



## Cicatrização da musculatura reto-abdominal em coelhos submetidos à laparorráfia com fios de sutura à base de quitosana, categute cromado e poliglactina 910

[*Healing of the rectus abdominis muscle in rabbits submitted to laparorrhaphy with suture-based chitosan, chromic catgut and polyglactin 910*]

A.P. Alves<sup>1</sup>, M.J.C. Sá<sup>2</sup>, M.V.L. Fook<sup>3</sup>, R.C.A.L. Cruz<sup>3</sup>, R.O. Rego<sup>4</sup>, M.O. Firmino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Aluno de pós-graduação - Universidade Federal de Campina Grande - Patos, PB

<sup>2</sup>Universidade Federal de Campina Grande - Patos, PB

<sup>3</sup>Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais - Universidade Federal de Campina Grande - Campina Grande, PB

<sup>4</sup>Aluno de pós-graduação - Universidade de São Paulo - São Paulo, SP

### RESUMO

Objetivou-se, com este estudo, avaliar o processo de cicatrização da musculatura reto-abdominal em coelhos submetidos à laparorráfia, utilizando-se o fio de sutura à base de quitosana, comparando-o aos fios de categute cromado e poliglactina 910. Foram utilizados 24 coelhos adultos, divididos aleatoriamente em quatro grupos: quitosana e categute 15 dias (QC-15dias), quitosana e categute 30 dias (QC-30 dias), quitosana e poliglactina 910 15 dias (QP-15 dias) e quitosana e poliglactina 910 30 dias (QP-30 dias). Cada grupo foi composto por seis coelhos, nos quais foram realizadas duas incisões, uma do lado direito e outra do lado esquerdo e, posteriormente, a laparorráfia, com o fio de quitosana de um lado e o categute cromado ou poliglactina 910 do outro. Realizou-se análise clínico-cirúrgica, histológica e avaliação de achados de necropsia, além de testes de citotoxicidade e de mecânica no fio de quitosana. Ele apresentou baixa resistência mecânica e citotóxica. O fio de quitosana não proporcionou uma cicatrização satisfatória em coelhos, pois desencadeou uma resposta inflamatória acentuada.

Palavras-chaves: biomecânica, cirurgia, leporino, quitina, reparação tecidual

### ABSTRACT

*The objective of this study was to evaluate the healing process of the recto-abdominal muscles in rabbits submitted to laparorrhaphy using chitosan-based suture yarn, comparing it to chrome catgut and polyglactin 910 yarns. Twenty-four adult rabbits were divided in to four random groups: chitosan and polyglactin 910 15 days (QP-15 days) and chitosan and polyglactin 910 30 days (QC-30 days), chitosan and polyglactin 910 15 days (QP-15 days) QP-30 days). Each group consisted of six rabbits, in which two incisions were made, one on the right side and one on the left side, and later the laparorrhaphy with the chitosan yarn on one side and chromed catgut or polyglactin 910 on the other. Clinical-surgical, histological and necropsy findings were evaluated, as well as cytotoxicity and mechanical tests on the chitosan wire. It presented low mechanical and cytotoxic resistance. Chitosan thread did not provide satisfactory healing in rabbits, as it triggered a marked inflammatory response.*

Keywords: biomechanics, surgery, cleft, chitin, tissue repair

### INTRODUÇÃO

A cicatrização tecidual é um processo biológico complexo, que busca a restauração das características fisiológicas do tecido, na tentativa de restabelecer sua função normal. Esse evento

ocorre em três fases: inflamatória, proliferativa e de remodelamento (Young e McNaught, 2011). Os fios de suturas são biomateriais que têm como função principal a reparação tecidual por meio da aproximação das bordas da ferida cirúrgica, contudo, para que se alcance tal objetivo, é

Recebido em 6 de março de 2019

Aceito em 28 de abril de 2020

E-mail: lane.p@hotmail.com

imprescindível que eles apresentem características desejáveis para a sua finalidade, como: criar um ambiente susceptível para o crescimento do tecido, ser antimicrobiano, não tóxico, ter boa compatibilidade e boas propriedades mecânicas, bem como proporcionar mínima reação tecidual (Huaixan *et al.*, 2016; Kandimalla *et al.*, 2016).

Os fios de suturas são classificados de acordo com a origem do material (natural ou sintético), a forma de degradação pelo organismo (absorvível e não absorvível) e o número de filamentos (monofilamentar e multifilamentar) (Gogoi *et al.*, 2014). A quitosana é um biopolímero obtido a partir da quitina, que é um polissacarídeo presente no exoesqueleto de crustáceos, encontrado abundantemente na natureza (Moura *et al.*, 2006). Quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e produzidos por fontes naturais renováveis (Azevedo *et al.*, 2007).

A produção de biomateriais à base de quitosana tem sido foco de várias pesquisas, visto que a utilização de polímeros naturais para aplicações diversificadas contribui para os avanços das ciências e apresenta diversas vantagens relacionadas à fácil aplicabilidade, à biocompatibilidade e à biodegradabilidade (Azevedo *et al.*, 2007). Khor e Lim (2003) realizaram estudos sobre a aplicação da quitosana em vários tipos de implantes (ortopédicos e odontológicos), reconstituição de tecidos, liberação controlada de fármacos, uso como cicatrizante e biocompatibilizante entre tecidos, e ficou comprovado o uso promissor desse material nas aplicações analisadas.

Azevedo *et al.* (2013) analisaram os efeitos da hidroxiapatita e da quitosana no reparo do tecido ósseo em coelhos e mostraram uma biocompatibilidade da quitosana, a qual estimulou uma maior deposição de tecido ósseo tanto aos 30 dias como aos 60 dias de pós-operatórios. O presente estudo teve por objetivo avaliar a cicatrização da musculatura reto-abdominal em coelhos submetidos à laparotomia com fio de sutura à base de quitosana comparando-o aos fios categute cromado e poliglactina 910.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Hospital Veterinário do Centro de Saúde e Tecnologia

Rural da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Patos, Paraíba, e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa dessa instituição, segundo protocolo de aprovação nº 002/2016.

Foram utilizados 24 coelhos adultos, hípidos, de ambos os sexos, da raça Nova Zelândia, pesando em média  $3,0 \pm 0,95$  kg (média  $\pm$  desvio-padrão), provenientes de um criatório da cidade de Patos/PB. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, com seis animais cada, sendo: grupo quitosana e categute cromado 15 dias (QC-15), quitosana e categute cromado 30 dias (QC-30 dias), quitosana e poliglactina 910 15 dias (QP-15) e quitosana e poliglactina 910 30 dias (QP-30). Os animais foram alocados em gaiolas individuais, desverminados com albendazol 5% (Magzole 5%, Leivas Leite S/A Indústrias Químicas e Biológicas, Brasil), na dose de 20mg/kg, por via oral, e passaram por um período de adaptação de sete dias antes do início do experimento, recebendo ração balanceada duas vezes ao dia e água potável *ad libitum* durante todo o experimento.

Foram utilizados três tipos de fios de suturas absorvíveis: quitosana experimental, categute cromado e poliglactina 910. Os fios de quitosana foram confeccionados no Laboratório de Engenharia de Materiais do Programa de Pós-Graduação da UFCG, *Campus* de Campina Grande/PB. Para a obtenção destes, foram utilizados béquer de 250mL, agitador mecânico e uma bomba infusora. A solução de quitosana a 4% foi preparada pesando 4g de quitosana em pó (grau de desacetilação 75%-85% e de acetilação 25-15%) mais 0,4g do composto aditivo polietileno (Peo), sendo os solutos dissolvidos em 100mL de solução de ácido acético a 1%.

Em seguida, colocou-se a solução no agitador mecânico por 15 minutos. A solução de quitosana obtida foi colocada em descanso por 24 horas, para que as bolhas formadas durante a sua produção se desmanchassem. Os fios de quitosana foram feitos por meio da técnica de fiação úmida. Para a extrusão da solução de quitosana, usaram-se seringas de 10mL, agulhas de calibre 16G (abertura 1,6mm) e bomba infusora com velocidade de 45mL/h. Ao ser bombeada, a solução de quitosana foi imersa em uma solução de coagulação, composta por hidróxido de sódio a

1M/L. Os fios permaneceram dentro da solução de coagulação por uma hora e, logo depois, foram retirados e lavados com água destilada para se remover o hidróxido de sódio. Após a lavagem, os fios foram colocados em banho de desidratação com 70mL de álcool etílico (99,9%) e 30mL de água destilada durante três horas, sendo posteriormente imersos em 100mL de água destilada, onde permaneceram por 24 horas. Os fios foram retirados da água destilada e estirados sobre uma superfície de mármore para secar.

Após a produção dos fios, estes passaram por ensaios biomecânico, dimensional e de citotoxicidade e por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A técnica de microscopia foi utilizada para verificar possíveis modificações na morfologia do fio e identificar se ele é monofilamentar ou multifilamentar. Os fios de quitosana foram esterilizados com óxido de etileno.

No pré-operatório, os animais foram anestesiados com xilazina 2% (Xilazin injetável 2%, Ouro fino, Brasil), na dose de 5mg/kg, e cetamina (Cetamin injetável 10%, Agrofur, Brasil), na dose de 40mg/kg, ambos aplicados pela via intramuscular. Após 15 minutos, realizou-se a tricotomia da região abdominal e epidural lombossacra. Em seguida, foi feita a anestesia epidural lombossacra com cloridrato de lidocaína a 2% (Anestt 2%, Syntec Ltda., Brasil), na dose de 0,3mL/kg. Administrou-se, ainda, meloxicam (Maxicam injetável 2%, Ouro fino, Brasil), na dose de 0,2mg/kg, por via intramuscular, o qual foi repetido a cada 24 horas, durante três dias de pós-operatório.

Os animais foram colocados em decúbito dorsal sobre a calha cirúrgica forrada com um colchão térmico e realizou-se a antisepsia da área operatória com clorexidina 0,5% (Riohex 0,5%, Rioquímica Indústria Farmacêutica Ltda., Brail) e colocação dos panos de campo. Realizaram-se duas incisões longitudinais bilaterais de aproximadamente 5cm na pele, utilizando-se lâmina de bisturi nº 24 (Brasmed, Brasil). Procedeu-se à divulsão do tecido subcutâneo com tesoura de Metzenbaum reta (Brasmed, Brasil), à incisão na fáscia, na musculatura e no peritônio e, logo depois, à miorrafia, incluindo os três planos (fáscia, músculo e peritônio). No primeiro grupo (QC15- quitosana, categutecromado 15 dias), de um lado da incisão, foi realizada miorrafia com fio

de quitosana 2-0 e, do outro, a miorrafia com fio categutecromado 2-0.

No segundo grupo (QP15- quitosana e poliglactina 910-15 dias), em um lado da incisão, utilizou-se o fio de quitosana 2-0 e, no outro lado, o fio poliglactina 910 2-0. Em ambos os grupos, foi empregado o padrão "X" de sutura na miorrafia. O mesmo procedimento cirúrgico foi repetido para os animais do período de 30 dias de eutanásia. Para a redução do subcutâneo, utilizou-se o fio categutecromado 2-0, nos grupos QC-15 e QC-30, padrão de sutura intradérmico; já nos grupos QP-15 e QP-30, a redução do subcutâneo foi realizada com o fio poliglactina 910 2-0, padrão intradérmico. A dermorrafia foi realizada com o fio de náilon 3-0, padrão simples separado, para todos os animais.

No pós-operatório, foi realizada diariamente a avaliação clínica da ferida cirúrgica por 10 dias, observando-se o grau da resposta inflamatória (discreta, moderada, acentuada), a presença ou a ausência de secreção, de infecção e a presença de hérnia incisional. A avaliação clínica foi realizada sempre pelo mesmo avaliador, o qual desconhecia o protocolo utilizado. A limpeza da ferida cirúrgica foi feita com solução de ringer com lactato (Solução de Ringer com Lactato, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., Brasil), duas vezes ao dia, assim como os curativos cutâneos. Após 10 dias do procedimento cirúrgico, os pontos foram removidos.

As eutanásias foram realizadas em dois momentos, sendo 12 animais após 15 dias e 12 após 30 dias do procedimento cirúrgico. Para tal, os animais foram anestesiados com xilazina e cetamina, nas doses de 5 e 40mg/kg, respectivamente, por via intramuscular. Após 15 minutos, foram induzidos à anestesia geral com propofol (Propovan 1%, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., Brasil), na dose de 5mg/kg, por via intravenosa, e, em seguida, foi administrado, na cisterna magna, cloridrato de lidocaína (Lidovet 2%, Bravet, Brasil), no volume de 0,1mL/kg.

Após a eutanásia, o patologista realizou a necropsia e observou a presença de aderências a órgãos da cavidade abdominal e o aspecto da cicatrização. Durante o procedimento de necropsia, coletaram-se fragmentos de tecido muscular da área suturada, os quais foram

colocados em recipientes contendo formol a 10%, identificados de acordo com o lado de cada fragmento (direito e esquerdo) e o número do animal.

Para o estudo histopatológico dos fragmentos, as peças foram fixadas em solução de formol tamponado a 10%, durante 10 dias; após isso, realizou-se a clivagem e o processamento histotécnico rotineiro. Posteriormente, incluiu-se o material em parafina para a confecção de lâminas histológicas, que foram coradas pela hematoxilina e eosina e submetidas às respectivas leituras, sempre pelo mesmo patologista, o qual desconhecia o protocolo de sutura utilizado. A avaliação da cicatrização muscular foi feita com base nos achados histopatológicos, nos quais se analisou o grau da reação inflamatória a partir da ausência, presença e frequência das células e estruturas envolvidas na resposta inflamatória, sendo atribuídos valores de escores de zero a três.

As células e estruturas analisadas foram neutrófilos, macrófagos, células gigantes, linfócitos, eosinófilos, necrose, calcificação, tecido de granulação, fibrose e hemorragia. A leitura para identificar a frequência celular foi executada da seguinte forma: ausente (0), discreta

(1) (não circunda totalmente o fio), moderada (2) (circunda totalmente o fio), intensa (3) (circunda totalmente o fio, numa espessura duas a três vezes maior que a anterior). A análise estatística dos dados foi realizada por meio do programa BioEstat 5.0. Os dados referentes aos escores da resposta celular na análise histopatológica foram avaliados empregando-se o teste U de Mann-Whitney. Os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão. Todos os testes foram aplicados ao nível de 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fio de quitosana apresentou uma resistência mecânica de 80% (9,8N), estando abaixo da norma NBR 13904/2003, que estabelece uma resistência mecânica para fios de sutura 3-0 de 12,26N. As dimensões apresentaram-se bastante variáveis, porém se enquadraram nos limites exigidos pela norma. Observou-se uma superfície com caráter estável, monofilamentar e uniforme, apresentando discretas falhas em algumas áreas (Fig. 1). As falhas observadas se devem supostamente ao método de produção do fio no momento da fiação que ocorre mediante o uso de agulhas durante a infusão.

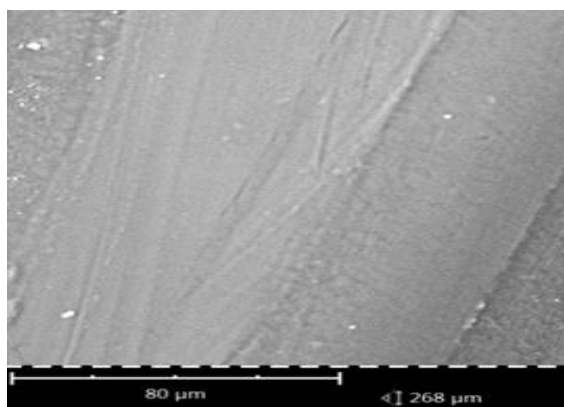


Figura 1. Morfologia por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV) do fio experimental de quitosana monofilamentar. Amplitude de 400x.

Os fios de quitosana apresentaram índice de viabilidade de 30%, indicando que eles são tóxicos, visto que as células não conseguiram sobreviver quando em contato com o fio. De acordo com Vulcani *et al.* (2015), a quitosana possui comprovada biocompatibilidade e atoxicidade, levando a relacionar a citotoxicidade encontrada no presente estudo ao processo de fabricação dos fios.

As feridas cirúrgicas nas quais foram utilizados os fios catégute cromado e poliglactina 910, nos períodos de 15 e 30 dias de eutanásia, apresentaram resposta inflamatória moderada e discreta, respectivamente. Essa diferença se deve ao tipo de absorção de cada fio, pois materiais orgânicos absorvidos por proteólise induzem reação tecidual maior, comparados aos materiais sintéticos absorvidos por hidrólise (Filho *et al.*,

2015). Nas feridas em que se utilizou o fio de quitosana, nos períodos de 15 e 30 dias de eutanásia, foram observados sinais de inflamação (dor, rubor e calor) no local da ferida cirúrgica durante os três primeiros dias de avaliação, além de considerável aumento de volume que, ao ser pressionado, liberava secreção purulenta.

Esse aumento de volume foi observado a partir do terceiro dia de pós-operatório. Depois de constatada a presença de secreção, foi administrado antibiótico de amplo espectro, enrofloxacin (Floxiclin 10%, Biofarma Química e Farmacêutica Ltda., Brasil), na dose de 10mg/kg, pela via intramuscular, duas vezes ao dia, durante sete dias, contudo o aumento de volume e de secreção ainda persistia após o término da administração do antibiótico. Considerou-se que tal secreção não era em decorrência de infecção, e sim de uma resposta tecidual ao fio de quitosana.

Os resultados encontrados na avaliação clínica diferem dos relatados por Santana *et al.* (2014), que utilizaram filmes de quitosana na reparação do tendão em coelhos e não observaram complicações, como inflamação acentuada e presença de secreção purulenta. No primeiro dia de avaliação pós-operatória, observou-se que um coelho desenvolveu hérnia incisional e outros dois coelhos apresentaram evisceração. Os três animais foram do grupo (QC-15 dias), e as alterações foram nas suturas realizadas com o fio de quitosana. A correção da hérnia foi realizada

com fio de quitosana. Os dois animais que apresentaram evisceração vieram a óbito. A hipótese para esses casos é que o fio de quitosana apresentou baixa resistência mecânica.

Durante a necropsia, observou-se presença de múltiplos abscessos e moderada aderência às vísceras na região de todos os animais em que foi utilizado o fio de quitosana nos dois períodos. Na região em que foi utilizado o categute cromado, nos períodos de 15 e 30 dias, observou-se, em dois coelhos, a presença discreta de abscessos no subcutâneo e mínima aderência a vísceras, o que também foi observado na região em que se utilizou o fio poliglactina 910. Segundo Freitas *et al.* (2012), as aderências são constituídas por tecido conjuntivo e podem ser transitórias, em resposta à inflamação local branda, conhecida como fibrinosa, ou podem ser fibrosas, decorrentes de processos inflamatórios mais severos. Em virtude da resposta inflamatória mais acentuada causada pelo fio de quitosana, as aderências se mostraram mais frequentes e nítidas quando comparadas àquelas que ocorreram com o uso dos fios categute cromado e poliglactina 910, cuja inflamação se apresentou de forma moderada e leve, respectivamente.

Os resultados da análise histológica quanto à resposta inflamatória dos fios de suturas utilizados no procedimento cirúrgico, durante os períodos de 15 e 30 dias de eutanásia, encontram-se nas Tab. 1 e 2.

Tabela 1. Escores (média±desvio-padrão) da resposta inflamatória de coelhos submetidos à laparorráfia com fios de sutura de quitosana (GQ) e categute cromado (GC), nos períodos de 15 e 30 dias de pós-operatório

Variáveis	Momento de eutanásia			
	15 dias		30 dias	
	GQ	GC	GQ	GC
Neutrófilos	2,5±1,2a	0,7±0,8b	2,7±0,5a	0,8±1,0b
Macrófagos	1,5±0,6a	0,3±0,8b	2,0±0,2a	1,5±0,8b
Células gigantes	1,5±0,8	1,7±0,5	1,5±0,8	1,2±0,8
Linfócitos	1,0±0,0	1,0±0,0	1,5±0,5	1,3±0,5
Eosinófilos	1,7±0,5a	0,8±0,4b	1,7±0,8a	0,8±0,8b
Necrose	1,7±1,0	1,0±0,9	1,7±0,8a	0,3±0,8b
Calcificação	0,5±0,8	0,8±0,8	0,5±0,5	0,0±0,0
Tecido de granulação	2,3±0,5	2,3±0,5	2,0±0,9	2,2±0,8
Fibrose	0,3±0,8	0,3±0,8	2,0±0,9	2,0±0,9
Hemorragia	0,2±0,4	0,0±0,0	0,0±0,0	0,2±0,4

a e b significam diferença estatística entre os grupos segundo o teste U de Mann-Whitney (P<0,05).

### Cicatrização da musculatura...

Tabela 2. Escores (média±desvio padrão) da resposta inflamatória de coelhos submetidos à laparorráfia com fios de sutura de quitosana (GQ) e poliglactina 910 (GP), nos períodos de 15 e 30 dias de pós-operatório

Variáveis	Momento de eutanásia			
	15 dias		30 dias	
	GQ	GP	GQ	GP
Neutrófilos	3,0±0,0a	0,3±0,5b	2,8±0,4a	0,2±0,4b
Macrófagos	1,3±0,2a	0,3±0,8b	2,3±0,5a	1,7±0,5b
Células gigantes	1,5±0,5	2,7±0,5	1,3±0,8	1,2±0,8
Linfócitos	0,7±0,5	0,8±0,4	2,2±0,4	1,7±0,5
Eosinófilos	1,4±0,3a	0,8±0,4b	2,0±0,6a	0,8±0,8b
Necrose	1,8±1,0	0,7±0,5	1,2±0,8a	0,2±0,4b
Calcificação	1,2±0,8	1,7±1,5	0,2±0,4	0,3±0,8
Tecido de granulação	2,7±0,5	2,8±0,4	2,0±0,6	2,7±0,5
Fibrose	0,0±0,0	0,0±0,0	2,0±0,6	1,8±1,3
Hemorragia	0,2±0,4	0,2±0,4	0,2±0,4	0,0±0,0

a e b significam diferença estatística entre os grupos segundo o teste U de Mann-Whitney ( $P < 0,05$ ).

O fio de quitosana, nos períodos de 15 e 30 dias, desencadeou uma reação inflamatória piogranulomatosa acentuada, caracterizada pelo infiltrado inflamatório constituído predominantemente por neutrófilos, em sua maioria, degenerados ao redor do fio (Fig. 2), por macrófagos e, em menor número, por eosinófilos e raros linfócitos, associado a áreas multifocais de necrose. Observou-se presença de células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho e, no interior do citoplasma de tais células gigantes, foi visto material eosinofílico sendo fagocitado. Na periferia dos abscessos, havia moderado tecido

de granulação. Redrobe (2002) observou que a formação de material caseoso é uma forma de resposta a corpo estranho nos coelhos, sendo uma característica própria da espécie.

Na análise histopatológica, nos dois períodos de estudo, visualizou-se um material eosinofílico birrefringente, caracterizado como o fio de quitosana. Esse material esteve presente também nos fios catgut cromado, nos períodos de 15 e 30 dias; já no fio poliglactina 910, no período de 15 dias, foi observada a presença de material basofílico birrefringente.

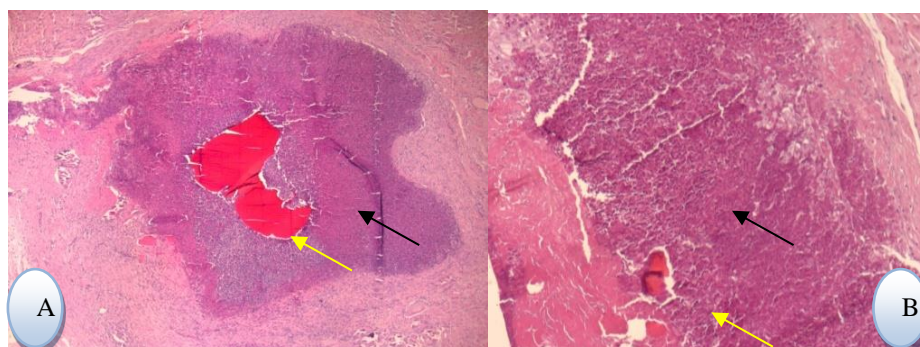


Figura 2. Avaliação histopatológica em coelhos submetidos à laparorráfia com fio de quitosana. (A) Infiltrado neutrofilico (seta preta) em volta do material eosinofílico birrefringente (seta amarela), no período de 15 dias. HE. Objetiva 10x. (B) Infiltrado neutrofilico em volta do material eosinofílico birrefringente, no período de 30 dias. HE. Objetiva 10x.

A resposta celular imediata ocorre sempre quando um corpo estranho entra em contato com um tecido vivo. Durante a primeira etapa dessa resposta celular, há predomínio de neutrófilos e macrófagos, caracterizando a fase aguda do processo inflamatório. Os neutrófilos são substituídos por células mononucleares,

constituídas por linfócitos e histiócitos, dando início à fase crônica do processo inflamatório (Kleinpaull e Bicas, 2005).

Os neutrófilos e macrófagos são células da imunidade inata, que agem na fagocitose, na liberação e na ativação de mediadores

inflamatórios, na ativação de proteínas do sistema complemento, na síntese de proteínas de fase aguda, nas citocinas e nas quimiocinas. Moléculas de polissacarídeos, comumente encontradas na superfície de micro-organismo, constituem padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e ativam a resposta imune inata, por interação com diferentes receptores conhecidos como receptores de reconhecimento de padrões (RRP), entre os quais a família dos receptores *Toll-like* (TLRs).

Entre os vários RRP's envolvidos em opsonização, ativação de complemento e fagocitose, os TLRs se destacam por seu papel central na ligação a patógenos e na iniciação da resposta inflamatória (Machado *et al.*, 2004; Cruvinel *et al.*, 2010). A elevada expressão celular de neutrófilos e macrófagos pode estar relacionada à interação de receptores *Toll-like* na superfície celular com moléculas de polissacarídeos presentes na estrutura da quitosana. Os efeitos tóxicos do hidróxido de sódio (NaOH) liberado pelo fio de quitosana podem ter potencializado ainda mais a neutrofilia, visto que polímeros citotóxicos tendem a estimular a degranulação de neutrófilos (Cristovam *et al.*, 2010).

A diferença na contagem de eosinófilos entre os grupos quitosana e categute e quitosana e poliglactina 910, nos períodos de 15 dias e 30 dias, pode ser atribuída à reação do tipo corpo estranho ou anticorpo/antígeno desencadeada com maior intensidade pelo fio de quitosana. Os eosinófilos participam ativamente de reações imunes mediadas por IgE (hipersensibilidade tipo 1) e infecções parasitárias, apresentando-se acentuados em casos de reação do tipo anticorpo/antígeno (Spinelli *et al.*, 2012). A eosinofilia por infestações endoparasitárias foi descartada, uma vez que todos os animais foram devidamente desverminados. Segundo Aranaz *et al.* (2009), proteínas residuais da quitina e da quitosana podem provocar reações alérgicas de hipersensibilidade, e o teor de proteínas desses polímeros depende da fonte da amostra.

Ocorreu um grau acentuado de necrose do grupo quitosana, no período de 30 dias, comparado aos grupos categute e poliglactina 910, no mesmo período. A conjectura para essa diferença é que os animais do período de 30 dias tiveram um contato mais prolongado com os agentes tóxicos do fio de quitosana comparados aos do período de 15 dias.

Gomes (2009), em um estudo comparando o filme de quitosana com gordura autógena na prevenção de aderências pós-laminectomia dorsal em coelhos, também observou acentuado foco de necrose em volta do filme de quitosana. Segundo Armstrong (2006), os efeitos de agentes tóxicos sobre as mitocôndrias estão diretamente relacionados à regulação da morte celular, pois eles agem na geração de ATP nas mitocôndrias alterando a permeabilidade da membrana e na concentração de cálcio intramitocondrial, o que pode explicar a presença de necrose nos grupos em que se utilizou o fio de quitosana.

A resposta inflamatória acentuada desencadeada pelo fio experimental de quitosana pode estar relacionada com o grau de acetilação. Segundo Chatele *et al.* (2001) e Rolim *et al.* (2018), o grau de acetilação tem relação com algumas propriedades biológicas da quitosana por influenciar na adesão e no crescimento celular, comprovando que quanto maior o grau de acetilação, menor é a adesão celular no sítio de implantação de estruturas bidimensionais de quitosana.

Não houve diferença estatística entre os grupos quanto às células gigantes, aos linfócitos, à calcificação, ao tecido de granulação, à fibrose e à hemorragia. As hipóteses para esse resultado é que os receptores *Toll-like* estão presentes apenas nas superfícies só de algumas células, acentuando a resposta inflamatória diante das moléculas de polissacarídeos ou, ainda, a influência do grau de acetilação/desacetilação da quitosana na aderência e proliferação celular. De acordo com Gianlupi e Trindade (2004), os fios de suturas absorvíveis geralmente não causam fibrose acentuada, pois eles não permanecem no tecido por tempo prolongado. Já a ausência de calcificação possivelmente se deve à atividade fagocitária exercida pelos neutrófilos e macrófagos, que eliminam os debris celulares e os restos de tecidos necróticos, impedindo a calcificação (Jones *et al.*, 2003).

## CONCLUSÕES

O fio experimental de quitosana utilizado neste estudo não proporcionou uma cicatrização satisfatória em coelhos, pois desencadeou uma resposta inflamatória acentuada.

## REFERÊNCIAS

- ARANAZ, I.; MENGÍBAR, M.; HARRIS, R. Functional characterization of chitin and chitosan. *Curr. Chem. Biol.*, v.3, p.203-230, 2009.
- ARMSTRONG, J.S. The role of the mitochondrial permeability transition in cell death. *Mitochondrion*, v.6, p.225-234, 2006.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. *NBR 13904. Fios para sutura cirúrgica*. Rio de Janeiro, 2003. 15p.
- ÁVILA FILHO, S.H.; LAMARO, L.; QUEIROZ, P.J.B. *et al.* Aspectos gerais dos fios de suturas utilizados ou com potencial aplicabilidade na medicina veterinária. *Encicl. Biosfera*, v.11, p.319-350, 2015.
- AZEVEDO, A.S.; SÁ, M.J.C.; FOOK, M.V.L. *et al.* Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos. Estudo histológico e morfométrico. *Ciênc. Rural*, v.43, p.1265-1270, 2013.
- AZEVEDO, V.V.C.; CHAVES, S.A.; BEZERRA, D.C. *et al.* Quitina e quitosana: aplicações como materiais. *Rev. Eletrôn. Mater. Proc.*, v.2, p.27-34, 2007.
- CHATELET, C.; DAMOUR, O.; DOMARD, A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. *Biomaterials*, v.22, p.261-268, 2001.
- CRISTOVAM, M.A.S.; GONÇALVES, G.F.; TAKEMURA, O.S. *et al.* Degranulação de neutrófilos ex-vivo por ação do polímero de amido de mandioca. *Ciênc. Rural*, v.40, p.1103-1108, 2010.
- CRUVINEL, W.M.; MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J.A.P. *et al.* Sistema imunitário – Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Rev. Bras. Reumatol.*, v.50, p.434-461, 2010.
- FREITAS, S.H.; DÓRIA, R.G.S.; LASKOSKI, L.M. *et al.* Aderência intra-abdominal após ovariosalpingohisterectomia em cadela - relato de caso. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v.34, p.213-222, 2012.
- GIANLUPI, A.; TRINDADE, M.R.M. Comparação entre o uso de fio inabsorvível (polipropileno) e fio absorvível (poliglactina 910) na fixação de prótese de polipropileno em correção de defeitos músculo-aponeuróticos da parede abdominal. Estudo experimental em ratos. *Acta Cir. Bras.*, v.1, p.94-102, 2004.
- GOGOI, D.; CHOUDHURY, A.J.; CHUTIA, J.; PAL, A.R.; KHAN, M. *et al.* Development of advanced antimicrobial and sterilized plasma polypropylene grafted muga (antheraea assama) silk as suture biomaterial. *Biopolymers*, v.101, p.355-365, 2014.
- GOMES, F.A.S. *Filme à base de quitosana comparada à gordura autógena na prevenção de aderências pós-laminectomia dorsal em coelhos*. 2009. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.
- HUAIXAN, L.N.; ARRUDA, S.S.B.; LEONARDO, A.S.; VIANA, J.C. *et al.* Macroscopic, histochemical, and immunohistochemical comparison of hysterorrhaphy using catgut and chitosan suture wires. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, v.104, p.50-57, 2016.
- JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.N.W. *Patologia veterinária*, 6.ed. São Paulo: Manole, 2003. 1415p.
- KANDIMALLA, R.; KALITA, S.; CHOUDHURY, B.; DEVI, D.; KALITA, D. *et al.* Fiber from ramie plant (*Boehmeria nivea*): A novel suture biomaterial. *Mater. Sci. Eng. C*, v.62, p.816-822, 2016.
- KHOR, E.; LIM, L.Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, v.24, p.2339-2349, 2003.
- KLEINPAUL, E.R.; BICAS, H.E. A. Estudo histológico comparativo de implantes (ímas) em órbitas de coelhas. *Arq. Bras. Oftalmol.*, v.68, p.667-673, 2005.
- MACHADO, P.R.L.; CARVALHO, L.; ARAÚJO, M.I.A.S. *et al.* Mecanismo de resposta imune à infecções. *An. Bras. Dermatol.*, v.79, p.647-664, 2004.
- MOURA, C.; MUSZINSKI, P.; SCHMIDT, C. *et al.* Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: Avaliação do processo em escala piloto. *Vetor Rev. Ciênc. Exatas Eng.*, v.16, p.37-45, 2006.



REDROBE, S. Soft tissue surgery of rabbits and rodents. *Semin. Avian Exotic Pet Med.*, v.11, p.231-245, 2002.

ROLIM, A.E.H.; CARVALHO, F.A.A.; COSTA, R.C.C.; ROSA, F.P. Arcabouços de quitosana - propriedades físico-químicas e biológicas para o reparo ósseo. *Rev. Virtual Quím.*, v.10, p.211-228, 2018.

SANTANA, C.C.; NÓBREGA NETO, P.I.; SÁ, M.J.C. *et al.* Utilização do filme de quitosana na reparação de tendão em coelhos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.66, p.995-1002, 2014.

SPINELLI, M.O.; GODOY, C.M.S.; MOTTA, M.C. *et al.* Parâmetros hematológicos normais em coelhos Nova Zelândia do Biotério da Faculdade de Medicina da USP. *Resbcad*, v.1, p.224-228, 2012.

VULCANI, V.A.S.; FRANZO, V.S.; RABELO, R.E. *et al.* In vivo biocompatibility of manstructured chitosan/Peo membranes. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.67, p.1039-1044, 2015.

YOUNG, A.; MCNAUGHT, C.E. The physiology of wound healing. *Basic Sci.*, v.29, p.475-479, 2011.