

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

ISABELE YUKIE AKIBA

**USO DA MEMBRANA DE COLÁGENO NÃO DESNATURADO NA CICATRIZAÇÃO  
DE FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS EXPERIMENTALMENTE EM RATOS  
WISTAR**

UBERLÂNDIA

2021

ISABELE YUKIE AKIBA

**USO DA MEMBRANA DE COLÁGENO NÃO DESNATURADO NA CICATRIZAÇÃO  
DE FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS EXPERIMENTALMENTE EM RATOS  
WISTAR**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

**Orientador:** Prof. Dr. Francisco Cláudio Dantas  
Mota

UBERLÂNDIA

2021

ISABELE YUKIE AKIBA

**USO DA MEMBRANA DE COLÁGENO NÃO DESNATURADO NA CICATRIZAÇÃO  
DE FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS EXPERIMENTALMENTE EM RATOS  
WISTAR**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado para a  
obtenção do título de Bacharel no curso de Medicina  
Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia  
(MG) pela banca examinadora formada por:

Uberlândia, 27 de outubro de 2021.

---

Prof. Dr. Francisco Cláudio Dantas Mota, UFU/MG

---

Prof. Dr. Matheus Mantovani Matioli, UFU/MG

---

Prof. Dr. Márcio de Barros Bandarra, UFU/MG

## **AGRADECIMENTOS**

A realização deste trabalho contou com o apoio de muitas pessoas queridas. Agradeço ao professor Francisco Cláudio Dantas Mota pela orientação, amizade e contribuição na minha formação como médica veterinária.

Agradeço aos técnicos do Setor de Patologia Animal do Hospital Veterinário, ao professor Márcio de Barros Bandarra, à Ananda e Taicy, que me auxiliaram nesta pesquisa, assim como à Rede de Biotérios de Roedores (REBIR) da UFU, que cedeu os animais e o espaço para a realização do experimento.

Sou grata à minha família por sempre apoiarem minhas escolhas e incentivarem a minha educação e ao meu namorado João Vitor e amigos Nathiele, Daniel, Sara, Eduarda e Ana Clara, por estarem ao meu lado durante a minha graduação e pelo auxílio nesta pesquisa. Agradeço também pela ajuda da Alessandra na formatação deste trabalho.

Por fim, agradeço a todos que possam ter apoiado este estudo de modo direto ou indireto e à Universidade Federal de Uberlândia e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

## **RESUMO**

A alta incidência de feridas cutâneas em animais, associada à importância de uma pele íntegra na manutenção da homeostasia corporal, levam à constante busca de materiais para o uso no tratamento dessas. Sendo assim, este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da membrana de colágeno não desnaturado na cicatrização de feridas cutâneas induzidas experimentalmente em ratos Wistar. Após a ressecção de um fragmento de pele, os animais foram divididos em três grupos: controle, tratado com água ultrapura e tratado com a membrana de colágeno não desnaturado. Quinze dias após a cirurgia, os animais foram submetidos à eutanásia e a região da ferida foi coletada para análise histológica. Os resultados mostraram que o grupo tratado com a membrana de UC-II obteve um reparo tecidual acelerado, comparado aos demais grupos, mostrando uma rápida reepitelização e redução do infiltrado linfoplasmocitário, assim como a presença de tecido cicatricial já no 10º dia do curso de tratamento. Através destes dados, foi possível confirmar a eficácia da membrana de UC-II no tratamento de feridas cutâneas.

**Palavras-chave:** UC-II; Ferida de pele; Reparo.

## **ABSTRACT**

High incidence of skin wounds in animals in conjunction with the importance of an unimpaired skin in the maintenance of body homeostasis lead to constant search for skin treatment materials. Therefore, the purpose of this study is to evaluate the effects of undenatured collagen membrane in healing of experimental induced skin wounds in Wistar rats. After the resection of a skin fragment, the animals were divided in three groups: control, treated with ultrapure water and treated with undenatured collagen membrane. Fifteen days after surgery, the animals were submitted to euthanasia and the lesion region was collected for histological analysis. Results showed that the group treated with UC-II membrane obtained an accelerated tissue repair compared to the other groups, showing a quick reepithelization and decrease of lymphoplasmacytic infiltrate, as well as presence of cicatricial tissue at day 10 of the treatment. Through these data, it was possible to acknowledge the efficacy of UC-II membrane in skin wound treatment.

**Keywords:** UC-II; Skin wounds; Repair.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>7</b>
<b>2 OBJETIVO.....</b>	<b>9</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>10</b>
3.1 CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS.....	10
3.2 O COLÁGENO TIPO II NÃO DESNATURADO (UC-II).....	13
3.3 TRATAMENTOS CONVENCIONAIS DE FERIDAS CUTÂNEAS.....	14
3.4 O COLÁGENO NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS.....	16
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>18</b>
4.1 CIRURGIA.....	18
4.2 TRATAMENTO.....	20
4.3 EUTANÁSIA.....	20
4.4 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA.....	21
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>22</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

Uma pele íntegra desempenha funções fundamentais na manutenção da homeostasia no corpo, agindo como barreira física e química, regulando o desequilíbrio de fluidos, temperatura, entre outras (SORG et al., 2016). Portanto, a capacidade de reparo tecidual é considerada um fator de sobrevivência na natureza (REINKE; SORG, 2012). A cicatrização de feridas cutâneas ocorre em fases bem distintas, sendo elas: hemostasia, inflamação, proliferação, neovascularização, reepitelização e remodelamento (RODRIGUES et al., 2018), e conta com queratinócitos, fibroblastos e macrófagos como peças chaves para que este processo ocorra (RODERO; KHOSROTEHRANI, 2010).

Como descrito por Dire e Welsh (1990), convencionalmente, as feridas cutâneas são manejadas inicialmente com lavagem local e desbridamento, com o intuito de reduzir a contaminação e manter o fluxo sanguíneo. Outra estratégia citada por Balsa e Culp (2015) é a cultura bacteriana, que representa um passo importante na determinação do antibiótico a ser utilizado. Antibióticos locais de amplo espectro são frequentemente utilizados, e adicionalmente, compressas frias, anestésicos e antiinflamatórios não esteroidais podem ser utilizados para a analgesia.

Para a manutenção de condições propícias para a cicatrização, curativos oclusivos podem ser utilizados (DEVRIENDT; ROOSTER, 2017), fornecendo assim, um ambiente úmido, que permite uma epitelização mais rápida (BALSA; CULP, 2015). A terapia de pressão negativa pode ser uma boa aliada no aumento de fatores de crescimento e citocinas no local e na formação do tecido de granulação, enquanto drenos auxiliam na eliminação do excesso de líquidos e sangue da ferida, que podem ser meios de cultivo para bactérias (BALSA; CULP, 2015).

Como uma alternativa para o tratamento de feridas cutâneas, o colágeno tipo II não desnaturado (UC-II) se mostrou útil na produção de biomateriais, por suas propriedades físicoquímicas, versatilidade, resistência e baixo custo (CHATTOPADHYAY; RAINES, 2014). O colágeno é a proteína em maior quantidade no organismo dos mamíferos (PATINO et al., 2002) e desempenha um papel estrutural importante (RICARD-BLUM, 2011), formando redes, que servem de suporte para células adjacentes, contribuindo assim, na estabilidade dos tecidos (CHATTOPADHYAY; RAINES, 2014).

De acordo com Chattopadhyay e Raines (2014), implantes de matriz de colágeno promovem um aumento na reepitelização e na formação do tecido de granulação, além de



reduzirem a contração da ferida. Conforme relatado por Park et al. (2000), este material também é capaz de auxiliar no crescimento de fibroblastos, servindo de suporte para a sua fixação e proliferação. Ademais, a biomembrana de colágeno induz a neoformação tecidual em média 3 vezes mais rápido do que o normal sem produzir efeitos adversos e ainda estimula o crescimento piloso, ao que parece (KAASI et al., 2018).

## **2 OBJETIVO**

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da membrana de colágeno não desnaturado na cicatrização de feridas cutâneas induzidas experimentalmente em ratos Wistar.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

De acordo com Rodrigues et al. (2018), o maior órgão do corpo é a pele, fator essencial na proteção dos tecidos internos contra diversos agentes nocivos. Os autores relatam que devido à sua função, esta estrutura possui grande susceptibilidade a lesões, o que impacta tanto a saúde do paciente, quanto economicamente.

#### 3.1 CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

O processo de cicatrização de feridas é altamente complexo e envolve diversas interações entre células e matriz extracelular (MEC), além da ativação de mediadores (ROSÍNCZUK et al., 2016). Segundo Lazarus et al. (1994), qualquer interrupção tecidual de estruturas anatômicas em que ocorra a perda de função pode ser caracterizada como uma ferida, de modo que, conforme descrito por Reinke e Sorg (2012), lesões na pele são classificadas como feridas abertas ou externas. A restauração tegumentar nos mamíferos pode ser dada por meio de regeneração ou reparo: na primeira forma, ocorre uma substituição tecidual específica, enquanto na segunda, que representa a forma mais comum de cicatrização em adultos, há a formação cicatricial através da fibrose (REINKE; SORG, 2012).

Conforme descrito por Tazima, Vicente e Moriya (2008), há três maneiras pelas quais a cicatrização de feridas pode ocorrer, de acordo com a extensão da lesão e da presença ou não de infecção: primeira, segunda e terceira intenção. Na cicatrização por primeira intenção há pouca perda tecidual e edema, a ferida possui bordas aproximadas, não há infecção e nem formação de tecido de granulação. Na segunda intenção pode ou não haver infecção e a ferida apresenta uma maior perda tecidual, por isso, não é fechada cirurgicamente, mas através de contração e epitelização. Por fim, na cicatrização por terceira intenção, a ferida comumente se apresenta infeccionada, portanto é necessário um tratamento prévio, para que posteriormente as bordas da ferida sejam aproximadas através de sutura.

Segundo Sorg et al. (2016), lesões que atingem apenas a epiderme e parcialmente a derme são classificadas como feridas de espessura parcial. Por outro lado, feridas de espessura total são descritas como lesões nas quais há perda tanto da epiderme e derme, quanto de estruturas adjacentes, como anexos de pele. Neste tipo de ferida ocorre a formação do tecido de granulação, que desempenha a função de cobrir a área lesionada, enquanto o reparo tecidual ainda não se finalizou.

A proliferação, migração e diferenciação celular são fundamentais para a formação de um novo tecido no local da lesão. O início do reparo se dá quando as características de rigidez e composição da matriz extracelular são alteradas, sinalizando para que os fibroblastos se convertam em miofibroblastos (ROSIŃCZUK et al., 2016).

De acordo com Rodrigues et al. (2018), a cicatrização é dividida nas fases de hemostasia, inflamação, proliferação, neovascularização, reepitelização e remodelamento, que ocorrem de modo sequencial, e também simultaneamente. As principais células envolvidas no processo do reparo, segundo Rodero e Khosrotehrani (2010), são queratinócitos, fibroblastos e macrófagos, cujas diferenciações são essenciais para que o processo ocorra de maneira consecutiva.

Na primeira fase da cicatrização, logo após a injúria, ocorre uma vasoconstrição local, seguida da formação de agregados de fibrina, recrutamento de células inflamatórias, como monócitos e neutrófilos, e a liberação de fatores de crescimento (ROSIŃCZUK et al., 2016). Além disso, neste estágio ocorre a formação de uma matriz provisória a partir de fibrina, fibronectina, vitronectina e trombospondinas provenientes do coágulo sanguíneo, servindo assim, como reserva de fatores de crescimento e suporte para a migração de fibroblastos, leucócitos, queratinócitos e células endoteliais (REINKE; SORG, 2012).

Os neutrófilos permanecem no leito da ferida de 2 a 5 dias, se não houver infecção, realizando um debridamento (REINKE; SORG; 2012), e posteriormente entram em apoptose, liberando citocinas responsáveis pelo recrutamento de macrófagos (RODERO; KHOSROTEHRANI, 2010). A degranulação de mastócitos e plaquetas, quimiocinas e fatores ativados por hipóxia induzem a quimiotaxia de monócitos, que posteriormente sofrem diferenciação em macrófagos, aumentando sua população na ferida (RODRIGUES et al., 2018). Estas células possuem atividade fagocítica, agem na produção da matriz extracelular, na proliferação de fibroblastos e na angiogênese, assim como na produção tanto de mediadores próinflamatórios, quanto anti-inflamatórios, em uma fase mais tardia. Sendo assim, são elementos críticos para o processo de reparo tecidual (SORG et al., 2016).

Conforme relatado por Reinke e Sorg (2012), por volta de 3 a 10 dias pós-injúria, a fase de proliferação é iniciada e tem como objetivo cobrir a superfície da lesão, formar tecido de granulação e restabelecer a vascularização local. A nova matriz no leito da ferida é um fator fundamental na prevenção de infecções e na restauração da resistência mecânica, sendo formada através da síntese de elementos como o colágeno tipo III e a fibronectina.

A reepitelização ocorre na medida em que queratinócitos iniciam a síntese de camadas da epiderme, enquanto componentes da MEC são formados por fibroblastos e miofibroblastos, sendo que este último tipo celular sofre uma intensa proliferação e é responsável pela contração da ferida, o que resulta na aproximação de suas bordas (ROSÍNCZUK et al., 2016).

A formação de novos vasos sanguíneos é essencial no fornecimento de nutrientes e oxigênio para que a cicatrização ocorra (GURTNER et al., 2008). Primeiramente, fatores de crescimento se ligam aos seus receptores em células endoteliais, ativando-as, e com isso, elas se proliferam e migram para a ferida, iniciando o processo descrito por Reike e Sorg (2012), como brotamento capilar.

O pericito é uma célula que exerce um importante papel no desenvolvimento vascular, providenciando barreiras sanguíneas e regulando o fluxo capilar (SORG et al., 2016). Além disso, este tipo celular possui a capacidade de se diferenciar em fibroblastos produtores de colágeno, auxiliando assim no processo de formação da cicatriz (HUMPHREYS, 2010).

No século XIX, o cirurgião francês Alexis Carrel descreveu em detalhes a formação do tecido de granulação, cujo principal elemento é o fibroblasto (RODRIGUES et al., 2018), sendo caracterizado também pela presença de granulócitos, macrófagos, alta vascularização e uma matriz frouxa de colágeno, representando um tecido de transição (REINKE; SORG, 2012). A nova MEC é produzida pelo fibroblasto através da síntese de colágeno, fibronectina, glicosaminoglicanos, proteoglicanos e ácido hialurônico e serve de arcabouço para a migração e organização celular (REINKE; SORG, 2012), além de auxiliar na contração da ferida, de acordo com Rodrigues et al. (2018).

Concomitante à formação do tecido de granulação, se inicia a última fase da cicatrização, o remodelamento tecidual (REINKE; SORG, 2012), que pode ocorrer por meses a anos, com a finalidade de formar uma cicatriz, segundo Sorg et al. (2016). Neste estágio, miofibroblastos, células endoteliais e macrófagos sofrem apoptose, enquanto metaloproteinases substituem o colágeno tipo III presente no tecido de granulação por colágeno tipo I (RODERO; KHOSROTEHRANI, 2010). Caso a apoptose das células não ocorra ou haja a deposição exagerada de MEC, cicatrizes hipertróficas podem se formar (DESMOULIÈRE et al., 1995). O novo colágeno depositado no local da ferida se apresenta em fibras densamente compactadas, diferente do padrão de uma pele saudável (SORG et al., 2016).

Finalmente, a angiogênese e o aporte sanguíneo são reduzidos até cessar a atividade metabólica da ferida, que já madura, é caracterizada como avascular e acelular. Após a cicatrização, os anexos epidérmicos não são capazes de voltar a crescer no local da lesão (REINKE; SORG, 2012).

### 3.2 O COLÁGENO TIPO II (NÃO DESNATURADO)

A proteína considerada a mais abundante no organismo dos mamíferos segundo Patino et al. (2002), é o colágeno. Este elemento é fundamental na formação da matriz extracelular, formando redes com suas fibrilas, que servem de arcabouço para as células adjacentes (CHATTOPADHYAY; RAINES, 2014), tanto em tecidos conjuntivos, quanto em tecidos intersticiais (GELSE; PÖSCHL; AIGNER, 2003).

O colágeno possui uma estrutura composta por três cadeias polipeptídicas, que formam, conforme Chattopadhyay e Raines (2014), uma tripla hélice denominada tropocolágeno, que por sua vez, de acordo com os estudos de Gelse, Pöschl e Aigner (2003), é capaz de se organizar em fibrilas, a estrutura quaternária. A glicina é essencial para a formação da tripla hélice, ocupando uma posição a cada três resíduos na cadeia de polipeptídeos, resultando assim, em uma unidade de repetição Gly-X-Y, um elemento presente em todos os tipos de colágeno (GELSE; PÖSCHL; AIGNER, 2003). Segundo Chattopadhyay e Raines (2014), triplas hélices podem ser homotriméricas, ou seja, possuem três cadeias idênticas, ou heterotriméricas, contendo três cadeias distintas, sendo esta última a modalidade mais comum.

Foram identificados 29 tipos de colágeno (CHATTOPADHYAY; RAINES, 2014), cujas funções variam dependendo do local onde se encontram, mas de modo geral, cumprem papéis estruturais (RICARD-BLUM, 2011). Os tipos de colágeno são nomeados com numerais romanos (I - XXIX) e classificados de acordo com a sua organização supramolecular e estrutura: formadores de fibrilas, associados à fibrilas com tripla hélices interrompidas (FACIT) (MIENALTOWSKI; BIRK, 2014), formadores de rede, colágenos de membrana basal, entre outros, sendo que os colágenos formadores de fibrilas constituem 90% do total (GELSE; PÖSCHL; AIGNER, 2003). As fibrilas são heterotípicas, ou seja, são compostas por mais de um tipo de colágeno, de modo que seus principais formadores são os colágenos tipo I, II e III (MIENALTOWSKI; BIRK, 2014).

Os diversos tipos de colágenos cumprem funções variadas, principalmente na manutenção e estabilidade dos tecidos (GELSE; PÖSCHL; AIGNER, 2003), regulando a migração, proliferação e diferenciação de células adjacentes (RICARD-BLUM, 2011). De acordo com Gelse,

Pöschl e Aigner (2003), essa proteína é muito relevante no desenvolvimento de órgãos, já que auxilia no armazenamento local e distribuição de fatores de crescimento e citocinas, o que também a torna um transportador de fatores terapêuticos. Segundo Tazima, Vicente e Moriya (2008), o colágeno produzido pelos fibroblastos também é responsável pela resistência da cicatriz.

O colágeno tipo II representa o principal formador da cartilagem hialina e da matriz da cartilagem articular, além de estar presente também no epitélio corneal, corpo vítreo, notocorda, transição epitélio-mesenquimais embrionárias e no núcleo pulposo dos discos intervertebrais (MARK, 2006). Este tipo de colágeno também é encontrado na zona fibrocartilaginosa de enteses de ambos tendões e ligamentos (MIENALTOWSKI; BIRK, 2014). Conforme descrito por Gelse, Pöschl e Aigner (2003), o colágeno tipo II possui duas variantes de splicing: IIA, a modalidade embrionária presente no mesênquima pré-condrogênico, pericôndrio, osteófitos, vértebras e tumores congênitos; e IIB, a principal na cartilagem madura.

O colágeno tipo II não desnaturado (UC-II) é um suplemento glicosilado, derivado da cartilagem esternal de galinhas (BAGI et al., 2017), cuja composição de aminoácidos é uma peça chave para a estabilização e renovação da cartilagem (WALRAND et al., 2008). Este material se mostrou capaz de reduzir a inflamação e dor relacionadas à osteoartrite, quando administrado oralmente, através do mecanismo de tolerância oral, na qual ocorre a inibição da resposta imune contra o colágeno tipo II presente em cartilagens articulares (STABILE et al., 2019).

Neste mecanismo, o UC-II induz células T regulatórias específicas no tecido linfático associado ao intestino (GALT), que secretam citocinas anti-inflamatórias ao interagir com o colágeno tipo II na articulação (GENCOGLU et al., 2020). A IL-4 produzida neste processo também auxilia no reparo da cartilagem, alterando o metabolismo dos condrócitos para repor a MEC (LUGO et al., 2013). O UC-II exerce um papel adicional na artrite, segundo TONG et al. (2010), levando à uma diminuição dos níveis séricos de citocinas inflamatórias.

### 3.3 TRATAMENTOS CONVENCIONAIS DE FERIDAS CUTÂNEAS

A ferida deve ser preparada de modo a reduzir a contaminação local, para posteriormente ser fechada através de sutura (primeira intenção) ou por cicatrização por segunda intenção (COCKBILL; TURNER, 1995). Para isso, a limpeza da ferida é feita, preferencialmente, com solução salina tamponada com fosfato ou ringer lactato, removendo o tecido desvitalizado e debris (BUFFA et al., 1997).

Para garantir uma cicatrização rápida e uma perfusão sanguínea adequada na ferida, deve ser realizado o desbridamento, removendo o tecido lesionado, por meio do uso de enzimas, cirurgicamente (BALSA; CULP, 2015) ou por biocirurgia, na qual usa-se larvas (JONES, WALL, 2007).

Conforme descrito por Balsa e Culp (2015), após a limpeza, deve ser realizada uma cultura da ferida, para a escolha correta do antibiótico a ser usado. A antibioticoterapia sistêmica deve ser usada apenas em casos de infecções. Geralmente, usa-se um antibiótico local de amplo espectro, para inibir a proliferação bacteriana na ferida. Outras alternativas como pomadas, curativos à base de prata ou hiperosmóticos, como o mel, podem ser utilizadas como antimicrobianos. Para o controle da dor, pode-se usar compressas frias, anestésicos e antiinflamatórios não esteroidais. Em casos mais severos, o uso de opióides pode ser necessário.

Curativos devem ser usados como barreira física e para manter um ambiente propício para o reparo, caso não ocorra o fechamento por primeira intenção (PERCIVAL, 2002). De acordo com Balsa e Culp (2015), no manejo de feridas abertas, a manutenção da umidade local impede a formação de crostas, favorecendo a presença de neutrófilos, que reduz a ocorrência de infecções, e promove uma maior rapidez na epitelização. Além disso, no fluido da ferida há enzimas, citocinas e fatores de crescimento, que colaboram na cicatrização. Camadas de contato podem ser usadas, conforme relatado por Devriendt e Rooster (2017), com a finalidade de promover desbridamento autolítico, estimular o tecido de granulação e a epitelização ou pelo efeito antimicrobiano.

A terapia de pressão negativa pode ser usada nas fases iniciais do reparo para a redução da carga bacteriana (DEMARIA et al., 2017), da formação de seroma e hematoma e aumento de citocinas e fatores de crescimento (BALSA; CULP, 2015), assim como do tecido de granulação (NOLFF et al., 2014).

A colocação de drenos pode ser incluída no manejo de feridas contaminadas fechadas cirurgicamente, para o favorecimento da drenagem de líquido e sangue, que pode servir de substrato para bactérias se multiplicarem, ou em casos em que há um grande espaço morto (BALSA; CULP, 2015).

Com o desenvolvimento do manejo de feridas, vários bioscaffolds estão sendo aprimorados. Estes materiais possuem colágeno e fatores de crescimento, servindo como um suporte na formação da matriz extracelular, epitelização e angiogênese (BALSA; CULP, 2015).



### 3.4 O COLÁGENO NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS

No manejo de lesões cutâneas há a constante necessidade da evolução de produtos voltados para o reparo, substituição e melhora dos tecidos, e neste ponto, o colágeno apresenta uma grande diversidade de aplicações (FERREIRA et al., 2012).

A utilização do colágeno como um biomaterial moderno se deu início em 1881. Naquele ano, Joseph Lister, que fundou a cirurgia moderna, e seu ex-aluno William Macewen relataram de modo independente as vantagens de uma sutura biodegradável denominada “catgut”, um biomaterial rico em colágeno, preparado a partir do intestino delgado de uma ovelha. Ao longo dos anos subsequentes, inúmeras inovações têm estendido o alcance do colágeno na engenharia e reparo de tecidos moles. (CHATTOPADHYAY; RAINES, 2014, p. 1, tradução nossa).

O colágeno possui grande disponibilidade, biocompatibilidade, baixa imunogenicidade, facilidade de processamento, capacidade de interagir com células e biodegradabilidade (FERREIRA et al., 2012). Sendo útil em várias aplicações, como a distribuição de fatores de crescimento, células ou fármacos, por sua capacidade de ligação, e a formação de arcabouços para as células, auxiliando no processo de regeneração e reparo tecidual, devido à sua habilidade de formar redes (GELSE; PÖSCHL; AIGNER, 2003).

Os animais são a principal fonte de extração do colágeno, já que possuem grande disponibilidade desta proteína em seu organismo (FERREIRA et al., 2012). Sendo assim, deve-se atentar ao risco de transmissão de patógenos e reações alérgicas, que podem ser evitadas com a utilização do colágeno proveniente da expressão heteróloga em leveduras, por exemplo (CHATTOPADHYAY; RAINES, 2014).

Conforme relatado por Ferreira et al. (2012), o processamento do colágeno pode resultar em diversas formas, como pó, géis, membranas, filmes e misturas com outros polímeros, que podem ser utilizados como agentes hemostáticos, na regeneração e substituição de tecidos, em suturas, como envoltório de nervos, entre outros. Segundo Chattopadhyay e Raines (2014), o colágeno mais utilizado em feridas é o tipo I, classificado como formador de fibrilas.

Membranas e filmes de colágeno permitem esterilização e têm a capacidade de retornar à sua flexibilidade, depois de hidratados. Estes materiais têm sido utilizados, inicialmente, como uma barreira física no tratamento de feridas (CHATTOPADHYAY; RAINES, 2014). No entanto, eles possuem vantagens adicionais, como auxiliar no crescimento de fibroblastos, servindo de suporte para a sua fixação e proliferação (PARK et al., 2000). A estrutura tecidual natural é

alcançada à medida que o arcabouço à base de colágeno promove uma resposta quimiotática, orientando o comportamento celular (STEVENS, 2008).

De acordo com Chattopadhyay e Raines (2014), implantes de matriz de colágeno exercem os efeitos de aumento na formação do tecido de granulação e reepitelização e redução na contração. Do mesmo modo, estudos relatados por Kaasi et al. (2018), mostraram que o uso de biomembranas de colágeno no tratamento de feridas cutâneas foram capazes de induzir a neoformação tecidual, levando a um fechamento completo da ferida, em média 3 vezes mais rápido do que ocorre normalmente. Além disso, não foram observados efeitos adversos e, aparentemente, houve uma estimulação do crescimento piloso.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Trabalho aprovado pela comissão de ética na utilização de animais sobre o protocolo de registro CEUA/UFU 020/20.

Para este experimento, foram utilizados ratos Wistar, cedidos pela Rede de Bioterismo da Universidade Federal de Uberlândia, sendo 54 animais machos, com peso aproximado de 300 gramas e idade de 12-15 semanas.

Os ratos foram mantidos em microisoladores na Rede de Bioterismo da Universidade Federal de Uberlândia durante o período do experimento. A ração e a água foram oferecidas *ad libitum* e o ambiente possuía temperatura controlada de 22°C (+ ou - 2°C), luminosidade no sistema de 12 horas claro/12 horas escuro e com controle de exaustão de ar.

Todos os animais foram submetidos a criação da lesão cutânea no dorso, e posteriormente, foram divididos em três grupos com 18 animais cada: grupo controle (C), controle positivo (CP) e tratado (T).

- Grupo Controle (C): Não recebeu nenhum tipo de tratamento.
- Grupo Controle Positivo (CP): Foi tratado uma vez ao dia com água ultrapura sobre a lesão.
- Grupo Tratado (T): Foi submetido à aplicação diária da membrana de UC-II umedecida com água ultrapura sobre a ferida.

Cada grupo foi subdividido em três subgrupos, com seis (6) animais cada, que foram analisados aos cinco (5), 10 e 15 dias pós lesão.

Tabela 1 - Grupos de tratamento

<b>Grupos</b>	<b>Tratamento</b>	<b>Tempo de tratamento</b>
C	Nenhum	5, 10 e 15 dias
CP	Água ultrapura	5, 10 e 15 dias
T	Membrana de UC-II	5, 10 e 15 dias

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

### 4.1 CIRURGIA

Os animais foram deslocados do alojamento para a sala de cirurgia, na qual foram submetidos à indução anestésica por via intramuscular, com cloridrato de quetamina 10%, na dose

de 100 mg/kg, e cloridrato de xilazina 2%, na dose de 15 mg/kg. Também foi administrado cloridrato de tramadol, na dose de 12,5 mg/kg, 10 minutos antes da cirurgia (Figura 1). Para a manutenção anestésica, foi utilizado Isoflurano.



Figura 1 - Rato Wistar submetido à aplicação intramuscular profunda de cloridrato de tramadol, após indução anestésica. Fonte: Da própria autora (2021).

O animal foi posicionado em decúbito ventral e, posteriormente, foi feita a tricotomia da área por arrancamento (Figura 2A) e antissepsia com álcool iodado a 3% (Figura 2B).

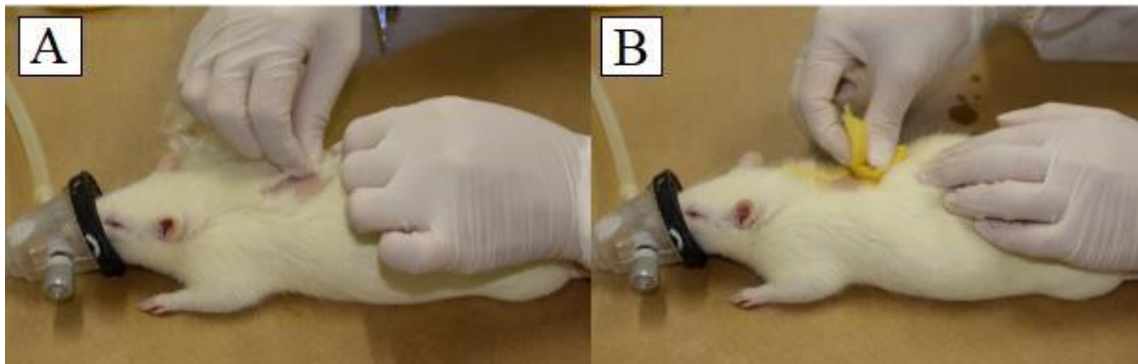


Figura 2 - Observa-se rato Wistar em decúbito ventral, submetido à manutenção anestésica com isoflurano através de máscara. A. Nota-se a tricotomia realizada por depilação manual; B. Antissepsia com álcool iodado 3%. Fonte: Da própria autora (2021).

Foi utilizado um trépano de 7,5 mm de diâmetro para a demarcação da área da pele a ser ressecionada, 1 cm caudal à cernelha (Figura 3A), que foi removida completamente por meio de tesoura de íris, com exposição da fáscia muscular (Figura 3B). Para analgesia, todos os animais foram submetidos à aplicação de cloridrato de tramadol, na dose de 12,5 mg/kg, por via intraperitoneal, imediatamente após a cirurgia e a cada 24 horas durante 4 dias.



Figura 3 - Rato Wistar submetido à criação do defeito cutâneo. A. Observa-se a demarcação da lesão com um trépano de 7,5 mm de diâmetro. B. Remoção de segmento cutâneo com tesoura cirúrgica de íris. C. Aspecto final da ferida cirúrgica. Fonte: Da própria autora (2021).

#### 4.2 TRATAMENTO

Imediatamente após a cirurgia, a membrana de UC-II foi aplicada e umedecida com água ultrapura no grupo T (Figura 4A). O grupo CP foi submetido à limpeza com a mesma água. Nos dias seguintes, uma vez ao dia, cada animal dos grupos CP e T era submetido à limpeza da ferida, utilizando gaze embebida em água ultrapura. Em seguida, era aplicado 1 mL de água ultrapura sobre o ferimento dos animais do grupo CP (Figura 4B), e no grupo T, era reaplicada a película de UC-II umedecida com água ultrapura.

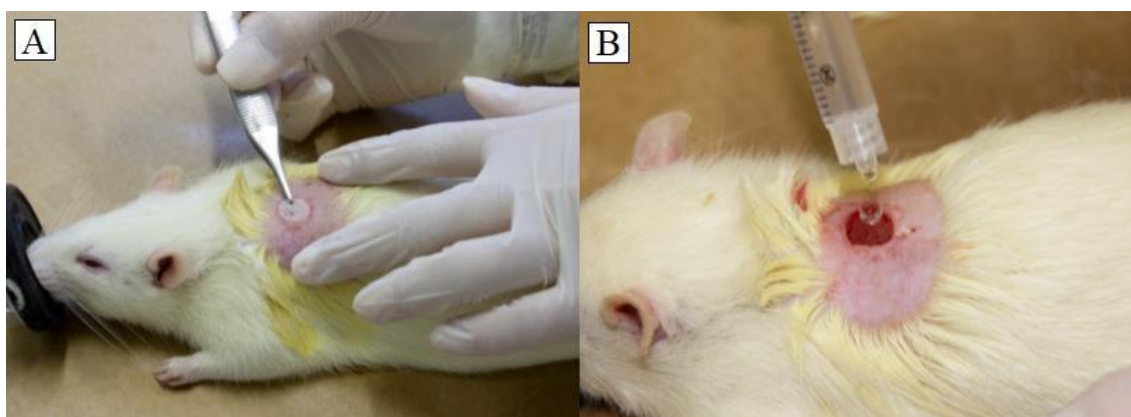


Figura 4 - Rato Wistar submetido ao tratamento da ferida. A. Aplicação da membrana de UC-II na lesão. B. Observase a instilação de água ultrapura na ferida cirúrgica. Fonte: Da própria autora (2021).

#### 4.3 EUTANÁSIA

Ao final dos respectivos períodos de tratamento (5, 10 e 15 dias), todos os animais foram submetidos à eutanásia por aprofundamento anestésico por via intraperitoneal, com cloridrato de

lidocaína 2%, na dose de 57 mg/kg, seguido de tiopental sódico 5%, na dose de 200 mg/kg. Após a confirmação de parada respiratória, foi realizado deslocamento cervical.

#### 4.4 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Imediatamente após eutanásia, foi coletado um fragmento de tecido da área onde foi criada a ferida, por meio de um trépano de 10 mm de diâmetro.

O fragmento coletado foi fixado em solução de formalina tamponada a 10% e passou por processamento, seguindo as técnicas de rotina, que inclui desidratação, diafanização e inclusão em parafina. Cada peça resultou em 7 lâminas, de cortes longitudinais, com 5 micrômetros de espessura, que foram coradas por Hematoxilina e Eosina.

Foi realizada uma análise descritiva duplo cego, considerando a presença de crosta, reepitelização e infiltrado linfoplasmocitário na ferida. Cada critério foi classificado como discreto, moderado, intenso ou ausente.

Para a elaboração de gráficos e um melhor entendimento do comportamento das lesões, cada classificação foi associada a um escore: 4 para características intensas, 3 para moderadas, 1 para as discretas e 0 para as ausentes, exceto para a crosta, que foi classificada como presente (1) ou ausente (0). A média do escore de cada grupo foi calculada baseada nos valores de escore encontrados para cada animal nos dias 5, 10 e 15 do estudo.

## 5 RESULTADOS

As características das feridas foram avaliadas de acordo com sua taxa de reepitelização, infiltrado linfoplasmocitário e presença de crosta. Aos 5 dias todos os grupos apresentaram uma taxa de reepitelização ausente, acentuada infiltração linfoplasmocitária e presença de crosta. No 10º dia todos grupos apresentaram reepitelização, variando de acentuada a discreta, e redução do infiltrado linfoplasmocitário e da presença de crosta. Aos 15 dias, notou-se uma intensa reepitelização, diminuição do infiltrado linfoplasmocitário e ausência de crosta de modo geral em todos os grupos.

Ao avaliar o grupo C, notou-se que em relação a reepitelização, os escores médios foram ausente (0) no 5º dia, discreto ( $\cong$  1) no 10º dia e moderado ( $\cong$  3) no 15º dia. No grupo CP, os escores médios observados foram ausente (0) no 5º dia, discreto ( $\cong$  1) no 10º dia e acentuado ( $\cong$  4) no 15º dia. O grupo T obteve médias de escore de ausente (0) no 5º dia, moderado ( $\cong$  3) no 10º dia e acentuada (4) no 15º dia (Gráfico 1). É possível afirmar que ao longo dos dias, mesmo com diferença nas características, todos os grupos atingiram a reepitelização.



Gráfico 1 - Os gráficos apresentam os escores médios encontrados em cada grupo, nos dias 5, 10 e 15 do estudo, considerando a reepitelização da ferida. Considera-se 0 = ausente, 1 = discreto, 3 = moderado e 4 = acentuado. A linha de tendência se apresenta crescente. Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Ao analisar o infiltrado linfoplasmocitário, os grupos C e CP obtiveram escore médio acentuado (4) no 5º dia, moderado ( $\cong$  3) no 10º dia e ausente ( $\cong$  0) no 15º dia. O grupo T obteve escore médio moderado ( $\cong$  3) no 5º dia, discreto (1) no 10º dia e ausente ( $\cong$  0) no 15º dia (Gráfico 2). É possível afirmar que ao longo dos dias, mesmo com diferença nas características, todos os grupos mostraram redução do infiltrado linfoplasmocitário nas lesões.



Gráfico 2. Os gráficos apresentam os escores médios encontrados em cada grupo nos dias 5, 10 e 15 do estudo, considerando o infiltrado linfoplasmocitário da ferida. Considera-se 0 = ausente, 1 = discreto, 3 = moderado e 4 = acentuado. A linha de tendência apresenta-se decrescente. Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Ao analisar a presença de crosta na ferida, os grupos C e CP, em média, a crosta se encontrava presente nos dias 5 e 10, e ausente no 15º dia do estudo. No grupo T, a crosta só estava presente, em média no 5º dia (Gráfico 3). Houve redução da crosta nas feridas ao longo do tempo de estudo.



Gráfico 3. Os gráficos apresentam os escores médios encontrados em cada grupo nos dias 5, 10 e 15 do estudo, considerando a presença de crosta na ferida. Considera-se 1 = presente e 0 = ausente. A linha de tendência apresenta-se decrescente. Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Ao comparar cortes histológicos dos diferentes tempos de tratamento do grupo C, é possível observar a redução da crosta, representada pela camada eosinofílica na parte superior do tecido nas fotomicrografias, de modo que se encontra ausente no 15º dia do tratamento (Figura 7). Com relação ao infiltrado linfoplasmocitário, evidenciado pelos pontos basofílicos apresentados de modo difuso na derme e na crosta, entre os dias 5 e 10 (Figuras 5 e 6, respectivamente), nos cortes apresentados, não houve redução, sendo ausente no 15º dia de tratamento. A reepitelização, visualizada como epitélio pavimentoso estratificado, se mostrou mais evidente apenas no 15º dia de tratamento, junto à uma fina camada de queratina (Figura 7). Foi possível observar deposição de colágeno na derme em padrão denso, caracterizando um tecido cicatricial (Figura 8).



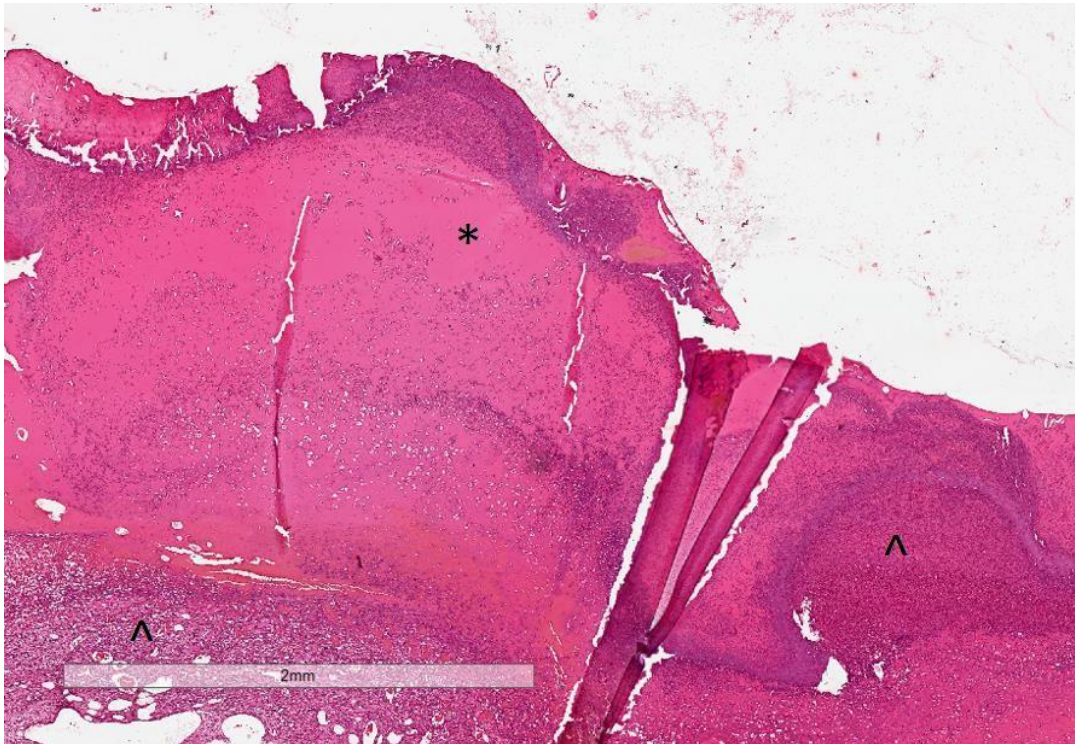


Figura 5 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida do grupo C, com 5 dias de tratamento. Destaca-se a espessa crosta (\*) e o infiltrado linfoplasmocitário (^). Obj. 20x. Fonte: Da própria autora (2021).

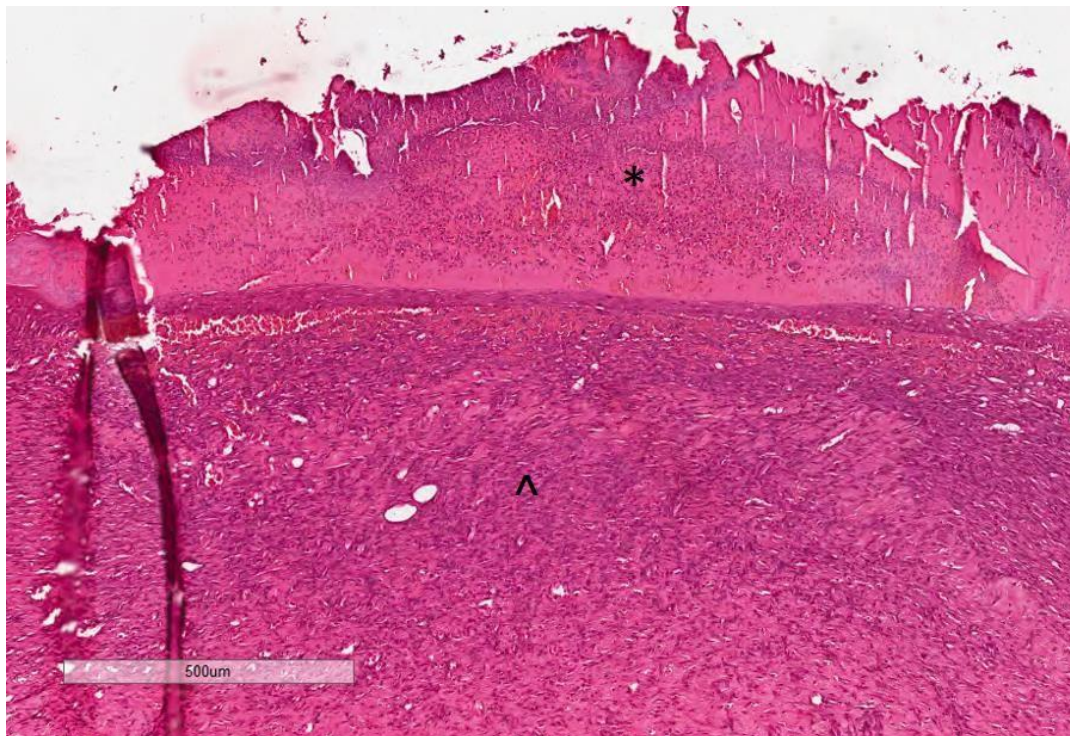


Figura 6 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida do grupo C, com 10 dias de tratamento, evidenciando a redução da crosta (\*) e o infiltrado linfoplasmocitário (^). Obj. 20x. Fonte: Da própria autora (2021).



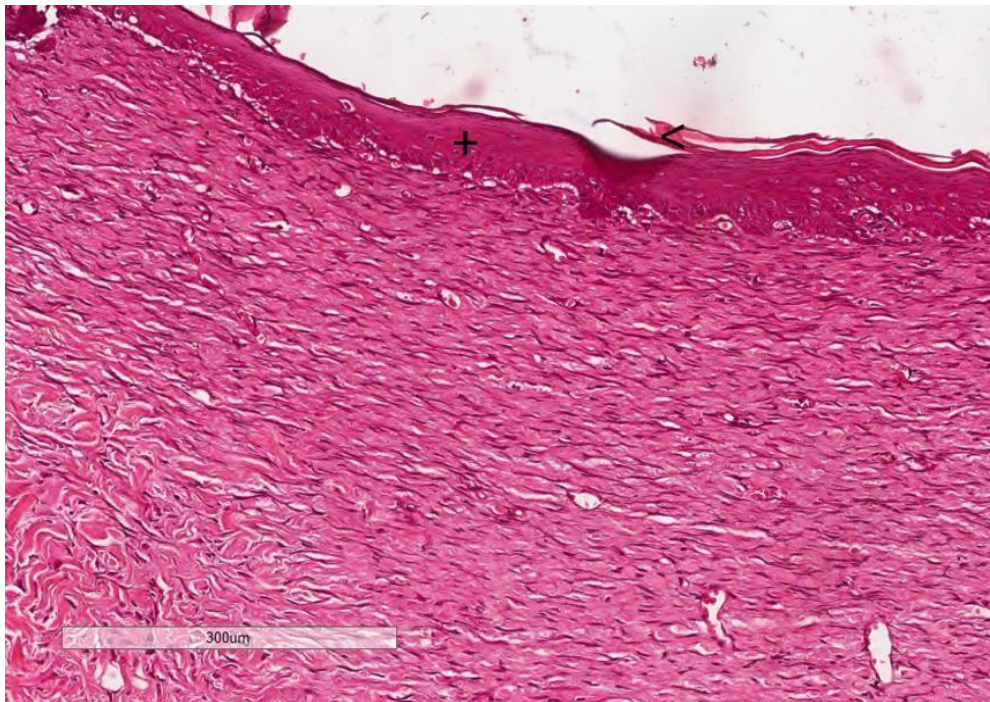


Figura 7 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida grupo C, com 15 dias de tratamento, exibindo reepitelização (+) e queratina (<). Obj. 40x. Fonte: Da própria autora (2021).

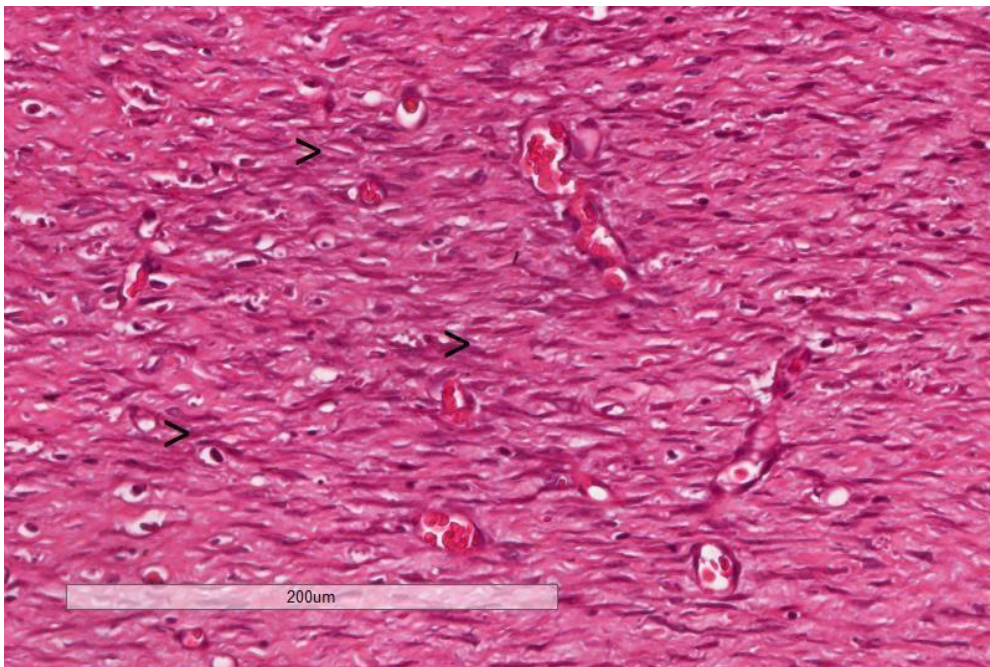


Figura 8 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida do grupo C, aos 15 dias de tratamento, com deposição de colágeno em padrão denso (>). Obj. 40x. Fonte: Da própria autora (2021).

No grupo CP, foi observado que a ferida se comportou da mesma maneira que no grupo C ao longo do período de observação. Entretanto, a crosta se apresentou mais espessa no grupo C e



a reepitelização do grupo CP no 15º dia de tratamento se mostrou mais desenvolvida, com o início de formação de cristas epidérmicas e padrão de colágeno denso (Figuras 9, 10 e 11).

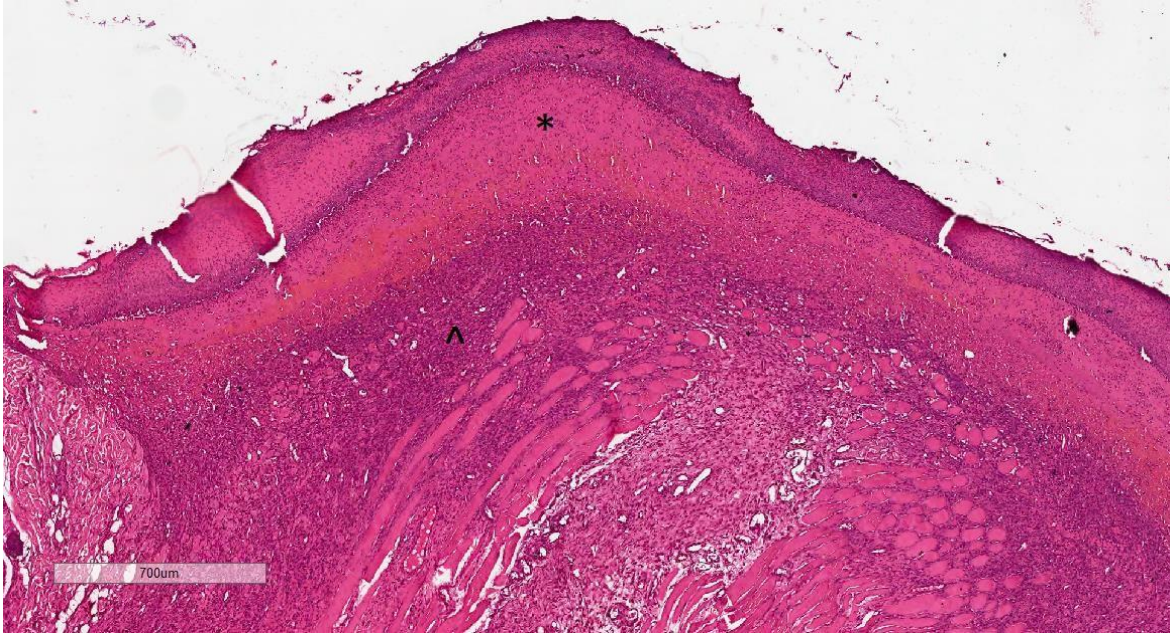


Figura 9 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida do grupo CP, aos 5 dias de tratamento, com destaque para a crosta (\*) e o intenso infiltrado linfoplasmocitário (^). Obj. 20x. Fonte: Da própria autora (2021).

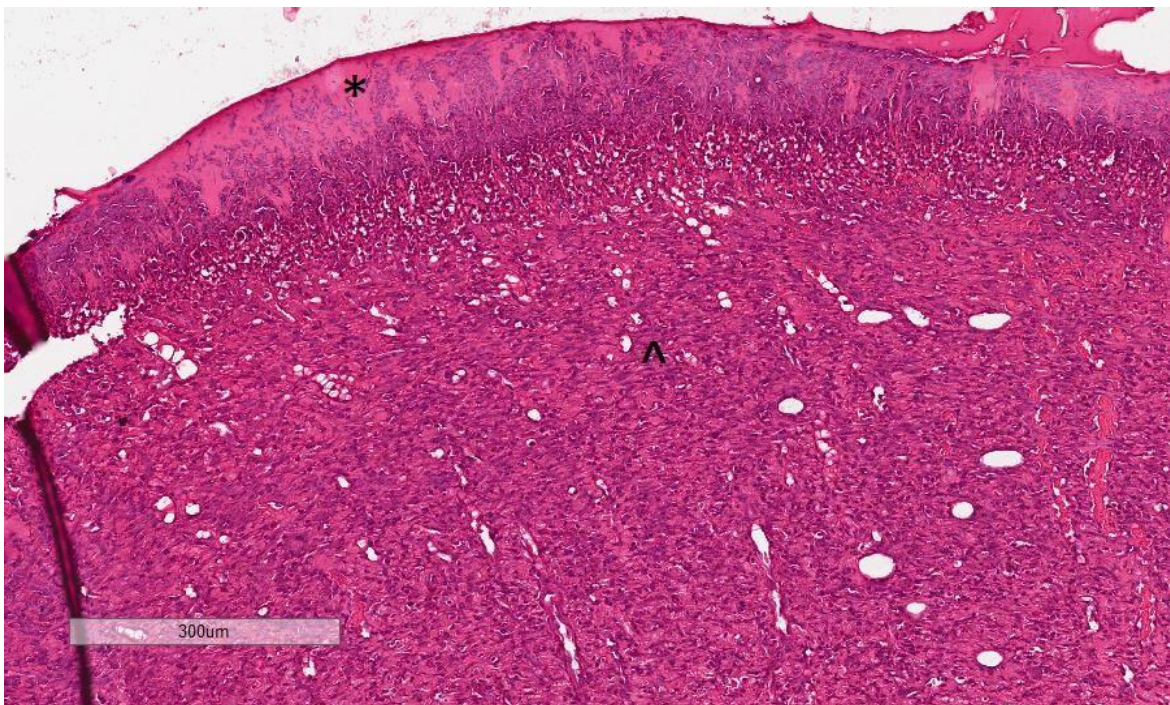


Figura 10 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida do grupo CP, aos 10 dias de tratamento. É possível visualizar intenso infiltrado linfoplasmocitário (^) e presença de crosta (\*). Obj. 20x. Fonte: Da própria autora (2021).



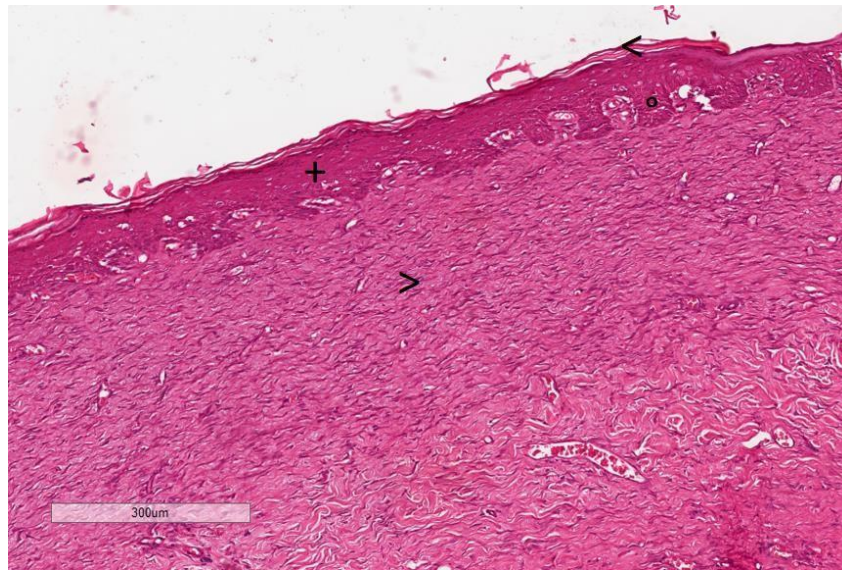


Figura 11 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida do grupo CP, no 15° dia de tratamento. É possível evidenciar a reepitelização (+), com a formação de cristas epidérmicas (°), presença de queratina (<) e padrão denso de deposição de colágeno (>). Obj. 20x. Fonte: Da própria autora (2021).

Ao avaliar o grupo T, a presença de crosta e infiltrado linfoplasmocitário foram observadas no 5° dia de tratamento (Figura 12). No 10° dia de tratamento, foi possível observar redução significativa dos critérios citados anteriormente e a presença de reepitelização com cristas epidérmicas e deposição de colágeno em padrão denso e de queratina (Figura 13 e 14). No 15° dia de tratamento, foi possível observar uma reepitelização mais intensa, neovascularização e ausência de crosta e infiltrado linfoplasmocitário (Figuras 15 e 16).

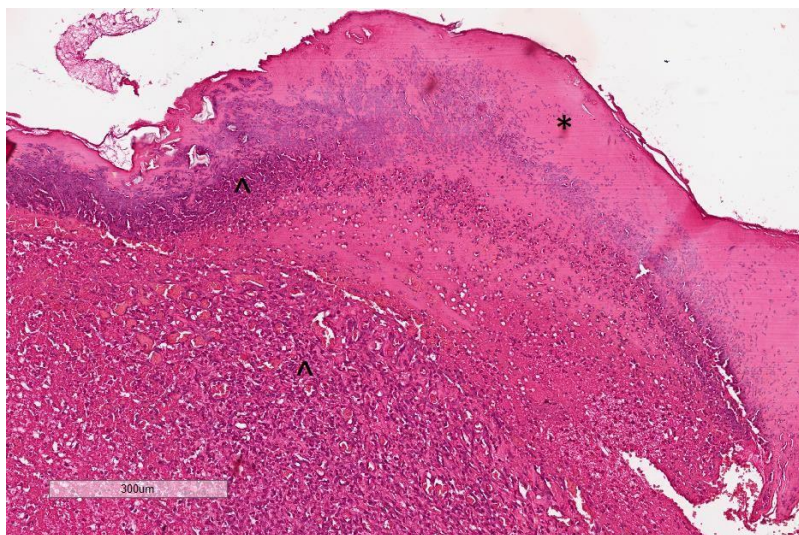


Figura 12 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida do grupo T, com 5 dias de tratamento. Destaca-se a presença intensa de infiltrado linfoplasmocitário (^) e crosta (\*). Obj. 20x. Fonte: Da própria autora (2021).



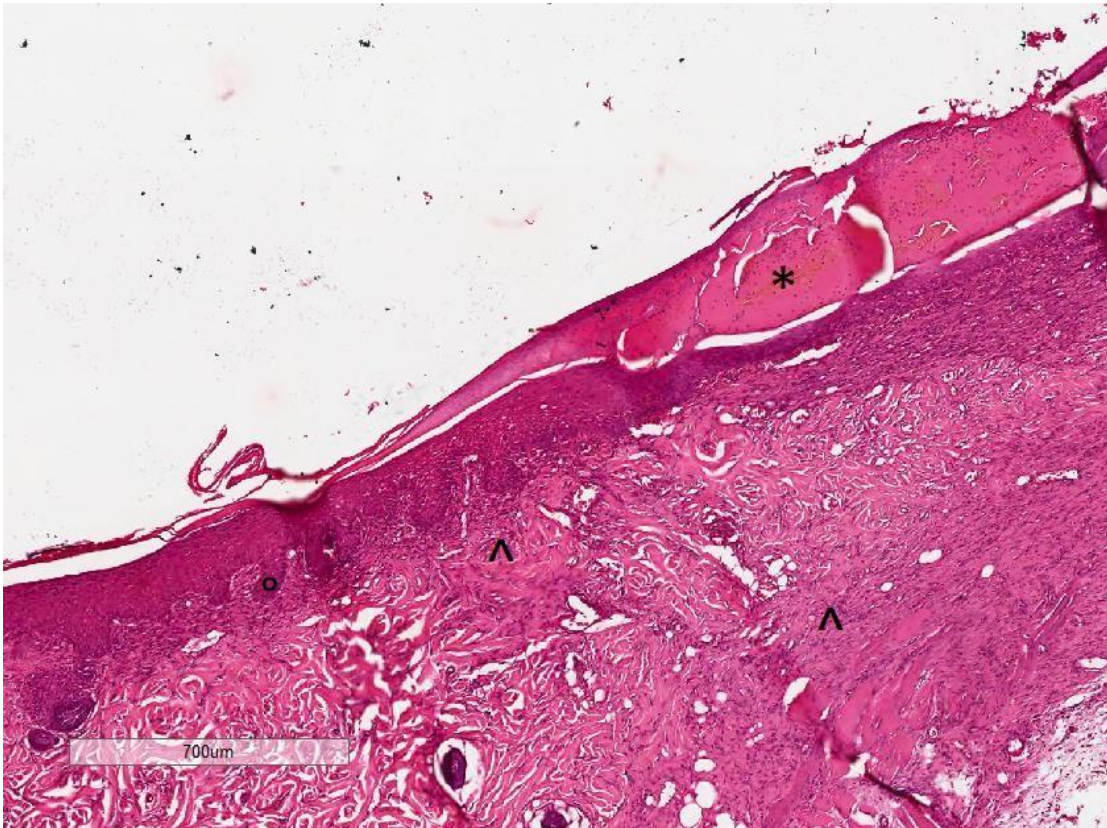


Figura 13 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida do grupo T, no 10º dia de tratamento. É possível visualizar a presença de crosta (\*), redução do infiltrado linfoplasmocitário (^), presença de cristas epidérmicas (°). Obj. 20x. Fonte: Da própria autora (2021).

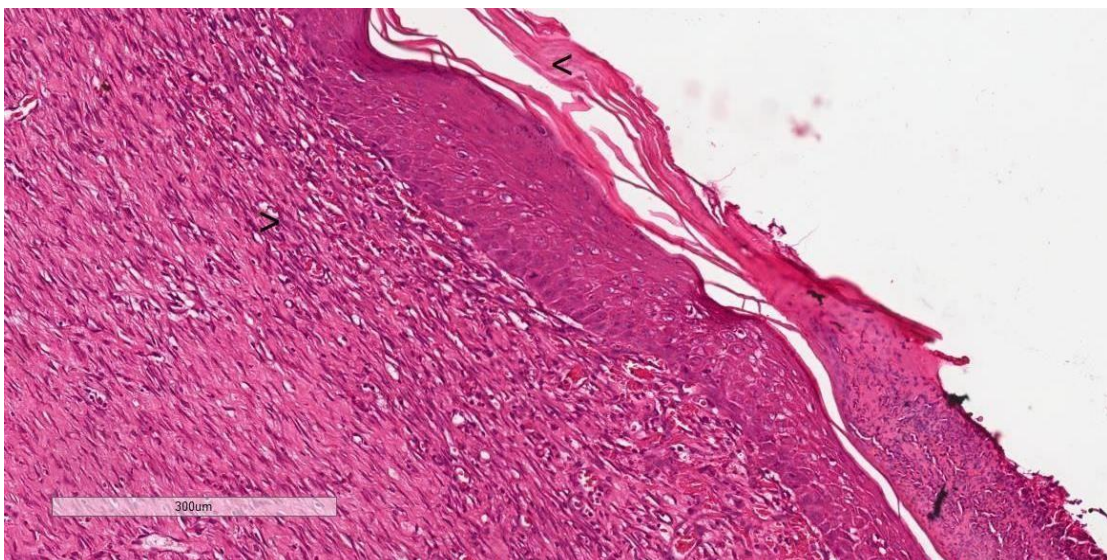


Figura 14 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida do grupo T, com 10 dias de tratamento, na qual é possível visualizar deposição de colágeno em padrão denso (>) e queratina (<). Obj. 20x. Fonte: Da própria autora (2021).



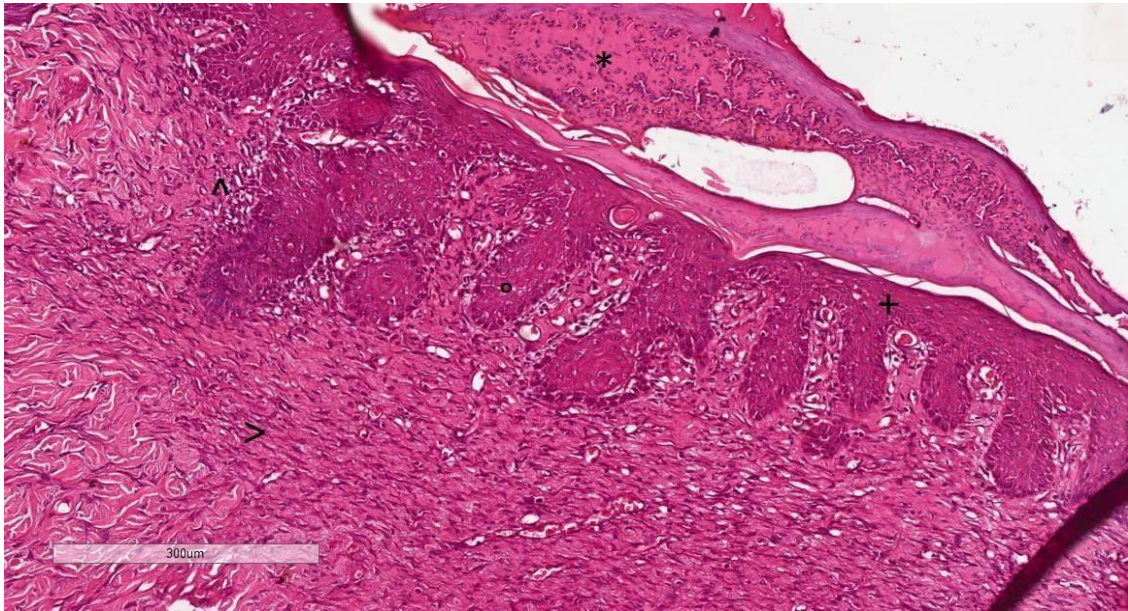


Figura 15 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida pertencente ao grupo T, no 15º dia de tratamento, evidenciando a presença de reepitelização (+) com cristas epidérmicas (°), deposição de colágeno em padrão denso (>), presença de crosta (\*) e leve infiltrado linfoplasmocitário (^). Obj. 20x. Fonte: Da própria autora (2021).

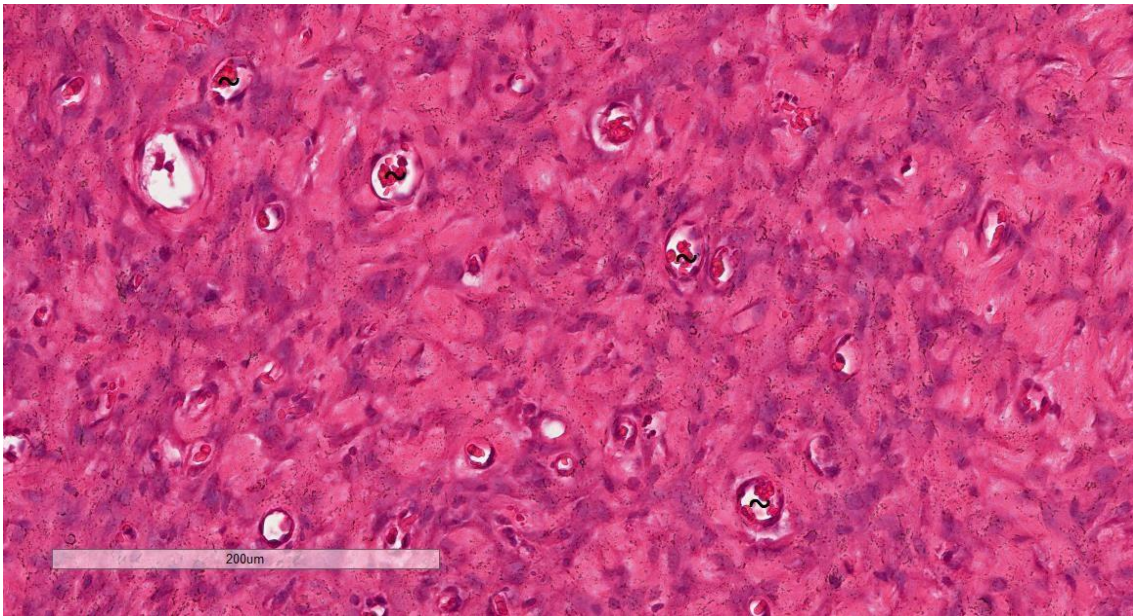


Figura 16 - Fotomicrografia de pele de rato. Observa-se ferida do grupo T, no 15º dia de tratamento, destacando-se a neovascularização (~). Obj. 40x. Fonte: Da própria autora (2021).

## 6 DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, é possível afirmar que ao longo do curso de tratamento, mesmo com diferença nas características, todos os grupos apresentaram reepitelização e redução do infiltrado linfoplasmocitário e crosta.

Em todos os tempos de tratamento, o grupo T obteve melhor desempenho no processo cicatricial, quando comparado aos demais grupos. Houve uma redução mais rápida do infiltrado linfoplasmocitário, concomitante com o desenvolvimento da reepitelização.

Ao avaliar os cortes histológicos apresentados, pôde-se observar que o desenvolvimento epitelial do grupo T também se destacou dos outros, ao formar estruturas mais próximas às de uma pele íntegra de modo precoce, o que também foi descrito nas pesquisas de Kaasi et al. (2018). No 10º dia de tratamento, já era possível visualizar cristas epidérmicas, fibras de colágeno em padrão denso e certa queratinização. Este resultado corrobora os estudos de Chattopadhyay e Raines (2014), que afirmam que implantes de matriz de colágeno levam ao aumento da reepitelização.

O presente estudo comprova também o que foi descrito por Gelse, Pöschl e Aigner (2003), que relatam que o colágeno forma arcabouços para as células, auxiliando reparo tecidual, e por Park et al. (2000), cuja pesquisa descreve que este material serve de suporte para a fixação e proliferação de fibroblastos. Estes dados convergem para o fato que a cicatrização é favorecida pela aplicação do colágeno.

De acordo com Taniguchi e Matsumoto-Oda (2018), a crosta é o produto da coagulação da linfa extravasada de uma lesão combinada com pus e tecido morto. Os autores relatam que quando há remoção da crosta antes da cicatrização completa, esta ocorre mais lentamente e a infecção é favorecida. Foi observada ausência da crosta no grupo T a partir do 10º dia de tratamento sem a presença de infecção, o que indica que a membrana de UC-II substituiu e exerceu o papel da crosta, favorecendo a cicatrização e agindo como uma barreira física.

Quanto ao infiltrado linfoplasmocitário, no 5º dia de tratamento já se mostrava menor no grupo T em relação aos demais e foi possível observar uma queda mais acentuada ao 10º dia. A redução observada neste período indica que a fase inflamatória se encontrava mais avançada, seguindo para o próximo estágio do reparo tecidual, evidenciando uma maior rapidez na evolução da cicatrização.

Foi observado discreto infiltrado linfoplasmocitário em três indivíduos no 15º dia de tratamento. Uma hipótese da causa da sua permanência, é a presença da membrana de UC-II, já

que de acordo com Ackermann (2013), o infiltrado indica inflamação, promovendo a eliminação de microrganismos, tecido necrótico e materiais estranhos. Neste caso, a membrana representaria um corpo estranho ao organismo.

Apesar da leve inflamação tecidual no 15º dia de tratamento em alguns indivíduos, não foi observado nenhum efeito adverso da aplicação da membrana de UC-II nas feridas, assim como nos estudos de Kaasi et al. (2018).



## **7 CONCLUSÃO**

Com os resultados obtidos neste estudo, foi possível confirmar a eficácia da membrana de UC-II na cicatrização de feridas cutâneas induzidas experimentalmente em ratos Wistar. O material se mostrou capaz de acelerar o reparo tecidual sem causar efeitos adversos.

## REFERÊNCIAS

BAGI, C. M. et al. Oral administration of undenatured native chicken type II collagen (UC-II) diminished deterioration of articular cartilage in a rat model of osteoarthritis (OA).

**Osteoarthritis and Cartilage**, Estados Unidos da América, v. 25, n. 12, p. 2080-2090, set. 2017. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/319585436\\_Oral\\_Administration\\_of\\_Undenatured\\_Native\\_Chicken\\_Type\\_II\\_Collagen\\_UC-II\\_Diminished\\_Deterioration\\_of\\_Articular\\_Cartilage\\_in\\_a\\_Rat\\_Model\\_of\\_OA/link/5e6d49cb458515e5557c8771/download](https://www.researchgate.net/publication/319585436_Oral_Administration_of_Undenatured_Native_Chicken_Type_II_Collagen_UC-II_Diminished_Deterioration_of_Articular_Cartilage_in_a_Rat_Model_of_OA/link/5e6d49cb458515e5557c8771/download). Acesso em: 27 fev. 2021.

BALSA, I. M.; CULP, W. T. N. Wound care. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Estados Unidos da América, v. 45, n. 5, p. 1049-1065, set. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195561615000728?via%3Dihub>. Acesso em: 2 mar. 2021.

BUFFA, E. A. et al. The effects of wound lavage solutions on canine fibroblasts: An In Vitro Study. **Veterinary Surgery**, República da África do Sul, v. 26, n. 6, p. 460-466, nov.-dez. 1997. Disponível em: [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/49987704/j.1532-950x.1997.tb00517.x20161030-6457-152ilu2.pdf?1477856864=&response-contentdisposition=inline%3B+filename%3DThe\\_Effects\\_of\\_Wound\\_Lavage\\_Solutions\\_on.pdf&Expires=1620844385&Signature=DN-Oon034Q0JZRBYEBCYzNzNdj~PcBeGDknkpczBJRGX6vXo2jRexAp19~R4UeCfGaZmdkMil iRXVY6fNojfGYBWQ5y9ct~l2IRR6~UhsesB1QhkQnbLW0yvWJUzJczOsN7xvhOBYzo8C5I YAtmLvt6AQWaXTyZu8Khs4H1XofUZhj7-mhJ6Jsq2qmsVL29ykjVdmQoQd7IBQ-Zt97Uu1j-QsdL136uibU9x9OWkY~wLAHKaiJfmcDaHSOS7IK5SOFLsg2p~12ZAbPwCIGcZ9yFNUJnh Fsoa-To5fD4tH-DQPti6LhsyK3MQExwwZkdY99YQMMykiMQ0abTdTyIWQQ\\_\\_&Key-PairId=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/49987704/j.1532-950x.1997.tb00517.x20161030-6457-152ilu2.pdf?1477856864=&response-contentdisposition=inline%3B+filename%3DThe_Effects_of_Wound_Lavage_Solutions_on.pdf&Expires=1620844385&Signature=DN-Oon034Q0JZRBYEBCYzNzNdj~PcBeGDknkpczBJRGX6vXo2jRexAp19~R4UeCfGaZmdkMil iRXVY6fNojfGYBWQ5y9ct~l2IRR6~UhsesB1QhkQnbLW0yvWJUzJczOsN7xvhOBYzo8C5I YAtmLvt6AQWaXTyZu8Khs4H1XofUZhj7-mhJ6Jsq2qmsVL29ykjVdmQoQd7IBQ-Zt97Uu1j-QsdL136uibU9x9OWkY~wLAHKaiJfmcDaHSOS7IK5SOFLsg2p~12ZAbPwCIGcZ9yFNUJnh Fsoa-To5fD4tH-DQPti6LhsyK3MQExwwZkdY99YQMMykiMQ0abTdTyIWQQ__&Key-PairId=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA). Acesso em: 3 mar. 2021.

CHATTOPADHYAY, S.; RAINES, R. T. Collagen-based biomaterials for wound healing. **National Institutes of Health**, Madison, v. 101, n. 8, p. 821-833, ago. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4203321/pdf/nihms575649.pdf>. Acesso em: 8 mar. 2021.

COCKBILL, S. M.; TURNER, T. D. Management of veterinary wounds. **Veterinary Record**, v. 136, n. 14, p. 362-365, abr. 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7610542/>. Acesso em: 27 fev. 2021.

DEMARIA, M. et al. Effects of negative pressure wound therapy on healing of open wounds in dogs. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, Michigan, v. 47, p. 658-669, ago. 2017. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/318972178\\_Negative\\_Pressure\\_Wound\\_Therapy](https://www.researchgate.net/publication/318972178_Negative_Pressure_Wound_Therapy). Acesso em: 3 mar. 2021.

DESMOULIÈRE, A. et al. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. **The American Journal of Pathology**, Suíça, v. 146, n. 1, p. 55-66, jan. 1995. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1870783/pdf/amjpathol00049-0063.pdf>. Acesso em: 17 fev. 2021.

DEVRIENDT, N.; ROOSTER, H. Initial management of traumatic wounds. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Bélgica, v. 47, n. 6, p. 1123-1134, nov. 2017.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195561617300621?via%3Dihub>.

Acesso em: 2 mar. 2021.

DIRE, D. J.; WELSH, A. P. A comparison of wound irrigation solutions used in the emergency department. **Annals of Emergency Medicine**, Texas, v. 19, n. 6, p. 704-708, jun. 1990.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0196064405824849>.

Acesso em: 3 mar. 2021.

FERREIRA, A. M. et al. Collagen for bone tissue regeneration. **Acta Biomaterialia**, Itália, v. 8, n. 9, p. 3191-3200, jun. 2012. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1742706112002620?via%3Dihub>.

Acesso em: 7 mar. 2021.

GELSE, K.; PÖSCHL, E.; AIGNER, T. Collagens - structure, function and biosynthesis.

**Science Direct**, Alemanha, v. 55, n. 12, p. 1531-1546, nov. 2003. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X03001820?via%3Dihub>.

Acesso em: 27 fev. 2021.

GENCOGLU, H. Udenatured type II collagen (UC-II) in joint health and disease: A review on the current knowledge of companion animals. **Animals**, Turquia, v. 10, n. 4, p. 1-24, abr. 2020.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7222752/pdf/animals-1000697.pdf>. Acesso em: 5 mar. 2021.

GURTNER, G. C. et al. Wound repair and regeneration. **Nature Research**, Suíça, v. 453, p.

314-321, mai, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature07039>. Acesso em: 16 fev. 2021.

HUMPHREYS, B. D. et al. Fate tracing reveals the pericyte and not epithelial origin of myofibroblasts in kidney fibrosis. **The American Journal of Pathology**, Taiwan, v. 176, n. 1, p. 85-97, jan. 2010. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2797872/pdf/main.pdf>. Acesso em: 4 mar. 2021.

JONES, G.; WALL, R. Maggot-therapy in veterinary medicine. **Research in Veterinary Science**, Reino Unido, v. 85, n. 2, p. 394-398, dez. 2007. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528807003025?via%3Dihub>.

Acesso em: 3 mar. 2021.

KAASI, A. et al. Regenerative collagen biomembrane: Interim results of a phase I veterinary clinical trial for skin repair [version 1; referees: 2 approved, 1 approved with reservations].

**F1000Research**, Brasil, v. 7, p. 1-19, jun. 2018. Disponível em:

<https://f1000researchdata.s3.amazonaws.com/manuscripts/16492/421aec16-9ce7-4b7e->

ad9edee4301bf4e1\_15138\_\_andreas\_kaasi.pdf?doi=10.12688/f1000research.15138.1&numberOfBrowsableCollections=27  
&numberOfBrowsableInstitutionalCollections=4&numberOfBrowsableGateways=25. Acesso em: 7 mar. 2021.

LAZARUS, G. S. et al. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. **Archives of Dermatology**, Estados Unidos da América, v. 130, n. 4, p. 489-493, abr. 1994. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamadermatology/articleabstract/555709>. Acesso em: 18 fev. 2021.

LUGO, J. P. et al. Undenatured type II collagen (UC-II) for joint support: a randomized, doubleblind, placebo-controlled study in healthy volunteers. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, Estados Unidos da América, v. 10, n. 1, p. 1-12, out. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4015808/pdf/1550-2783-10-48.pdf>. Acesso em: 5 mar. 2021.

MARK, K. Structure, biosynthesis and gene regulation of collagens in cartilage and bone. In ROBINS, S. P.; SEIBEL, M.J.; BILEZIKIAN, J. P. **Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism**, 2. ed. Estados Unidos: Academic Press, 2006, p. 3-40.

ACKERMANN, M. R. Inflamação e cicatrização. In MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da Patologia em Veterinária**, 5 ed. Estados Unidos: Elsevier, 2013, p. 242-382.

MIENALTOWSKI, M. J.; BIRK, D. E. Structure, physiology, and biochemistry of collagens. In: HALPER, J. **Progress in Heritable Soft Connective Tissue Diseases. Advances in Experimental Medicine and Biology**, ed 2014. Florida: Jaroslava Halper, 2014, p. 5-29.

NOLFF, M. C. et al. Negative pressure wound therapy, silver coated foam dressing and conventional bandages in open wound treatment in dogs. **Veterinary and Comparative Orthopaedics Traumatology**, Alemanha, v. 28, n. 1, p. 30-38, dez. 2014. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.3415/VCOT-14-05-0076>. Acesso em: 4 mar. 2021.

PARK, J. et al. Type I atelocollagen grafting onto ozone-treated polyurethane films: Cell attachment, proliferation, and collagen synthesis. **Journal of Biomedical Materials Research**, Coreia, v. 52, n. 4, p. 669-677, dez. 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11033549/>. Acesso em: 5 mar. 2021.

PATINO, M. G. et al. Collagen: an overview. **Implant Dentistry**, Nova Iorque, v. 11, n. 3, p. 280-285, set. 2002. Disponível em: [https://journals.lww.com/implantdent/Fulltext/2002/07000/Collagen\\_\\_An\\_Overview.14.aspx](https://journals.lww.com/implantdent/Fulltext/2002/07000/Collagen__An_Overview.14.aspx). Acesso em: 4 mar. 2021.

PERCIVAL, N.J. Classification of wounds and their management. **Surgery**, Reino Unido, v. 20, n. 5, p. 114-117, mai. 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0263931906702277>. Acesso em: 2 mar. 2021.

- REINKE, J. M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. **European Surgical Research**, Alemanha, v. 49, n. 1, p. 35-43, jul. 2012. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Pdf/339613>. Acesso em: 15 fev. 2021.
- RICARD-BLUM, Sylvie. The collagen family. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, França, v. 3, n. 1, p. 1-19, jan. 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3003457/pdf/cshperspect-ECM-a004978.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2021.
- RODERO, M. P; KHOSROTEHRANI, K. Skin wound healing modulation by macrophages. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, Australia, v. 3, n. 7, p. 643653, jul. 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2933384/pdf/ijcep0003-0643.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2021.
- RODRIGUES, Melanie et al. Wound healing: a cellular perspective. **American Physiological Society**, Estados Unidos, v. 99, p. 665-706, nov. 2018. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/physrev.00067.2017>. Acesso em: 16 fev. 2021.
- ROSINĆZUK, Joanna et al. Mechanoregulation of wound healing and skin homeostasis. **BioMed Research International**, Polônia, p. 1-13, jun. 2016. Disponível em: <https://downloads.hindawi.com/journals/bmri/2016/3943481.pdf>. Acesso em: 17 fev. 2021.
- SORG, Heiko et al. Skin wound healing: an update on the current knowledge and concepts. **European Surgical Research**, Alemanha, v. 58, n. 1-2, p. 81-94, dez. 2016. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Pdf/454919>. Acesso em: 16 fev. 2021.
- STABILE, M. et al. Evaluation of the effects of undenatured type II collagen (UC-II) as compared to robenacoxib on the mobility impairment induced by osteoarthritis in dogs. **Veterinary Sciences**, Itália, v. 6, n. 3, p. 1-11, set. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6789547/pdf/vetsci-06-00072.pdf>. Acesso em: 5 mar. 2021.
- STEVENS, M. M. Biomaterials for bone tissue engineering. **Materials Today**, Londres, v. 11, n. 5, p. 18-25, mai. 2008. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1369702108700865?token=241752ED0C9E567CCA39F5C1A5F61189EEBEF8E1CBAAEF3AFE144026DD192E9B1423AA79B24210659A2E51B8EC3BABA8&originRegion=us-east-1&originCreation=20210512212011>. Acesso em: 6 mar. 2021.
- TANIGUCHI, H.; MATSUMODO-ODA, A. Wound healing in wild male baboons: estimating healing time from wound size. **PLoS ONE**, Japão, v. 13, n. 10, p. 1-13, out 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6177146/pdf/pone.0205017.pdf>. Acesso em: 20 set. 2021.
- TAZIMA, M. F. G. S.; VICENTE, Y. A. M. V. A; MORIYA, T. Biologia da ferida e cicatrização. **Medicina (Ribeirão Preto)**, Ribeirão Preto, v. 41, n. 3, p. 259-264, set. 2008.

Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-530205>. Acesso em: 15 fev. 2021.

TONG, T. et al. Chicken type II collagen induced immune balance of main subtype of helper T cells in mesenteric lymph node lymphocytes in rats with collagen-induced arthritis. **Inflammation Research**, China, v. 59, n. 5, p. 369-377, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00011-009-0109-4>. Acesso em: 24 fev. 2021.

WALRAND, S. et al. Consumption of a functional fermented milk containing collagen hydrolysate improves the concentration of collagen-specific amino acids in plasma. **Agricultural and Food Chemistry**, França, v. 56, n. 17, p. 7790-7795, ago. 2008. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jf800691f>. Acesso em: 26 fev. 2021.