



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO  
DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**Simone da Silva Ferreira**

**ESTUDO DE FASE CLÍNICA I UTILIZANDO MEMBRANA  
DEQUITOSANA DOPADA COM HORMÔNIOS  
DERIVADOS DE PLAQUETAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Pesquisa e Desenvolvimento: Biotecnologia Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Elenice Deffune

**Botucatu  
2014**

Simone da Silva Ferreira

**ESTUDO DE FASE CLÍNICA I UTILIZANDO MEMBRANA DE  
QUITOSANA DOPADA COM HORMÔNIOS DERIVADOS DE  
PLAQUETAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Pesquisa e Desenvolvimento: Biotecnologia Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Elenice Deffune

Botucatu  
2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO – CAMPUS DE BOTUCATU – UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE – CRB 8/5651

Ferreira, Simone da Silva.

Estudo de fase clínica I utilizando membrana de quitosana dopada com hormônios derivados de plaquetas / Simone da Silva Ferreira. – Botucatu, 2014

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Elenice Deffune

Capes: 90400003

1. Quitosana. 2. Úlcera varicosa – Tratamento. 3. Curativos biológicos. 4. Cicatrização de feridas.

Palavras-chave: Curativo biológico; Quitosana; Úlcera varicosa.

**Simone da Silva Ferreira**

**ESTUDO DE FASE CLÍNICA I UTILIZANDO MEMBRANA DE QUITOSANA  
DOPADA COM HORMÔNIOS DERIVADOS DE PLAQUETAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Pesquisa e Desenvolvimento: Biotecnologia Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Elenice Deffune

Comissão examinadora

\_\_\_\_\_  
Prof(a). Dr(a) Elenice Deffune  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho –  
Faculdade de Medicina

\_\_\_\_\_  
Prof(a). Dr(a) Lucia Silva  
Faculdade de Enfermagem Marechal Rondon

\_\_\_\_\_  
Prof(a). Dr(a) Aparecida Vitória de Gonçalves de Souza

Botucatu, 28 de agosto de 2014.

# *Dedicat6ria*

Aos queridos pacientes...

Aos meus pais...

# *Agradecimientos*



## **Agradecimentos**

A Deus por iluminar e guiar minha vida.

Aos meus pais Neide e Gilmar, pela educação, por todos os ensinamentos como responsabilidade, garra, coragem a não desistir das coisas diante dos obstáculos.

Aos pacientes por confiarem em mim.

A família De Pierre pela força e incentivo de crescer profissionalmente a cada dia mais.

A todos os membros do Laboratório de Engenharia Celular.

A Profa. Dra. Elenice Deffune pela oportunidade, por toda orientação no decorrer do trabalho e por todos ensinamentos compartilhados comigo.

Ao Departamento de Dermatologia.

Ao Departamento de Patologia.

Ao Ambulatório da Vascular.

A Enf<sup>a</sup> Regina Célia Coneglian.

A Janisse secretária por me orientar passo a passo de toda a democracia da Pós-Graduação com toda paciência e carinho.

*Epigrafe*

“Dificuldades existem, mas a derrota é opcional”  
Gandhi

# *Lista de figuras*

## Lista de Figuras

Figura 1 - Proposta e classificação geral das feridas segundo diferentes indicadores .....	20
Figura 2 - Etapas de produção da membrana de quitosana dopada com hormônios plaquetários .....	31
Figura 3 - Fluxograma da seleção dos concentrados de plaquetas para a extração dos hormônios derivados de grânulos plaquetários .....	32
Figura 4 - Identificação dos livros ata de registro oficial dos dados de produção dos lotes de concentrado de plaquetas .....	33
Figura 5 - Controle de qualidade microbiológico e validação da matéria prima ....	34
Figura 6 - Extração e caracterização dos hormônios derivados de plaquetas .....	34
Figura 7 - Preparo da membrana de quitosana.....	35
Figura 8 - Incorporação e dopagem com hormônios derivados de plaquetas (Quitogel).....	35
Figura 9 - Constituição dos grupos de pesquisa para uso de Quitogel .....	36
Figura 10 - Técnica da medida do índice sistólico tornozelo-braço (ITB).....	39
Figura 11 - Barra de ferramentas do software livre <i>Image J</i> para medição da área da ferida .....	40
Figura 12 - Dispositivo para biópsia de pele tipo <i>punch</i> 4mm .....	41
Figura 13 - Mensuração das lesões pelo software <i>Image J</i> .....	43

Figura 14 - Quitogel pronto para uso.....	47
Figura 15 – Fotografia de Quitogel com crescimento de fungos .....	47
Figura 16 - Membrana de quitosana enriquecida com hormônios derivados de plaquetas, vida de prateleira de 21 meses, sem esterilização .....	49
Figura 17 - Aspecto fotográfico do caso 1: medidas de área, em D0, D45 e D90 de pacientes em uso de Quitogel .....	60
Figura 18 - Aspecto fotográfico do caso 2: medidas de área, em D0, D45 e D90 de pacientes em uso de Quitogel .....	61
Figura 19 - Aspecto fotográfico do caso 3: medidas de área, em D0, D45 e D90 de pacientes em uso de Quitogel .....	62
Figura 20 - Aspecto fotográfico do caso 4: medidas de área, em D0, D45 e D90 de pacientes em uso de Quitogel .....	63
Figura 21 - Achados histopatológicos, de lesão ulcerada pós tratamento com Quitogel e Gel de Plaquetas.....	65
Figura 22 - Achados histopatológicos, microscopia demonstrando lesão ulcerada associada a Carcinoma Espinocelular, pós tratamento com membrana de quitosana 90 dias .....	65

# *Lista de quadros*

## Lista de Quadros

Quadro 1 - Produtos desenvolvidos no laboratório de engenharia celular (LEC), no Hemocentro de Botucatu.....	17
Quadro 2 - Diferentes fases nos estudos clínicos .....	28
Quadro 3 - Critérios de inclusão e exclusão.....	37
Quadro 4 - Critérios de acompanhamento na biópsia de pele tipo <i>Punch</i> .....	42
Quadro 5 - Perfil de novos casos do ambulatório de biocurativos, num período de 24 meses, segundo sexo, média de idade e tempo de ferida aberta ...	50
Quadro 6 - Etiologia das feridas crônicas, segundo sexo, num período de 24 meses, no ambulatório de biocurativos .....	51
Quadro 7 - Distribuição dos pacientes da pesquisa quanto a faixa etária.....	53
Quadro 8 - Distribuição da amostra quanto ao IMC .....	54
Quadro 9 - Distribuição dos integrantes da pesquisa quanto as comorbidades....	54
Quadro 10 - Etiologia das lesões .....	55
Quadro 11 - Distribuição da amostra por tempo das lesões .....	55
Quadro 12 - Distribuição da amostra por localização das lesões.....	56
Quadro 13 - Distribuição da amostra por características das lesões .....	57
Quadro 14 - Distribuição da amostra quanto as características perilesionais .....	58
Quadro 15 - Distribuição da amostra quanto a dor.....	58



Quadro 16 - Distribuição da amostra quanto a história pregressa .....	59
Quadro 17 - Caso 1: medida de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel .....	60
Quadro 18 - Caso 2: medida de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel .....	61
Quadro 19 - Caso 3: medida de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel .....	62
Quadro 20 - Caso 4: medida de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel .....	63

# *Resumos*

Ferreira-Silva, Simone. Estudo de fase clínica I utilizando membrana de quitosana dopada com hormônios derivados das plaquetas. 2014. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento: Biotecnologia Médica) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

## RESUMO

As Feridas Crônicas (FC) constituem um desafio constante para os laboratórios farmacêuticos. O Hemocentro de Botucatu desenvolve há 13 anos produtos formulados a partir do Plasma Fresco e do Concentrado de Plaquetas excedentes da prática clínica. Um destes produtos, bem estabelecidos e testados é o gel laminar de plaquetas (Biogel ou GP). Pesquisas na área de enfermagem identificaram oportunidades de melhorias para o Biogel sendo proposto nova formulação: membrana de quitosana enriquecida com hormônios plaquetários (Quitogel). Após estudos preliminares foi delineado o projeto de estudo de fase I, em pacientes portadores de FC utilizando o Quitogel comparando com o GP. Trata-se de um estudo prospectivo, do tipo ensaio clínico controlado, e teve como objetivo comparar o desempenho da membrana de quitosana dopada com hormônios plaquetários *versus* Gel de plaquetas estabelecendo o perfil de pacientes atendidos. Nos últimos 24 meses foram atendidos 135 novos casos de FC, sendo 45 do sexo masculino, com idade média de 49,57 anos e o tempo de ferida aberta foi de 87,57 meses. Do sexo feminino foram 90 casos, com média de idade de 52,91 anos e tempo médio de ferida aberta foi de 114,76 meses. Quanto ao tipo de úlcera, 81% foram venosas para mulheres contra 64% para homens. As lesões crônicas traumáticas (9%) foram mais prevalentes em homens, contra 2% em mulheres e as feridas diabéticas atingiram mais os homens (11%). Dos produtos comercializados mais usados pelos pacientes, destacam-se a colagenase (16%), sulfadiazina de prata (12%), fibrase® (10%), papaína (6%), Safgel®(5%), hidrogéis 5%. Foi identificado alto índice de automedicação, fato este, comprometedor do resultado do tratamento das FC, onde 33(44,55%), pacientes informavam ter um produto prescrito, mas usam voluntariamente outros 2 não prescritos. Destes 135 pacientes, participaram do estudo 27 deles, perfazendo um total de 31 lesões que foram acompanhadas por 90 dias. Quanto à comparação dos dois produtos (GP X Quitogel), observou-se que a preparação na membrana de quitosana dopada é de fácil armazenamento (temperatura ambiente) e hidratação com soro fisiológico, libera gradativamente os hormônios plaquetários, não favorece o crescimento bacteriano, controla hemorragias, a vida de prateleira é de 2 anos, porém apresenta como desvantagens o fato de que aderem demasiado na área lesada danificando o tecido no momento da troca a cada 4 dias. O GP é totalmente absorvido, não tendo material excedente na hora da troca de curativos, mas é de difícil manipulação (escorregadio), necessita ser estocado em geladeira e sua vida de prateleira é de apenas 15 dias e favorece o crescimento bacteriano. Quanto aos aspectos histopatológicos ambos os produtos promovem a neoangiogênese porém o Quitogel determinou processo inflamatório intenso. Não houve diferença estatística quanto ao tempo de fechamento das lesões entre o Biogel e a membrana de quitosana.

**PALAVRAS-CHAVE:** Úlcera varicosa. Curativo biológico. Quitosana.

## ABSTRACT

Chronic wounds (CW) are a constant challenge for pharmaceutical companies. The Blood Center of Botucatu develops products formulated 13 years ago from Fresh Plasma and platelets concentrate excess clinical practice. One of these products is well established and tested laminar platelet gel (Biogel/PG). Research in nursing identified opportunities for improvements to the Biogel/PG being proposed new wording: chitosan membrane enriched with platelet hormones (Quitogel). After preliminary studies have outlined the design of a phase I study in patients with CW using the Quitogel compared with Biogel/PG. This is a prospective, controlled clinical trial type, and aimed to compare the performance of the chitosan membrane doped with hormones versus Biogel/PG establishing the profile of patients seen. The past 24 months were served 135 new cases of CW, 45 male, mean age of 49.57 years and the time of open wound was 87.57 months. Females were 90 cases, with a mean age of 52.91 years and mean duration of open wound was 114.76 months. Regarding the type of ulcer, 81% were venous for women versus 64% for men. Chronic traumatic injuries (9%) were more prevalent in men, compared with 2% in women and diabetic wounds hit men (11%) more. Of marketed products most used by patients, include collagenase (16%), silver sulfadiazine (12%), fibrase ® (10%), papain (6%), Safgel ® (5%), 5% hydrogels. High rate of self-medication, a fact, compromising the outcome of the treatment of CW, where 33 (44.55%), was identified patients had reported having a prescribed product, but use the other 2 did not prescribed. Of these 135 patients, 27 of them participated in the study, a total of 31 lesions that were followed for 90 days. Comparison of the two products (Biogel/PG versus Quitogel), it was observed that in the preparation of doped chitosan membrane is easy storage (room temperature) and hydration with saline, gradually releases the hormones platelet does not favor bacterial growth, controls bleeding, the shelf life is 2 years, but has the drawbacks of adhering too the injured area damaging the tissue at the time of the exchange every 4 days. The Biogel/PG is completely absorbed, with no excess material at the time of dressing changes, but it is difficult to handle (slippery), needs to be stored in the refrigerator and its shelf life is only 15 days and favors bacterial growth. Regarding histopathology aspects both products promote neoangiogenesis but Quitogel determined intense inflammatory process. There was no statistical difference in the time between the closing of the lesions and the Biogel chitosan membrane.

Key words. Varicose ulcer. Biological dressings. Chitosan.

# *Sumário*

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>1.1 Pele</b> .....	18
<b>1.2 Cicatrização</b> .....	23
<b>1.3 Tratamento</b> .....	24
1.3.1 Gel de plaquetas .....	24
1.3.2 Membrana de quitosana .....	25
<b>2 ESTUDOS DE FASE CLÍNICA</b> .....	26
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	30
<b>4 MÉTODOS E CAUSUÍSTICA</b> .....	31
<b>4.1 Tamanho amostral</b> .....	36
<b>4.2 Critério de inclusão e exclusão</b> .....	37
<b>4.3 Metodologia</b> .....	37
<b>4.4 Procedimentos éticos</b> .....	38
<b>4.5 Coleta de dados</b> .....	38
4.5.1 Instrumento de enfermagem .....	38
4.5.2 Instrumento de sócio-psico-econômico .....	38
<b>4.6 Índice tornozelo-braquial</b> .....	39
<b>4.7 Fotografia</b> .....	40
<b>4.8 Determinação do curativo</b> .....	40
<b>4.9 Biópsia por <i>punch</i></b> .....	40
<b>4.10 Terapia tópica</b> .....	41
4.10.1 Realização do curativo .....	41
4.10.1.1 Utilizando o Biofibrin, Gel Mix, Biogel .....	41
4.10.2 Utilizando a membrana de quitosana .....	41
<b>4.11 Indicadores de monitoramento</b> .....	42
<b>4.12 Mensuração</b> .....	42
<b>4.13 Avaliação qualitativa da vascularização</b> .....	43
<b>4.14 Análise estatística</b> .....	44
<b>4.15 Causuística</b> .....	44
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	45
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	66
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	67

<b>APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b>	<b>72</b>
<b>APÊNDICE 2 – INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO .....</b>	<b>73</b>
<b>ANEXO 1.....</b>	<b>75</b>

# *Introdução*



## 1 INTRODUÇÃO

O Laboratório de Engenharia Celular (LEC) do Hemocentro de Botucatu (HB) iniciou suas atividades em setembro de 1992 com a linha de pesquisa de anticorpos monoclonais voltados principalmente para a área de Hemoterapia. Com a política de qualidade estabelecida pela então equipe gestora do HB, foi instituída a hemoterapia seletiva com ampla divulgação e treinamento de Recursos Humanos (RH) da rede assistencial para o uso dos hemocomponentes e o abandono progressivo do então denominado sangue total. Esta tendência mundial foi rapidamente assimilada. Na análise de produção de hemocomponentes do HB, em 2001, observou-se grande quantidade de Plasma Fresco Congelado (PFC), que ultrapassava 12 meses de congelamento, e segundo a legislação vigente, não poderia mais ser utilizado na terapêutica. Este plasma deveria ser encaminhado para unidades produtivas de hemoderivados, empresas inexistentes em solo brasileiro. Desta forma, o plasma excedente era encaminhado para incineração. Preocupados com o patrimônio genético descartado, com fonte preciosa de proteínas em condições estéreis, com a questão dos programas de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde (PGRSS) que apontam para a denominada produção mais limpas (P+L), técnica na qual, deve-se minimizar ao máximo a quantidade de material biológico a serem descartado, minimizando o impacto sobre o meio ambiente, as unidades vencidas começaram a ser transferida da área assistencial para o Laboratório de Engenharia Celular criando nova linha de pesquisa: curativos biológicos a partir hemocomponentes, denominada a seguir de Biocurativos (MACEDO, 2005; COTRIM, 2012).

De 2001 à 2003, 4560 unidades de PFC foram monitoradas laboratorialmente para em seguida, outro hemocomponente, o concentrado de plaquetas (CP), obtido por doação convencional ou pelo método de aféreses passou pelas mesmas etapas (HEMOCENTRO DE BOTUCATU, 2001-2003). Com o interesse da equipe de enfermagem em abordar de forma inovadora FC, a implementação farmacotécnica foi delineada.


Em 2003, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) autorizou o primeiro estudo de fase clínica (GARCIA, 2004). De 2003 a 2010 3 produtos desenvolvidos já foram validados e estudados em protocolos de fase

clínica I e II. São eles: cola de fibrina de uso externo (Biofibrin), gel mix e gel laminar de plaquetas denominado de Biogel.

O desenvolvimento destes produtos foi sofrendo melhorias ao longo do tempo em função das observações técnicas da equipe enfermagem quanto aos seguintes indicadores: adesão do paciente à terapêutica, facilidade de uso (aplicação e remoção), conforto para paciente, vida de prateleira do produto, condições de armazenamento, facilidade de auto-aplicação e segurança no transporte do produto (ARAÚJO, 2007 ; NAVARRO, 2008).

Um dos pontos críticos do Biogel é a fragilidade da membrana, sua facilidade em se fragmentar o que determina dificuldade de aplicação pelo próprio paciente ou cuidador além da instabilidade para envio do material por meios comerciais de transporte. Estas oportunidades de melhoria levaram a equipe do LEC a encontrar formas farmacêuticas mais estáveis e que não perdessem a qualidade do Biogel: sua riqueza em hormônios derivados de plaquetas, produtos que estimulam a neoangiogênese e promovem o crescimento celular. O quadro 1, a seguir, apresenta os primeiros produtos desenvolvidos já validados para uso em humanos, com autorização do CONEP (GOBO, 2011).

**Quadro 1 Produtos desenvolvidos no Laboratório de Engenharia Celular (LEC), no Hemocentro de Botucatu.**

Nome do Produto	Composição	Indicação	Contraindicação
<b>Cola de Fibrina- BIOFIBRIN</b> 	<p>Trombina humana purificada</p> <p>Gluconato de cálcio a 10%</p> <p>Proteínas humanas crio precipitadas rico em Fibrinogênio e fibronectina.</p>	<p>Feridas de etiologia multivariada, com esfacelos, tecidos desvitalizados, áreas de necrose, com necessidade de auto-desbridamento.</p>	<p>Alergia conhecida de IgA, portadores de anticorpos dirigidos contra proteínas humanas em especial inibidores da coagulação.</p>
<b>Gel de Plaquetas laminar – BIOGEL</b> 	<p>Trombina humana purificada;</p> <p>Hormônios derivados de plaquetas (PDGF, VEGF);</p> <p>Gluconato de cálcio a 10%.</p>	<p>Feridas limpas, não infectadas com necessidade de promover o tecido de granulação.</p>	<p>Feridas neoplásicas, portadores de doenças plaquetárias com alo imunização identificada contra antígenos próprios das plaquetas (HPA).</p>
<b>Emulgel de Plaquetas- Biogel</b> 	<p>Trombina humana purificada;</p> <p>Hormônios derivados de plaquetas (PDGF, VEGF);</p> <p>Gluconato de cálcio a 10%</p>	<p>Feridas limpas, não infectadas com necessidade de promover o tecido de granulação.</p>	<p>Feridas neoplásicas, portadores de doenças plaquetárias com alo imunização identificada contra antígenos próprios das plaquetas (HPA).</p>
<b>Gel-mix</b> 	<p>Cola de fibrina humana enriquecida com hormônios derivados de plaquetas;</p>	<p>Feridas limpas, não infectadas com necessidade de promover o tecido de granulação e com pequenas áreas desvitalizadas.</p>	<p>Intolerância ao GP, dificuldade na aplicação do GP laminar, feridas neoplásicas, portadores de doenças plaquetárias com alo imunização identificada contra antígenos próprios das plaquetas (HPA).</p>

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

Há dois anos, uma nova forma farmacêutica vem sendo desenvolvida e testada em laboratório: membrana de quitosana dopada com hormônios, dentro da ótica de se encontrar biopolímeros absorvíveis que promovessem a melhoria da forma farmacêutica já comprovadamente promotora do processo de cicatrização, quando comparados com trabalhos recentemente desenvolvidos por (CLETO, 2011).

O desafio foi encontrar um biopolímero temporário que promovesse a liberação lenta de hormônios para a lesão, controlando a umidade, minimizando o crescimento bacteriano e sendo auto-absorvida ao longo do tempo de 4 a 7 dias (ALVARADO,2010).

A presente pesquisa tem como finalidade a liberação do produto para uso dermatológico em humanos, uma vez que testes em animais de laboratório evidenciam a contribuição desta membrana na abordagem de lesões agudas e crônicas.

## **1.1 Pele**

A pele é o maior órgão do corpo humano, correspondendo a 16% de seu peso. Está presente em toda a superfície externa, exercendo várias funções como proteção a entrada de organismos estranhos, termo regulação corporal, responsável pela excreção de água através das glândulas sudoríparas, proteção contra raios ultravioleta. É constituída por duas camadas principais que são a epiderme e a derme. A epiderme é a camada que esta em contato com o meio externo, e a derme é a camada que esta sob a epiderme. (VIEIRA, 2006).

Quando ocorre a interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou menor extensão, causada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica é denominado de ferida (BLANES, 2004).

Feridas agudas são aquelas que cicatrizam em um curto período, ou seja, em até 3 semanas (SMANIOTTO *et al*, 2012).

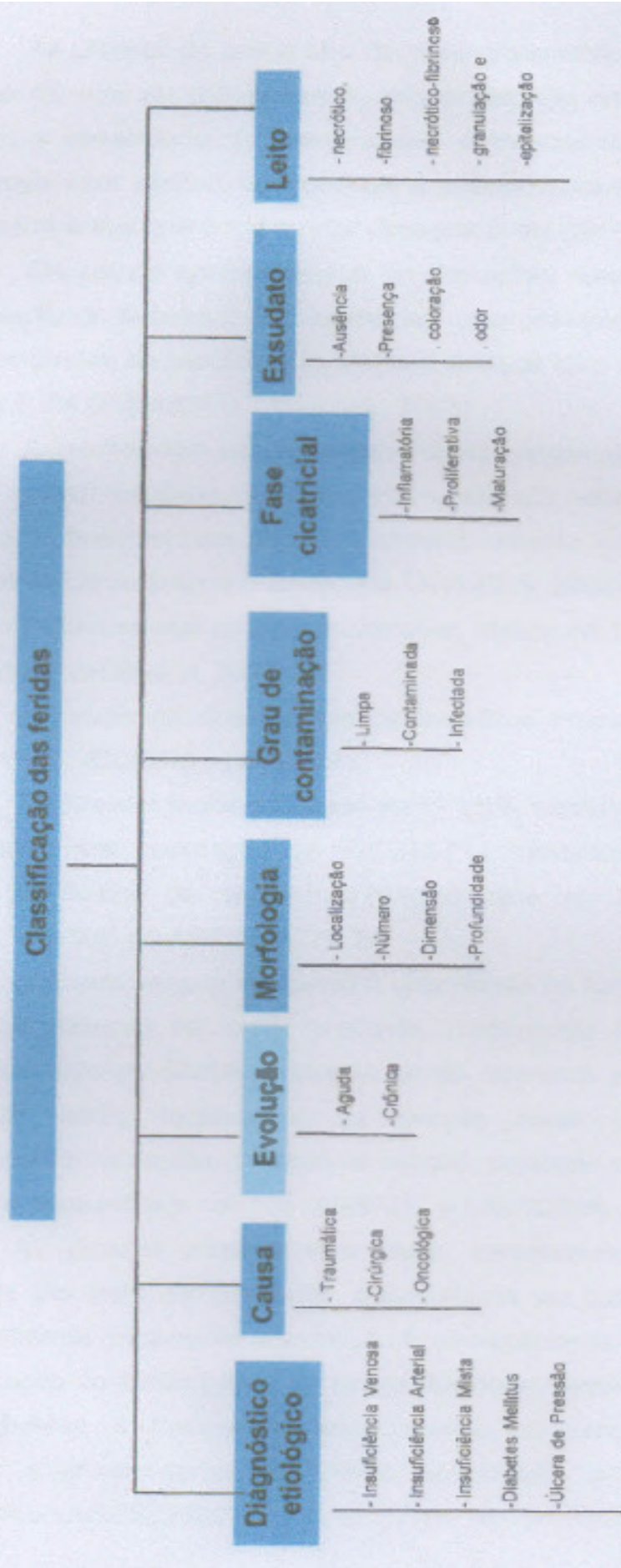
FC são lesões que apresentam retardo na cicatrização devido a processos infecciosos ou em decorrência de outras doenças crônicas pré-existentes,

cuja cicatrização ultrapassa três semanas, independente dos cuidados dispensados (LIMA *et al*, 2012).

A Classificação geral das feridas leva em consideração uma gama de indicadores tais como: diagnóstico etiológico, causa, evolução e grau de contaminação.

Para facilitar o entendimento da classificação das feridas, propomos um diagrama representado na figura nº 1.

Figura 1 Proposta de Classificação Geral das Feridas Segundo Diferentes Indicadores



Fonte: arquivo pessoal, 2014

As úlceras de perna são de difícil tratamento e contribuem na perda da qualidade de vida de seu portador, freqüentemente essas úlceras são dolorosas, diminuem a capacidade de deambulação e independência do paciente, gerando desemprego com perdas econômicas e baixas auto estima causando isolamento social devido a sua aparência e odor desagradáveis (SKARE *et al*, 2009).

Em estudo epidemiológico de alterações venosas de membros inferiores da população de Botucatu, SP, estimaram uma prevalência de varizes de 35,5% e de formas graves de Insuficiência Venosa Crônica com úlcera aberta ou cicatriz de úlcera de 1,5% (FRANÇA e TAVARES, 2003).

A insuficiência venosa crônica é uma anormalidade do funcionamento do sistema venoso causada por uma incompetência valvular, associada ou não à obstrução do fluxo venoso, podendo afetar o sistema venoso superficial, o sistema venoso profundo ou ambos (FRANÇA e TAVARES, 2003).

Estima-se que as úlceras venosas, afetam de 1% a 2% da população mundial (SELLMER *et al*, 2013).

A incidência das úlceras de membros inferiores na Europa fica entre 0,18% e 1%. (SIQUEIRA *et al*, 2009).

No Brasil a incidência varia de 1<sup>a</sup> 1,5%, conforme o autor. Levando-se em consideração uma população de 201.032.714 habitantes, o número estimado de afetados por feridas de membros inferiores varia de 2.010.327 à 3.015.490 de pessoas (ABBADE e LASTÓRIA, 2006).

A úlcera venosa em geral é uma ferida de forma irregular, superficial no início, mas podendo se tornar profunda, comumente com exsudato amarelado, raramente o leito da úlcera apresenta tecido necrótico ou exposição dos tendões. Geralmente estão localizadas na porção distal dos membros inferiores particularmente na região do maléolo medial, podendo ocorrer também na porção superior da panturrilha e nos pés (ABBADE e LASTÓRIA, 2006).

As úlceras arteriais têm como característica profundidade variável, circundada por pele de coloração avermelhada ou cianótica, pouca exsudativa, quando presente geralmente a secreção é sero-purulenta, o edema local é pequeno, com coloração de fundo pálida ou negra devido a necrose, pouco profunda (rasa), fétida, rebeldes a tratamento, estacionárias ou progressivas, de dimensões pequenas e arredondadas, de difícil cicatrização e extremamente dolorosas (BERSUSA e LAGES, 2004).

As principais causas de úlceras crônicas dos membros inferiores são as doenças venosa e arterial, sendo 60 a 70% delas são devidas a problemas venosos, caracterizando a chamada ulcera venosa, e 10 a 25% à insuficiência arterial, a qual pode coexistir doença com doença venosa caracterizando, portanto a úlcera mista (ABBADE e LASTÓRIA, 2006).

As úlceras por pressão são definidas como lesões cutâneas ou de partes moles, podendo ser superficial ou profunda, de etiologia isquêmica, secundária a um aumento de pressão externa, e localizam-se usualmente sobre uma proeminência óssea (BLANES *et al*, 2004).

As ulcerações nos pés atingem em média 15% dos pacientes com Diabetes *Mellitus* ao longo da vida, um estudo realizado no Brasil mostrou que 66,3% das amputações realizadas em hospitais gerais ocorrem em portadores de diabetes (REZENDE *et al*, 2008). Vários fatores estão envolvidos no desenvolvimento das úlceras: neuropatia, doença vascular periférica, limitação de movimento articular, transtornos tróficos da pele e distribuição anormal de forças mecânicas nos pés. Dentre eles, o fator etiológico mais importante é a neuropatia diabética periférica (CISNEROS, 2010).

Deiscência é a abertura espontânea de suturas cirúrgicas, ou seja, uma separação das bordas dos tecidos que foram unidos por pontos (VIEIRA e SOARES, 2010).

Ferida limpa é de difícil classificação, podendo ser considerada como aquela ocasionada por procedimento cirúrgico seguido de sutura. Não apresenta áreas de inflamação e infecção e não acometem o trato respiratório, digestivo e genito-urinário (GOBO, 2011).

As feridas colonizadas contêm microrganismo que não representam uma ameaça para o tratamento, enquanto feridas infectadas contêm agentes patogênicos que estão em estado de replicação bacteriana virulenta comprometendo o tratamento (SANTOS *et al*, 2012).

Quanto a características perilesionais, na região ao redor das úlceras pode apresentar hiperpigmentação uma coloração acastanhada caracterizando a dermatite ocre. A lipodermatoesclerose está frequentemente presente, caracterizada por endureção e fibrose do terço distal do membro inferior, em casos mais graves a aparência de membro acometido é de uma garrafa invertida. O eczema caracterizado pela descamação e prurido na região periúlceras. Podendo apresentar



também edema, varizes e descoloração da pele (ABBADE e LASTÓRIA, 2006).

O foco deste trabalho inclui feridas classificadas como crônicas, cuja topografia preferencialmente foi de membros inferiores, infectadas ou não, na maioria das vezes por insuficiência venosa, de causa de difícil determinação, podendo incluir pequenos traumas, feridas após tromboflebitides, picada de insetos, etc.

O profissional de enfermagem está diretamente relacionado ao tratamento de feridas, tem como responsabilidade manter a observação intensiva com relação aos fatores locais, sistêmicos e externos que condicionam o surgimento da ferida ou interfiram no processo de cicatrização (MORAIS, OLIVEIRA e SOARES, 2008).

## **1.2 Cicatrização**

A cicatrização de feridas consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a repavimentação e a reconstituição do tecido. Esse evento é um processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos a fim de garantir a restauração tissular (MANDELBAUM *et al*, 2003).

O processo de cicatrização começa na fase inflamatória que se caracteriza por edema, calor, rubor, dor e perda de função e tem início imediatamente após a ocorrência da lesão, logo após ocorre a fase proliferativa que tem por função a reparação tecidual e seu tempo de duração varia entre 4 a 24 dias, caracteriza-se pela formação de um tecido novo (tecido de granulação), que tem aparência de pequenas massas nodulares vermelhas, em seguida ocorre a fase de maturação que se caracteriza pela reorganização das fibras de colágeno e pode durar de 21 dias a 2 anos (DANTAS e JORGE, 2005).

A limpeza da ferida tem por finalidade promover um ambiente favorável à cicatrização, através da remoção de fragmentos de tecidos necróticos, resíduos da cobertura anterior, excesso de exsudato, diminuindo o número de microrganismos na lesão. A limpeza deve ser feita com soro fisiológico a 0,9%, morno em jato para garantir uma limpeza eficaz e não e minimizar os riscos de trauma na lesão (CARMO *et al*, 2007).

Ao encontrar tecidos desvitalizados em uma ferida, a preparação do seu leito pode ser realizada através do desbridamento que consiste na remoção de

tecidos desvitalizados ou colonizados (ABBADE, 2010).

### **1.3 Tratamento**

O tratamento clínico que é oferecido ao portador de úlcera venosa consiste na realização do curativo, terapia compressiva, prescrição de dieta que favoreça a cicatrização, orientações quanto à importância de repouso e do uso de meias de compressão após a cura da ferida (CARMO *et al*, 2007).

Os métodos de compressão disponíveis são as ataduras compressivas, meias elásticas e compressão pneumática. Métodos que são contraindicados se o paciente apresentar doença arterial periférica grave. Entretanto, no caso de úlcera venosa associada à doença arterial leve a moderada, pode se considerar o uso de compressão com prudência, que deve exercer baixa pressão durante o repouso (compressão inelástica, ou seja, a bota de Unna é a mais tradicional) (ABBADE e LASTÓRIA, 2006).

Pacientes com úlcera extensa ou associada como comprometimento arterial podem ser beneficiados com as técnicas de cicatrização adjuvante, tais como pele humana e revascularização arterial (BORGES, CALIRI e HAAS, 2007).

Existem atualmente diversos tipos de curativos no mercado, sendo classificados como passivos ou convencionais interativos e bioativos. Os convencionais têm como princípio recobrir a lesão após sua limpeza mecânica diária. Os curativos interativos são geralmente permeáveis a vapor d'água e oxigênio e impermeáveis a bactérias, absorvendo o exsudato da ferida, enquanto os bioativos liberam substâncias ativas na cicatrização da ferida (ARAUJO, 2007).

O tratamento instituído no ambulatório de Biocurativo foi o uso tópico de curativos biológicos (gel de plaquetas e a membrana de quitosana) produzidos pelo LEC.

#### **1.3.1 Gel de plaquetas**

Na produção do gel de plaquetas, o sangue venoso é centrifugado para produzir uma alta concentração de plaquetas em um pequeno volume de plasma, formando o plasma rico em plaquetas (PRP), onde o plasma é a parte líquida e as plaquetas atuam no processo de hemostasia, cicatrização de feridas e re-

epitelização. Juntos, o plasma e as plaquetas são um hemocomponente, que adicionado de trombina e cálcio resulta na ativação das plaquetas e início do processo de coagulação formando o gel de plaquetas, que é rico em fatores de crescimento como o PDGF, TGF-beta, EGF e VEGF (VENDRAMIN, FRANCO, FRANCO, 2006).

PDGF: os PDGF, associados ou não com os TGF, aumentam a vascularização tissular, promovem a proliferação de fibroblastos, aumentam a quantidade de colágeno, estimulam produção de tecido de granulação e melhoram a osteogênese.

TGF-beta: os TGF ativam os fibroblastos para formação de protocolágeno, que resulta na deposição de colágeno e cicatrização da ferida.

EGF: fator de crescimento epitelial (EGF) induz o crescimento de tecido epitelial e promove também a angiogênese.

VEGF: o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) estimula a angiogênese, a mitogênese e a permeabilidade vascular (VENDRAMIN, *et al.* 2006).

Tais fatores de crescimento estimulam a angiogênese, promovendo crescimento vascular e proliferação de fibroblastos, proporcionando um aumento na síntese de colágeno. Estas propriedades tornam o PRP um produto com grande potencial de melhorar a integração de enxertos, sejam eles ósseos, cutâneos, cartilagosos ou de gordura, bem como estimular a cicatrização de feridas (VENDRAMIN, *et al.* 2006).

### **1.3.2 Membrana de Quitosana**

A quitosana é um produto natural, de baixo custo, renovável e biodegradável, de grande importância econômica e ambiental (AZEVEDO, *et al.* 2007). Biopolímero do tipo polissacarídeo derivado da quitina um biomaterial abundante na natureza, presente nas carapaças dos crustáceos, nos exoesqueletos dos insetos e nas paredes celulares de fungos. Tem sido usada em países orientais para o tratamento de queimaduras e cicatrização de feridas (CHANDY, SHARMA 1993). É indicada para aplicações, devido à sua compatibilidade com organismos vivos. (FRAGA, *et al.* 2006). Tais biopolímeros degradam-se espontaneamente em condições fisiológicas naturais ou são absorvidos completamente pelo organismo,

em intervalos de tempo que permitem, em condições adequadas, a plena substituição dos elementos teciduais (ASSIS, LEONI e NOVAES, 2007).

Suas aplicações na área de biomateriais são: pele artificial, manufatura de lentes de contato, membranas artificiais, periodontais, ortopédicas, engenharia de tecidos, curativos inteligentes, com a liberação controlada de drogas e agentes ativos (FRAGA, *et al.* 2006) e (ASSIS, LEONI e NOVAES, 2007). Recentemente diversos estudos foram publicados, avaliando potenciais aplicações da quitosana como revestimento curativo ou como suporte para crescimento de células e recuperação de tecido animal (KHAN *et al.*, 2000; NETTLES e ELDER, 2001; HOWLING *et al.*, 2002; KHAN e PEH, 2003). Esses estudos além de focarem as conhecidas propriedades bioadesivas (HENRIKSEN *et al.*, 1996) e atividades antifúngicas da quitosana (JUNG *et al.*, 1999), avaliam o caráter hemostático como agente de estancamento sanguíneo (ASSIS, LEONI e NOVAES, 2007).

A membrana de quitosana estimula a proliferação de células e a organização dos tecidos. Provê estrutura para o crescimento celular e fornece proteínas para a cicatrização, fortalece o novo tecido, atua como barreira contra agentes infecciosos, minimiza a deformação cutânea, além de estimular a coagulação sangüínea natural, absorver os fluidos provenientes da ferida (exsudato) e bloquear as terminações nervosas, reduzindo a dor. A quitosana é bastante útil no tratamento de feridas, pois aceleram o processo de cura das mesmas (NICOLOSI e MORAES, 2005).

## **2 ESTUDOS DE FASE CLÍNICA**

Estudos de fase clínica são definidos pela ANVISA como

“Qualquer investigação em seres humanos, objetivando descobrir ou verificar os efeitos farmacodinâmicos, farmacológicos, clínicos e/ou outros efeitos de produto(s) e/ou identificar reações adversas ao produto(s) em investigação, com o objetivo de averiguar sua segurança e/ou eficácia.” (*European Medicines Evaluation Agency -EMA, 1997*).

Estão descritos como protocolos clínicos, diferentes fases, incluindo a denominada fase pré-clínica ou fase 0 (zero), onde são realizados os ensaios *in vitro* e em modelos animais. Até julho de 2014, 4 monografias de especialização e 16 dissertações de mestrado e uma tese de doutorado envolveram estas fases. Destas 21 produções científicas, sete delas foram desenvolvidas por enfermeiras, incluindo o trabalho de doutorado. As demais pesquisas envolveram equipe multiprofissional, como médico, assistente social, fisioterapeuta, biólogos, biomédico e farmacêutico. As diferentes fases de estudo sobre biocurativo envolveram: 1) estudo da forma farmacêutica, 2) vida de prateleira, 3) controle e segurança da qualidade, 4) determinação do potencial imunogênico dos curativos bioativos; 5) avaliação dos aspectos imunohematológicos e leucoplaquetários 6) determinação da forma farmacêutica do gel de plaquetas com estudo de estabilidade e reologia. Além destes trabalhos, foram desenvolvidos em parceria com a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da UNESP de Botucatu, duas outras pesquisas envolvendo cicatrização em modelos animais, como feridas em cão e equinos. Em 2003, o (CONEP) Conselho Nacional de Ética em Pesquisa aprovou o primeiro estudo em seres humanos com o uso de biocurativos, mais especificamente, com o uso de cola de fibrina em úlceras de pressão. De lá para cá, inúmeros trabalhos científicos foram realizados envolvendo tanto a cola de fibrina *home made*, como gel de plaquetas, gel mix, terapia celular com células tronco mesenquimais autólogas. Uma avaliação crítica do uso dos produtos levantou em consideração de que o gel de plaquetas, por ser rico em fatores de crescimento contribui efetivamente para o processo de remodelamento das feridas crônicas, no entanto apresenta algumas oportunidades de melhorias do produto, entre elas: implementação da forma farmacêutica (o gel de plaquetas *in natura* é escorregadio, difícil de ser aplicado e sendo exclusivamente de aplicação por profissional de enfermagem graduado e treinado, uma vez que também exige a manipulação estéril). Outro ponto destacado foi a impossibilidade de transferência para cuidadores ou para aplicação pelo próprio paciente e a dificuldade de expedição via correio, de material tão delicado e refrigerado (mantido a 4°C). Diante disto, a busca pela estabilização dos fatores de crescimento em biopolímeros desafiou a equipe que encontrou na quitosana parte das respostas procuradas. Ensaio de biocompatibilidade das membranas de quitosanas com cultura de fibroblastos e células tronca mesenquimais receberam apoio financeiro da Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) sob a coordenação da

Profa. Rosana Rossi Ferreira com o projeto intitulado: *Estudo comparativo de três diferentes scaffolds para crescimento de célula tronco mesenquimal, fibroblastos e queratinócitos*. Processo nº 2011/21862-5 (NUNES, 2014).

As diferentes fases dos protocolos ou ensaios clínicos estão descritos no quadro abaixo. Daremos destaque à descrição da Fase I, que corresponde ao foco deste trabalho aprovado pelo CEP, processo 4102-2011.

Na fase I, o número mínimo de indivíduos objetos de estudo é de 20, podendo chegar a 100. Corresponde a uma avaliação inicial em seres humanos com o objetivo de identificar a tolerância, a maior dose tolerada, a menor dose efetiva, a relação dose/efeito, a duração do efeito, identificando os efeitos colaterais e determinando a farmacocinética no ser humano, pela determinação do metabolismo e a biodisponibilidade ( ANVISA, 2013).

### Quadro 2 Diferentes fases nos estudos clínicos

Fase	Nº indivíduos	Observações
Pré-clínica	0	Informações preliminares sobre atividade farmacológica e segurança. Mais de 90% das substâncias estudadas nesta fase, são eliminadas: não demonstram suficiente atividade farmacológica/terapêutica ou demasiadamente tóxicas em humanos. Atividade farmacológica específica e perfil de toxicidade aceitável = passam à fase seguinte.
<b>Fase I</b>	20-100	Avaliação inicial em humanos Tolerância em voluntários saudáveis: Maior dose tolerável Menor dose efetiva Relação dose/efeito Duração do efeito , efeitos colaterais Farmacocinética no ser humano (metabolismo e biodisponibilidade).
Fase II Estudo Terapêutico Piloto	100-200	Primeiros estudos controlados em pacientes, para demonstrar efetividade potencial da medicação. Indicação da eficácia; confirmação da segurança; biodisponibilidade e bioequivalência de diferentes formulações.
Fase III	Mínimo 800	Estudos internacionais, de larga escala, em múltiplos centros, com diferentes populações de pacientes para demonstrar eficácia e segurança. Conhecimento do produto em doenças de expansão. Estabelecimento do perfil terapêutico: Indicações - Dose e via de administração; Contra-indicações; Efeitos colaterais. Medidas de precauções. Demonstração de vantagem terapêutica (ex: comparação com competidores). Farmacoeconomia e qualidade de vida Estratégia de publicação e comunicação.
Fase IV Após aprovação para comercializa ção do produto		Detectar eventos adversos pouco freqüentes ou não esperadas (vigilância pós-comercialização) * Estudos de suporte ao marketing * Estudos adicionais comparativos com produtos competidores * Novas formulações (palatabilidade, facilidade de ingestão).

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

Este projeto encontra justificativa no fato de que os pacientes beneficiados com o tratamento com o Biogel, não conseguem fazer uso do produto em seu domicílio, pela condição escorregadia do mesmo, que determina grande perda do curativo, pela dificuldade na auto-aplicação, limitando o benefício aos pacientes que conseguem um deslocamento a cada 4 dias para o serviço especializado. Frente a isto, o LEC desenvolveu nova forma farmacêutica no sentido de beneficiar pacientes com dificuldade semanal de deslocamento às Unidades Básicas de Saúde para proceder à troca de curativos, preservando a concentração necessária de hormônios para promoção da regeneração dos tecidos.

# *Objetivos*



### **3 OBJETIVO**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Validar o uso da membrana de quitosana dopada (Quitogel) com hormônios derivados de plaquetas em feridas crônicas, comparando com o gel de plaquetas.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- ◆ Estabelecer o perfil de novos casos atendidos no ambulatório de Biocurativos no período de 24 meses segundo os parâmetros: sexo, idade, etnia, tempo médio de ferida aberta em meses, etiologia da ferida, produtos comercializados prescritos, percentual dos produtos comercializados utilizados pelos pacientes, nível sócio econômico dos pacientes, tipo de moradia e família, parâmetros psico-sociais,
- ◆ Comparar o desempenho da membrana de quitosana dopada com hormônios plaquetários versus Gel de plaquetas, levando em consideração os seguintes parâmetros: diminuição do tamanho da lesão, tempo de ação para fechamento da lesão, consistência do tecido neo-formado e dor;
- ◆ Estabelecer e comparar efeitos adversos referidos em ambos os produtos.

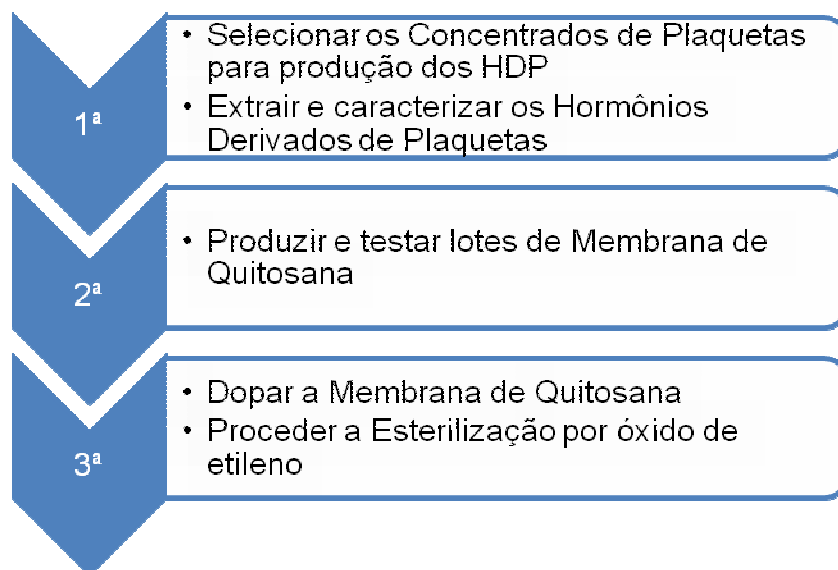
# *Métodos e Casuística*

#### 4 MÉTODOS E CASUÍSTICA

Trata-se de um estudo prospectivo e do tipo ensaio clínico controlado, cujo delineamento teve a colaboração do Grupo de Apoio à Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP.

A metodologia para a produção da membrana de quitosana enriquecida ou dopada com hormônios derivados de plaquetas foi realizada em três diferentes etapas como a seleção dos concentrados de plaquetas para a produção dos hormônios extraídos dos grânulos como PDGF, VEGF, TGF- $\beta$  entre outros, a produção e testagem dos lotes de membrana de quitosana e a dopagem propriamente dita, ou seja, o enriquecimento das membranas de quitosana tornando-as Quitogel.

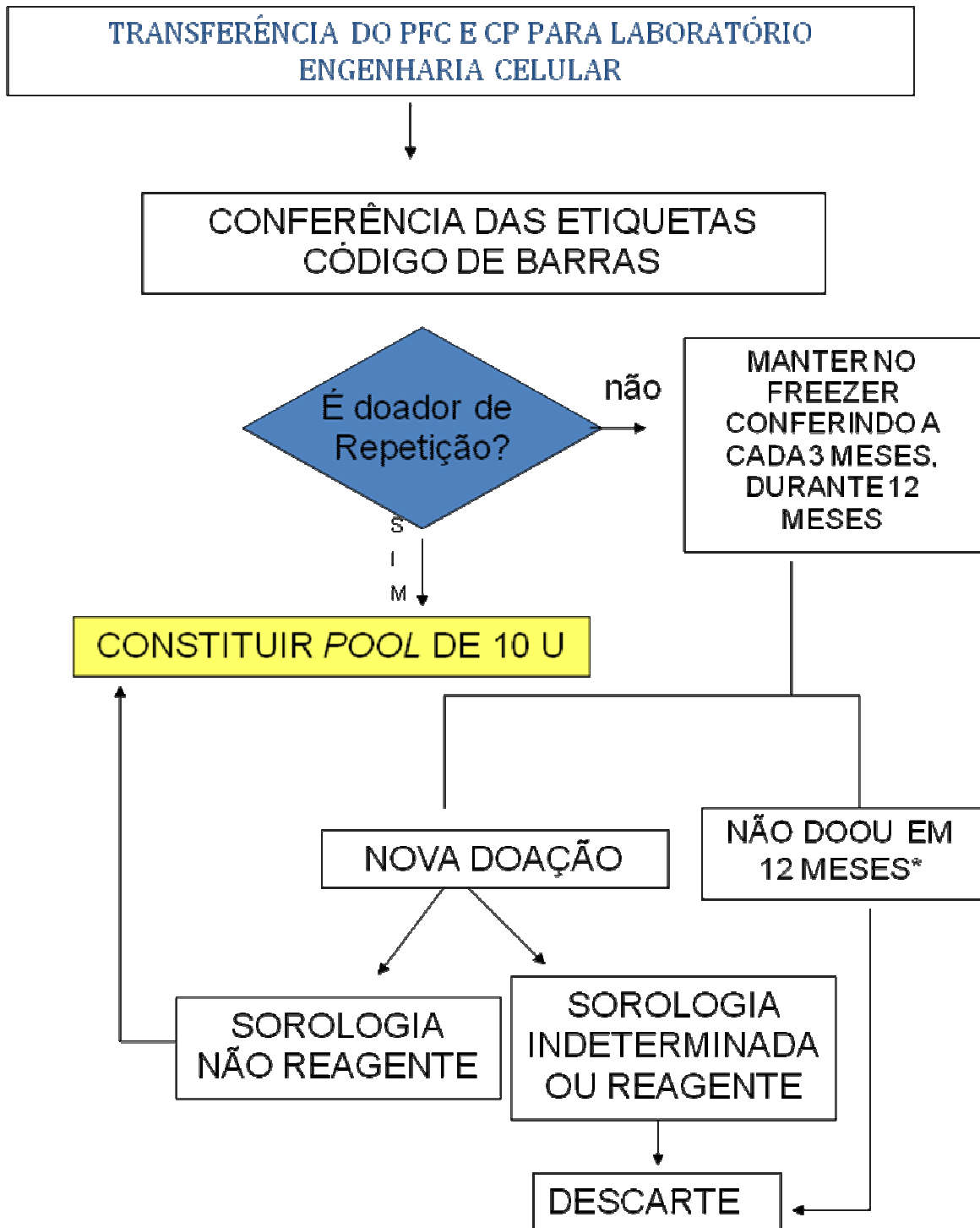
**Figura 2 Etapas de produção da Membrana de Quitosana dopada com hormônios plaquetários**



Fonte: Arquivo pessoal, 2014

Para a seleção dos concentrados de plaquetas, foi seguido o Procedimento Operacional Padrão do Laboratório de Engenharia Celular, a seguir (figura 3).

Figura 3 Fluxograma da seleção dos concentrados de plaquetas para a extração dos hormônios derivados de grânulos plaquetários.



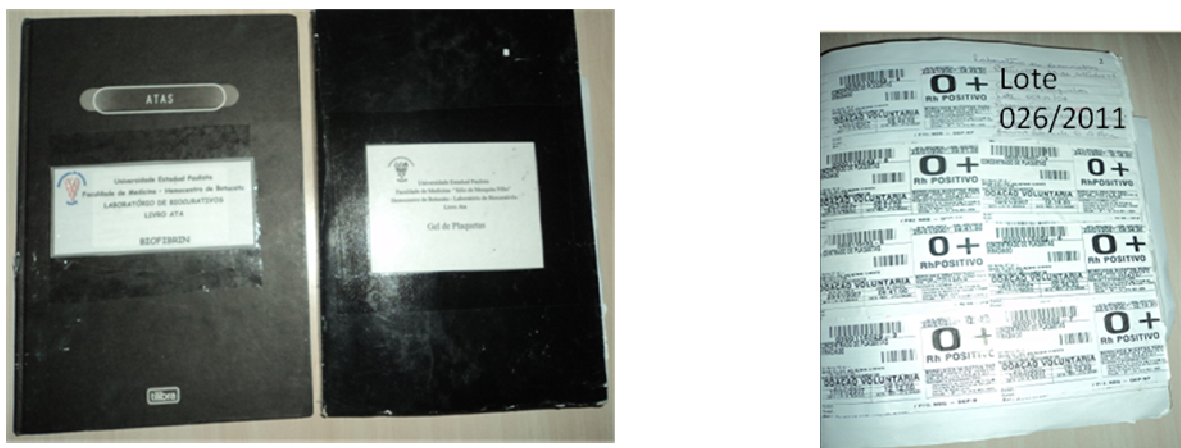
Fonte: Manual de Procedimento Operacional Padrão do Laboratório de Engenharia Celular, 2014

Após a transferência dos Concentrados de Plaquetas do Setor de Processamento do hemocentro de Botucatu para o LEC, foram processados registros manuais, em livros Ata, com abertura oficial da VISA/Botucatu, com a finalidade de se garantir a rastreabilidade dos produtos, conforme identificado na figura 4.

A Constituição dos lotes de CP seguia as etapas abaixo:

1. Identificado os CP de doação de repetição, por grupo sanguíneo;
2. Transferência estéril, das bolsas para frascos;
3. Os rótulos de cada bolsa do lote são colados em livro ata com data e assinatura do responsável.

**Figura 4 Identificação dos Livros Ata de registro oficial dos dados de produção dos lotes de CP**

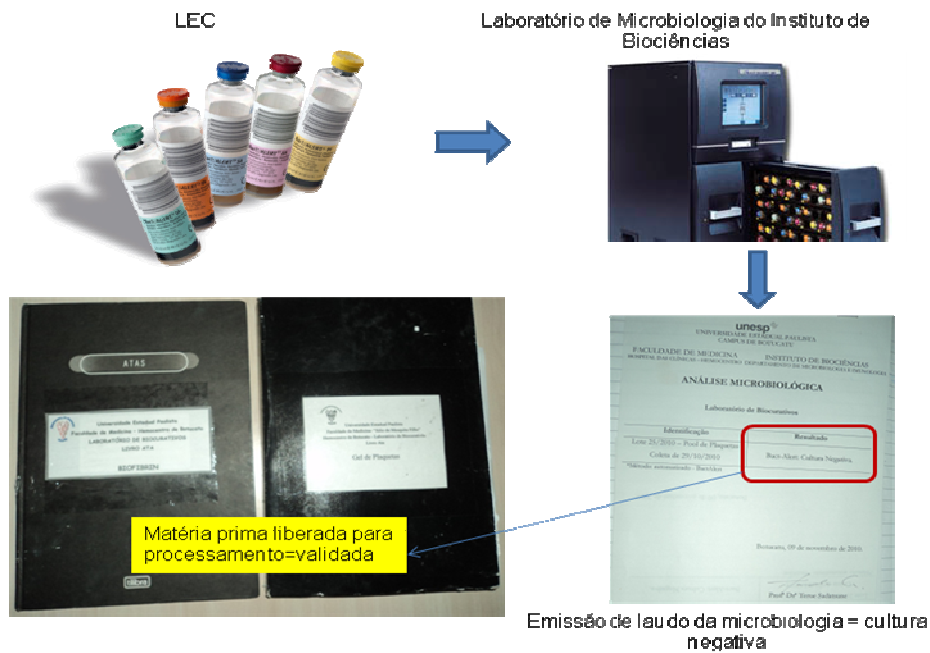


Fonte: LEC, 2014

A validação dos *pools* de concentrado de plaquetas levou em consideração os seguintes indicadores:

- Inspeção visual (descartado CP lipêmicos ou turvos)
- Número (concentração de plaquetas/mm<sup>3</sup>)  $5 \times 10^{9-11}$
- Análise microbiológica para aeróbio, anaeróbio e fungos: hemocultura em tecnologia automatizada - BactAlert® (Instituto de Biociências/Laboratório de Microbiologia externo)

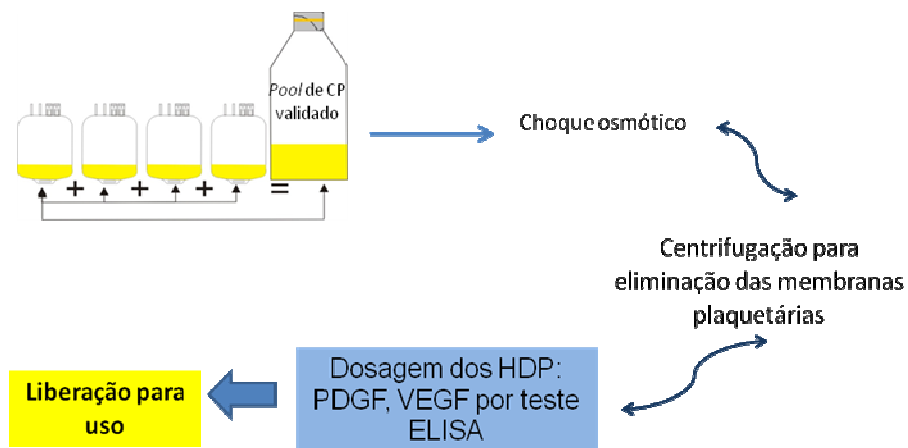
**Figura 5 Controle de Qualidade Microbiológico e validação da matéria prima**



Fonte: LEC, 2014

Quanto à extração e caracterização dos hormônios derivados de plaquetas, a figura 6, representa graficamente as etapas realizadas pela equipe de biomédicos e farmacêutica do LEC.

**Figura 6 Extração e Caracterização dos hormônios derivados de plaquetas**



Fonte: LEC, 2014

Quanto à produção e teste dos lotes de membrana de quitosana, como se trata de uma etapa farmacológica, apresentaremos sob a forma de fotografias (figuras 7 e 8).

### Figura 7 Preparo da Membrana de Quitosana

Pesagem da quitosana pura → diluição → homogeneização → ajuste rigoroso do pH



Fonte: LEC, 2014; ALVARADO, 2012.

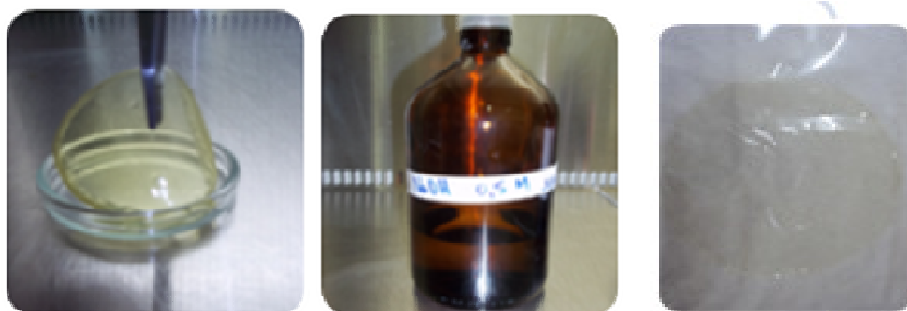
### Figura 8 Incorporação /Dopagem com HDP = Quitogel

A incorporação de HDP segue as etapas a seguir:

Incorporação dos HDP → Acondicionamento → Preparo da membrana não reticulada



Adição de agente reticulante → Descolamento da membrana → Membrana esterilizada por ETO



ETO = esterilização por óxido de etileno

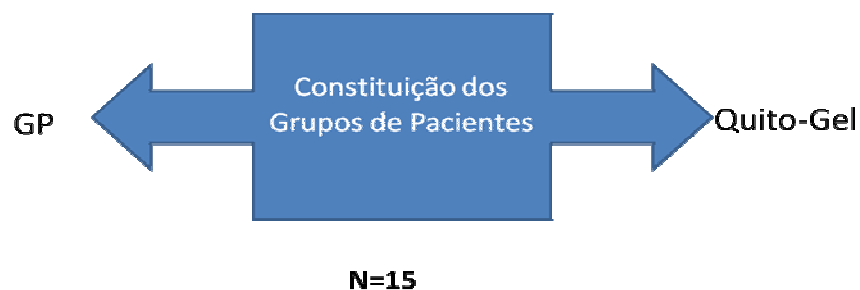
Fonte: LEC, 2014; ALVARADO, 2012.

#### 4.1 Tamanho Amostral

O ambulatório de Biocurativo, funcionando exclusivamente para atendimento de pacientes com projetos aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa (CEP). Neste período, a demanda atendida foi por busca espontânea, assim como aqueles encaminhados para a pesquisa, oriundos de demais ambulatórios assistenciais do HC, como Serviço de Dermatologia, Cirurgia Vascular, Pronto-Socorro, Unidade de Tratamento Intensivo, Cirurgia Plástica e Clínica Médica. Após a primeira consulta, identificando-se a etiologia da ferida, é que se pode dirigir o conjunto de pacientes que poderiam ser inseridos neste protocolo de pesquisa. Para tanto, foram estabelecidos critérios de inclusão e exclusão. Em projeto anteriormente assessorado pelo GAP, o número amostral estimado foi elevado sendo que na prática não foi possível atingir (GOBO, 2010). Desta forma, entende-se que este projeto não faz a comparação com produto de mercado, pois inexistia na época do início do protocolo, produto semelhante. Na presente pesquisa houve a comparação do produto *home made* denominado Biogel (gel de plaquetas), com a membrana de quitosana enriquecida com hormônio derivados de plaquetas (Quitogel).

Neste protocolo, estimou-se acompanhar 30 pacientes, sendo 15 pacientes tratados o gel de plaquetas e 15 tratados com Quitogel conforme figura 9.

**Figura 9 Constituição dos Grupos de Pesquisa para uso de Quitogel**



Fonte: arquivo pessoal, 2014



## 4.2 Critérios de Inclusão e Exclusão

Quanto aos critérios de inclusão estabeleceu-se: ser portador de feridas crônicas, aceitar participar da pesquisa e ter mais de 18 anos. Os indicadores de exclusão para participação na pesquisa foram: ser portador de doenças auto-imunes, levando em consideração que estes pacientes podem desenvolver anticorpos contra proteínas plasmáticas, presente em alta concentração tanto no Biogel quanto no Quitogel. Outro indicador específico foi se o paciente já é portador de ferida neoplásica, tendo em vista que os hormônios de crescimento presentes nas formulações podem estimular o crescimento neoplásico. Um dos indicadores de grande relevância, para exclusão do uso do Quitogel, é a alergia declarada à quitosana, que segundo a literatura, 4% da população em geral é alérgica à camarão. A quitosana é um polímero extraído originalmente da carapaça de crustáceos (quadro 3).

**Quadro 3 Critérios de inclusão e exclusão**

<b>Critérios de Inclusão</b>	<b>Critérios de Exclusão</b>
Ser portador de feridas crônicas em membros inferiores	Portadores de doenças auto-imunes
Aceitar a participação em projeto de pesquisa	Ferida neoplásica
Ter mais de 18 anos	Alergia declarada à quitosana

Fonte: arquivo pessoal, 2014

## 4.3 Metodologia

Foram incluídos no estudo pacientes provenientes da procura espontânea ocorrida na sequência da divulgação pela mídia sobre Biocurativos. A Instituição disponibilizou um e-mail específico: [biocurativo@fmb.unesp.br](mailto:biocurativo@fmb.unesp.br), no qual os pacientes se cadastraram para o atendimento. Estes pacientes foram contactados por e-mail ou telefone para agendamento da primeira consulta e avaliação Médica, de Enfermagem e Assistente Social. As consultas foram realizadas no ambulatório de Biocurativo/Hematologia, as segunda e quarta-feira, no período da manhã, tendo sido esclarecido de que o tratamento é experimental. Após a concordância do paciente em participar do protocolo de pesquisa, foi assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 1).

#### **4.4 Procedimentos Éticos**

A pesquisa obedeceu a nova Resolução 196/96 sobre Aspectos Éticos da Pesquisa envolvendo Seres Humanos. O projeto foi encaminhado ao CEP tendo recebido número 4102-2011, a coleta de dados se iniciou após sua aprovação (ANEXO 1).

#### **4.5 Coleta de Dados**

Foi realizada abertura de prontuário no hospital para os pacientes que não possuíam cadastro n HC da Instituição e foi realizada também ficha de cadastro específica do Ambulatório de Biocurativos que produziu dois diferentes instrumentos de avaliação: 1) instrumento de enfermagem – para registros de dados da saúde do paciente e informações pertinentes ao seu tratamento e 2) instrumento semi-estruturado para avaliação das condições sócio-psico-econômicas.

##### **4.5.1 Instrumento de Enfermagem**

Foram utilizados como modelo três instrumentos de enfermagem utilizados em projetos de pesquisa envolvendo Biocurativo, e re-delineado conforme as necessidades do projeto em questão. Trata-se de um instrumento semi-estruturado, com dados objetivos e espaço para observações profissionais de relevância. Este instrumento é composto por 4 blocos de informações: 1) dados gerais, 2) avaliação geral dos membros inferiores com determinação do índice tornozelo-braquial e informações referentes às doenças progressas e comorbidades, 3) exame e dados das feridas tais como tempo de evolução, localização, fase de cicatrização, conteúdo microbiano, bordas, exsudato, etc. e 4) O grupo de estudo a que o paciente foi incluído. Este instrumento de avaliação está anexado (APÊNDICE 2).

##### **4.5.2 Instrumento de Sócio-psico-econômico**

Este instrumento foi delineado com um total de 38 questões, das quais, para a identificação sócio-econômica foram destinadas 7 perguntas, saúde geral outras 4, aspectos físicos 15 perguntas, aspectos psicológicos 8 questões e dados da família 4 perguntas.

Após o preenchimento inicialmente do instrumento de enfermagem dos pacientes elencados como aprovados no critério de inclusão e portadores de úlceras venosas, foi determinado o índice tornozelo-braquial, realizada a biópsia por *punch*,

dado orientações quanto à alimentação, exercícios físicos, terapia compressiva e obtido a fotografia da ferida.

Os retornos aconteceram a cada 30 dias, sendo que este tempo foi abreviado nos casos que se fizeram necessário. No dia a dia, as trocas dos curativos aconteceram em domicílio, ou até mesmo no ambulatório de biocurativos. Os pacientes foram acompanhados por 90 dias, conforme o protocolo e os que continuavam com a lesão aberta permaneceram recebendo atendimento até o fechamento da mesma.

#### 4.6 Índice Tornozelo-Braquial

O exame de ultrassonografia Doppler deve ser realizado para determinar o índice sistólico entre o tornozelo e o braço (ITB). É uma técnica simples, não invasiva, onde será analisado o índice pressórico. O aparelho é composto por esfigmomanômetro, cuff, Doppler vascular portátil (figura 10). O índice é calculado com o valor mais alto da pressão sanguínea sistólica do tornozelo, dividido pela pressão sanguínea sistólica da artéria braquial. O ITB abaixo de 0,9 indica que existe componente de insuficiência arterial influenciando o desenvolvimento da úlcera. O ITB abaixo de 0,7 é muito significativo e, quando não houver qualquer anormalidade venosa, pode indicar que a insuficiência arterial é a única causa da úlcera (FARIAS e SOUZA 2010), (ABBADE e LASTÓRIA, 2006).

**Figura 10 Técnica da medida do índice sistólico tornozelo-braço (ITB)**



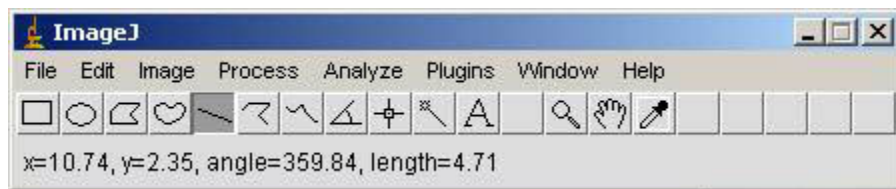
Fonte: ABBADE E LASTRÓIA, 2006.

Com o diagnóstico de úlcera venosa estabelecido, foi preconizada, já na primeira abordagem, a utilização de atadura elástica como parte do protocolo de acompanhamento destes pacientes.

#### 4.7 Fotografia

As fotografias foram realizadas com câmera digital Sony®, a uma distância de aproximadamente de 15 cm da lesão. Foram utilizadas etiquetas com a identificação do paciente e a quantidade de dias acompanhados, para servirem de parâmetro na hora da medição da ferida, através do *software* livre *Image J*, cuja barra de ferramentas está na figura 11.

**Figura 11 – Barra de ferramentas do software livre *Image J* para medição da área da ferida**



Fonte: <http://imagej.nih.gov/ij/> acessado em 21/10/2011

#### 4.8 Determinação do Curativo

A determinação dos curativos de membrana de quitosana, que foram utilizados, foi de acordo com o grau de instrução do paciente, mobilidade física, cidade onde mora, alergia ou não a quitosana.

Sendo assim, os pacientes de Botucatu com bom grau de instrução, boa mobilidade física e não alergia a quitosana necessariamente utilizaram a membrana de quitosana, devido a menor distância do ambulatório de Biocurativo e para melhor acompanhamento da ferida, pois se trata de um curativo em experimento.

Os pacientes que residiam em regiões mais distantes utilizaram o gel de plaquetas devido ao fato de já se conhecer a eficácia do produto.

#### 4.9 Biópsia por *Punch*

As biópsias de *punch* foram realizadas às segunda-feira, no ambulatório de biocurativo, pela Dra. Luciana Patrícia Fernandes Abbade, Dermatologista, no início da aplicação da membrana de quitosana ( $D^0$ ), e no final do tempo de acompanhamento ( $D^{90}$ ), somente para pacientes que não fecharam completamente a lesão, no sentido de avaliar o padrão de vascularização e celularidade. Para as biópsias, foram utilizados *punch* dermatológico de 4mm na borda da lesão (figura

12).

**Figura 12 – Dispositivo para biópsia de pele, tipo *Punch* 4mm**



Fonte: [www.ortovert.com.br](http://www.ortovert.com.br) acessado em 17/04/2011

## **4.10 Terapia Tópica**

Inicialmente, o leito da ferida foi preparado com Biofibrin, ou, nos casos em que a lesão com tecido de granulação, colocado direto no tratamento como Biogel ou Quitogel.

### **4.10.1 Realização do curativo**

#### **4.10.1.1 Utilizando o Biofibrin, Gel Mix, Biogel**

Limpeza com Soro Fisiológico (SF) a 0,9% aquecido, em jato de em média 12 psi com auxílio de agulha 21G (MARTINS e MENEZHIN, 2012);

Desbridamento mecânico quando necessário;

Colocação da cobertura (Biofibrin ou Gel de plaquetas);

Colocação da faixa crepe e faixa elástica;

Troca diária do curativo.

#### **4.10.2 Utilizando a Membrana de Quitosana**

Para o uso da membrana, foram feitas placas de tamanho variável, customizado para cada paciente. Para feridas circulares as membranas foram preparadas em Placas de Petri, arredondadas.

#### 4.10.2.1 Realização do Curativo:

Limpeza com SF 0,9% aquecido, em jato de em média 12 psi com auxílio de agulha 21G (MARTINS e MENEZHIN, 2012);

Desbridamento mecânico, se necessário;

Hidratação da membrana de quitosana (Quitogel) com soro fisiológico no momento do uso;

Aplicação do Quitogel;

Irrigação diária da gaze primária com SF 0,9%,

Colocação da faixa crepe e faixa elástica;

Troca do curativo primário a cada 4 dias.

#### 4.11 Indicadores de Monitoramento

- Diminuição da extensão da lesão em  $\text{cm}^2$ :  $D^{45}$  e  $D^{90}$ ; através da mensuração e fotografia digital;
- Avaliação qualitativa da vascularização por meio do exame anatomopatológico:  $D^0$  e  $D^{90}$ . Processo monitorado através de biópsia por *punch*.

**Quadro 4 Critérios de acompanhamento na biópsia de pele tipo *Punch***

Tempo	Vascularização			Celularidade		
	Escore	Distribuição	Arranjo	Infiltrado Linfocitário	Predominância	Estroma
D0						
D90						

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

#### 4.12 Mensuração

A mensuração das lesões foi realizada pela própria pesquisadora, através da análise das fotografias digitais pelo *software Image J* conforme a figura nº 13, abaixo.

**Figura 13 Mensuração das Lesões pelo Software Image J**



Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

Foram utilizadas etiquetas como ponto de referência em centímetros. Após medir a etiqueta foi desenhado o contorno da ferida para determinar a área da lesão. Foram realizadas 3 medições para cada lesão, devido ao fato da lesão apresentar bordas irregulares, podendo acorrer erro humano na medição e calculado a média entre elas. Em casos de lesões circundantes foi feito e decalque da mesma em plástico filme e fotografado com etiqueta de referência.

#### **4.13 Avaliação Qualitativa da Vascularização**

A avaliação qualitativa da vascularização foi feita através de lâminas confeccionadas pelo laboratório de imunohistoquímica e avaliadas pela Prof. Dra. Maria Aparecida Custódio Domingues, do Departamento de Patologia, com contagem de vasos por campo, na coloração de hematoxilina-eosina.

Quanto a vascularização foram analisadas as biópsias de 2 pacientes tratados com Quitogel e 3 pacientes tratados com GP, que permaneceram no estudo até D<sup>90</sup> sem apresentar cicatrização completa da lesão. Através da coloração de hematoxilina-eosina, as amostras foram avaliadas quanto ao critério de vascularização, sendo observados a proliferação, distribuição e arranjo dos vasos. Quanto a celularidade foi avaliada a presença ou não de infiltrado inflamatório, predominância celular e estroma.

#### **4.14 Análise Estatística**

Foi realizada análise estatística descritiva, com determinação de percentuais, em função da necessidade de parada das atividades deste projeto.

#### **4.15 Casuística**

Durante o período de 24 meses, 135 novos casos de feridas crônicas de membro inferior, de etiologia multifatorial foram atendidos no ambulatório de Biocurativos. Estes pacientes foram submetidos a diversos tratamentos, mas a análise do perfil sócio-psico-econômico foi traçada. Destes 135, participaram do estudo 27 paciente, proveniente de demanda espontânea, envolvendo um total de 31 lesões.



# *Resultados e Discussão*

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão apresentados em duas fases distintas: aqueles referentes à produção da membrana de quitosana e os dados pertinentes aos pacientes.

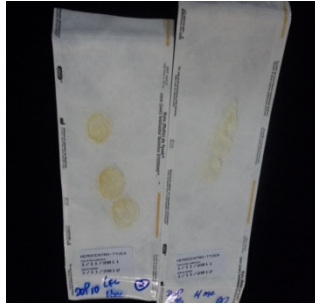
O LEC recebeu no ano de 2013, 674 bolsas de concentrados de plaquetas vencidas. Destas, após o processamento de qualidade conforme descrito no Fluxograma de Seleção dos Concentrados de Plaquetas para a Extração dos Hormônios Derivados de Grânulos Plaquetários, que consta na página 32 do capítulo anterior, 350 delas correspondiam a doadores de sangue de repetição com pelo menos 3 sorologias não reagentes para doenças infecto-contagiosas. O excedente de CP ocorre, pois muitos pacientes oncológicos agendados para o recebimento de concentrado de plaquetas podem não fazer a depressão de medula óssea, chamada aplasia medular, na data prevista, ou mesmo não fazê-la na intensidade que o médico previu, uma vez que existe a resposta individual de cada um para as drogas quimioterápicas. Outros pacientes podem ter ido à óbito antes de receber o hemocomponente previsto. Além disto, existe sempre a produção de concentrado de plaquetas denominado estoque estratégico, para atender demandas inesperadas, como pacientes oncológicos de outros municípios, em viagem, e que comecem a sangrar e necessitem fazer transfusão no Pronto Socorro da Unesp, ou ainda, politraumatizados graves que fazem plaquetopenia pós hemorragia copiosa. O serviço de produção de hemocomponentes trabalha com estatísticas anuais, por período, e assim estabelece suas estimativas. Estas estimativas podem eventualmente estar hiperdimensionadas. Todos estes fatos, acrescido ao fato de que os CP tem curta vida de prateleira (5 dias) e são rigorosamente controlados por legislação específica como a RDC nº 2712 de 12 de novembro de 2013 que prevê seu descarte após este tempo. O índice de descarte de concentrado de plaquetas no Hemocentro de Botucatu anualmente varia de 42,74% a 46,30% (MASTRANJO, 2014). Após a utilização destas unidades para a produção de biocurativos, este índice caiu à zero, pois todas as unidades vencidas para uso venoso, são validadas para a produção de hemocomponente especial, denominação esta dada na última portaria nº2712/2013, para cola de fibrina e gel de plaquetas de uso externo (BRASIL, 2013). A partir da regulamentação destes produtos como

hemocomponentes especiais, os biocurativos são considerados como hemocomponente, necessitando de prescrição médica e de aplicação por equipe de enfermagem treinada, não necessitando de patentes ou registros junto à ANVISA. No entanto, o Quitogel, por se tratar da inclusão de um polímero, a quitosana, e a transformação em membrana com vida de prateleira superior a 6 meses, deverá passar pelos trâmites da deposição de patente pela Agência Unesp de Inovação (AUIN).

As 350 bolsas de CP geraram 35 diferentes lotes de matéria prima validada, com concentrações médias de fibrinogênio de 180mg%, determinação de PDGF de 13.000ng/dl e VEGF de 300ng/dl. Todos os lotes acima, encaminhados para controle microbiológico no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Biociências tiveram resultado negativo para aeróbio, anaeróbio e fungos. Este resultado evidencia a qualidade do serviço de hemoterapia executado no Hemocentro de Botucatu, pois se sabe pela literatura, de que concentrados de plaquetas podem apresentar contaminação bacteriana em função de seu armazenamento ser a 22°C. Segundo MARTINI *et al*, (2010) em trabalho realizado no Hemocentro do Rio Grande do Sul, 1,7% dos concentrados de plaquetas apresentam crescimento bacteriano. Os trabalhos de validação da membrana, testes de citotoxicidade, estímulo ao crescimento de células tronco, fibroblasto dermóide e queratinócitos foram objeto de duas outras pesquisas que antecederam esta de fase clínica (NUNES, 2014 e ALVARADO, 2012).

Após a obtenção dos HDP, o volume final de cada lote foi dividido em duas partes iguais e mantido congelado -30°C para a produção de lotes de Biogel e de Quitogel. O tamanho e a forma das membranas foram definidos pela enfermagem, podendo ser circular ou retangular e em diferentes medidas. Na figura 14 pode-se observar membranas circulares, de pequeno tamanho, embaladas em envelope grau cirúrgico, pronto para uso, antes da re-hidratação com soro fisiológico.

**Figura 14 Quitogel pronto para uso**



Fonte: SILVA, 2011

Como o trabalho de ALVARADO (2012) explorou teste de atividades antimicrobianas e provou que na membrana de quitosana não havia crescimento bacteriano, em especial para: *Staphylococcus aureus* (ATCC nº 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC nº 27853) e atividade antifúngica para Levedura *Candida albicans* (ATCC nº 10231) não foi procedida a esterilização dos primeiros lotes de membranas. A atividade antimicrobiana e antifúngica foi extremamente valorizada na hora da escolha do polímero. Considerou-se que a produção em área limpa seria segura não havendo necessidade de esterilização. Esta conduta foi suspensa, após a inclusão de paciente que levou o material para casa para a realização dos curativos, e os devolveu por estarem com fungos. Várias hipóteses foram levantadas entre elas: falha pela não esterilização terminal; falha no processo de produção; problemas no armazenamento domiciliar (figura 15).

**Figura 15 Fotografia de Quitogel com crescimento de fungos**

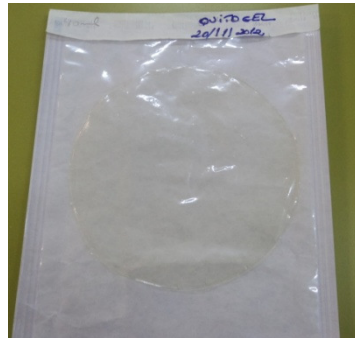


Fonte: Arquivo pessoal, 2014

Todas as hipóteses levantadas foram determinantes de oportunidades de melhorias, com ações que pudessem rastrear e redimir o problema. Quanto à falta de esterilização, foram testados dois métodos: sistema Sterrad® que funciona a

baixas temperaturas, (excluindo a hipótese de derretimento da membrana como no caso de autoclaves convencionais e a hipótese de perda da função dos hormônios plaquetários) e utiliza vapor de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), sem deixar resíduos tóxicos. No entanto, as membranas sofreram alteração conformacional ficando retorcido, o que conferia as mesmas uma apresentação visual não confiável. No entanto, esta alteração não interfere nos resultados obtidos por SILVA (2011) em cultura com células tronco mesenquimais, o que provavelmente não traria problemas no processo de cicatrização. Entendendo que a apresentação do produto é um dos fatores determinantes da adesão ao tratamento, a esterilização por este método foi abandonado. O segundo método testado foi óxido de etileno, sendo utilizado um contrato com empresa terceirizada que presta serviço para a área da saúde. De cada lote, manteve-se 1 unidade sem esterilizar, mas acondicionando em ambiente livre de umidade, como indicado na etiqueta do produto. Após voltar o lote esterilizado por ETO, outra membrana foi mantida guardada igualmente para controle. Nenhuma das duas membranas, de cada lote, teve crescimento bacteriano ou fúngico como se pode observar na foto abaixo (figura 16), onde a membrana foi preparada em 20/11/2012 e até 20/07/2014 (21 meses). Quanto à falha no processo de produção, foram recuperados os testes microbiológicos realizados com placas de contato no ambiente do fluxo laminar (local onde se preparam os biocurativos), que após terminar o lote, é feito uma cultura controle do ambiente, e do produto manipulado para liberação do produto. Todos os laudos foram negativos, desta forma, descartou-se a possibilidade de que tenha ocorrido erro de manipulação e falha no processo produtivo. Quanto à hipótese de falha no armazenamento domiciliar, a paciente foi questionada sobre as condições e insistentemente informava que fez tudo certo, no entanto, quando perguntado se em algum lugar da residência havia área com mofo, a resposta foi positiva. Desta forma, concluímos que a falha é de armazenamento domiciliar. Para resolver o problema, haveria necessidade de se mudar o envelope externo para embalagens aluminizadas que são de alto custo, e não havia tempo hábil para validação, portanto, definiu-se que os pacientes para este protocolo deveriam ser domiciliados em Botucatu e ter disponibilidade de fazer as trocas no ambulatório de Biocurativos, o que limitou demasiadamente o número de pacientes disponíveis.

**Figura 16 Membrana de Quitosana enriquecida com HDP, vida de prateleira de 21 meses, sem esterilização**



Fonte: Arquivo pessoal, 2014

Tendo abordado os aspectos produtivos da membrana de quitosana dopada com HDP, abordar-se-á o perfil dos pacientes atendidos no ambulatório de Biocurativos de novembro de 2011 a novembro de 2013. Durante o período de 24 meses, 135 novos casos de feridas crônicas de membro inferior, de etiologia multifatorial foram atendidos no ambulatório de Biocurativos. Nestes 135 pacientes, o sex-ratio foi de 2 mulheres/1 homem, onde 66,66% da casuística de novos casos de feridas crônicas de membros inferiores eram do sexo feminino e 33,33% do sexo masculino. Ao se analisar a média de idade, observou-se que existe uma diferença não significativa, mas ligeira tendência de maior idade para as mulheres, bem como, é nas mulheres que as feridas crônicas são de mais difícil abordagem terapêutica, pois o tempo médio de feridas em meses foi de 114,76 para mulheres e 87,68 para homens. Nesta pesquisa foram incluídos 27 pacientes portadores de 31 lesões. Destes, 70% eram do sexo feminino e 30% do sexo masculino, com sex-ratio de 3/1, corroborando com achados anteriores. Na análise da idade dos pacientes elencados para este projeto observa-se uma tendência à terceira idade, com aumento da média de idade tanto para homens como para mulheres.

**Quadro 5 Perfil de novos casos do ambulatório de Biocurativos, num período de 24 meses, segundo sexo, média de idade e tempo de ferida aberta**

Sexo	N=(%)		Média idade (em anos)		Tempo de ferida aberta (em meses)	
	Casos Novos	Pesquisa	Casos Novos	Pesquisa	Casos Novos	Pesquisa
Masculino	45 (33,33%)	8 (30%)	49,57	63,8	87,68	66,4
Feminino	90 (66,66%)	19 (70,37%)	52,91	74,5	128,3	92,6
Total	135 (100%)	27 (100%)	51,8	69,15	114,76	

Fonte: Arquivo pessoal, 2014

A análise do diagnóstico etiológico das feridas através do uso do instrumento de enfermagem descrito no capítulo de Métodos e casuística, a úlcera venosa foi a mais prevalente em mulheres, fato este já registrado em pesquisas anteriores pelo grupo de pesquisa (COTRIM, SILVA E DEFFUNE, 2013). Muitos trabalhos na literatura especializada apontam que a maior prevalência de feridas crônicas é no sexo feminino em função da questão hormonal, uso de pílulas anticoncepcionais, apresentarem alguns fatores que contribuem para o aparecimento de varizes, como exemplo os hormônios da gestação, menstruação, menopausa e uso dos anticoncepcionais, que aumentam o risco de varizes. (MAFFEI *et al.*, 2008).

As feridas crônicas de origem traumática foram mais prevalentes no sexo masculino, bem como a deiscência e a ferida diabética (quadro 6). Poucos são os trabalhos na literatura que apresentam prevalência maior de feridas crônicas de venosa para o sexo masculino. No entanto, SILVA (2012), em dissertação na área de saúde pública intitulada “Feridas Crônicas: conhecimento e importância do tratamento sob a ótica do paciente”, descreve que 71% dos pacientes são do sexo masculino. Destaca-se que a casuística apresentada no trabalho é pequena, o que pode justificar tal prevalência.

**Quadro 6 Etiologia das feridas crônicas, segundo o sexo, num período de 24 meses, no ambulatório de Biocurativos.**

Tipo de úlcera	Sexo	
	Feminino	Masculino
Venosa	73(81%)	29(64%)
Traumática	2(2%)	4 (9%)
Diabética	4(5%)	5(11%)
Lupus	2 (2%)	0
Linfoma de baixo grau	1(1%)	0
Mista/arterial	7(8%)	3(7%)
Deiscencia	1(1%)	2(4,5%)
UP	0	2(4,5%)
Total	90(100%)	45(100%)

Fonte: Arquivo pessoal, 2014

Quanto a etnia, foram classificados como branco, pardo ou negro. Não houve diferença estatística significativa entre a distribuição dos 135 casos novos do ambulatório de Biocurativo e dos 27 participantes da pesquisa, cujos percentuais foram: 85% dos pacientes foram classificados como brancos, 11% como negros e 4% de pardos diferindo da distribuição apresentada pelo IBGE de 2010, onde o percentual de brancos para a região é de 49%, negros 9% e de 43% para pardos. Esta discordância pode ser justificada pela ampla divulgação sobre os Biocurativos pela mídia em 2011, no entanto corrobora os achados de PADULLA e AGUIAR (2009).

Quanto ao grau de instrução dos pacientes, 41% tinham apenas ensino fundamental I, 14% fundamental II, ensino médio 18% e 27% deles cursaram nível superior completo. Este fato deve ser o determinante do nível econômico mais elevado que foi identificado neste trabalho, onde a avaliação do estudo do nível sócio econômico dos pacientes revelou que a maioria é do extrato B1. Provavelmente pela ampla divulgação por TV, que atraiu pacientes das mais diferentes regiões, mostrando que ferida crônica, não é um problema de pobre, mas de saúde pública e que o não fechamento de uma lesão pode ter causas biológicas



ligadas à genética e padrão de DNA do indivíduo. A renda mínima identificada foi de R\$620,00 para 3 pacientes/135 e a máxima de R\$30.000,00 para outro paciente. Quanto às condições de moradia, para 80% dos pacientes a casa era própria, com em média 5 cômodos onde vivem 2 pessoas. Estes dados são contrários aos publicados por MALAQUIAS et al (2012) que avaliaram pessoas com úlceras vasculogênicas em atendimento ambulatorial de enfermagem em estudo das variáveis clínicas e sócio demográficas. Nesta publicação, 73,8% dos pacientes eram do sexo masculino e 26,2 do sexo feminino. A faixa etária, no entanto é semelhante, ou seja, pessoas idosas têm mais dificuldade na cicatrização. Quanto à classe sócio-econômica, 26% foram B1/B2 e 61,8% C e D, muito diferente dos dados desta pesquisa. Deve-se lembrar do efeito da divulgação da pesquisa na mídia que pode ser o determinante da mudança do perfil dos pacientes. Na realidade, o “efeito imã” da ampla divulgação atraiu pacientes mais crônicos, com mais co-morbidades independentemente da classe social.

Os parâmetros psico-sociais foram avaliados por diferentes perguntas. A pergunta 1 avaliava como o paciente se sentia sendo portador de ferida crônica: 30% respondeu mais ou menos, 50% bem, 10% se sentia mau e 10% não responderam à pergunta, como o questionário não necessitava de identificação para que os mesmos não se sentissem inibidos, não se pode afirmar nada sobre a “não resposta”. A questão 2 questionava as mudanças determinadas pela ferida. A maioria afirmou que não (90%), mas a vivência do ambulatório, por equipe multiprofissional identifica que esta resposta não corresponde à realidade, esta resposta pode não significar a realidade.

Quando perguntados sobre o que fazem para se sentir melhor, os campeões foram os trabalhos manuais e a religião. Ao se perguntar: o que é melhor em você? 30% disseram nada, para muitos é o apetite, para poucos o sono e para outros a disposição geral. Na última pergunta deste bloco, foram identificadas as insatisfações de cada paciente. O sono e o apetite além da disposição geral apareceram de forma mais significativa.

Avaliando-se agora os 27 pacientes integrantes da Pesquisa, quanto à distribuição de faixa etária observa-se que a maior frequência foi para o grupo entre 60 a 69 anos (37%), seguido de 22% para a faixa etária de 70 a 79 anos (quadro 7). Estes dados corroboram os achados de GOBO (2011)

**Quadro 7 Distribuição dos pacientes da Pesquisa quanto a faixa etária**

Idade (anos)	Frequência	Percentual (%)
20 a 29	03	11
30 a 39	02	7
40 a 49	00	0
50 a 59	02	7
60 a 69	10	37
70 a 79	06	22
80 a 89	04	15
90 a 100	00	0
Total	27	100

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

Segundo SELLMER et al. (2013), estima-se que as úlceras de perna, afetem de 1% a 2% da população mundial, sendo mais incidentes em pessoas acima de 65 anos.

Para a classificação do estado nutricional dos pacientes, foi utilizada a fórmula do índice de massa corpórea (IMC) sendo:  $IMC = \text{Peso (Kg)} / \text{Altura (m)}^2$ , conforme o quadro nº 8, onde o estado nutricional de maior frequência encontrado nos vinte e sete pacientes foi a obesidade leve. Estes dados corroboram os achados de Malaquias et al (2012) onde 50% dos paciente avaliados em seu trabalho apresentam obesidade. Sabe-se que a obesidade é um fator predisponente para a cronificação da ferida em função de aumentar a estase venosa (quadro 8).

**Quadro 8 Distribuição da amostra quanto ao IMC**

IMC	Estado nutricional	Frequência	Percentual (%)
< 18,5	Magreza	0	0
18,5 – 24,9	Eutrófico	8	30
25 a 29,9	Obesidade leve	12	44
30 a 39,9	Obesidade moderada	7	26
>40	Obesidade grave	0	0
Total		27	100

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

Para que o tratamento seja realizado com eficácia e acelere o processo de cicatrização, é necessário que os portadores tenham uma condição nutricional adequada para não retardem esse processo. Dentre os fatores que influenciam o processo de cicatrização, pode-se citar: o estado nutricional, o envelhecimento, os hormônios sexuais, a presença de infecção, diabetes, sobrepeso e obesidade (SILVA *et al.*, 2013).

Quanto às comorbidades, utilizando-se o instrumento de enfermagem delineado, identificou-se que a hipertensão arterial sistêmica aparece em 13 dos 27 casos representando (62%) da casuística sendo a *diabetes mellitus* o segundo mais prevalente (quadro 9). Achados semelhantes é o que revela o estudo realizado no Hospital das Clínicas da USP onde 62,5% dos pacientes apresentavam hipertensão arterial. No entanto neste estudo a *diabetes mellitus* correspondia a apenas 10% (BERGONS e RIVITTI, 2006).

**Quadro 9 Distribuição dos integrantes da pesquisa quanto às comorbidades**

Comorbidades	Frequência	Percentual (%)
Hipertensão Arterial Sistêmica	13	62
Diabetes <i>Mellitus</i>	8	38
Total	21	100

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

Em relação a etiologia das lesões, os pacientes foram divididos conforme quadro nº 10. Observa-se que as úlceras venosas representaram (77%) dos casos. Estudo realizado em Goiânia revela que as úlceras de causa venosa foram responsáveis por 61,0% em pesquisa com 46 pessoas atendidas nas salas de curativos da rede municipal de saúde (SANT´ANA, 2011).

**Quadro 10 Etiologia das lesões**

<b>Etiologia das lesões</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
Deiscência	01	3
Venosa	24	77
Arterial	02	6
Traumática	04	13
Total	31	100

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

O quadro nº 11 traz o tempo de evolução das lesões, onde as lesões de maior prevalência foram entre 2 a 10 anos (45%), seguidas de 1 mês a 1,5 anos (32%). Em 68% dos casos a ferida estava aberta há mais de 2 anos, com limite máximo de 30 anos. Em estudo realizado em Castro Alves na Bahia a pesquisa o tempo de ferida aberta variou entre 06 (seis) meses a 30 (trinta) anos. (SILVA, 2011).

**Quadro 11 Distribuição da amostra por tempo das lesões**

<b>Tempo meses / anos</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
01m a 1,5 anos	10	32
02a a 10 anos	14	45
11a a 20 anos	5	16
21a a 30 anos	2	7
Total	31	100

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

Analisando as localizações das úlceras a maior incidência foram na face medial e lateral da perna com 14 (45%) das lesões (quadro 12). Em estudo com 40 pacientes portadores de úlcera crônica 10 (25%) dos doentes apresentavam ulcera na região lateral do tornozelo, 12 (30%) na região medial, 2 (5%) na região anterior, 1 (2,5%) na região do pé. (BERGONSE e RIVITTI, 2006).

#### **Quadro 12 Distribuição da amostra por localização das lesões**

<b>Localização das lesões</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
Face medial e lateral da perna	14	45
Face anterior e posterior da perna	6	19
Dorso do pé	3	10
Calcâneo	1	3
Maléolo interno	6	19
Maléolo externo	1	3
Total	31	100

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

As lesões foram avaliadas quanto aos aspectos do tipo de tecido do leito da lesão, formato das bordas, espessura das bordas, grau de contaminação, características do exsudato e odor, conforme demonstrado no quadro nº 13, de acordo com Instrumento de Avaliação (ANEXO 1).

**Quadro 13 Distribuição da amostra por características das lesões**

Características das lesões		Frequência	Percentual (%)
Tipo de tecido	Necrose	1	0,5
	Esfacelo	6	3
	Fibrina	27	13
	Granulação	19	9,5
Formato das bordas	Regular	4	2
	Irregular	27	13
Espessura das bordas	Fina	5	2,5
	Espessa	26	13
Grau de contaminação	Limpa	1	0,5
	Contaminada	29	14
	Infectada	1	0,5
Tipo de exudato	Seroso	22	11
	Serossanguinolento	1	0,5
	Purulento	1	0,5
Odor	Característico	27	13
	Fétido	4	2
Total			100

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

Abordando as características das lesões o tipo de tecido mais encontrado foi o fibrinoso, contendo somente um caso de necrose, quanto ao formato das bordas a maioria foi irregular e espessas. Quanto ao grau de contaminação o predominante foi ferida contaminada, com exsudato seroso e odor característico. A necrose e a infecção estão ausentes na maioria das úlceras, dados importantes, pois estas complicações retardam o processo de cicatrização. Esses dados se assemelham a um estudo constituído de 55 idosos, portadores de úlceras de perna, acompanhados no ambulatório de curativos em Fortaleza-CE mostra que a presença de exsudado foi observada em mais da metade das úlceras avaliadas, com aspecto seroso e odor ausente. A presença de exsudato, assim como as características das úlceras, são um dado importante na avaliação clínica podendo ser indicativo de complicações como infecção, onde o excesso de exsudato favorece a colonização de bactérias (BENEVIDES *et al*, 2012).

O quadro nº 14 mostra as características perilesionais segundo o CEAP (*Clinical Etiology-Anatomy-Pathophysiology*). A amostra revela que a hiperpigmentação (40%) foi a característica perilesional mais encontrada, seguida de edema (16%) e varizes (16%).

**Quadro 14 Distribuição da amostra quanto as características perilesionais**

<b>Características perilesionais</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
Eczema	6	9,5
Edema	10	16
Descoloração	3	5
Hiperpigmentação	25	40
Lipodermatosclerose	8	13
Úlcera sobre cicatriz	1	1,5
Varizes	10	16
Total	63	100

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

Os pacientes foram avaliados de acordo com a experiência dolorosa, demonstrado no quadro nº 15. Por volta de 74% dos pacientes relataram sentir dor de alguma intensidade, entretanto 26% relataram não sentir dor alguma.

**Quadro 15 Distribuição da amostra quanto a dor**

<b>Dor</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual (%)</b>
Sim	20	74
Não	7	26
Total	27	100

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

Referente à história pregressa, os pacientes foram abordados quanto a recorrência das úlceras, Trombose Venosa Profunda (TVP) e tromboflebite superficial, demonstrado no quadro nº 16. A história pregressa de maior prevalência foi a recorrência das úlceras com 13 (81%) casos e 3 (19%) casos de Trombose Venosa Profunda.

**Quadro 16 Distribuição da amostra quanto à história progressa**

História progressa	Frequência	Percentual (%)
Recorrência de úlcera	13	81
TVP	3	19
Tromboflebite Superficial	0	0
Total	16	100

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

Dos 27 pacientes do estudo, 15 utilizaram o preparo da lesão com Biofibrin e foram incluídos no protocolo de gel de plaquetas na forma emulgel com trocas diárias de curativos. Sete outros foram incluídos no Quitogel. Por razões diversas, um dos pacientes resolveu abandonar o tratamento. O segundo abandono foi a paciente que levou as membranas para o domicílio e as mesmas tiveram o crescimento de fungo ambiental, fato este discutido anteriormente. Uma terceira paciente, com lesão extremamente grave e crônica (37 anos de ferida aberta) evoluiu para amputação do membro inferior, indicação esta que já existia quando a mesma decidiu tentar a recuperação do membro participando da pesquisa. Os 4 outros casos serão apresentados individualmente.

### **Caso 1**

SAS, 62 anos, cor branca, sexo feminino, residente em Valinhos SP, portador de ferida crônica venosa há 3 anos. Fez uso de bota de ulna e “pomada com iodo” para promover a cicatrização da ferida. Não apresenta comorbidades. Como pode ser observado, esta paciente apresentava duas feridas. Na ferida 1 houve redução de 65% em D45 quando comparado com D0 e de 86% quando a comparação é de D90 com D0. A melhor resposta ocorre nos primeiros 45 dias de tratamento. Na análise inicial, consideramos duas feridas distintas, uma vez que não havia solução de continuidade entre ambas sendo que a 1ª tinha área de 1 cm e meio e a segunda 3,8 cm. Em D45, houve diminuição importante da ferida 1, no entanto, aumento da ferida 2, com o surgimento deste aspecto foliar. Em D90, a ferida 2 já havia praticamente epitelizado e a ferida 2 dobrava de tamanho para posteriormente reduzir, e fora do período de 90 dias estipulado para avaliação fotográfica, fechou completamente.



**Quadro 17 Caso 1: medidas de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel**

Caso	Medição da lesão em cm		
	Área D0	Área D45	Área D90
SAS (ferida 1)	1.565	0.962	0.136
SAS (ferida 2)	3.895	6.726	2.245

Fonte: arquivo pessoal, 2014.

**Figura 17 Aspecto fotográfico do Caso 1 : medidas de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel**



Fonte: arquivo pessoal, 2014.

## Caso 2

RE, 80 anos, cor branca, sexo masculino, residente em São Paulo capital, portador de ferida crônica venosa há 8 meses. Apresenta como comorbidade HAS. Fez uso de placa de hidrocolóide, hidrogel entre outros. No paciente RE, justifica-se a baixa qualidade da fotografia em D45 não foi obtida com a etiqueta e que a leitura no Software *Image J*, foi feita por cálculo de proporções. Isto ocorreu porque o paciente manifestando importante processo inflamatório, fez a fotografia, mas não compareceu à consulta. O uso do Quitogel promoveu grande processo inflamatório, caracterizado em D45 por edema, calor, rubor intenso. O paciente este a ponto de abandonar o tratamento, no entanto, medidas clínicas promoveram a acomodação da lesão e diminuição da mesma, Este paciente, da mesma forma, fechou fora do prazo de 90 dias (quadro 18, figura 18 A, B, C e D).

**Quadro 18 Caso 2: medidas de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel**

Caso	Medição da lesão em cm		
	Área D0	Área D45	Área D90
RE	22.723	27.784	11.749

Fonte: arquivo pessoal, 2014

**Figura 18 Aspecto fotográfico do Caso 2 - medidas de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel**



A= D0; B=D45; C=D90 e D= 180

Fonte: arquivo pessoal, 2014

### Caso 3

RCP, 35 anos, cor branca, sexo masculino, residente em Piracicaba SP, portador de ferida traumática há 15 anos. Apresenta como comorbidade paraplegia pós acidente automobilístico. Fez uso de fibrase e sulfadiazina de prata para o tratamento da ferida. Realizado também um enxerto sem sucesso. Trata-se de paciente indolente e que dá pouca atenção ao problema. Fica por longos períodos sem tratamento específico fazendo com que a lesão piore.

**Quadro 19 Caso 3: medidas de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel**

Caso	Medição da lesão em cm		
	Área D0	Área D45	Área D90
RCP	10.010	8.057	7.563

Fonte: arquivo pessoal, 2014

**Figura 19 Aspecto fotográfico do Caso 3 - medidas de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel**



A= D0; B=D45; C=D90 e D= 290

Fonte: arquivo pessoal, 2014

#### Caso 4

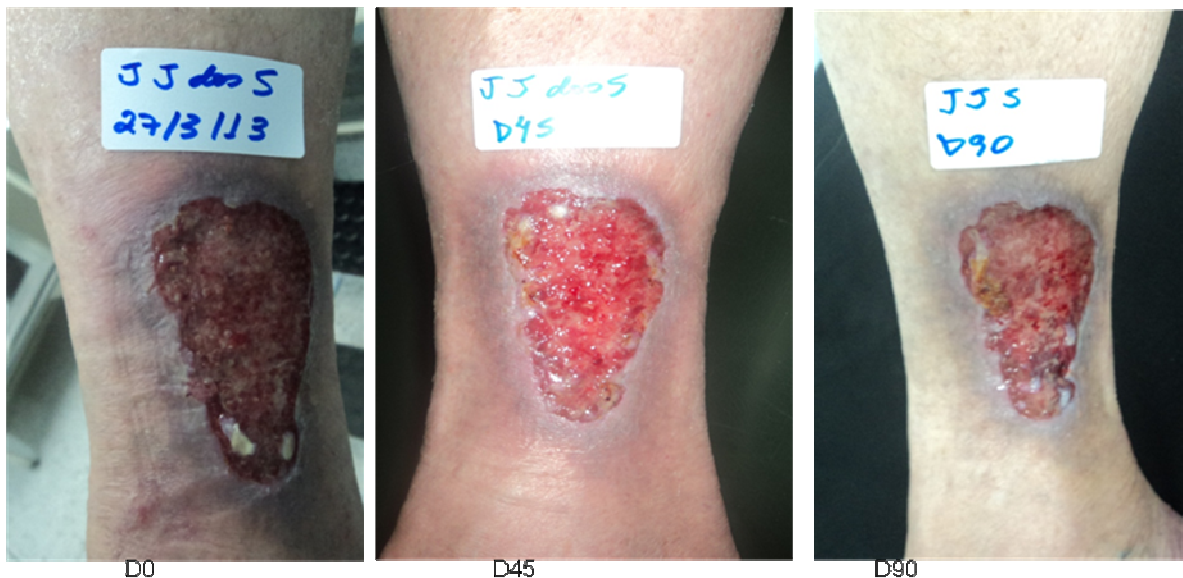
JJS, 70 anos, cor branca, sexo masculino, residente em Ponta Grossa PR, portador de ferida crônica venosa há 4 anos. Fez uso de dois tratamentos para a cicatrização da ferida safgel® e membracel®. Apresenta como comorbidade HAS.

**Quadro 20 Caso 4: medidas de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel**

Caso	Medição da lesão em cm		
	Área D0	Área D45	Área D90
JJS	13.669	18.686	16.983

Fonte: arquivo pessoal, 2014

**Figura 20 Aspecto fotográfico do Caso 4 - medidas de área, em D0, D45 e D90 de paciente em uso de Quitogel**



Fonte: arquivo pessoal, 2014

Observa-se que neste último caso, houve evidente aumento da lesão, de 13 cm para 16 cm, e a biópsia realizada em D90 mostrou que na área escura do bordo externo direito da ferida foi encontrado um carcinoma espinocelular. O paciente foi contatado e o protocolo descontinuado. Houve a opção de se tratar no município de origem. No entanto, através de contato telefônico recente recebeu-se a informação de que o mesmo fará um enxerto, terapêutica esta inadequada pela neoplasia que

apresenta. Em função do fato de que o Quitogel é enriquecido com fatores de crescimento, inclusive o fator de crescimento vascular (VEGF), optou-se por parar as atividades com uso do Quitogel até que análise mais aprofundada possa garantir melhor a segurança do uso do produto. A análise histológica, por coloração de hematoxilina-eosina, além de identificar a neoplasia, mostra a grande quantidade de hemossiderina e hemorragia recente além de infiltrado inflamatório (figura 22).

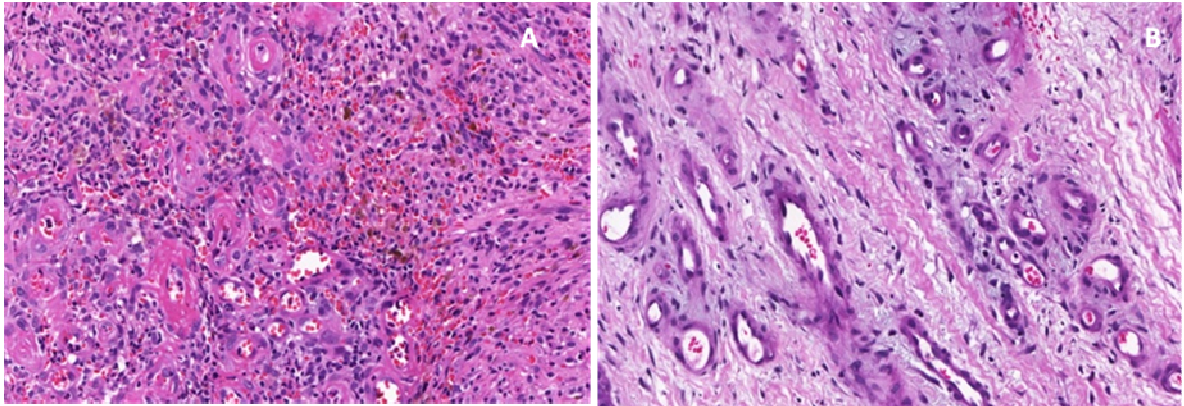
Em função desta decisão, o N estipulado para este trabalho é muito inferior.

As análises histológicas da biópsia *punch* realizada evidenciou, para o grupo GP, dados semelhantes aos achados de GOBO (2011). O GP promove a neo-angiogênese, forma tecido celular subcutâneo coeso com distribuição difusa dos vasos.

No grupo de pacientes de Quitogel, foram encontrados os mesmos achados com predomínio maior de infiltrado inflamatório. Este achado corrobora o de NUNES (2014) que determinou a ação da quitosana sobre cultura de células tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo, fibroblastos da derme e queratinócitos. A determinação foi realizada utilizando Kit CBA para citocinas e a análise procedida pelo método de citometria de fluxo (FACSCALIBUR BD®) com uso do software apropriado, CellQuest®. Os índices de IL6 e IL10 foram extremamente altos, mostrando assim que a quitosana tem como ação, o estímulo da produção de citocinas (figura 21).

Outro fato a ser mais bem aprofundado, é que no uso do Quitogel, houve a proliferação de neo-arteríolas e no GP a proliferação é venosa. Este dado é extremamente relevante e pode guiar outras pesquisas com intuito de produzir vasos para pacientes arteriopatas, que hoje são encaminhados para amputação. No entanto, estudos aprofundados devem ser estabelecidos.

**Figura 21 Achados histopatológicos, de lesão ulcerada pós-tratamento com Quitogel e Gel de Plaquetas**

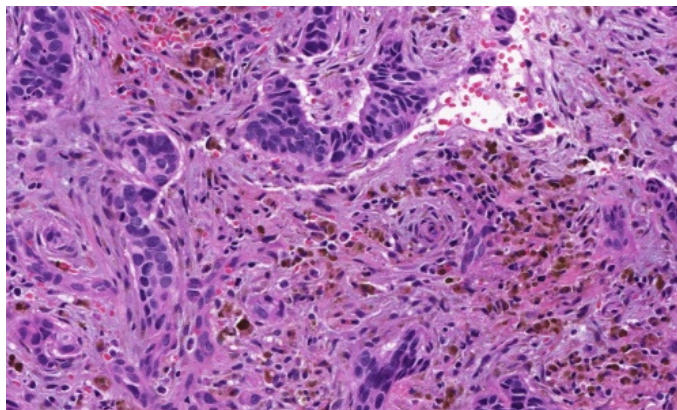


Fonte: arquivo pessoal, 2014

A= Microscopia demonstrando lesão ulcerada pós-tratamento tratamento com Membrana de Quitosana 90 dias. Aumento de 20X, coloração HE.

B= Microscopia demonstrando lesão ulcerada pós-tratamento com Gel de Plaquetas 90 dias. Aumento de 20X, coloração HE.

**Figura 22 Achados histopatológicos, Microscopia demonstrando lesão ulcerada associada a Carcinoma Espinocelular, pós-tratamento com membrana de Quitosana 90 dias**



Fonte: arquivo pessoal, 2014

*Conclusões*

## 6 CONCLUSÕES

Quanto à validação do uso da membrana de quitosana dopada (Quitogel) com hormônios derivados de plaquetas em feridas crônicas, comparando com o gel de plaquetas, não foram verificadas reações alérgicas, mas reações inflamatórias importantes. Em um caso de uso de quitogel foi feito o diagnóstico de carcinoma espinocelular que motivou a parada do estudo até melhor esclarecimento do fato.

O perfil de novos casos atendidos no ambulatório de Biocurativos no período de 24 meses evidenciou que as mulheres têm duas vezes mais feridas crônicas, a maioria dos pacientes é branca, e o tempo médio de ferida aberta foi muito maior nas mulheres.

O nível sócio econômico dos pacientes foi classificado como B1, morando em casa própria, e em pequeno número de pessoas na família.

A maioria dos pacientes declara que tudo ou quase tudo mudou em sua vida em função da ferida crônica.

A comparação do desempenho da membrana de quitosana dopada com hormônios plaquetários versus Gel de plaquetas, mostrou que o Quitogel apresenta tendência a cicatrização mais rápida. Em função do N limitado, as análises estatísticas ficam comprometidas. Nenhum dos pacientes em uso de Quitogel fechou no tempo de 90 dias, determinado para o estudo, no entanto, 25% dos pacientes (N=15) que usaram GP fecharam dentro deste período. O tecido neoformado é firme, o processo de remodelamento vem de baixo para cima, e nenhum paciente referiu aumento da dor em uso dos produtos.

Quanto à comparação dos efeitos adversos referidos em ambos os produtos, nenhuma queixa foi apontada para o GP, mas observou-se aumento da taxa de contaminação bacteriana. Quanto ao uso do Quitogel, a queixa principal foi em relação ao fato de que a mesma adere demasiadamente à lesão, dificultando a troca e promove aumento dos sintomas inflamatórios.



*Referências*

*Bibliográficas*

## 7 REFERÊNCIAS

ABBADE, L. P. F.; LASTÓRIA, S. Abordagem de pacientes com úlcera da perna de etiologia venosa. *An Bras Dermatol*; 81(6): 509-22, 2006.

ABBADE, Luciana Patrícia Fernandes. Preparo do leito de feridas. In: William Malagutti, Cristiano Tárzia Kakihara, *Curativos, Estomias e Dermatologia: Uma abordagem multiprofissional*, 2010.

ALVARADO, L. G.; FERREIRA, R. R.; DEFFUNE, E. Membrana transdérmica de liberação controlada utilizando plasma fresco congelado e concentrado de plaquetas. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, para obtenção do título de Mestre. Botucatu, 2010.

ALVARADO, L. G.; FERREIRA, R. R.; DEFFUNE, E. Membrana transdérmica de liberação controlada utilizando plasma fresco congelado e concentrado de plaquetas, Trabalho apresentado no V congresso iberolatinoamericano sobre úlceras y heridas & primer congresso nacional de heridas, Uruguai, 2012.

ANVISA, acesso em 16/9/2013 em: <http://s.anvisa.gov.br>

ARAÚJO, I. C. F. Tratamento de feridas crônicas de membros inferiores com biocurativos. Dissertação (Pesquisa e desenvolvimento: Biotecnologia Médica) apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, para obtenção do título de Mestre. Botucatu, 2007.

ASSIS, O. B. G.; LEONI, A. M.; NOVAES, A. P. Avaliação do Efeito Cicatrizante da Quitosana por Aplicação Tópica em Ratos, 2007.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; LIA, F. M. V.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. 2007.

BENEVIDES J. P.; COUTINHO J. F. V.; SANTOS M. C. L.; OLIVEIRA, M. J. A.; VASCONCELOS, F. F. Avaliação clínica de úlceras de perna em idosos. *Rev Rene*. 13(2):300-8, 2012.

BERGONSE F. N.; RIVITTI, E. A. Avaliação da circulação arterial pela medida do índice tornozelo/braço em doentes de úlcera venosa crônica, 2006.

BERSUSA, A. A. S.; LAGES, J. S. Integridade da pele prejudicada: identificando e diferenciando uma úlcera arterial e uma venosa. *Ciência, Cuidado e Saúde*, Maringá, v. 3, n. 1, p. 81-92, jan./abr. 2004.

BLANES, L. Tratamento de feridas. Baptista-Silva JCC, editor. *Cirurgia vascular: guia ilustrado*. São Paulo: 2004.

BORGES, Eline Lima; CALIRI, Maria Helena Larcher; HAAS, Vanderlei José. Revisão sistemática do tratamento tópico da úlcera venosa. *Rev Latino-am Enfermagem*, novembro-dezembro; 15(6), 2007.

BRASIL, acesso em 11/5/2013 em: [www.brasil.gov.br](http://www.brasil.gov.br)

CARMO, S. S.; CASTRO, C. D.; RIOS V. S.; SARQUIS, M. G. A. Atualidades na assistência de enfermagem a portadores de úlcera venosa. Revista Eletrônica de Enfermagem, v. 09, n. 02, p. 506- 517, 2007.

CHANDY, T.; SHARMA, C.P. Chitosan matrix for oral sustained delivery of ampicillin. Biomaterials 14: 939-944, 1993.

CISNEROS, L. L. Avaliação de um programa para prevenção de úlceras neuropáticas em portadores de diabetes. Rev Bras Fisioter; 14(1): 31-7, 2010.

CLETO, N. G.; ALVES, F. C.; INÁCIO, J. C.; VIEIRA, H. S.; SOARES, C. T.; NASCIMENTO, D.C.; CAMARGO, E. A.; SALVADORI, D. M. F.; FERREIRA, R. R.; DEFFUNE, E. Cell Therapy in the Healing of Chronic Wounds. Proceedings of II International Conference on Tissue Engineering. 1ª ed.Lisboa: IST Press, 2011.

COTRIM, O. S.; SILVA, O. B.; SLOB, M. G. B.; DEFFUNE, E. A importância da segregação de materiais no gerenciamento de lixo hospitalar na área de Hemoterapia. pág. 61, disponível em [www.grupouninter.com.br/revistasau%C3%A9](http://www.grupouninter.com.br/revistasau%C3%A9), ano 01, nº. 01, 2012, acesso em 20/02/2013.

DANTAS, S. R. P. E.; JORGE, S. A. Feridas e Estomas. 1. ed. Campinas S.P, 2005.  
FARIAS, A. A.; SOUZA, M. C. C. A importância da avaliação do índice tornozelo braquial como auxílio no diagnóstico precoce da doença arterial obstrutiva periférica em idosos. Trabalho de conclusão do curso de Fisioterapia do Centro de ciências Biológicas e da Saúde da Universidade da Amazônia, 2010.

FRAGA, A.F.; MARTINS, F. B.; RIGO, E.C.S, BOSCHI, A. O. Ensaio mecânico de membranas de quitosana recobertas com hidroxiapatita: efeito da adição de hidróxido de sódio. 2006.

FRANÇA, L. H. G.; TAVARES, V. Insuficiência venosa crônica. Uma atualização. J Vasc Br;2(4):318-28, 2003.

GARCIA, M. Uso de biocurativo em úlceras de pressão. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, para obtenção do título de Mestre. Botucatu, 2004.

GOBO, M. O. Plaquetas home made versus hidrocolóide no processo de cicatrização de ulceras crônicas de etiologia venosa. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, para obtenção do título de Mestre. Botucatu, 2011.

HEMOCENTRO DE BOTUCATU. Arquivos de administração: Relatório de Produção anual, 2001, 2002 e 2003.

HENRIKSEN, I.; GREEN, K. L.; SMART, J. F.; SMISTAD, G.; KARLSEN, J. Bioadhesion of hydrated chitosan: an in vitro and in vivo study. Intern. J. of Pharm., 1996.

HOWLING, G. I.; DETTMAR, P. W.; GODDARD, P. A.; HAMPSON, F. C.; DORNISH, M.; WOOD, E. J. The effect of chitin and chitosan on fibroblast-populated collagen lattice contraction. *Biotech. and Appl. Biochem.*, Copenhagen, v. 36, p. 246-253, 2002.

JUNG, B. O.; KIM, C. H.; LEE, Y. M.; KIM, J. J. Preparation of amphiphilic chitosan and their antimicrobial activities. *J. of Appl. Polymer Sci.*, New York, v. 72, p. 1713-1719, 1999.

KHAN, T. A.; PEH, K. K. A preliminary investigation of chitosan film as dressing for punch biopsy wounds in rats. *J. of Pharm. and Pharmaceutic*, 2003.

KHAN, T. A.; PEH, K. K.; CH'NG, H. H. Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing. *J. of Pharm. and Pharmaceutic*, 2000.

LIMA, M. S. F. S.; CARVALHO, E. S. S.; SILVA, E. A.; GOMES, W. S.; PASSOS, S. S. S.; SANTOS, L. M. Diagnósticos de enfermagem identificados em mulheres com feridas Crônicas. *Rev. Baiana de Enfermagem*, Salvador, v. 26, n. 3, p. 585-592, 2012.

MACEDO, J. I.; Gerenciamento de resíduos de serviço de saúde. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, para obtenção do título de Mestre. Botucatu, 2005.

MAFFEI, F. H. A.; LASTÓRIA, S.; YOSHIDA, W. B.; ROLLO, H. A.; GIANNINI, M.; MOURA, R. *Doenças Vasculares Periféricas*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. Cap. 128, p. 1796.

MALAQUIAS, S. G.; BACHION, M. M.; SANT'ANA, S. M. S. C.; DALLARMI, C.C. B.; JUNIOR, R. S. L.; FERREIRA, P. S. Pessoas com úlceras vasculogênicas em atendimento ambulatorial de enfermagem: estudo das variáveis clínicas e sociodemográficas. *Rev. esc. enferm. USP* vol.46 no.2 São Paulo Apr. 2012.

MANDELBAUM, S. H.; SANTIS, E. P. D.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *An. Bras. Dermatol.* vol.78 no.4 Rio de Janeiro July/Aug, 2003.

MARTINI, R.; KEMPFER, C. B.; RODRIGUES, M. A.; KUHN, F. T.; RIGATTI, F.; RATZLAFF, V.; SEGALA, Z.; HORNER, R. Contaminação bacteriana em concentrados plaquetários: identificação, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e sepse associada à transfusão. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* vol.43 no.6 Uberaba Nov./Dec. 2010.

MARTINS, E. A. P.; MENEGHIN, P. Avaliação de três técnicas de limpeza do sítio cirúrgico infectado utilizando soro fisiológico, 2012.

MASTRANJO, G. C. Controle de Qualidade Microbiológico em Hemocomponentes, 2014.

MORAIS, G. F. C.; OLIVEIRA, S. H. S.; SOARES, M. J. G. O. Avaliação de feridas

pelos enfermeiros de instituições hospitalares da rede pública. *Texto Contexto Enferm*, Florianópolis; 17(1): 98-105, 2008.

NAVARRO, E. C. Curativos Bioativos: Estudo da forma farmacêutica, vida de prateleira e controle de qualidade. Dissertação (Pesquisa e desenvolvimento: Biotecnologia Médica) apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, para obtenção do título de Mestre. Botucatu, 2008.

NETTLES, D.; ELDER, S. Evaluaton of chitosan as a cell scaffold for cartilage tissue  
NICOLSI, J. G.; MORAES, A. M. Biomateriais destinados à terapia de queimaduras: estudo entre o custo e o potencial de efetividade de curativos avançados, 2005.

NUNES, H. C. Estudo comparativo de três diferentes scaffolds para crescimento de célula tronco mesenquimal, fibroblastos e queratinócitos. Dissertação de mestrado apresentado no programa de Mestrado Profissional: pesquisa e desenvolvimento em biotecnologia médica, do Laboratório de Engenharia Celular, do Hemocentro, da Faculdade de Medicina de Botucatu, São Paulo, 2014.

PADULLA, A. A.; AGUIAR, J. E. *Úlcera venosa crônica e Bota de Unna: cicatrização otimizada?* (Trabalho de Conclusão de Curso) Bacharelado em Enfermagem Cesumar – Centro Universitário de Maringá, 2009.

REZENDE, K. F.; NUNES, M. A. P.; MELO, N. H.; MALERBI, D.; CHACRA, A. R.; FERRAZ, M. B. Internações por pé diabético: comparação entre o custo direto estimado e o desembolso do SUS. *Arq Bras Endocrinol Metab* v.52 n.3 São Paulo abr, 2008.

SANT`ANA, S. M. S. C. úlceras venosas: caracterização e tratamento em usuários atendidos nas salas de curativos da rede municipal de saúde de Goiânia – GO, 2011.

SANTOS, V.; MARQUES, J.; SANTOS, A.; CUNHA, B.; MANIQUE, M. Identificação e tratamento da infecção da ferida complexa. *Journal of Aging & Inovation*, 2012.

SELLMER, D.; CARVALHO, C. M. G.; CARVALHO, D. R.; MALUCELLI, A. Sistema especialista para apoiar a decisão na terapia tópica de úlceras venosas. *Rev Gaúcha Enferm*. 34(2):154-162, 2013.

SILVA, E. S. Feridas crônicas: conhecimento e importância do tratamento sob a ótica do paciente, 2011.

SILVA, R. A. M. Utilização de técnicas de engenharia de tecidos para validação do uso de scaffold de quitosana em ampliação vesical de coelhos. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento: Biotecnologia Médica) - Hemocentro da Faculdade de Medicina UNESP de Botucatu, 2012.

SILVA, R. R.; VALOES, L. M. A.; ALMEIDA, O. A. E.; ROCHA, I. C.; FERRARI, C. K. B. Alterações antropométricas em portadores de lesões cutâneas. *Revista Rede de Cuidados em Saúde*, Vol. 7, No 2, 2013.

SIQUEIRA, C. P. C. M. et al. Efeitos biológicos da luz: aplicação de terapia de baixa potência empregando LEDs (Light Emittin Diode) na cicatrização da úlcera venosa: relato de caso. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v 30, n. 1, p. 37-46, jan./jun.2009.

SKARE, T. L.; RIBAS, C. A. P. M.; MALAFAIA, O.; FILHO, J. M. R.; NASSIF, P. A. N.; NASCIMENTO, M. M.; FONSECA, V. R. C. D. Anticorpos anticardiolipinas em úlceras de perna. Rev. Col. Bras. Cir; 36(2): 152-156, 2009.

SMANIOTTO, P. H. S.; FERREIRA, M. C.; ISAAC, C.; GALLI, R. Sistematização de curativos para o tratamento clínico das feridas. Rev Bras Cir Plást. 2012; 27(4):623-6. TH engineering, 2001.

VENDRAMIN, F. S.; FRANCO, D.; FRANCO, T. R. Método de obtenção do gel de plasma rico em plaquetas autólogo. 2006.

VENDRAMIN, F. S.; FRANCO, D.; NOGUEIRA, C. M.; PEREIRA, M. S.; FRANCO, T. R. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: Técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. 2006.

VIEIRA, B.; SOARAES, G. Deiscência e sutura. Disponível em: <http://www.bgcirurgiaplastica.com.br/ep-deiscencia.htm>. Acesso em: 27 julho 2010.

VIEIRA, S. A. L. Efeito do laser de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas experimentais. Dissertação apresentada à Universidade de Franca, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Promoção de Saúde, Franca 2006.

# *Apêndices*

## APÊNDICE 1



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
**FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU - HOSPITAL DAS CLÍNICAS -**  
**DIVISÃO HEMOCENTRO - HEMOCENTRO DE BOTUCATU**  
 DISTRITO DE RUBIÃO JÚNIOR S/Nº - BOTUCATU – SP - CEP: 18.618-000 - ☎  
 (14) 3811-6041/6453 – 3814-8004 – FAX (14) 3811-6234  
 Home page: <http://www.hemocentro.fmb.unesp.br>  
 e-mail: [hemocentro@fmb.unesp.br](mailto:hemocentro@fmb.unesp.br)

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Eu, \_\_\_\_\_ RG: \_\_\_\_\_  
 telefone \_\_\_\_\_, endereço: \_\_\_\_\_

Estou sendo convidado (a) a participar da Pesquisa “Estudo de fase clínica I utilizando membrana de quitosana dopada com hormônios derivados de plaquetas”. O trabalho clínico será desenvolvido pela Enfermeira Simone da Silva Ferreira, mestranda do Programa de Pesquisa e desenvolvimento: Biotecnologia Médica, sob orientação da Médica Elenice Deffune. Fui informado (a) de que se trata de uma PROPOSTA DE CARÁTER EXPERIMENTAL, ou seja, o produto ainda não está no mercado, e se chama Membrana de quitosana, feito no laboratório de Engenharia Celular do Hemocentro. Este curativo usa a parte líquida do sangue de doadores voluntários denominados plasma e plaquetas. O sangue que dá origem ao produto vem de doadores testados rotineiramente para várias doenças. Antes da primeira aplicação haverá necessidade de coleta de sangue para avaliar seu estado de saúde, bem como no final do tratamento. Estas amostras de sangue ajudarão entender como o seu organismo reagiu com a medicação aplicada na ferida e guiarão melhorias necessárias. Durante a aplicação serão realizadas consultas de rotina a cada 4 dias, momento de troca do curativo. Havendo necessidade, estou ciente que posso recorrer ao ambulatório a qualquer momento. Serão analisados efeitos do curativo através da coleta de amostra de sangue de veia de antebraço e uma biópsia pele antes de iniciar o tratamento de 90 dias depois, caso a ferida não tenha fechado completamente. Em caso de alergias ao produto, o tratamento será interrompido e medidas médicas serão instituídas. O tratamento pode ainda ser interrompido por decisão minha. Concordo em receber o tratamento de feridas proposto e as orientações para o cuidado das mesmas. Estou ciente que as responsáveis por este trabalho estarão disponíveis para responder a quaisquer perguntas ou dúvidas, de minha parte, e que manterão em sigilo minha identidade e as informações coletadas com a aplicação do questionário. Fui informado (a), ainda, que posso retirar este meu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo do meu atendimento em qualquer âmbito deste Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. Estou ciente, de que após o estudo, havendo melhora da ferida sem fechamento ou mesmo recaída da mesma, o Hemocentro dispõe de um ambulatório com atendimento médico e de enfermagem para dar continuidade a meu tratamento.

Sei que a participação é de livre escolha, havendo riscos que serão analisados tais como alergias, desconforto como aumento temporário da dor, problemas estes que ao informar a equipe deverão ser resolvidos. Fui informado de que não terei gastos de qualquer natureza, como também não receberei pagamento pela participação no estudo. Os resultados destinar-se-ão à elaboração de trabalho científico e possível publicação. Por isso, autorizo a divulgação dos resultados.

*Este documento após aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa será elaborado em 2 vias, sendo que uma será entregue ao participante da pesquisa e a outra será arquivada pela pesquisadora.*

\_\_\_\_\_  
 Paciente

\_\_\_\_\_  
 Pesquisadora

Botucatu, \_\_\_\_\_

Orientadora: Profª. Dra. Elenice Deffune.  
 Hemocentro – FMB – UNESP  
 Rubião Junior, s/n  
 Fone: (14) 3811-6040

Pesquisadora: Simone da Silva Ferreira  
 R: Turíbio Colino, Cohab I  
 (14) 9605-1969  
 e-mail:  
[enfermeirasi2007@yahoo.com.br](mailto:enfermeirasi2007@yahoo.com.br)

Para dúvidas sobre pesquisa, entrar em contacto com Comitê de Ética no telefone 3011-6143



## APÊNDICE 2

**INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO****Dados do paciente:**

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_  
 RG/HC: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_  
 Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino Raça: \_\_\_\_\_

**Avaliação geral: MID ( ) MIE ( )**

- PA braquial: \_\_\_\_\_ PA pedial: \_\_\_\_\_ ITB: \_\_\_\_\_
- Pulso Pedioso ( ) Pulso poplíteo posterior ( )
- Recorrência de úlceras ( ) Osteomielite ( )
- História pregressa: TVP ( ) Tromboflebite Superficial ( )
- Doenças associadas: ( ) HAS ( ) DM ( ) Outras: \_\_\_\_\_

Estado Nutricional: Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_

- Escore de dor: ( ) 1 a 3 fraca ( ) 4 a 6 moderada ( ) 7 a 9 forte ( ) 10 insuportável

**Exame da ferida:**

- Tempo de evolução: \_\_\_\_\_  
Localização: \_\_\_\_\_
- Fase de cicatrização: ( ) inflamatória ( ) proliferativa ( ) maturação
- Tipo de cicatrização: ( ) 1ª intenção ( ) 2ª intenção ( ) 3ª intenção
- Conteúdo microbiano: ( ) limpa ( ) limpa- contaminada  
( ) contaminada ( ) infectada
- Perda de tecido: ( ) superficial ( ) parcial ( ) total
- Bordas: ( ) regular ( ) irregular  
( ) fina ( ) espessa
- Pele ao redor: ( ) edema ( ) descoloração ( ) hiperpigmentação  
( ) eczema microbiano ( ) lipodermatosclerose ( ) prurido ( ) úlcera sobre cicatriz  
( ) dermatite de contato ( ) varizes
- Leito da ferida: Tecido viável (%): granulação: \_\_\_\_\_ fibrina: \_\_\_\_\_ epitelização: \_\_\_\_\_  
Tecido inviável (%): esfacelo: \_\_\_\_\_ escara: \_\_\_\_\_
- Exsudato:  
Odor: \_\_\_\_\_ Aspecto: \_\_\_\_\_ Quantidade: \_\_\_\_\_
- Sinais de infecção: ( ) inapetência ( ) calor ( ) rubor ( ) edema  
( ) exsudato purulento ( ) dor ( ) taquicardia
- Presença de: ( ) Túneis: \_\_\_\_\_

( ) corpos estranhos: \_\_\_\_\_

- Tem alergia a quitosana/crustáceos ( ) sim ( ) não ( ) não sabe

**Randomização – nº \_\_\_\_\_**

- Membrana de Quitosana ( ) Gel de Plaquetas ( )

## Evolução

Extensão da Ferida:

Dias	Mensuração (cm <sup>2</sup> )
D <sub>0</sub>	
D <sub>45</sub>	
D <sub>90</sub>	

Neovascularização:

Tempo	Vascularização			Celularidade		
	Escore	Distribuição	Arranjo	Infiltrado Linfocitário	Predominância	Estroma
D <sub>0</sub>						
D <sub>90</sub>						

Queixas referidas quanto ao uso do curativo:

---



---

Grau de dificuldade na aplicação da Membrana de quitosana:

Pontos	Grau de Dificuldade
0-3	Fácil ( )
4-6	Médio ( )
7-10	Difícil ( )

Observações e orientações:

---



---

Assinatura e COREN

*Anexo*

## ANEXO 1



Universidade Estadual Paulista  
Faculdade de Medicina de Botucatu



Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.  
CEP: 18.618-970  
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143  
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br  
e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde  
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 06 de fevereiro de 2012

Of. 19/2012

Ilustríssima Senhora  
Profª Drª Elenice Deffune  
Divisão de Hemocentro do  
Hospital das Clínicas de Botucatu

Prezada Drª. Elenice,

De ordem do senhor coordenador deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa: (Protocolo CEP 4102-2011) Estudo de fase clínica I utilizando membrana de quitosana dopada com hormônios derivados de plaqueta, a ser conduzido por Simone da Silva Ferreira, orientada por Vossa Senhoria, Co-orientada pela Profª Drª Rosana Rossi Ferreira, com a colaboração de Hega Caputo Nunes e Ondina Silvia Cotrim Ferrari, recebeu do relator, parecer favorável, aprovado em reunião de 06/02/2012.

Situação do Projeto: **APROVADO**. Os pesquisadores deverão apresentar ao CEP ao final da execução do Projeto o "Relatório Final de Atividades".

Atenciosamente,

Alberto Santos Capelluppi  
Secretário do CEP