

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 12/08/2027.

MARCELA FERNANDA MORETTI

**ESTUDO EXPERIMENTAL DO USO DE ENXERTOS DE PELE DE TILÁPIA-DO-
NILO (*Oreochromis niloticus*) EM CÓRNEAS DE RATOS E SUA
APLICABILIDADE TERAPÊUTICA EM ÚLCERAS CÓRNEA DE CÃES**

Araçatuba

2025

MARCELA FERNANDA MORETTI

**ESTUDO EXPERIMENTAL DO USO DE ENXERTOS DE PELE DE TILÁPIA-DO-
NILO (*Oreochromis niloticus*) EM CÓRNEAS DE RATOS E SUA
APLICABILIDADE TERAPÊUTICA EM ÚLCERAS CÓRNEA DE CÃES**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Lima de Andrade

Araçatuba

2025

M845e Moretti, Marcela Fernanda
Estudo experimental do uso de enxertos de pele de tilápia-do-Nilo (Oreochromis niloticus) em córneas de ratos e sua aplicabilidade terapêutica em úlceras córnea de cães / Marcela Fernanda Moretti. -- Araçatuba, 2025
67 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba
Orientador: Alexandre Lima de Andrade

1. Materiais biocompatíveis. 2. Membrana biológica. 3. Úlcera da córnea. I. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE MARCELA FERNANDA MORETTI, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL, DA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA - CÂMPUS DE ARAÇATUBA.

Aos 12 dias do mês de agosto do ano de 2025, às 8h30min, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de MARCELA FERNANDA MORETTI, intitulada **Estudo experimental do uso de enxertos de pele de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) em córneas de ratos e sua aplicabilidade terapêutica em úlceras córnea de cães**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Titular ALEXANDRE LIMA DE ANDRADE (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP, Profa. Adjunta NATALIE BERTELIS MERLINI (Participação Virtual) do(a) Departamento de Veterinária e Produção Animal / Universidade Estadual do Norte do Paraná, Profa. Dra. SÍLVIA MARIA CALDEIRA FRANCO ANDRADE (Participação Virtual) do(a) Universidade do Oeste Paulista. Após a exposição pela mestrandia e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Titular  ALEXANDRE LIMA DE ANDRADE

*Aos meus pais, João Luís e Claudia, que
sempre batalharam pelos meus estudos e
me ajudaram na caminhada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as portas que Ele abriu para que eu pudesse chegar até aqui e por todas as vezes que Ele me levantou. A Ele seja a honra e a glória.

Aos meus pais, João Luís e Cláudia, e ao meu irmão, Matheus, pois sem eles eu não conseguiria seguir. Sou grata pela nossa família e por todos os ensinamentos que me passam.

Gostaria de agradecer à Universidade Estadual do Norte do Paraná, pois foi lá que o meu amor pela oftalmologia veterinária começou.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Alexandre Lima de Andrade, por ter acreditado em mim e, mesmo sem me conhecer, ter me aceito como sua orientada e passado seus ensinamentos com toda maestria e didática. Serei eternamente grata e exercer os seus ensinamentos até o último dia da minha atuação como médica veterinária.

Agradeço ao meu grande e fiel amigo, que o mestrado me presenteou, Lucas Ito, por todos os cafés, treinos, almoços e principalmente por todos os conselhos e por me segurar em todos os momentos difíceis que tive ao longo desses anos. À Giovanna Rodrigues, Thais Cabral, Guilherme Bispo agradeço por todo ensinamento e acolhimento. Aos amigos que a pós e a oftalmologia me apresentou, Aline Pereira e João Bortos. Aos residentes Juliana Mendonça, Rafael Araújo e Luiza Toledo, agradeço por todo apoio no projeto e fora dele também, obrigada por me deixarem ensinar o pouco que sei e aprender com vocês.

À Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Unesp, por toda estrutura e pelo auxílio em minha especialização. E à professora Eliza e aos alunos de iniciação científica que nos auxiliaram no preparo das peles de tilápia.

Ao professor Luciano e aos discentes Juliana e Flávio por todo auxílio com análise das lâminas de PSR.

Gostaria de agradecer aos seus amores de quatro patas, que participaram comigo de todo o processo e hoje não estão mais aqui, Sophie e Tequinho. Vocês sempre serão a personificação da palavra companheirismo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi estudar a biocompatibilidade da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*) na córnea de ratos por meio de avaliação histopatológica e aplicabilidade terapêutica em córnea de cães. O projeto foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa foram utilizados vinte ratos, machos da raça Wistar, submetidos à tunelização interlamelar estromal em ambos os olhos, e em um dos olhos foi colocada a pele de tilápia (olho tratado = OT). O olho contralateral foi o olho controle (OC), submetido ao procedimento, mas sem o implante da membrana. A avaliação histopatológica, com picrossírius (PSR), foi realizada aos 5 (M5), 10 (M10), 20 (M20) e 30 dias (M30) pós-operatórios. Não houve diferença estatística nos parâmetros clínicos entre OC e OT em nenhum momento estudado, porém houve maior porcentagem de fibras de colágeno imaturas em M5 (62,75%) no OT quando comparado às fibras imaturas do OC (45,66%) no mesmo período estudado ($p=0,867$), e após 30 dias de pós-operatório (M30), observou-se maior porcentagem de fibras maduras (67,29%) em OT quando comparada à porcentagem (56,99%) de OC ($p=0,963$). Considerando a baixa reação inflamatória, associada à característica bioativa aos 5 dias pós-operatórios e bioinerte aos 30 dias pós-operatórios, observadas com a coloração de PSR, conclui-se que a pele de tilápia é um potencial biomaterial para aplicação na córnea no tratamento de úlceras corneanas. Na segunda etapa, treze cães de raças e idades variadas receberam a pele de tilápia como material biológico na ceratoplastia e foram avaliados após 5 dias, 10 dias, 15 dias e 30 dias após o procedimento cirúrgicos. Todos os animais tiveram diminuição dos sinais clínicos estudados após a enxertia e a pele foi completamente integrada na córnea, exercendo um excelente suporte mecânico para a cicatrização corneal de lesões profundas em cães, acelerando o processo cicatricial.

Palavras-chave: materiais biocompatíveis; membrana biológica; úlcera da córnea.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the biocompatibility of tilapia skin (*Oreochromis niloticus*) in the cornea of rats through histopathological evaluation and therapeutic applicability in the cornea of dogs. The project was divided into two stages. In the first stage, twenty male Wistar rats were subjected to interlamellar stromal tunneling in both eyes, and tilapia skin was placed in one of the eyes (treated eye = TE). The contralateral eye was the control eye (CE), which underwent the procedure but without the membrane implant. Histopathological evaluation with picosirius (PSR) was performed at 5 (M5), 10 (M10), 20 (M20), and 30 days (M30) postoperatively. There was no statistical difference in clinical parameters between CO and TO at any time point studied, but there was a higher percentage of immature collagen fibers at M5 (62.75%) in TO when compared to immature fibers in CO (45.66%) in the same period studied ($p=0.867$), and after 30 days postoperatively (M30), a higher percentage of mature fibers (67.29%) was observed in OT when compared to the percentage (56.99%) in OC ($p=0.963$). Considering the low inflammatory response, associated with the bioactive characteristic at 5 days post-surgery and bioinert at 30 days post-surgery, observed with PSR staining, it is concluded that tilapia skin is a potential biomaterial for application in the cornea in the treatment of corneal ulcers. In the second stage, thirteen dogs of various breeds and ages received tilapia skin as biological material in keratoplasty and were evaluated 5 days, 10 days, 15 days, and 30 days after the surgical procedure. All animals showed a decrease in the clinical signs studied after grafting, and the skin was completely integrated into the cornea, providing excellent mechanical support for corneal healing of deep lesions in dogs and accelerating the healing process.

Keywords: biocompatible materials; materials testing; corneal ulcer.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	11
1.1	PELE DE TILÁPIA (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	11
1.2	A CÓRNEA	14
1.3	COLORAÇÃO ESPECIAL – PICROCIRIUS	15
2	CAPÍTULO 1 – QUANTIFICAÇÃO E TIPIFICAÇÃO DO COLÁGENO INDUZIDO PELA PELE DE TILÁPIA (OREOCHROMIS NILOTICUS) NA CÓRNEA DE RATOS	18
2.1	RESUMO	18
2.2	INTRODUÇÃO.....	19
2.3	MATERIAIS E MÉTODOS	19
2.3.1	<i>Considerações éticas</i>	19
2.3.2	<i>Seleção dos animais</i>	19
2.3.3	<i>Pele de tilápia</i>	20
2.3.4	<i>Procedimento cirúrgico</i>	21
2.3.5	<i>Avaliação histopatológica</i>	23
2.3.6	<i>Análise estatística</i>	23
2.4	RESULTADOS	23
2.5	DISCUSSÃO	30
2.6	CONFLITO DE INTERESSE	33
2.7	REFERÊNCIAS	33
3	CAPÍTULO 2 – APLICABILIDADE E AVALIAÇÃO CLÍNICA DA UTILIZAÇÃO DA PELE DE TILÁPIA (OREOCHROMIS NILOTICUS) COMO ENXERTO BIOLÓGICO EM CERATOPLASTIA EM CÓRNEA DE CÃES COM CERATITES ULCERATIVAS COMPLICADAS	37
3.1	RESUMO	37
3.2	INTRODUÇÃO	38
3.3	MATERIAIS E MÉTODOS	38
3.3.1	<i>Considerações éticas</i>	38
3.3.2	<i>Seleção dos animais</i>	38
3.3.3	<i>Pele de tilápia</i>	39
3.3.4	<i>Procedimento cirúrgico</i>	40
3.3.5	<i>Avaliação clínica</i>	41

3.3.6	<i>Análise estatística</i>	42
3.4	RESULTADOS	42
3.5	DISCUSSÃO	49
3.6	CONFLITO DE INTERESSES	51
3.7	REFERÊNCIAS	52
	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	55
	ANEXO A – NORMAS DA REVISTA VETERINARY OPHTHALMOLOGY..	59

1 INTRODUÇÃO GERAL

Devido à maior exposição da córnea a condições externas, as ceratites ulcerativas são consideradas uma das principais enfermidades oculares que acometem cães e gatos, e caracteriza-se pela perda do epitélio corneal e exposição do estroma (Herrera, 2008; Miller, 2001; Slatter, 2005). Quando mais da metade da espessura do estroma é exposta, a lesão é classificada como profunda, e são necessários procedimentos cirúrgicos com técnicas que forneçam uma base mecânica de proteção e aporte vascular adjunto ao tratamento clínico (Galera; Laus; Oriá, 2009).

Recentemente, estudos utilizando a pele de tilápia como enxerto em úlceras de córnea vêm tomando destaque na medicina veterinária (Batista *et al.*, 2023; Melo *et al.*, 2022). A pele de tilápia destacou-se como subproduto com aplicabilidade clínica de biomateriais utilizáveis para bioengenharia pelo seu baixo custo, disponibilidade em território nacional, sem necessidade de importação e por apresentar ótimas qualidades em relação às características histomorfológicas (Alves *et al.*, 2018; Franco *et al.*, 2013).

Devido ao uso da pele de tilápia como enxerto corneano em cães, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade angiogênica da pele de tilápia, caracterizando e quantificando as fibras de colágeno presentes na membrana e na córnea de ratos para aplicação segura em córneas de cães, visando diminuir a opacidade cicatricial pós-enxertia.

1.1 PELE DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)

Recentemente, o interesse na pesquisa em tecidos de origem animal como forma de curativos biológicos tem se expandido. Pericárdio bovino, submucosa de intestino bovino e membrana amniótica são alguns exemplos de tecidos utilizados como curativos em lesões de córnea (Guo *et al.*, 2011; Hazlett, 2004; Koizumi *et al.*, 2007). Dentre os tecidos de origem animal utilizados na medicina humana e veterinária como potenciais curativos biológicos, destaca-se a pele de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Pertencente ao segundo grupo mais importante de peixes cultivados em viveiros, a tilápia do Nilo é originária da bacia do rio Nilo, no leste da África, e encontra-

se abundantemente disseminada nas regiões tropicais e subtropicais (Alves *et al.*, 2015).

A pele da tilápia é um produto que vem sendo utilizado na medicina humana como curativo biológico em casos de queimadura, devido às suas propriedades físicas, como resistência à tração, boa aderência ao leito da ferida e avanço no processo de cicatrização (Franco *et al.*, 2013; Lima-Júnior *et al.*, 2017).

Estudos histológicos demonstram que a pele de tilápia possui uma epiderme revestida por epitélio pavimentoso estratificado, seguida por uma camada mais profunda da derme contendo feixes finos de fibras de colágeno, sobrepostos e cruzados no sentido transversal à superfície cutânea (Franco *et al.*, 2013).

O colágeno é um dos principais componentes dos biomateriais, em virtude de sua característica de orientar as células e definir a maior parte dos tecidos (Sun *et al.*, 2017).

Um estudo realizado por Zhang e colaboradores, em 2016, evidenciou que o colágeno tipo I derivado da tilápia apresenta baixa toxicidade e excelente biocompatibilidade *in vivo*, tornando-o promissor para diversas aplicações biomédicas. Yamamoto *et al.* (2014) confirmaram que as análises de sensibilização, toxicidade celular, reações intracutâneas, toxicidade sistêmica aguda e aberrações cromossômicas resultaram negativas. El-Rashidy *et al.* (2015) desenvolveram hidrogéis com concentrações de 0,3% e 0,5% de colágeno da pele de tilápia-do-Nilo, demonstrando que ambos apresentaram boa biocompatibilidade. Zhou *et al.* (2015) descobriram que nanofibras biomiméticas de colágeno de tilápia são capazes de promover efeitos curativos ao induzir a diferenciação de queratinócitos e estimular a síntese de colágeno por fibroblastos dérmicos. Ademais, estudos anteriores indicam que o colágeno tipo I da pele de tilápia estimula as citocinas FGF e KGF, fundamentais no processo de fechamento de feridas (Lima-Júnior *et al.*, 2017).

Pesquisas conduzidas com roedores da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) avaliaram a utilização da pele de tilápia como curativo biológico oclusivo no tratamento de queimaduras. Os resultados demonstraram que tal abordagem não foi inferior ao tratamento convencional com sulfadiazina de prata, utilizado no grupo controle. O curativo apresentou excelente aderência ao leito da ferida e não ocasionou alterações nos exames laboratoriais relacionados à função hepática, renal ou hematológica (Lima-Júnior *et al.*, 2017).

A Faculdade Federal de Fortaleza realizou uma pesquisa com o objetivo de avaliar o impacto do uso de pele de tilápia como curativo biológico na cicatrização de queimaduras superficiais em camundongos. Focando na modulação das fases inflamatória e proliferativa do processo cicatricial, foram utilizados camundongos como modelo experimental, aplicando curativos de pele de tilápia diretamente sobre as queimaduras. A resposta inflamatória e os marcadores de proliferação celular foram analisados por métodos histológicos e bioquímicos, e os resultados mostraram que o curativo de pele de tilápia teve efeito positivo na cicatrização. A pele de tilápia auxiliou na modulação da fase inflamatória, reduzindo inflamações excessivas, além de estimular a fase proliferativa, promovendo a regeneração do tecido (Soares, 2022).

O estudo objetivou investigar o uso do colágeno extraído da pele de tilápia no tratamento de úlceras traumáticas localizadas na mucosa jugal de ratos. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial cicatrizante do colágeno, explorando sua capacidade de estimular a regeneração tecidual em um modelo experimental. Foram utilizados ratos como modelo biológico, nos quais o colágeno extraído da pele de tilápia foi aplicado diretamente sobre as úlceras induzidas na mucosa oral. A análise dos resultados incluiu avaliações histológicas e bioquímicas, que permitiram verificar os efeitos do tratamento na cicatrização. Os resultados mostraram que o colágeno derivado da pele de tilápia promoveu uma melhora significativa no processo de cicatrização, favorecendo a regeneração tecidual e contribuindo para a reparação das úlceras (Soares, 2022).

A utilização da pele de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) como curativo biológico apresenta-se como uma alternativa promissora no tratamento de úlceras de córnea em cães e gatos. Estudos recentes evidenciam que esse material promove a aceleração do processo de cicatrização das lesões corneanas e aprimora a transparência da córnea, contribuindo para uma recuperação visual significativa nos animais submetidos ao tratamento. A aplicação de matrizes dérmicas acelulares, derivadas da pele de tilápia, sobre as úlceras corneanas tem demonstrado resultados favoráveis, incluindo tempos de cicatrização mais curtos em comparação com os métodos tradicionais (Batista *et al.*, 2023; Melo *et al.*, 2022).

No que se refere aos desfechos clínicos, os animais submetidos ao tratamento com o curativo de película de tilápia evidenciaram uma recuperação ocular satisfatória, caracterizada pelo restabelecimento das funções visuais normais e pela melhoria na condição estética da córnea. A cicatrização acelerada e eficiente reflete

a capacidade regenerativa do colágeno presente na pele de tilápia, que promove o estímulo ao reparo celular e à regeneração do epitélio corneano.

1.2 A CÓRNEA

A córnea faz parte da túnica fibrosa do bulbo ocular. É transparente, refrativa a luz (40 a 42 dioptrias), avascular e elíptica; histologicamente, a córnea é dividida em quatro camadas: epitélio, estroma, membrana de Descemet e endotélio (Gelatti, 2003).

O estroma corresponde a 90% da espessura total da córnea, e é composto por fibrilas de colágeno equidistantes por mucoproteínas e glicoproteínas, e ceratócitos (Maggs, 2008). São encontrados na córnea colágeno do tipo IV, VI e VII (Galera; Laus; Oriá, 2009). A córnea de ratos possui colágeno do tipo I em abundância (Hashimoto *et al.*, 2016) e apresenta expressão de colágeno tipo III na cicatrização corneal (Cintron *et al.*, 1988; Lorenzo-Martín *et al.*, 2019).

O meio de reparação da córnea varia conforme a profundidade da lesão (Miller, 2001). Em úlceras superficiais, o processo cicatricial é desempenhado por células epiteliais adjacentes à área afetada e inicia-se algumas horas após a lesão. O epitélio corneano possui um equilíbrio entre as células perdidas e as células renovadas através da capacidade de autorregeneração. As células epiteliais perdem suas aderências hemidesmossômicas e migram em direção à área ulcerada (Slatter, 2005). Simultaneamente, ocorre secreção de fibrina, fibrinogênio e fibronectina seguido da mitose das células basais do epitélio (Andrade, 2023; Galera; Laus; Oriá, 2009). Esse mecanismo é mediado pelo sistema nervoso simpático, fatores de crescimento e mensageiros bioquímicos (Galera; Laus; Oriá, 2009).

O processo de restauração do estroma é mais complexo, envolvendo mecanismos de síntese e distribuição de colágeno, alterações na síntese de proteoglicanos e remodelação da estrutura (Andrade, 2023). Inicialmente, a lesão é recoberta por fibrina e, em poucas horas, polimorfonucleares chegam até a lesão e realizam atividades proteolíticas, removendo debris celulares (Galera; Laus; Oriá, 2009). Após 24 horas do início da lesão, inicia-se a secreção de colágeno através da migração de ceratócitos adjacentes à borda da lesão. O colágeno depositado sofre remodelação, porém não recupera a sua organização fibrilar inicial (Slatter, 2005).

As ceratites ulcerativas são lesões corneais onde há perda do epitélio e

exposição do estroma e são classificadas como profundas quando há exposição de mais de 50% do estroma. Em casos de ceratites ulcerativas profundas, são necessários procedimentos cirúrgicos com técnicas que forneçam uma base mecânica de proteção e aporte vascular, pois são necessários 4 a 5 dias para ocorrer o processo de vascularização em uma úlcera profunda com destruição rápida de colágeno (Galera; Laus; Oriá, 2009).

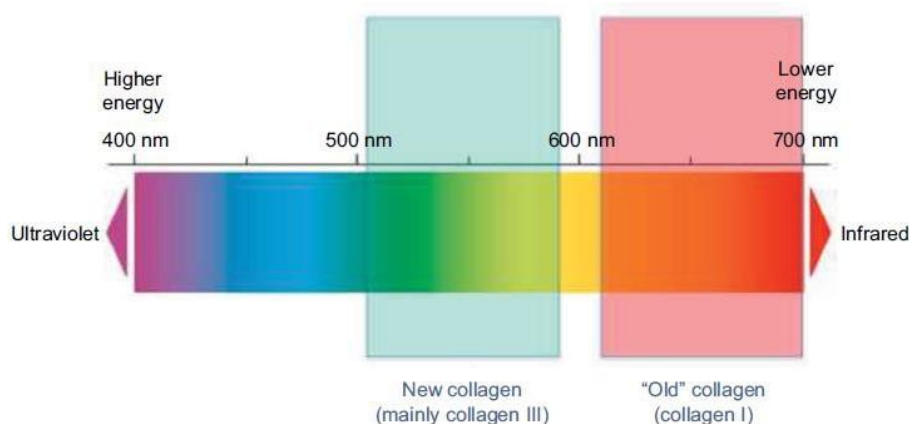
Muitos materiais ainda são estudados para aplicação corneal com o objetivo de restauração da sua transparência (Galera; Laus; Oriá, 2009); a pele de Tilápia como enxerto em úlceras de córnea vem tomando destaque na medicina veterinária (Batista *et al.*, 2023; Melo *et al.*, 2022) destacando-se como subproduto com aplicabilidade clínica de biomateriais utilizáveis para bioengenharia pelo seu baixo custo, disponibilidade em território nacional, sem necessidade de importação e por apresentar ótimas qualidades em relação as características histomorfológicas (Alves *et al.*, 2018; Franco *et al.*, 2013).

1.3 COLORAÇÃO ESPECIAL – PICROCIRIUS

O método de coloração por Picrosirius Red (PSR) é uma técnica baseada nas propriedades birrefringentes do colágeno. Esse método permite a identificação seletiva das redes de colágeno por meio do sistema de cor RGB (vermelho, verde, azul) e apresenta maior especificidade quando combinado com a detecção de luz polarizada (Rittié, 2017). Quando visualizado sob microscopia de luz polarizada, mostra fibras finas de colágeno tipo III, que são verdes a amarelo esverdeadas, enquanto fibras colágenas espessas, tipo I, variam de vermelhas a laranja amareladas (Montes; Junqueira, 1991).

O uso da microscopia de polarização para identificar colágeno em material corado com picrosírius é o responsável pela especificidade e também aumenta a eficácia e sensibilidade do método. Isso ocorre devido às fibrilas de colágeno muito finas, indetectáveis na microscopia normal, tornarem-se visíveis com este método, com fonte de luz contra um fundo escuro (Junqueira; Bignolas; Brentani, 1979).

Figura 1 - Espectro de cores observadas com picrosirius à microscopia sob luz polarizada



Fonte: Zerbinati e Calligaro, 2018.

Em 2014, Lattouf e colaboradores conduziram um estudo utilizando a coloração por PSR em seis amostras de biópsias cutâneas humanas, três de pacientes saudáveis e três de pacientes com síndrome de Ehlers-Danlos tipo IV. Os autores observaram que, ao rotacionar a platina do microscópio em 90°, as cores variavam de vermelho e amarelo para verde, e de verde para amarelo. E ao compararem os resultados com a imunohistoquímica para colágeno tipo III, constataram divergências: enquanto a imunomarcagem foi baixa nos pacientes com Ehlers-Danlos tipo IV (como esperado para a doença), a coloração por picrosirius revelou grande quantidade de fibras verdes.

As cores observadas sob microscopia de luz polarizada com a coloração por picrosirius dependem exclusivamente da espessura e do empacotamento das fibras, e não do tipo específico de colágeno (Coleman, 2011). Por exemplo, uma fibra verde pode representar uma fibra de colágeno tipo I imatura e fina ou resultar de um artefato que oculte a verdadeira espessura de uma fibra tipo I espessa (Rich; Whittaker, 2005). Coelho *et al.* (2018) detalharam cuidadosamente a metodologia de avaliação do tecido cutâneo utilizando a coloração por picrosirius sob microscopia de luz polarizada, com o objetivo de minimizar erros técnicos e evitar a formação de artefatos.

Em um trabalho relacionando à cicatrização corneal, foi realizado a coloração DE PSR para avaliar o colágeno no uso do antifibrótico ácido suberaniolhidroxâmico após queimadura alcalina em córnea de cães, e foi observado que aos 14 dias, houve predomínio de fibras verdes quando comparado ao controle (olhos não submetidos à

lesão) e mostrou predomínio de fibras vermelhas, uma transição típica de formação de cicatriz. Os autores observaram que o colágeno tipo III se mostrou desorganizado, e clinicamente os animais apresentaram opacidade corneal importante (Gronkiewicz *et al.*, 2016).

Em 2020, Hakami e colaboradores realizaram a coloração de PSR após queimadura alcalina em córneas de ratos com o objetivo de avaliar o aumento de colágeno na fibrose, e embora tenham obtido córneas com fibras vermelhas sob microscopia de luz polarizada 2 semanas após a lesão, os resultados não foram discutidos em relação à coloração observada.

Alguns autores afirmam que a coloração com picrosirius pode trazer maiores informações quando comparada à coloração rotina com hematoxilina e eosina, sendo equivalente aos métodos mais complexos de coloração tricrômica e afirmam também que o tipo específico de colágeno é determinado apenas por imunohistoquímica com anticorpos específicos (Coleman, 2011; Piérardi, 1989).

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ALVES, A. P. N. N.; VERDE, M. E. Q. L.; FERREIRA JÚNIOR, A. E. C.; SILVA, P. G. B.; FEITOSA, V. P.; LIMA JÚNIOR, E. M.; MIRANDA, M. J. B.; MORAES FILHO, M. O. Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de propriedades tensiométricas da pele de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Queimaduras**, Goiânia, v. 14, n. 3, p. 203-210, 2015.

ALVES, A. P. N. N.; LIMA JÚNIOR, E. M.; PICCOLO, N. S.; MIRANDA, M. J. B.; VERDE, M. E. Q. L.; FERREIRA JÚNIOR, A. E. C.; SILVA, P. G. B.; FEITOSA, V. P.; BANDEIRA, T. J. P. G.; MATHOR, M. B.; MORAES, M. O. Study of tensiometric properties microbiological and collagen content in Nile Tilapia skin submitted to diferente sterelization methods. **Cell and Tissue Banking**, Dordrecht, v. 19, n. 3, p. 373-382, 2018. DOI: 10.1007/s10561-017-9681-y.

ANDRADE, A. L. Afecções da córnea. In: SAFATLE, A. M. V.; GALERA, P. D. **Oftalmologia veterinária: clínica e cirurgia**. São Paulo: Payá, 2023. p. 381-436.

BATISTA, L. S.; MELO, M. S.; VIEIRA NETO, A. E.; COSTA, B. O.; MORAES FILHO, M. O. Uso da pele de tilápia liofilizada no reparo de lesão em pálpebra de cão associado a ceratoplastia com matriz dérmica acelular de pele de tilápia. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, Fortaleza, v. 4, n. 3, p. 305-310, 2023. DOI: 10.51161/conais2023/22261.

CINTRON, C.; HONG, B. S.; COVINGTON, H. I.; MACARAK, E. J. Heterogeneity of collagens in rabbit cornea: type III collagen. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, Rockville, v. 29, n. 5, p. 767-775, 1988.

COELHO, P. G. B.; SOUZA, M. V.; CONCEIÇÃO, L. G.; VILORIA, M. I. V.; BEDOYA, S. A. O. Evaluation of dermal collagen stained with picrosirius red and examined under polarized light microscopy. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 3, p. 415-418, 2018. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20187544.

COLEMAN, R. Picrosirius red staining revisited. **Acta Histochemica**, Muenchen, v. 113, n. 3, p. 231-233, 2011. DOI: 10.1016/j.acthis.2010.02.002.

EL-RASHIDY, A. A.; GAD, A.; ABU-HUSSEIN, A. E.-H. G.; HABIB, S. I.; BADR, N. A.; HASHEM, A. A. Chemical and biological evaluation of Egyptian Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish scale collagen. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 79, p. 618-626, 2015. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.05.019.

FRANCO, M. L. R. S.; FRANCO, N. P.; GASPARINO, E.; DORADO, D. M.; PRADO, M.; VESCO, A. P. D. Comparação das peles de Tilápia do Nilo, PACU e Tambaqui: histologia, composição e resistência. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 62, n. 237, p. 21-32, 2013. DOI: 10.4321/S0004-05922013000100003. Disponível em: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-05922013000100003. Acesso em: 20 maio 2025.

GALERA, P. D.; LAUS, J. L.; ORIÁ, A. P. Afecções da túnica fibrosa. *In*: LAUS, J. L. (Ed.). **Oftalmologia clínica e cirúrgica em cães e gatos**. São Paulo: Rocca, 2009. p 69-96.

GELATT, K. N. Doenças e cirurgias da córnea e esclera do cão. *In*: GELATT, K. N. **Manual de oftalmologia veterinária**. Barueri: Manole, 2003. p. 125-164.

GRONKIEWICZ, K. M.; GIULIANO, E. A.; KUROKI, K.; BUNYAK, F.; SHARMA, A.; TEIXEIRA, L. B. C.; HAMM, C. W.; MOHAN, R. R. Development of a novel in vivo corneal fibrosis model in the dog. **Experimental Eye Research**, London, v. 143, p. 75-88, 2016. DOI: 10.1016/j.exer.2015.09.010.

GUO, Q.; HAO, J.; YANG, Q.; GUAN, L.; OUYANG, S.; WANG, J. A comparison of the effectiveness between amniotic membrane homogenate and transplanted amniotic membrane in healing corneal damage in a rabbit model. **Acta Ophthalmologica**, Oxford, v. 89, n. 4, p. 315-319, 2011. DOI: 10.1111/j.1755-3768.2010.02097.x.

HAKAMI, N. Y.; DUSTING, G. J.; CHAN, E. C.; SHAH, M. H.; PESHAVARIYA, H. M. Wound healing after alkali burn injury of the cornea involves Nox4-type NADPH oxidase. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, St. Louis, v. 61, n. 12, e20, p. 20-28, 2020. DOI: 10.1167/iovs.61.12.20.

HASHIMOTO, Y.; HATTORI, S.; SASAKI, S.; HONDA, T.; KIMURA, T.; FUNAMOTO, S.; KOBAYASHI, H.; KISHIDA, A. Ultrastructural analysis of the decellularized cornea after interlamellar keratoplasty and microkeratome-assisted anterior lamellar keratoplasty in a rabbit model. **Scientific Reports**, London, v. 6, n. 1, e27734, p. 1-9, 2016. DOI: 10.1038/srep27734.

HAZLETT, L. D. Corneal response to *Pseudomonas aeruginosa* infection. **Progress in Retinal and Eye Research**, Oxford, v. 23, n. 1, p. 1-30, 2004. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2003.10.002.

HERRERA, D. H. Afecções da córnea. *In*: HERRERA, D. H. **Oftalmologia clínica em animais de companhia**. São Paulo: MedVet, 2008. p. 111-140.

JUNQUEIRA, L. C.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R. R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **The Histochemical Journal**, Dordrecht, v. 11, n. 4, p. 447-455, 1979. DOI: 10.1007/BF01002772.

KOIZUMI, N.; RIGBY, H.; FULLWOOD, N. J.; KAWASAKI, S.; TANIOKA, H.; KOIZUMI, K.; KOCIOK, N.; JOUSSEN, A. M.; KINOSHITA, S. Comparison of intact and denuded amniotic membrane as a substrate for cell-suspension culture of human limbal epithelial cells. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, Berlin, v. 245, n. 1, p. 123-134, 2007. DOI: 10.1007/s00417-005-0095-3.

LATTOUF, R.; YOUNES, R.; LUTOMSKI, D.; NAAMAN, N.; GODEAU, G.; SENNI, K.; CHANGOTADE, S. Picrosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, Thousand Oaks, v. 62, n. 10, p. 751-758, 2014. DOI: 10.1369/0022155414545787.

LIMA JÚNIOR, E. M.; PICOLLO, N. S.; MIRANDA, M. J. B.; RIBEIRO, W. L. C.; ALVES, A. P. N. N.; FERREIRA, G. E.; PARENTE, E. A.; MORAES-FILHO, M. O. Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. **Revista Brasileira de Queimaduras**, Goiânia, v. 16, n. 1, p. 10-17, 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riofc/28917>. Acesso em: 20 maio 2025.

LORENZO-MARTÍN, E.; GALLEGU-MUÑOZ, P.; MAR, S.; FERNÁNDEZ, I.; CIDAD, P.; MARTÍNEZ-GARCÍA, M. C. Dynamic changes of the extracellular matrix during corneal wound healing. **Experimental Eye Research**, London, v. 186, e107704, p. 1-9, 2019. DOI: 10.1016/j.exer.2019.107704.

MAGGS, D. J. Ocular pharmacology and therapeutics. *In*: MAGGS, D. J.; MILLER, P. E.; OFRI, R. **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. 4. ed. Missouri: Saunders, 2008. p. 33-56.

MELO, M. S.; VIEIRA-NETO, A. E.; WOUK, A. F. P. F.; EVANGELISTA, J. S. A. M.; MORAIS, G. B.; MORAES, M. E. A.; MORAES FILHO, M. O. Enxerto de pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*) em reparo de úlcera em cornea de cão: relato de caso / Tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin graft in dog corneal ulcer repair: case report. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, São José dos Pinhais, v. 5, n. 1, p. 367-375, 2022. DOI: 10.34188/bjaerv5n1-030.

MILLER, W. W. Evaluation and management of corneal ulcerations: a systematic approach. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 16, n. 1, p. 51-57, 2001. DOI: 10.1053/svms.2001.22806.

MONTES, G. S.; JUNQUEIRA, L. C. The use of the Picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 86, p. 1-11, 1991. Suplemento 3. DOI: 10.1590/s0074-02761991000700002.

PIÉRARD, G. E. Sirius red polarization method is useful to visualize the organization of connective tissues but not the molecular composition of their fibrous polymers. **Matrix**, Stuttgart, v. 9, n. 1, p. 68-71, 1989. DOI: 10.1016/s0934-8832(89)80021-6.

RICH, L.; WHITTAKER, P. Collagen and picrosirius red staining: a polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 97-104, 2005.

RITTIÉ, L. Method for picrosirius red-polarization detection of collagen fibers in tissue sections. **Methods in Molecular Biology**, Totowa, v. 1627, p. 395-407, 2017. DOI: 10.1007/978-1-4939-7113-8_26.

SLATTER, D. Córnea e esclera. *In*: SLATTER, D. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2005. p. 283-338.

SOARES, G. C. **Avaliação do potencial cicatrizante do colágeno extraído da pele de tilápia do Nilo em úlceras traumáticas de mucosa jugal em ratos**. 2022. 70 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/65742>. Acesso em: 20 maio 2025.

SUN, L.; HOU, H.; LI, B.; ZHANG, Y. Characterization of acid-and pepsin-soluble collagen extracted from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 99, p. 8-14, 2017. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.02.057.

YAMAMOTO, K.; IGAWA, K.; SUGIMOTO, K.; YOSHIZAWA, Y.; YANAGIGUCHI, K.; IKEDA, T.; YAMADA, S.; HAYASHI, Y. Biological safety of fish (tilapia) collagen. **BioMed Research International**, New York, v. 2014, e630757, p. 1-9, 2014. DOI: 10.1155/2014/630757.

ZERBINATI, N.; CALLIGARO, A. Calcium hydroxylapatite treatment of human skin: evidence of collagen turnover through picosirius red staining and circularly polarized microscopy. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, Auckland, v. 11, p. 29-35, 2018. DOI: 10.2147/CCID.S143015.

ZHANG, J.; JEEVITHAN, E.; BAO, B.; WANG, S.; GAO, K.; ZHANG, C.; WU, W. Structural characterization, in-vivo acute systemic toxicity assessment and in-vitro intestinal absorption properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin acid and pepsinsolubilized type I collagen. **Process Biochemistry**, London, v. 51, n. 12, p. 2017-2025, 2016. DOI: 10.1016/j.procbio.2016.08.009.

ZHOU, T.; WANG, N.; XUE, Y.; DING, T.; LIU, X.; MO, X.; SUN, J. Development of biomimetic tilapia collagen nanofibers for skin regeneration through inducing keratinocytes differentiation and collagen synthesis of dermal fibroblasts. **ACS Applied Materials & Interfaces**, Washington-DC, v. 7, n. 5, p. 3253-3262, 2015. DOI: 10.1021/am507990m.