



Artigo Original

COMPARATIVO HISTOPATOLÓGICO DA REPARAÇÃO INTESTINAL E MUSCULAR DE COELHOS (*Oryctolagus cuniculus*) APÓS SUTURA COM FIOS DE QUITOSANA OU POLIGLECAPRONE: RESULTADOS PARCIAIS

Camila Pires de Moraes Teodoro Guimarães^{1*}, Saulo Humberto de Ávila Filho¹¹ Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí. Rod. Geraldo Silva Nascimento, km 2,5, Zona Rural, Cep 75790-000, Urutaí, GO.* Autor correspondente. E-mail: camilaprsm@outlook.com

INFO ARTICLE

Histórico do artigo

Recebido: 31 de julho de 2019

Aceito: 11 de setembro de 2019

Palavras-chaves:

Biomaterial
Cicatrização
Enterorrafia
Fio de sutura
Laparorrafia

RESUMO

A quitosana é um biomaterial que está em ascensão nas áreas biomédicas, sendo utilizado com diversos fins, devido seu potencial cicatrizante, antimicrobiano e indutor de pouca reação tecidual. Entretanto há poucos estudos sobre sua eficiência no ramo da cirurgia. Objetivou-se analisar, microscopicamente, o processo cicatricial intestinal e muscular, após o uso de fio de quitosana ou poliglecaprone empregados na cecorrafia e laparorrafia em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). Foram utilizados 42 coelhos, alocados em dois grupos, Quitosana ou Poliglecaprone, contendo 21 animais cada. Os lagomorfos foram então submetidos aos procedimentos cirúrgicos acima citados, utilizando-se os fios que nomeiam seu grupo nas suturas do intestino, musculatura e subcutâneo. No 5°, 15° e 25° dias pós-operatório, sete animais de cada grupo eram eutanasiados a fim de se colher amostras para análise histopatológica. As lâminas foram coradas com Hematoxilina & Eosina, visando avaliar semi-quantitativamente a intensidade da reação tecidual cicatricial presente nas amostras. Na análise histológica, a cicatrização muscular diferiu entre os grupos quanto a intensidade do tecido de granulação ao 15° dia pós-operatório ($p=0,014$), bem quanto a quantidade de células mononucleares ($p=0,024$) e tecido de granulação ($p=0,006$) ao 25° dia pós-operatório. Na análise intestinal, os grupos se diferenciaram, em todos os tempos de avaliação, quanto a intensidade do tecido de granulação (5° dia $p=0,031$; 15° dia $p=0,027$; 25° dia $p=0,019$). Adiciona-se que no 15° dia também se evidenciou diferença estatística na quantidade de células mononucleares ($p=0,020$). Por fim ao 25° dia houve diferença na quantidade de células gigantes ($p=0,045$). Conclui-se que o fio de quitosana estimulou de maneira mais intensa a proliferação de tecido de granulação, e assim como, o fio de poliglecaprone, foi eficaz em garantir a cicatrização do ceco e da parede do abdômen, mostrando que o primeiro fio possui potencial futuro para utilização em cirurgias que envolvam essas regiões anatômicas.

1. Introdução

Na rotina da Medicina Veterinária são realizados diversos procedimentos cirúrgicos e dentre eles, os que envolvem a cavidade abdominal são os mais frequentes. Dessa forma, faz-se necessário a utilização de fios de sutura, com objetivo de aproximar as bordas da ferida cirúrgica por tempo suficiente para sua cicatrização. Com o passar dos

anos, houve uma grande evolução dos fios de sutura disponíveis no mercado, com o objetivo de não promoverem aderências, não causarem reações alérgicas e promoverem baixas reações teciduais. Contudo, ainda não existe um fio disponível no mercado que possua todas essas características.

Dessa forma, durante os preparos de um procedimento cirúrgico, o tipo de fio a ser utilizado deve ser

escolhido com cautela, considerando-se as características do tecido a ser suturado e do tipo de ferida. Nos procedimentos de laparorráfia e cecorrafia, ainda não há um consenso de qual o melhor fio a ser utilizado. Na espécie equina, o índice de deiscência de suturas em procedimentos de enterorráfias são elevados, exigindo a realização de estudos na área.

Um dos fios de sutura comumente utilizado em cecorrafias nos dias atuais, é o de poliglecaprone 25 (Monocryl®, Caprofil®). Este é um fio composto por 75% de glicólica e 25% de coprolactona. É um fio monofilamentar absorvível sintético, com alta resistência tênsil inicial, porém com elevada taxa de degradação da força tênsil, chegando a perder 70% de sua força inicial em duas semanas (Nary Filho, et al., 2002). Por fim destaca-se que induz de baixa reação tecidual, quando comparado a outros fios disponíveis no mercado, como o de poliglactina 910, catégute ou algodão (Okamoto; Yabushita; Nakama, 2003).

A quitosana, um biomaterial obtido da desacetilação da quitina, encontrada no exoesqueleto de crustáceos, é o segundo polissacarídeo mais disponível na natureza (Senel & McClure, 2004). Foram produzidos alguns produtos farmacêuticos, como pomadas cicatrizantes a base de quitosana, que possui resultados promissores nos tratamentos de feridas, promovendo boa resposta cicatricial, atoxicidade, efeito bacteriostático, fungicida e hemostático (Aranaz et al., 2009). Logo, foi fabricado um fio de sutura a base de quitosana, com o objetivo trazer todos esses bons resultados para a cicatrização da ferida cirúrgica e consequentemente diminuir as taxas de deiscência (Godeiro, 2010).

Para avaliar esse processo cicatricial, pode ser realizada a análise histológica, observando presença de neutrófilos, macrófagos, linfócitos, tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e tecido específico da região analisada (Hesketh et al., 2017). Para tanto faz-se necessário a utilização de um microscópio óptico e a utilização de técnicas de coloração histológicas tal como a Hematoxilina & Eosina (Junqueira & Carneiro, 2008).

Face ao exposto, o presente estudo visa analisar, microscopicamente, o processo cicatricial intestinal e muscular, após o uso de fio de quitosana ou poliglecaprone empregados na cecorrafia e laparorráfia em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*).

2. Material e métodos

Primeiramente, ressalta-se que as atividades de pesquisa que originaram este artigo só se iniciaram após a aprovação do Projeto de Pesquisa pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Goiás, com protocolos número 013/18 e 096/15.

Os animais ficaram acomodados na Unidade de Experimentação para Roedores e Lagomorfos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Os lagomorfos foram manejados em gaiolas individuais confeccionadas em aço, medindo (50cm X 60cm), tiveram livre acesso à água, ração peletizada (do Sítio Coelhoão®, Guabi, Anápolis, Goiás-Brasil). O ambiente era climatizado, estabelecendo uma temperatura média de 22°C, garantida por ar-condicionado e iluminado com luz artificial, durante 12 horas ao longo do dia.

No experimento foram utilizados 42 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), machos, albinos, da raça Nova Zelândia, com peso médio de 3,0 kg e com aproximadamente 120 dias de vida. Os animais foram alocados em dois principais grupos contendo 21 animais cada, de acordo com o tipo de fio utilizado na sutura do ceco e laparorráfia mediana (grupo Q e grupo P). No grupo Q, os animais foram submetidos a cecorrafia e laparorráfia mediana com fio de quitosana. No grupo P, a cecorrafia e a laparorráfia foram

realizadas com fio de poliglecaprone 25. De acordo com o período de observação transcorrido entre a intervenção cirúrgica e, conseqüente eutanásia dos coelhos, cada grupo principal foi subdividido em três subgrupos, totalizando seis tratamentos. Os subgrupos foram denominados Q-5, Q-15, Q-25, P-5, P-15, P-25, tendo em vista que a eutanásia dos animais foi realizada no 5^o, 15^o e 25^o dias após a intervenção cirúrgica.

Para realização do procedimento cirúrgico, o fio de quitosana foi obtido junto à empresa Medovent GmbH Implants That Care localizada em Mainz, Alemanha. Produção referente ao lote nº F16-1010/01, com comprimento de 45cm e espessuras 4.0 e 0.0 no padrão USP. Posteriormente foram agulhados em agulha traumática semicircular e esterilizados sobre ação de óxido de etileno na empresa FBMFARMA indústria farmacêutica, localizada em Anápolis-GO, Brasil. Já o fio de poliglecaprone 25, foi adquirido da empresa Shalon (Brasil - Goiás - Goiânia) o qual já é comercializado com fio esterilizado e agulhado.

No momento pré-operatório, os animais foram submetidos a uma ampla tricotomia da região abdominal, desde o processo xifoide até a região retro-púbica, incluindo a face medial das coxas, com máquina de tricotomia Andes AGC acoplada com lâmina nº 50. Não foi realizado jejum pré-operatório. A conduta anestésica obedeceu aos passos de medicação pré-anestésica, acesso venoso, indução e manutenção. Inicialmente, os coelhos receberam as medicações pré-anestésicas de cetamina 10,0 mg/kg, midazolam 0,2 mg/kg e xilazina 1,0 mg/kg todos na mesma seringa e aplicados por via intra-muscular (IM). Seguindo realizou-se o acesso da veia safena ou marginal auricular para infusão de fármaco e solução de ringer com lactato durante o ato cirúrgico.

Dando continuidade, a indução foi realizada com propofol, por via intravenosa (IV), com aplicação dose efeito, necessitando, na maioria dos animais, uma dose de 2,0 mg/kg. Na sequência, procederam-se com a intubação orotraqueal com traqueotubo D3,5 mm com cuff, 75 necessária para proteção da via aérea, oxigenação e manutenção da anestesia. Este último processo foi realizado com isoflurano (1-3%) diluído e vaporizado em oxigênio, no aparelho de anestesia inalatória HB, com circuito sem reinalação de gases (aberto) e ventilação manual, caso necessário, com balão de 500mL. Para controle da dor no período intra-operatório, aplicouse fentanil na dose de 5,0µg/kg, via IV. Imediatamente após a indução, iniciou-se a antibioticoterapia com 10,0mg/kg de enrofloxacino e administrou-se 15mg/kg em dose única de metronidazol, ambos pela via IV.

Após a anestesia, os coelhos foram posicionados em decúbito dorsal em mesa de inox plana. A antisepsia foi realizada em duas etapas, sendo a primeira, prévia, com clorexidine 2% com tensoativo e álcool e, a segunda, definitiva, com clorexidine 0,5% alcoólica. Dando início ao ato cirúrgico propriamente dito, realizou-se uma incisão com cinco centímetros de comprimento, com lâmina nº 20, pré-retro umbilical, atingindo todos os planos da linha alba, sequencialmente, a pele, tecido subcutâneo e fáscia do músculo reto abdominal. Ato contínuo, o ceco foi localizado e isolado das outras vísceras contidas na cavidade abdominal, por compressas umedecidas com solução de Ringer com Lactato. Previamente à enterotomia, procedeu-se a ordenha da alça, do sentido craniocaudal e, conseqüentemente, fazendo o deslocamento do conteúdo intestinal. Para manter o conteúdo afastado do local da incisão, realizou-se compressão digital leve sobre o segmento intestinal até a realização da sutura.

A enterotomia do ceco foi realizada por incisão longitudinal, atingindo todas as camadas, incluindo serosa, muscular, submucosa e mucosa. Foi iniciada com uma

punção incisão, com auxílio de uma lâmina de bisturi nº 15 e prolongada por dois centímetros, com tesoura romba-fina, evitando-se atingir grandes vasos na borda anti-mesentérica. Em seguida, realizou-se cecorrafia com pontos em padrão separado simples, espaçamento de quatro milímetros alcançando todas as camadas, utilizando-se fio de quitosana 4.0 USP (grupo Q) ou fio de poliglecaprone 25 de mesma espessura (grupo P). Após a cecorrafia, promoveu-se limpeza da cavidade abdominal com solução de Ringer Lactato aquecida. Seguindo-se, a laparorrafia foi realizada com padrão de sutura Sultan (X) utilizando fio de quitosana (grupo Q) de espessura 0 pelo padrão USP e poliglecaprone (grupo P) de mesma espessura. O tecido subcutâneo foi suturado aplicando-se sutura em padrão contínuo simples modificado com fio de poliglecaprone ou quitosana, de acordo com o agrupamento. Por fim, a dermorrafia, nos animais dos dois grupos, foi efetuada com fio de Náilon 3.0 em padrão simples separado. A remoção dos pontos ocorreu no 12º dia após a intervenção cirúrgica.

No pós-operatório, os pacientes foram medicados com 3,0mg/kg/SC/BID de tramadol e 0,6mg/kg/SC/SID de meloxicam durante três dias consecutivos. A antibioticoterapia foi realizada com 7,0mg/kg/SC/SID de enrofloxacino durante sete dias. Visando minimizar a ocorrência de íleo adinâmico os animais foram medicados com 0,5mg/kg/SC/BID de metoclopramida e 1,0mg/kg/SC/BID de ranitidina, durante os primeiros três dias.

No 5º, 15º e 25º dia do pós-operatório, os animais foram submetidos à eutanásia com sobredoses 15mg/Kg (três vezes a dose de indução) de propofol, administrado por via intravenosa, técnica a qual está de acordo com as normas da Resolução Normativa nº 13, de 20.09.2013, publicada no D.O.U. de 26/09/2013, Seção I, pág. 5. Após esse procedimento, realizou-se a necropsia, na qual foram colhidas biópsias do intestino e da musculatura abdominal, região de sutura e tecido hígido de todos os animais, através de fragmentos que tiveram medidas aproximadas a 3,0x1cm. Posteriormente, os cadáveres foram incinerados.

As amostras foram conservadas respeitando a proporção de 1/10 (tecido/fixador), em coletores universais de 80 ml contendo solução de formalina a 10%, e armazenadas por 48 horas, sendo transferidas após este período, para recipiente com álcool 70%, no qual permaneceram até o momento do processamento.

As amostras, posteriormente passaram por desidratação em crescentes concentrações de álcool 70% a 100%. Após, foi realizada a diafanização e clareamento com substituição do álcool pelo xilol, tornando a amostra incolor. Em seguida, foram incluídas em blocos de parafina e cortadas em micrótomo na espessura de 5 µm e, em seguida, coradas com as técnicas histológicas de Hematoxilina & Eosina (Junqueira & Carneiro, 2008).

As avaliações microscópicas tiveram objetivo de classificar a qualidade e intensidade do processo de cicatrização (celularidade, edema, degeneração, tecido de granulação) por método qualitativo aplicando-se escore de acordo com presença ou ausência de diferentes variáveis microscópicas. Para tal, foram estabelecidos escores para as variáveis celularidade, granulação e degeneração, sendo escore de intensidade discreta (1), moderado (2), acentuado (3).

A leitura das lâminas foi realizada às cegas por dois observadores utilizando-se microscópio óptico acoplado a um sistema de captura de imagens. Foram avaliados campos aleatórios da região da ferida, com magnificação de 40, 100 e

400 X. Os dados referentes à avaliação microscópica foram obtidos pela média dos valores dos escores de cada variável da resposta inflamatória estudada. A diferença estatística entre os grupos foi avaliada com o teste de Kruskal Wallis, com posterior comparação das médias pelo teste do critério FDR (False Discovery Rate – Taxa de Falsa Descoberta). Para isso, foi utilizado o auxílio do *software* R (Core Development Core Team, 2016) e adotado nível de significância de 5%.

3. Resultados

Ao final da fase experimental obteve-se 42 lâminas de vidro coradas com Hematoxilina & Eosina. Destas, destaca-se que se cuidou, no momento da clivagem, para que todos os cortes constassem com a presença do material de sutura. Assim certificou-se que a região avaliada era realmente a região de interesse, a região de cicatrização peri-implante.

Quanto a avaliação histopatológica, inicialmente, observou-se que as lâminas obtidas da musculatura e intestino, após o 5º, 15º e 25º dia pós-operatório, demonstravam, respectivamente, as três fases da cicatrização: fase inflamatória, fase proliferativa e fase de maturação.

Durante à análise das lâminas da musculatura, foi possível observar ao 5º dia pós-cirúrgico que havia apenas um discreto infiltrado polimorfonuclear e mononuclear. Adiciona-se também que foi constatada discreta intensidade de células gigantes, além de se encontrar áreas focais de hemorragia. Por outro lado, a degeneração de fibras musculares foi encontrada de maneira multifocal. Por sua vez, a intensidade do tecido de granulação foi ranqueada de moderada a intensa. Entretanto, quando comparado os grupos Quitosana e Poliglecaprone, por meios estatísticos, não se evidenciaram diferenças para as variáveis analisadas nesse tempo de pós-cirúrgico.

Ao 15º dia pós-cirúrgico, observou-se um aumento na intensidade de células mononucleares, porém de maneira similar para os dois grupos. Da mesma forma, quanto à presença de células gigantes, viu-se uma maior intensidade dessas, em relação ao 5º dia de pós-cirúrgico. A partir deste momento não foram mais observadas regiões de hemorragia ou edema. Por sua vez, a degeneração das fibras musculares, embora ainda encontradas de maneira multifocal, demonstraram menos intensas. Para este período avaliatório, destacou-se a intensidade do tecido de granulação, uma vez que esta variável foi a única que apresentou diferença estatística entre os grupos ($p=0,014$), sendo de intensidade moderada no grupo Q e, apenas, de intensidade discreta no grupo P.

Ao 25º dia pós-cirúrgico, na observação de células mononucleares, notou-se presença mais intensa no grupo Q, apresentando diferença estatística entre os grupos ($p=0,024$). Neste momento também se observou uma redução na intensidade de células gigantes encontradas para ambos os fios, sem apresentar diferença estatística entre os grupos. Foi observado escore que variaram de focal à multifocal para a degeneração de fibras musculares em ambos os fios. Por fim, em relação a intensidade de tecido de granulação, esta foi maior no grupo Q, apresentando diferença estatística entre os grupos ($p=0,006$) (Figura 1).

Todas as médias obtidas das variáveis analisadas, podem ser observadas na Tabela 1. Quanto à esta, ressalta-se que há partir do 15º dia pós-operatório não foi evidenciado edema, assim, esta variável subtraída da tabela para os ditos períodos de avaliação.

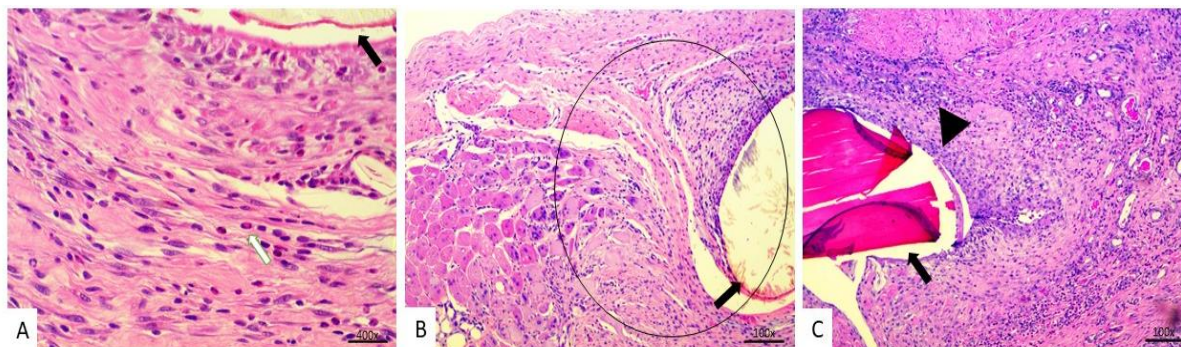


Figura 1. Fotomicrografias óptica da reparação muscular de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), submetidos a laparotomia mediana com fios de quitosana ou poliglicaprone, coradas com Hematoxilina & Eosina, observadas em diferentes magnificação e tempo pós-operatório. A: infiltrado polimorfonuclear discreto (seta branca) ao 15º dia de pós-operatório utilizando-se fio de poliglicaprone (seta preta) ; magnificação de 400x. B: Tecido de granulação moderado (circunferência) ao 15º dia pós-operatório utilizando fio de poliglicaprone (seta preta); magnificação de 100x. C: moderada presença de infiltrado mononuclear (ponta de seta preta) ao 25º dia pós-operatório utilizando fio de quitosana (seta preta); magnificação de 100x.

Tabela 1. Comparativo entre as médias de escores das variáveis histológicas observadas nas laparotomias medianas, com fios de quitosana ou poliglicaprone, em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), em diferentes tempos pós-operatório.

	Variável	p	Conclusão	Média (FDR)		Mediana	
				Q	P	Q	P
				5º dia pós-operatório			
	Polimorfonucleares	0,656	=	0,286 (A)	0,286 (A)	0	0
	Mononucleares	0,141	=	1 (A)	1,286 (A)	1	1
	Células gigantes	0,317	=	0 (A)	0,142 (A)	0	0
	Edema	0,892	=	0,857 (A)	1 (A)	1	1
	Degeneração	0,684	=	1,714 (A)	1,857 (A)	2	2
	Tec. granulação	0,244	=	1,714 (A)	1,285 (B)	2	1
15º dia pós-operatório							
	Variável	p	Conclusão	Média (FDR)		Mediana	
				Q	P	Q	P
	Polimorfonucleares	0,084	=	0,857 (A)	0,142(A)	1	0
	Mononucleares	0,298	=	1,571 (A)	1,285(A)	2	1
	Células gigantes	0,076	=	1,420 (A)	2,428 (A)	1	3
	Degeneração	0,467	=	1,428 (A)	1,571 (A)	1	2
	Tec. granulação	0,014	≠	2,285 (A)	1,428 (B)	2	1
25º dia pós-operatório							
	Variável	p	Conclusão	Média (FDR)		Mediana	
				Q	P	Q	P
	Polimorfonucleares	0,061	=	1 (A)	0 (A)	0	0
	Mononucleares	0,024	≠	1,857 (A)	1 (A)	2	1
	Células gigantes	0,023	=	1,142 (A)	1,857 (A)	1	1
	Degeneração	0,366	=	1,857 (A)	1,571 (A)	2	1
	Tec. granulação	0,006	≠	2,285 (A)	1,285 (B)	2	1

Em seguida foram analisadas as lâminas intestinais, nas quais ao 5º dia pós-operatório, a quantidade de células polimorfonucleares foram discretas, enquanto as células mononucleares apresentaram escore que variavam de moderado a intenso, mas ambas sem diferença estatística entre os grupos. Não foram encontradas células gigantes. Avaliando a presença de regiões hemorrágicas e de edema, ambos os fios apresentaram escore discreto. Analisando a intensidade do tecido de granulação, esta foi maior para o fio de quitosana, apresentando diferença estatística em relação ao fio de poliglicaprone ($p=0,031$).

Passados 15 dias da cirurgia, notou-se a diminuição da quantidade de células polimorfonucleares, se comparado com a análise ao 5º dia de pós-operatório. Na avaliação das células mononucleares, também foi observado diminuição na intensidade, com diferença estatística entre os grupos Q e P ($p=0,020$). Quanto a presença de células gigantes, estas se encontravam com intensidade discreta (Figura 2). Em nenhum dos grupos foram observadas regiões de hemorragia ou edema. Quanto a formação de tecido de granulação, este foi mais intenso no grupo Q, apresentando diferença estatística ($p=0,027$) (Tabela 2).

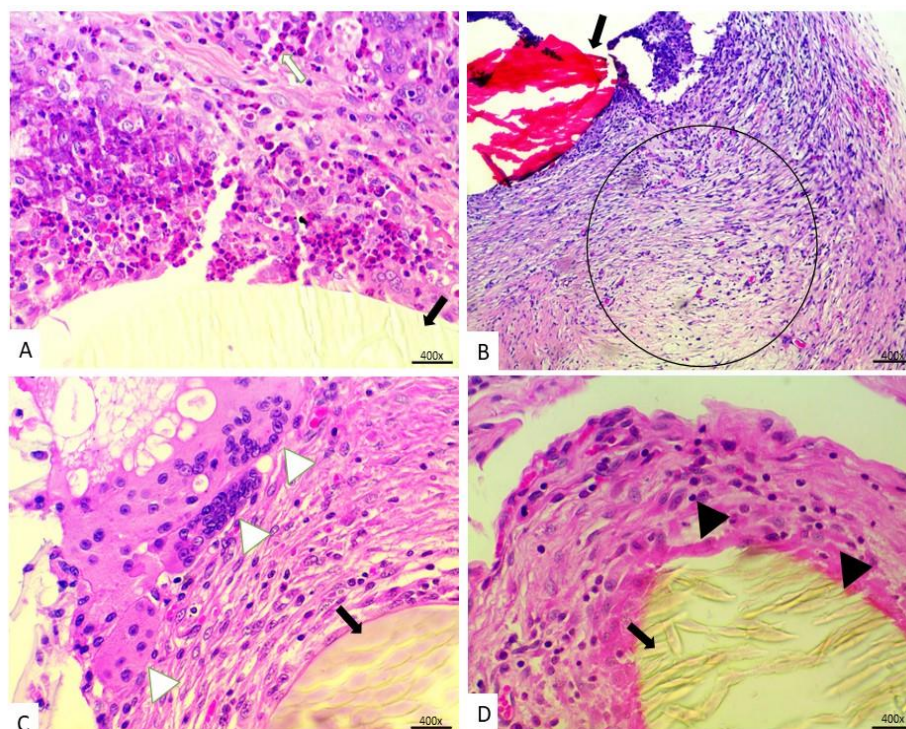


Figura 2. Fotomicrografias óptica da reparação intestinal de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), submetidos a cecorrafia com fios de quitosana ou poliglicaprone, coradas com Hematoxilina & Eosina, observadas em diferentes aumentos e tempo pós-operatório. A: Infiltrado polimorfonuclear (seta branca) discreto ao 15º dia pós-cirúrgico com fio de poliglicaprone (seta preta); magnificação de 400x. B: Tecido de granulação (circunferência) intenso ao 15º dia pós-operatório com fio de quitosana (seta preta); magnificação de 100x. C: Células gigantes (ponta de seta branca) ao 25º dia pós-cirúrgico com fio de poliglicaprone (seta preta); magnificação de 400x. D: Presença discreta de infiltrado células mononucleares (ponta de seta preta) ao 15º dia pós-cirúrgico com fio de poliglicaprone (seta preta); magnificação de 400x.

Ao 25º dia pós-cirúrgico, a presença de células polimorfonucleares foi ainda mais discreta, não apresentando diferença estatística. Houve diminuição de células mononucleares, também sem diferença estatística. Foi encontrada maior quantidade de células gigantes, em relação aos outros períodos, tendo maior intensidade no grupo P,

apresentando diferença estatística ($p=0,045$). Assim como no período de avaliação anterior, não foram observadas áreas hemorrágicas ou com edema. O fio de quitosana ocasionou uma formação mais intensa de tecido de granulação que o fio de poliglicaprone, apresentando diferença estatística ($p=0,019$).

Tabela 2. Comparativo entre as médias de escores das variáveis histológicas observadas nas cecorrafias, com fios de quitosana ou poliglicaprone, em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), em diferentes tempos pós-operatório.

	Variável	p	Conclusão	Média (FDR)		Mediana	
				Q	P	Q	P
				5º dia pós-operatório			
	Polimorfonucleares	0,424	=	0,857 (A)	0,571 (A)	1	1
	Mononucleares	0,220	≠	1,857 (A)	2,428 (B)	2	3
	Células gigantes	0,317	=	0 (A)	0,142 (A)	0	0
	Edema	0,141	=	0 (A)	0,286 (A)	0	0
	Tec. de granulação	0,031	≠	2,857 (A)	1,857 (B)	3	2
15º dia pós-operatório							
	Polimorfonucleares	0,875	=	0,833 (A)	1,142 (A)	0	0
	Mononucleares	0,013	≠	1,833 (A)	0,857 (B)	2	1
	Células gigantes	0,629	=	0,333 (A)	0,571 (A)	0	0
	Tec. de granulação	0,040	≠	2,833 (A)	1,857 (B)	3	2
25º dia pós-operatório							
	Polimorfonucleares	0,496	=	0,285 (A)	0,571 (A)	0	0
	Mononucleares	0,375	=	1,428 (A)	1,285 (A)	1	1
	Células gigantes	0,045	≠	0,285 (A)	1,428 (B)	0	2
	Tec. de granulação	0,019	≠	2,285 (A)	1,285 (B)	2	1

4. Discussão

Os estudos com o fio a base de quitosana ainda são escassos (Nakajima et al., 1986; Huaixan, 2013; Montenegro & Godeiro, 2014) necessitando da realização de mais pesquisas para melhor elucidar as propriedades desse material no ramo da cirurgia e, conseqüentemente, analisar se seu uso poderá auxiliar na redução da incidência de problemas cicatriciais, como deiscência de sutura, processo inflamatório intenso e aderências.

O processo de cicatrização do procedimento de laparorráfia e cecorráfia é do tipo crônico. Durante a reparação tecidual ocorre a migração de células polimorfonucleares, mononucleares, formação de neovasos e proliferação de tecido de granulação (Kumar; Abbas; Aster, 2013).

Assim como observado em outro trabalho (Hosgood, 2006), que estudou a cicatrização cutânea, as avaliações aqui feitas nos períodos pós-cirúrgicos com 5, 15 e 25 dias, nos permitiram identificar as três fases do processo de cicatrização. Fases estas denominadas didaticamente como inflamatória, proliferativa e de maturação.

Os resultados das análises das lâminas coradas com Hematoxilina & Eosina mostraram que as médias observadas nos grupos Q5 e P5 na variável de células polimorfonucleares foram menores que o esperado. Resultados semelhantes foram encontrados por Brito, et al. (2008), ao analisar a reação tecidual em ratos com implante subcutâneo de membrana de quitosana. Sabe-se que o pico de migração de células polimorfonucleares ocorre nas primeiras 24-72 horas, posteriormente tem-se a proliferação de macrófagos, caracterizando a fase inflamatória da cicatrização. De acordo com o observado neste relato, ao avaliar-se as lâminas por meio histológico, ao 5º dia pós-operatório não foi possível evidenciar elevada intensidade destas células. É creditado este achado a uma colheita tardia, não sendo possível evidenciar o pico de migração e infiltração de células polimorfonucleares.

Com 2 a 3 semanas da lesão, inicia a proliferação de tecido de granulação, que é resultante da deposição de tecido conjuntivo com infiltrado fibromonocelular e germinação de neovasos. Esta fase da cicatrização é então denominada de fase proliferativa (Tazima; Vicente; Moriya, 2008). O tecido de granulação é de extrema importância para o processo cicatricial, uma vez que a partir de sua proliferação, se inicia a deposição de uma nova matriz celular, pelos fibroblastos (Medrado, Costa, Prado, Reis, & Andrade, 2010). Neste trabalho foi possível observar aos 15 dias pós-cirúrgico, em ambos os grupos a segunda fase do processo de cicatrização, que é a fase proliferativa. Entretanto ficou evidenciado que esta se apresentou de forma mais intensa no grupo Q. Tal achado também foi identificado no estudo de Martins et al. (2013), no qual após emprego de membrana de quitosana em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em equinos, relataram a proliferação de tecido de granulação de forma intensa, mostrando seu potencial efeito indutor da fase proliferativa da reparação tecidual. Assim conjectura-se que a quitosana favorece a cicatrização por promover quimiotaxia para fibroblastos ou ainda estimular por meio de fatores de crescimento a função deste grupo celular, favorecendo assim fase proliferativa da cicatrização.

5. Conclusões

Conclui-se que o fio de quitosana estimulou de maneira mais intensa a proliferação de tecido de granulação, e assim como, o fio de poliglicaprone, foi eficaz em garantir a cicatrização do ceco e da parede do abdômen, mostrando que o primeiro fio possui potencial futuro para utilização em

cirurgias que envolvam essas regiões anatômicas. Para tanto, faz-se necessário a realização de outros estudos, incluindo análises com outras colorações histológicas, avaliações imuno-histoquímica, avaliações tensiométricas, bem como realização de novos experimentos incluindo o fio em outras espécies e outras regiões anatômicas, para assim melhor caracterizar os possíveis impactos deste biomaterial e introduzi-lo de maneira efetiva na rotina.

6. Referências

- Aranaz I, et al. (2009). Functional characterization of chitin and chitosan. *Curr Chem Bio*, 3, 203-230.
- Brito, M. K. M., Schellini, S. A., Padovani, C. R., Pellizzon, C. H., T & Neto, C. G. (2008). Inclusões de quitosana no subcutâneo de rato: avaliação clínica, histológica e morfométrica. *An Bras Dermatol*, 84(1), 35-40.
- Godeiro, J. R. S. (2010). Estudo comparativo da reação tecidual entre fios de nylon e quitosana em suturas no peritônio de ratos. (Dissertação de mestrado) Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Brasil.
- Hesketh, M., Sahin, K. B., West, Z. E. & Murray, R. Z. (2017). Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1545-55.
- Hosgood, G. (2006). Stages of wound healing and their clinical relevance. *Vet Clin N Am*, 36, 667-85.
- Huaixan, L. N. (2013). Comparação entre as histerorráfias com fios de sutura dos tipos catgut e quitosana: Macroscópica, histoquímica e imuno-histoquímica. (Dissertação de mestrado). Universidade de Brasília, Faculdade Agronomia e Medicina Veterinária, Brasil.
- Junqueira, L. C. & Carneiro, J. (2008). *Histologia e seus Métodos de Estudo*. In: L. C. Junqueira & J. Carneiro (Eds) *Histologia Básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- Kumar, V., Abbas, A. K. & Aster, J. C. (2013). *Robbins Patologia Básica*. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda.
- Martins, E. A. N., Invernizzi, M. S., Campos, M. G. N., Teodoro, P. A., Contieri, M. B. & Da Silva, L. C. L. C. (2013). Emprego de membrana de quitosana em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em equinos. *Ciência Rural*, 43(10), 1824-1830.
- Medrado, A., Costa, T., Prado, T., Reis, S. & Andrade, Z. (2010). Phenotype characterization of pericytes during tissue repair following low-level laser therapy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 26, 192-197.
- Montenegro, R. & Godeiro J. R. G. (2014). Chitosan based suture - focusing on the real advantages of an outstanding biomaterial. *Adv Chitin Sci*, 14, 211-216.
- Nakajima, M., Atsumi, K., Kifune, K., Miura, K. & Kanamaru, H. (1986). Chitin is an effective material for sutures. *Jap J Surg*, 16,418-424.
- Nary Filho, H., Matsumoto, M. A., Batista, A. C., Lopes, L. C., Sampaio Góes, F. C. G. & Consolaro, A. (2002). Comparative Study of Tissue Response to Polyglycaprone 25, Polyglactin 910 and Polytetrafluorethylene Suture Materials in Rats. *Braz Dent J*, 13(2), 86-91
- Okamoto, T., Yabushita, L. K., Nakama, H. H. & Okamoto, R. (2003). Processo de reparação cutânea após incisão e sutura com fios de poliglicatina 910 e poliglicaprone 25: estudo microscópico comparativo em ratos. *Revista Odontológica de Araçatuba*, 24(2), 62-67.
- Senel, S. & McClure, S. J. (2004). Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advance Drug Delivery Review*, 56, 1467-80.
- Tazima, M. F. G. S., Vicente, Y. A. M. V. A. & Moriya, T. (2008). *Biologia da ferida e cicatrização*. Simpósio: Fundamentos em Clínica Cirúrgica, Ribeirão Preto.