante o processo de envio on-line. Também encorajamos fortemente todos os coautores a vincular seu ORCID ID às suas contas em nossas plataformas online de revisão por pares. Leva alguns segundos para fazer: clique no link quando solicitado, faça login em sua conta ORCID e nossos sistemas serão atualizados automaticamente. Seu ORCID iD se tornará parte dos metadados de sua publicação aceita, tornando seu trabalho atribuível a você e somente a você. Seu ORCID iD é publicado com seu artigo para que outros pesquisadores que leiam seu trabalho possam vincular-se ao seu perfil ORCID e, a partir daí, vincular-se a suas outras publicações.

Se você ainda não possui um ORCID iD, siga este [link](#) para criar um ou visite nossa [página inicial do ORCID](#) para saber mais.

5.2 Informações necessárias para completar seu envio

Você será solicitado a fornecer detalhes de contato e afiliações acadêmicas de todos os coautores por meio do sistema de submissão e identificar quem será o autor correspondente. Esses detalhes devem corresponder ao que aparece no seu manuscrito. A afiliação listada no manuscrito deve ser a instituição onde a pesquisa foi realizada. Se um autor mudou para uma nova instituição após a conclusão da pesquisa, a nova afiliação poderá ser incluída em uma nota do manuscrito no final do artigo. Nesta fase, certifique-se de ter incluído todas as declarações e declarações exigidas e de ter carregado quaisquer arquivos suplementares adicionais (incluindo diretrizes para relatórios, quando relevante).

5.3 Permissões

Certifique-se também de ter obtido qualquer permissão necessária dos detentores dos direitos autorais para reproduzir quaisquer ilustrações, tabelas, figuras ou citações extensas publicadas anteriormente em outro lugar. Para obter mais informações, incluindo orientações sobre negociação justa para críticas e análises, consulte a página Direitos autorais e permissões no [Sage Author Gateway](#).

6. Sobre aceitação e publicação

6.1 Produção de Sálvia

Seu Editor de Produção Sage irá mantê-lo informado sobre o progresso do seu artigo durante todo o processo de produção. As provas serão disponibilizadas ao autor correspondente através do nosso portal de edição Sage Edit ou por e-mail, e as correções deverão ser feitas diretamente ou notificadas imediatamente. Os autores são lembrados de verificar cuidadosamente suas provas para confirmar se todas as informações do autor, incluindo nomes, afiliações, sequência e detalhes de contato estão corretas, e que as declarações de financiamento e conflito de interesses, se houver, são precisas.

6.2 On-line Primeira publicação

O Online First permite que artigos finais (artigos concluídos e aprovados aguardando atribuição para um número futuro) sejam publicados online antes de sua inclusão em um número do periódico, o que reduz significativamente o tempo entre a submissão e a publicação. Visite a [página de ajuda do Sage Journals](#) para obter mais detalhes, incluindo como citar artigos do Online First.

6.3 Acesso ao seu artigo publicado

Sage fornece aos autores acesso online ao seu artigo final.

6.4 Promovendo seu artigo

A publicação não é o fim do processo! Você pode ajudar a divulgar seu artigo e garantir que ele seja lido e citado da forma mais ampla possível. O Sage Author Gateway possui vários recursos para ajudá-lo a promover seu trabalho. Visite a página [Promova seu artigo](#) no Gateway para dicas e conselhos.

7. Mais informações

Qualquer correspondência, dúvida ou solicitação adicional de informações sobre o processo de submissão de manuscritos deverá ser encaminhada à redação de *Animais de Laboratório* da seguinte forma:

Escritório Editorial: LAeditorial@sagepub.co.uk