

Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras

The use of tilapia skin (Oreochromis niloticus), as an occlusive biological dressing, in the treatment of burn wounds

El uso de piel de tilapia (Oreochromis niloticus), como apósito biológico oclusivo, en el tratamiento de quemaduras

Edmar Maciel Lima-Junior, Nelson Sarto Picollo, Marcelo José Borges de Miranda, Wesley Lyeverton Correia Ribeiro, Ana Paula Negreiros Nunes Alves, Guilherme Emilio Ferreira, Ezequiel Aguiar Parente, Manoel Odorico Moraes-Filho

RESUMO

Objetivo: Avaliar a utilização da pele de tilápia do Nilo como curativo oclusivo temporário nas queimaduras de segundo grau superficial e profunda em ratos. **Método:** Estudo prospectivo, quali-quantitativo, no qual foram utilizados 40 ratos machos Wistar submetidos à cirurgia para produção de queimadura, divididos aleatoriamente em quatro grupos: C1, no qual as feridas foram lavadas com solução salina; C2, no qual o curativo aberto foi tratado com sulfadiazina de prata a 1%; T1, queimadura de 2º grau superficial, tratado com curativo oclusivo utilizando a pele de tilápia; e T2, queimadura de 2º grau profundo, igualmente tratado com pele de tilápia. Os animais foram tratados e acompanhados por 22 dias. No último dia, os animais foram anestesiados para realização de biópsia, coleta de sangue e foram eutanasiados. **Resultados:** No dia 21, os grupos T1 e T2 demonstravam melhor delineamento dos bordos da ferida. O exame microscópico revelou que amostras dos grupos T1 e T2 eram representadas por tecido conjuntivo fibroso destituído de revestimento epitelial, exibindo infiltrado inflamatório histiocitoplasmocitário, com graus variados de intensidade, e permeado por ocasionais granulócitos polimorfonucleares neutrófilos restritos à região superficial. Nos grupos C2, T1 e T2 observava-se que o tecido conjuntivo profundo apresentava-se livre de inflamação. Os exames de sangue não apresentaram alterações significativas ($p < 0,05$). **Conclusão:** A pele da tilápia apresentou boa aderência no leito das feridas induzidas por queimaduras nos ratos, interferindo positivamente no processo cicatricial. Estes resultados possibilitam o prosseguimento das investigações para pesquisas em seres humanos, para confirmação de sua segurança e eficácia como curativo biológico.

DESCRITORES: Queimaduras. Materiais Biocompatíveis. Cicatrização. Tilápia. Ferimentos e Lesões.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the use of tilapia skin as a temporary occlusive dressing in superficial and deep second degree burns in rats. **Methods:** A prospective, qualitative and quantitative study, in which 40 Wistar rats randomly divided into four groups and underwent surgery for burn production: C1, the wounds were washed with saline solution; C2, open dressing treated with silver sulfadiazine 1%; T1, superficial 2nd degree burn treated with an occlusive dressing of tilapia skin; and T2, deep 2nd degree burn also treated with tilapia skin. The animals were treated for 22 consecutive days. Blood was collected for hematological and biochemical tests on the last day and the animals were euthanized for histological analysis of the wound. **Results:** On day 21, groups T1 and T2 showed improved delineation of the wound edges. Microscopic examination revealed that samples of groups T1 and T2 were represented by fibrous connective tissue devoid of epithelial lining, displaying lymphoplasmacytic inflammatory infiltrate, with varying degrees of intensity, and permeated by occasional polymorphonuclear granulocytes neutrophils restricted to the surface area. In groups C2, T1 and T2 the deep connective tissue had no inflammation. Blood tests presented no significant changes ($p < 0.05$). **Conclusion:** The tilapia skin showed good grip on the wounds caused by burns in the tested rats, interfering positively on the healing process and not causing significant changes in hematological and biochemical parameters. These results allow the continuation of the investigations to clinical trials to confirm the safety and efficacy of its use as a biological dressing.

KEYWORDS: Burns. Biocompatible Materials. Wound Healing. Tilapia. Wounds and Injuries.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el uso de la piel de tilapia del Nilo como un apósito oclusivo temporal en las quemaduras superficiales y profundas de segundo grado en ratones. **Método:** Un estudio prospectivo, cualitativo y cuantitativo, en donde fueron utilizados 40 ratones Wistar machos sometidos a cirugía para producción de quemadura, los cuales fueron divididos de manera aleatoria en cuatro grupos: C1, las heridas se lavaron con solución salina; C2, trató con sulfadiazina de plata al 1%; T1, quemadura de 2º grado superficial tratada con piel de tilapia; y T2, quemadura de 2º grado profunda tratada con piel de tilapia. Los animales fueron tratados y monitoreados durante 22 días. En el último día, fueron anestesiados para biopsia, extracción de sangre y sometidos a la eutanasia. **Resultados:** En el día 21, los grupos T1 y T2 mostraron una mejor delineación de los bordes de la herida. El examen microscópico reveló que los grupos T1 y T2 se representaban por tejido conectivo fibroso de revestimiento epitelial, enseñando infiltración inflamatoria histiocitoplasmocitaria, con diferentes grados de intensidad, y permeado con ocasionales granulocitos polimorfonucleares neutrófilos restringidas a la región superficial. En los grupos C2, T1 y T2 fue observado que el tejido conectivo profundo se presentaba libre inflamación. **Conclusión:** La piel de tilapia presentó una buena adhesión al lecho de las heridas inducidas por quemaduras en los ratones, interfiriendo positivamente en el proceso de cicatrización. Estos resultados permiten la continuación de las investigaciones para el estudio en humanos, para confirmar su seguridad y eficacia como un apósito biológico.

PALABRAS CLAVE: Quemaduras. Materiales Biocompatibles. Cicatrización de Heridas. Tilapia. Heridas y Lesiones.

INTRODUÇÃO

A queimadura é uma lesão dos tecidos orgânicos, em decorrência de um trauma de origem térmica, que varia desde uma pequena bolha até formas graves, capazes de desencadear respostas sistêmicas proporcionais à extensão e à profundidade. Podem levar à desfiguração, à incapacidade e até à morte¹.

Inúmeros estudos têm sido realizados procurando encontrar curativos que reduzam os efeitos da contaminação nas lesões, favoreçam o processo cicatricial e ofereçam melhores resultados estéticos. As coberturas, materiais ou produtos utilizados para tratar ou ocluir a ferida, impregnados ou não com agentes tópicos, podem ser primárias, quando colocadas diretamente sobre a lesão, ou secundárias, quando têm como função cobrir as coberturas primárias².

Nos curativos oclusivos podem ser utilizados substitutos temporários de pele, que são materiais eficazes no tratamento de queimaduras superficiais recentes e também na cobertura da pele, enquanto aguarda-se o enxerto definitivo. Podem ser trocados a intervalos regulares ou mantidos até a cicatrização ou enxerto, caso a aderência seja boa ou não haja infecção².

Os substitutos de pele têm sido considerados úteis no tratamento de queimaduras superficiais, pois reduzem a frequência de troca do curativo. Entretanto, esses materiais têm alto custo e não são eficazes para o tratamento de queimaduras profundas. Devido aos custos elevados dos curativos oclusivos sintéticos ou biossintéticos, tem-se buscado nos materiais biológicos alternativas para o tratamento local de feridas provocadas por queimaduras³.

A pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) surge como um possível subproduto, com aplicabilidade clínica de novos biomateriais utilizáveis para bioengenharia. Pertencente à família dos ciclídeos, é originária da bacia do Rio Nilo, no Leste da África, encontrando-se amplamente disseminada nas regiões tropicais e subtropicais. A pele deste peixe é um produto nobre e de alta qualidade, pois possui resistência peculiar como couro, entretanto, não existem estudos que evidenciem sua resistência como pele não submetida ao curtimento⁴.

A literatura reporta poucos trabalhos em que a pele de tilápia foi submetida ao processo de curtimento para confecção de luvas e de vestimentas. Testes mecânicos de tração são descritos, conferindo o aproveitamento deste material, apesar da sua delgada espessura para este fim; no entanto, ainda não existem trabalhos publicados sobre a possibilidade de utilização desta pele como biomaterial, para recobrimento de feridas na pele humana por queimadura⁴.

A caracterização da pele de tilápia do Nilo, a partir de suas propriedades histomorfológicas, tipificação do colágeno e características físicas (resistência à tração) foi realizada por pesquisadores do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará⁵. Concluiu-se que as características microscópicas da pele da tilápia são semelhantes à estrutura morfológica da pele humana, apresentando derme composta por feixes de colágeno compactados, longos e organizados, em disposição paralela/horizontal e transversal/vertical, predominantemente, do tipo I. A pele também demonstrou elevada resistência e extensão à tração em quebra.

Estes resultados puderam sinalizar a possibilidade de aplicação da pele da tilápia do Nilo como curativo biológico temporário em queimaduras. A realização de estudos pré-clínicos *in vitro* e *in vivo* deve fornecer informações preliminares de segurança e eficácia para que, posteriormente, sejam realizados estudos em seres humanos que comprovem os benefícios de sua utilização em pacientes com lesões causadas por queimaduras.

Inserido neste contexto, o presente estudo teve como objetivo a avaliação da utilização da pele de tilápia do Nilo como curativo oclusivo temporário nas queimaduras de segundo grau superficial e profunda em ratos. O método de processamento, de descontaminação e de esterilização da pele da tilápia e sua aplicação em queimaduras e feridas foi registrado no INPI com o número BR1020150214359.

MÉTODO

Tipo de Estudo e Local da Pesquisa

Trata-se de um estudo prospectivo, qualiquantitativo, realizado em laboratório do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil, no período de julho de 2015 a janeiro de 2016.

Aspectos Éticos

Todas as normas da Nomenclatura Anatômica Veterinária (1983) e os princípios éticos de experimentação animal do *International Council for Laboratory Animal Science* foram seguidos.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará, sob o número de protocolo 48/2016.

Obtenção e Processamento das Amostras

As peles para os curativos oclusivos foram obtidas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes da piscicultura de Castanhão (Jaguaribara, CE), cultivadas em tanque rede, de juvenis até o peso de abate, entre 800 a 1000 g, recebendo ração comercial variando de 28 a 38% de proteína bruta. Os peixes foram insensibilizados por choque térmico (caixas isotérmicas com gelo moído e água, proporção 1:1) e, em seguida, realizada a sangria.

Após o abate, as peles foram removidas com uma turquesa (ferramenta) e, posteriormente, retiradas as escamas, submetidas à lavagem em água corrente, para a remoção de qualquer resquício de sangue e outras impurezas e colocadas em soro fisiológico (solução de NaCl a 0,9%) estéril, previamente resfriado a 4°C, para a limpeza final. Em seguida, foram retirados os excessos de músculo, que ainda permaneceram ligados à pele, e feito o recorte em pedaços de 10,0 cm x 5,0 cm, lavados com soro fisiológico e obedecendo as etapas de esterilização, para transporte entre os municípios Jaguaribara e Fortaleza (Captação e Acondicionamento Inicial):

1ª Etapa - as peles foram colocadas em um recipiente estéril, contendo gluconato de clorexidina (solução com tensoativos) a 2%, onde permaneceram por 30 minutos.

2ª Etapa - após a operação anterior, as peles foram lavadas com soro fisiológico estéril e removidas para outro recipiente, contendo outra solução de gluconato de clorexidina a 2%, onde permaneceram por 30 minutos.

3ª Etapa - as peles foram enxaguadas em soro fisiológico estéril e colocadas em um recipiente, contendo solução 50% de glicerol, 50% de soro fisiológico e embaladas para o transporte (trecho Jaguaribara-Fortaleza), numa caixa isotérmica contendo gelo.

As etapas seguintes realizadas no NPDM da UFC, em ambiente estéril, com fluxo laminar horizontal.

4ª Etapa - antes de 24h, as peles foram removidas da solução anterior, lavadas com soro fisiológico estéril e colocadas em um recipiente estéril e hermético, contendo 75% de glicerol, 25% de soro fisiológico (massagear as peles por 5 minutos nesta solução) e mantidas por 3 horas, num banho-maria, com agitador em velocidade constante de 15 rotações por minuto e temperatura de 37°C.

5ª Etapa - as peles foram removidas, lavadas com soro fisiológico estéril novamente e colocadas em outro recipiente estéril e hermético contendo 100% de glicerol (massagear as peles por 5 minutos nesta solução) e mantidas em banho-maria, na temperatura de 37°C e 15 rotações por minuto, por mais 3 horas.

6ª Etapa - ao final da última etapa do glicerol, as peles foram recondicionadas em duplos envelopes plásticos estéreis, com dupla selagem e armazenadas a 4°C. Após esta etapa, as peles foram enviadas para radioesterilização complementar, no Instituto de Pesquisa Energética Nuclear (IPEN-SP), em gama cobalto a 30 KGs. Quando as peles fossem ser usadas, eram removidas do envelope e lavadas por três vezes, em soluções diferentes de soro fisiológico estéril, por cinco minutos cada. Após este procedimento, as peles eram recortadas do tamanho da ferida e aplicadas como curativo oclusivo.

Foram realizados sete testes microbiológicos, para bactérias gram +, gram - e fungos, iniciando-se na pele *in natura* (antes da primeira etapa) e nas seis etapas descritas acima.

Grupos de Tratamento

Foram utilizados 40 ratos machos adultos jovens, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), procedentes do Biotério do NPDM, com peso corporal médio de 200 g, os quais foram previamente observados quanto às condições gerais de saúde, recebendo ração padrão para ratos e água *ad libitum*.

Os animais foram igualmente divididos, aleatória e probabilisticamente, em quatro grupos compostos por 10 animais cada, de acordo com o esquema terapêutico previamente determinado:

Grupo C1 (controle 1; n=10) - as feridas foram lavadas com solução de NaCl a 0,9%; Grupo C2 (controle 2; n=10) - foi feito curativo aberto com sulfadiazina de prata a 1%; Grupo T1 (tratamento 1; n=10; queimadura 2º grau superficial) - foi realizado curativo oclusivo com pele de tilápia, sendo suturado com fio de nylon 5-0; Grupo T2 (tratamento 2; n=10; queimadura 2º grau profundo) - utilizou-se curativo oclusivo com pele de tilápia, com sutura de fio de nylon 5-0.

Procedimento Cirúrgico para Produção das Feridas

Os ratos foram retirados das gaiolas, um por vez e pesados para calcular a dose anestésica. Em seguida, após a anestesia com administração intraperitoneal de cetamina (90 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), os animais foram imobilizados em decúbito ventral, realizando-se a tricotomia digital dos pelos do dorso, em uma área de aproximadamente 16,0 cm² (4,0 cm x 4,0 cm). Em seguida, foi utilizado um gabarito de acetato de celulose, para demarcar na região dorsal (com caneta permanente) um quadrado de 3,0 x 3,0 cm. Posteriormente, procedeu-se à queimadura de 2º grau superficial e profunda, com chapa de alumínio de 9,0 cm² (3,0 cm x 3,0 cm), aquecida a 100°C, pressionada na pele do dorso por 6 e 9 segundos, a depender do grupo. Após a cirurgia, os animais foram identificados de 1 a 10 dentro de seus respectivos grupos e mantidos em gaiolas individuais sem serragem, a uma temperatura média de 24°C.

O padrão de feridas nos grupos C1, C2, T1 (queimadura a 100°C por 6 segundos) resultou em queimadura de 2º grau superficial. No grupo T2 (queimadura a 100°C por 9 segundos), o resultado foi uma queimadura de 2º grau profundo.

Tratamento das Feridas com Curativos Abertos (Grupos C1 e C2)

A partir do primeiro dia de pós-operatório, as feridas foram limpas diariamente com solução salina isotônica de NaCl (grupos C1 e C2), seguida, apenas no grupo C2, da aplicação de uma camada do antimicrobiano tópico sulfadiazina de prata a 1%, suficiente para cobrir as feridas por completo.

Tratamento das Feridas com Curativos Oclusivos (Grupos T1 e T2)

No pós-operatório, as feridas foram limpas com solução salina isotônica de NaCl, seguida nos grupos T1 e T2 da aplicação da pele de tilápia, fixada com fio de nylon, nas quatro extremidades, avaliadas a cada quatro dias, por um período de 22 dias. Caso a pele estivesse solta, era trocada por uma nova pele. Todos estes procedimentos foram realizados com os ratos em plano anestésico recomendado.

Avaliação Macroscópica

Os animais foram mantidos vivos e avaliados até o 22º dia. Foram realizadas avaliações dos dias D0, D5, D9, D12, D16, D19 e D21. O grupo controle C1 não possuía curativo, o que permitia a visualização e avaliação diária do ferimento; o grupo C2 realizou trocas diárias de curativos de sulfadiazina de prata; os grupos T1 e T2, como possuíam a pele da tilápia recobrimo o ferimento, foram avaliados a cada quatro dias com a abertura do curativo, que foi renovado quando necessário.

Coleta de Sangue e Avaliação de Parâmetros Hematológicos e Bioquímicos

Após o tratamento, os animais foram anestesiados com uma associação de cloridrato de xilasina (10 mg/kg) e cloridrato de cetamina (90 mg/kg) por via intraperitoneal, para coleta de sangue via punção

da veia cava abdominal para avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos dos grupos.

Retirada das Peças

Todos os animais foram eutanasiados por overdose anestésica (30 mg/kg de xilasina + 270 mg/kg de cetamina). Em seguida, nos grupos com curativos abertos, retirou-se um retalho de pele e de tela subcutânea contendo a ferida cicatrizada, em condições assépticas. Nos grupos do curativo oclusivo, fez-se a retirada da pele de tilápia e procedeu-se da mesma forma com a ferida.

Análise Histológica da Pele dos Ratos

As peças foram identificadas e fixadas em formol a 10%. Após a inclusão em parafina, o material foi cortado a 5 μ m e corado pela técnica de hematoxilina e eosina. As lâminas foram analisadas sob microscopia ótica considerando-se a presença ou não de úlcera, disposição dos feixes das fibras colágenas, fenótipo e intensidade do infiltrado inflamatório e necrose.

Análise Estatística

Os resultados das avaliações hematológicas e bioquímicas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo Teste de Tukey usando o programa GraphPad Prism® (GraphPad Software, Inc., California, USA), sendo o valor de $p < 0,05$ considerado significativo.

RESULTADOS

Na avaliação macroscópica nos quatro grupos em estudo, nos dias D0, D5, D9, D12, D16, D19 e D21, foram constatadas as seguintes diferenças:

Nos grupos T1 e T2 não foram necessárias trocas diárias de curativos, como nos grupos C1 e C2, em que a pele da tilápia

permaneceu aderida ao leito da ferida. Somente renovou-se a pele quando os ratos removiam o curativo e destruíam a pele, o que aconteceu em oito ocasiões, de um total de 120 avaliações nos grupos T1 e T2 (Figura 1).

No grupo T1 e, especialmente, T2 observou-se presença de exsudato e crostas, especialmente após D12, conforme mostram as fotos destes grupos em D12, D16, D19 e D21 (Figura 1).

No D21 os grupos controles, C1 e C2, ainda apresentavam crostas e alguma presença de tecido de granulação.

Observou-se um melhor delineamento dos bordos da ferida no processo de cicatrização, nos grupos em tratamento com a pele da tilápia.

Com relação aos parâmetros hematológicos e bioquímicos (Tabela 1), não foram verificadas quaisquer alterações significativas dos parâmetros bioquímicos dos animais tratados nos diferentes grupos ($p < 0,05$), exceto para a ureia, que se apresentou discretamente aumentada nos grupos T1 e T2 em relação aos grupos controles, porém sem significância. Além disso, foi observado que os valores de glicose estavam acima do valor estabelecido para essa espécie de animal em todos os grupos, fato justificado pelas doses anestésicas.

Na análise histológica, o grupo controle negativo (queimadura a 100°C, 6 segundos, tratado com solução salina) apresentou derme constituída por tecido conjuntivo fibroso destituído de revestimento epitelial, recoberto por membrana fibrinogranulocítica, exibindo intenso infiltrado inflamatório neutrofílico na região mais superficial. Visualizaram-se, ainda, células inflamatórias linfoplasmocitárias em meio à proliferação de células fusiformes, além de hemácias extravasadas. Na profundidade, observou-se tecido muscular esquelético sem alterações histológicas (Figura 2A).

Os animais do Grupo C2, com queimadura a 100°C, por 6 segundos e tratados com sulfadiazina de prata a 1%, mostraram tecido conjuntivo fibroso destituído de revestimento epitelial exibindo, na superfície, membrana fibrinolítica associada a intenso infiltrado

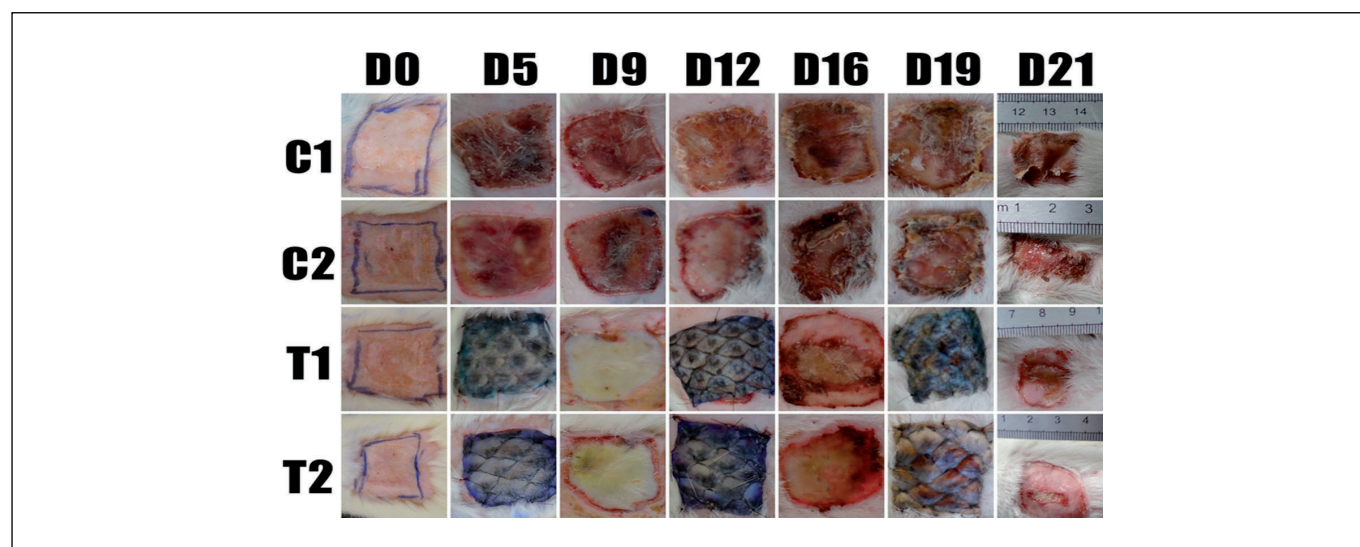


Figura 1 - Evolução cicatricial observada durante os 22 dias de acompanhamento dos ratos dos 4 grupos C1, C2, T1 e T2.

TABELA 1
Parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus*)
após queimadura a 100°C, em diferentes tratamentos.

| Parâmetro (unidade) | C1 | C2 | T1 | T2 |
|----------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| Leucócitos (109/l) | 9,02±1,01 | 10,64±1,11 | 8,9±0,7 | 9,1±1,17 |
| Linfócitos (109/l) | 6,33±0,82 | 7,4±0,77 | 5,3±0,29 | 5,7±0,68 |
| Monócitos (109/l) | 0,73±0,07 | 0,45±0,11 | 0,77±0,1 | 0,71±0,12 |
| Granulócitos (109/l) | 2,29±0,25 | 2,69±0,32 | 2,75±0,49 | 2,68±0,43 |
| RBC (1012/l) | 8,66±0,11 | 7,93±0,20 | 7,63±0,25 | 8,02±0,13 |
| HGB (g/dl) | 15,18±0,11 | 14,34±0,28 | 14,03±0,34 | 14,38±0,22 |
| HCT (%) | 50,67±0,35 | 48,53±0,61 | 45,53±1 | 47,48±0,72 |
| PLT (109/l) | 903,7±22,69 | 856,3±28,32 | 916,6±33,62 | 944,8±37,18 |
| BT (mg/dL) | 0,038±0,00 | 0,034±0,00 | 0,031±0,00 | 0,037±0,00 |
| BD (mg/dL) | 0,02±0,01 | 0,01±0,00 | 0,01±0,00 | 0,01±0,00 |
| ALT (U/L) | 91,0±3,84 | 111±6,97 | 97,3±6,89 | 100,5±4,67 |
| AST (U/L) | 134,3±7,75 | 165,1±15,06 | 164±7,51 | 138,8±4,9 |
| Creatinina (mg/dL) | 0,47±0,02 | 0,37±0,01 | 0,44±0,02 | 0,46±0,03 |
| Ureia (mg/dL) | 52,78±1,24 A | 60±2,21 A | 67,1±3,25 B | 73,9±2,27 B |
| Glicose (mg/dL) | 196,3±13,05 | 216,6±14,66 | 173,1±8,28 | 193,5±12,01 |

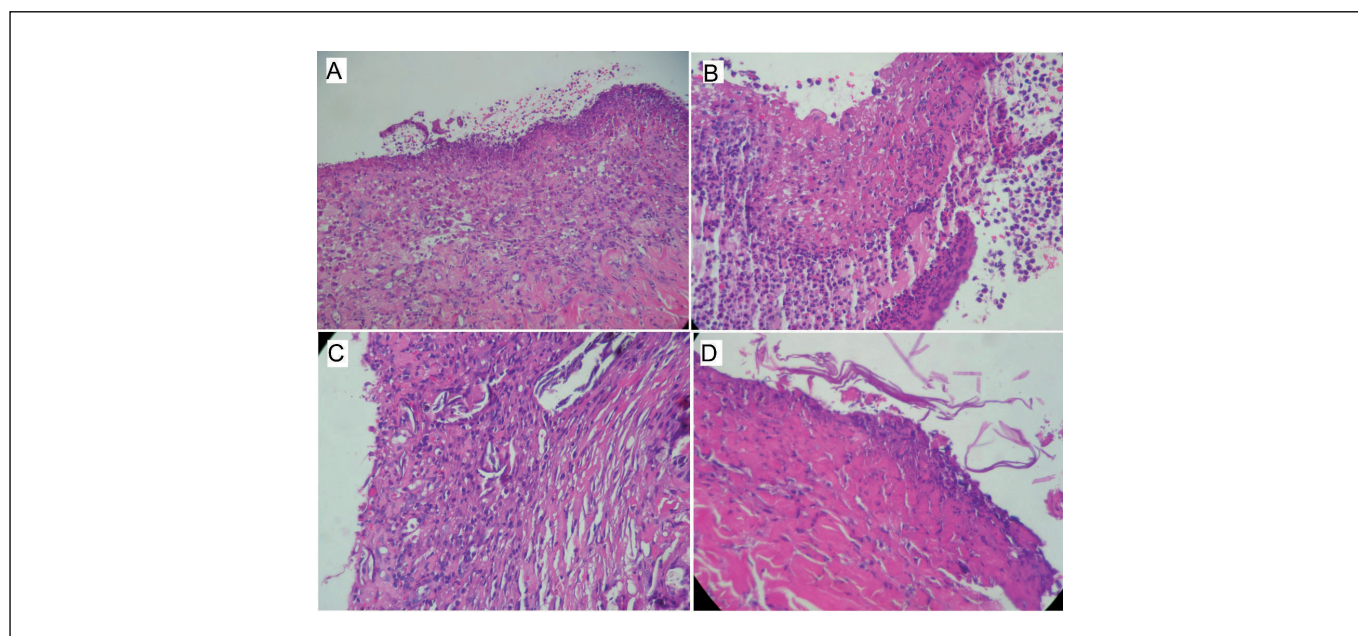


Figura 2 - A: Grupo C1 - úlcera e denso infiltrado inflamatório leucocitário misto; B: Grupo C2 - úlcera recoberta por membrana fibrinolítica e denso infiltrado inflamatório leucocitário misto; C: Grupo T1 - derme destituída de revestimento epitelial e com discreto infiltrado inflamatório mononuclear; D: Grupo T2 - derme sem epitélio de revestimento e com discreto infiltrado inflamatório mononuclear. HE; A - 100x; B - 200x; C - 200x; D - 200x.

leucocitário misto, com granulócitos polimorfonucleares (neutrófilos) e hemácias extravasadas. Na profundidade, observavam-se feixes colagênicos espessos livres de inflamação (Figura 2B).

No grupo T1, com queimadura a 100°C, por 6 segundos e tratados com curativo biológico de tilápia, observou-se, nas amostras, tecido conjuntivo fibroso sem revestimento epitelial com intenso infiltrado inflamatório histiolinfoplasmocitário em ninhos, os quais se estendiam por entre os feixes de colágeno. Em trechos, observavam-se granulócitos polimorfonucleares neutrófilos, predominantemente, na região superficial. Somente em duas amostras foi visualizado um infiltrado intensamente agudo (Figura 2C).

No Grupo T2, em que a queimadura foi igualmente a 100°C, mas por 9 segundos, a análise microscópica revelou tecido conjuntivo fibroso sem epitélio de revestimento, com discreto a moderado infiltrado inflamatório mononuclear (histiolinfoplasmocitário), com ocasionais granulócitos polimorfonucleares neutrófilos restritos à região superficial. Na profundidade o córion fibroso estava livre de inflamação (Figura 2D).

DISCUSSÃO

As feridas decorrentes de queimaduras caracterizam-se como uma solução de continuidade produzida em um tecido, dando lugar a um espaço anormal, à interrupção do fluxo sanguíneo, à perturbação da sensibilidade, ao acúmulo de elementos celulares mortos e a um grau maior ou menor de contaminação, com ou sem infecção. Uma vez estabelecido o dano tecidual, o organismo desencadeia uma complexa sequência de eventos, na tentativa de restaurar morfofisiologicamente o mesmo. Inicia-se um processo inflamatório agudo induzido pela própria lesão, seguido da regeneração das células parenquimatosas, migração, proliferação e remodelação de tecido conjuntivo, síntese proteica, colagenização e aquisição de força tensil⁶.

Inúmeros fatores, sistêmicos e locais, podem interferir no processo de reparação tecidual. Um bom fluxo sanguíneo é exigência para uma cicatrização efetiva. Apesar do gradiente de hipóxia ser essencial para alguns eventos da cicatrização, as fases inflamatória e de síntese do colágeno são dependentes de uma perfusão adequada. Infecções causam atraso na regeneração tecidual⁷.

Nas lesões de 2º e de 3º graus, com grande superfície corporal atingida, o tratamento clínico inclui reposição hídrica adequada, através de uma veia de grande calibre, controle da diurese (através de sonda vesical), suporte enteral (através de sonda nasogástrica ou enteral), para evitar a hemorragia digestiva e a translocação bacteriana, boa analgesia horária e, em alguns casos, antibiótico-terapia. O tratamento cirúrgico vai desde os curativos, passando pela escarotomia e pela fasciotomia, pelos desbridamentos, pelas amputações, pelos enxertos, pelos retalhos fasciocutâneos, até os retalhos livres⁷.

O tratamento das feridas causadas por queimaduras representa um desafio diário para a equipe de saúde multidisciplinar hospitalar. Estão disponíveis inúmeros tipos de curativos para o

tratamento de queimaduras. Dentre eles, estão o alginato de prata, hidrogéis, curativos úmidos e a sulfadiazina de prata, creme amplamente utilizado atualmente nos serviços públicos de tratamento de queimados¹.

Em nosso país, na maioria dos centros de tratamento de queimados da rede pública, tem-se a seguinte conduta, em relação aos curativos: nas queimaduras de segundo grau é realizado diariamente o banho com clorexidina a 2% e o curativo é feito com o antimicrobiano tópico sulfadiazina de prata a 1%, até a completa reparação da lesão (2º grau superficial em torno de 12 dias e profundo entre 21 e 25 dias); nas lesões de terceiro grau é realizado o desbridamento do tecido necrótico em várias etapas (desbridamento sequencial), feito o curativo com sulfadiazina de prata a 1%, até a preparação do leito da ferida para a enxertia.

Na rede privada, em nosso país, este cenário se modifica e, dependendo do tipo de convênio ou das condições financeiras do paciente, são usados curativos biossintéticos e peles artificiais, todos importados e de elevado custo. Na Europa e nos Estados Unidos da América, são utilizadas, nestas lesões de 2º e de 3º graus, peles homólogas (através dos inúmeros bancos de pele), peles heterólogas, curativos biossintéticos e derme artificial para melhorar a sobrevida e ter boa recuperação funcional. Infelizmente, em um país com as dimensões do Brasil, há apenas em funcionamento três bancos de pele, sendo um em São Paulo (Hospital das Clínicas), um no Paraná (Hospital Evangélico) e o outro em Porto Alegre (Santa Casa de Misericórdia), uma vez que o único banco do Nordeste, localizado em Recife (IMIP), encontra-se desativado¹.

No entanto, publicações mais recentes demonstram que curativos biológicos e sólidos têm eficácia superior, notadamente nos quesitos: menor tempo de fechamento de feridas, maior taxa de reepitelização e redução de dor, e que não existem dados suficientes que suportem o uso e a eficácia de sulfadiazina de prata 1%^{8,9}.

Tais informações corroboram os resultados do presente trabalho, no qual não foi possível observar benefícios de utilização desta formulação na cicatrização das feridas em relação ao grupo controle que utilizou apenas solução fisiológica 0,9%, estimulando um intenso infiltrado inflamatório leucocitário misto, com presença de granulócitos polimorfonucleares neutrófilos.

Na busca por novas alternativas terapêuticas para queimados, vêm se destacando os curativos biocompatíveis e/ou biológicos. Bolsa amniótica, pericárdio e pele de porco já estão sendo utilizados, apresentando adequada biocompatibilidade e eficácia¹⁰. Neste contexto, surge a possibilidade de se aproveitar a pele da tilápia, que seria um produto de descarte, no intuito de ajudar este tratamento tão sintomático, podendo vir a ser uma opção de biomaterial de custo acessível.

Na pesquisa realizada pela equipe de pesquisadores do NPDM, foi observado que a pele da tilápia, quando submetida aos processos de esterilização química e de irradiação complementar, não apresenta variações quanto à sua estrutura microscópica e tensiométrica, recuperando sua consistência *in natura* após o processo de

reidratação⁵. Também já foi reportado na literatura que a glicerolização e a irradiação em curativos biológicos em doses moderadas possuem a capacidade de fixar os tecidos por meio de redução do fluido intersticial sem, no entanto, provocar degeneração¹¹.

Estudos histológicos da pele da tilápia demonstraram uma epiderme revestida por um epitélio pavimentoso estratificado, seguido de extensas camadas de colágeno¹². O colágeno configura-se como um dos principais componentes dos biomateriais, devido à sua característica de orientar e de definir a maioria dos tecidos, além de possibilitar biodegradabilidade e biocompatibilidade, que favorecem a sua aplicação¹³. Desta forma, o detalhamento da quantidade e o tipo de colágeno presente constituem-se como uma das formas de caracterização de biomateriais.

Tang & Saito¹⁴ demonstraram que o colágeno tipo I da pele da tilápia estimula Fatores de Crescimento de Fibroblastos (FGF), os quais expressam e liberam Fator de Crescimento de Queratinócitos (KGF), duas citocinas importantes e imprescindíveis para o fechamento das feridas.

O padrão de cicatrização observado nos grupos tratados com a pele da tilápia foi superior devido à sua capacidade de obstruir a ferida, minimizando exsudatos e a formação de crostas. No presente estudo, foram encontradas reações inflamatórias de intensidade leve a moderada nas feridas recobertas pelas peles de tilápia, com fenótipo mononuclear (histiolinfoplasmocitário), diferentemente da intensa resposta aguda observada nos grupos controle, interferindo positivamente no processo de cicatrização, confirmando o benefício de sua utilização.

Notadamente, a inflamação crônica é caracterizada por uma resposta proliferativa, em que os macrófagos desempenham funções importantes no processo de cicatrização associados com deposição de colágeno e neoformação vascular. Os macrófagos do tipo M2 expressam citocinas e fatores de crescimento importantes para a reparação tecidual.

Quando aos parâmetros hematológicos e bioquímicos, os mesmos mantiveram-se dentro da normalidade para a espécie estudada, com exceção da ureia, que se apresentou elevada nos grupos tratados, quando comparada aos resultados observados nos grupos controles. Variações deste parâmetro também já foram descritas por outros autores¹⁵.

Outra exceção deve ser feita aos valores de glicose, que se apresentaram superiores aos valores de referência estabelecidos em todos os grupos estudados. Este achado pode ser explicado devido à ação hiperglicêmica do anestésico cloridrato de cetamina utilizado na indução anestésica dos animais¹⁶.

O curativo ideal é aquele de fácil obtenção, de baixo custo, de fácil armazenamento, de estabilidade prolongada, que não apresente antigenicidade, mas boa flexibilidade, resistência ao estiramento, aderência ao leito, boa adaptação ao contorno das feridas e facilitação dos movimentos articulares. Acrescenta-se, ainda, que o material deve ter aplicação em um único tempo cirúrgico, que seja de fácil manipulação, que suprima a dor, acompanhe o crescimento corporal e mantenha a temperatura do corpo.

Os curativos biológicos devem prevenir as perdas hidroeletrólíticas, evitando a contaminação bacteriana e promovendo a epitelização nas queimaduras de segundo grau superficial e profundo e propiciando a formação de adequado tecido de granulação, para enxertia, nas lesões de terceiro grau¹.

Estamos muito distantes de ter o substituto cutâneo temporário ideal. Alguns curativos heterólogos já foram testados e usados no Brasil, porém abandonados ao longo do tempo, seja pelo elevado custo de importação, como a pele porcina, ou pela falta de estudos científicos adequados, como a pele de rã ou pela transmissão de doenças animais, que todos podem causar, a não ser quando a pele é irradiada, aumentando os custos. Tecidos biológicos de origem animal, como a pele de cão, a pele de porco, a pele de rã, o pericárdio bovino e a camada submucosa de intestino de porco, têm sido utilizados em curativos oclusivos biológicos (heteroenxertos), nas lesões por queimaduras¹⁷⁻²⁰. Entretanto, para a liberação e a utilização desses materiais, eles devem ser submetidos a rigorosos protocolos, para a identificação da sua real contribuição, segurança, eficácia e biocompatibilidade¹.

Os resultados obtidos no presente estudo possibilitam o prosseguimento das investigações para Ensaios Clínicos Fase I em seres humanos saudáveis e, posteriormente, para estudos Fase II e III em pacientes com queimaduras, para confirmação da segurança e eficácia de sua utilização, como uma alternativa de curativo biológico para tratamento destas feridas.

CONCLUSÃO

A pele da tilápia apresentou boa aderência no leito das feridas induzidas por queimaduras nos ratos testados, interferindo positivamente no processo cicatricial e não causando alterações relevantes nos parâmetros hematológicos e bioquímicos de função renal e hepática, sendo um potencial curativo biológico para o tratamento desta natureza.

AGRADECIMENTO

Os autores gostariam de agradecer aos pesquisadores e pessoal de apoio técnico do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará e ao IPEN-SP; à ENEL, empresa financiadora da pesquisa; ao Instituto de Apoio ao Queimado, ONG que gerencia e coordena a pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Lima Júnior EM, Novaes FN, Piccolo NS, Serra MCVF. Tratado de Queimaduras no Paciente Agudo. 2a ed. São Paulo: Atheneu; 2008.
2. Gomes FSL, Borges EL. Coberturas. In: Borges EL, Saar SRC, Lima VLAN, Gomes FSL, Magalhães MBB. Feridas: como tratar. Belo Horizonte: Coopmed; 2001. p. 97-120.
3. Hansbrough JF, Zapata-Sirvent RL, Cooper ML. Effects of topical antimicrobial agents on the human neutrophil respiratory burst. Arch Surg. 1991;126(5):603-8.
4. Franco MLRS, Franco NP, Gasparino E, Dorado DM, Prado M, Vesco APD. Comparação das peles de tilápia do Nilo, pacu e tambaqui: Histologia, composição e resistência. Arch Zootec. 2013;62(237):21-32.

5. Alves APNN, Verde MEQL, Ferreira Júnior AEC, Silva PGB, Feitosa VP, Lima Júnior EM, et al. Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de propriedades tensiométricas da pele de tilápia do Nilo. *Rev Bras Queimaduras*. 2015;14(3):203-210.
6. Bolgiani A, Lima Júnior EM, Serra MCVF. *Queimaduras: condutas clínica e quirúrgicas*. 2a ed. São Paulo: Atheneu; 2013.
7. Lima Júnior EM, Serra MCVF. *Tratado de Queimaduras*. Rio Janeiro: Atheneu. 2004.
8. Aziz Z, Abu SF, Chong NJ. A systematic review of silver-containing dressings and topical silver agents (used with dressings) for burn wounds. *Burns*. 2012;38(3):307-18.
9. Heyneman A, Hoeksema H, Vandekerckhove D, Pirayesh A, Monstrey S. The role of silver sulphadiazine in the conservative treatment of partial thickness burn wounds: A systematic review. *Burns*. 2016;42(7):1377-86.
10. Song G, Wu Y, Wang F, Shao Y, Jiang J, Fan C, et al. Development and preparation of a low-immunogenicity porcine dermal scaffold and its biocompatibility assessment. *J Mater Sci Mater Med*. 2015;26(4):170.
11. Zidan SM, Eleowa SA. Banking and use of glycerol preserved full-thickness skin allograft harvested from body contouring procedures. *Burns*. 2014;40(4):641-7.
12. Souza MLR, Santos HSL. Análise morfológica da pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) através da microscopia de luz. *Rev Unimar*. 1997;19(3):881-8.
13. Cen L, Liu WEI, Cui LEI, Zhang W, Cao Y. Collagen tissue engineering: development of novel biomaterials and applications. *Pediatr Res*. 2008;63(5):492-6.
14. Tang J, Saito T. Biocompatibility of Novel Type I Collagen Purified from Tilapia Fish Scale: An In Vitro Comparative Study. *Biomed Res Int*. 2015;2015:139476.
15. Branco ACSC, Diniz MFFM, Almeida RN, Santos HB, Oliveira KM, Ramalho JA, et al. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos wistar e camundongos swiss do biotério professor Thomas George. *Rev Bras Ciênc Saúde*. 2011;15(2):209-14.
16. Braslasu MC, Braslasu ED, Bradatan C, Savulescu I, Gojmaleatana R, Budai M, et al. Experimental studies regarding the diabetes mellitus induced in white wistar rats. *Lucrari Stiintifice Med Vet*. 2007;40:109-16.
17. Wai RT. Use of glycerol-preserved skin in plastic surgery. *Burns*. 1994;20 Suppl 1:S27-30.
18. Ramsey DT, Pope ER, Wagner-Mann C, Berg JN, Swaim SF. Effects of three occlusive dressing materials on healing of full-thickness skin wounds in dogs. *Am J Vet Res*. 1995;56(7):941-9.
19. Leto Barone AA, Mastroianni M, Farkash EA, Mallard C, Albritton A, Torabi R, et al. Genetically modified porcine split-thickness skin grafts as an alternative to allograft for provision of temporary wound coverage: preliminary characterization. *Burns*. 2015;41(3):565-74.
20. Zaidi AH, Nathan M, Emani S, Baird C, del Nido PJ, Gauvreau K, et al. Preliminary experience with porcine intestinal submucosa (CorMatrix) for valve reconstruction in congenital heart disease: histologic evaluation of explanted valves. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;148(5):2216-4.

TITULAÇÃO DOS AUTORES

Edmar Maciel Lima-Junior - Universidade Federal do Ceará, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM); Instituto Dr. José Frota, Centro de Tratamento de Queimados, Fortaleza, CE, Brasil.

Nelson Sarto Picollo - Pronto Socorro para Queimaduras, Centro de Atendimento, Goiânia, GO, Brasil.

Marcelo José Borges de Miranda - Hospital São Marcos/Rede Dor, SOS Queimaduras e Feridas, Recife, PE, Brasil.

Wesley Lyeverton Correia Ribeiro - Universidade Federal do Ceará, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Fortaleza, CE, Brasil.

Ana Paula Negreiros Nunes Alves - Universidade Federal do Ceará, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Fortaleza, CE, Brasil.

Guilherme Emilio Ferreira - Universidade Christus - Unichristus, Curso de Medicina – Fortaleza, CE, Brasil.

Ezequiel Aguiar Parente - Universidade Christus - Unichristus, Curso de Medicina – Fortaleza, CE, Brasil.

Manoel Odorico Moraes-Filho - Universidade Federal do Ceará, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Fortaleza, CE, Brasil.

Correspondência: Edmar Maciel Lima-Junior

Rua Visconde de Mauá, 1650/801 – Aldeota – Fortaleza, CE, Brasil – CEP 60125-160 – E-mail: edmarmaciel@gmail.com

Artigo recebido: 6/5/2017 • **Artigo aceito:** 1/6/2017

Local de realização do trabalho: Universidade Federal do Ceará, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Fortaleza, CE, Brasil.

Conflito de interesses: Os autores declaram não haver.

Fonte de financiamento: A pesquisa foi financiada pela ENEL através de um convênio com o Instituto de Apoio ao Queimado.