

Reparação de pele após lesão de segunda intenção: Entendendo alguns mecanismos

Andréia Cristina Miranda Alves

Instituto Biociências Campus Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp – SP

Ninh the Son

Instituto de Química, Academia de Ciência e Tecnologia do Vietnã (VAST), Escola de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo - USP, SP

Fernando Pereira Beserra

Escola de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo - USP, SP

Mariana Conceição

Instituto Biociências Campus Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp – SP

Marcos Vital De Sá Ferreira

Instituto Biociências Campus Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp – SP

Lucas Fernando Sérgio Gushiken

Instituto Biociências Campus Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp – SP

Jairo Kenupp Bastos

Escola de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo - USP, SP

Cláudia Helena Pellizzon

Instituto Biociências Campus Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp – SP

1 INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano e dentre as funções estão a de homeostasia, proteção, sensorialidade, termorregulação e metabolismo, no qual a sua integridade é crucial a saúde do corpo (KOLIMI, et al, 2022; AGARWAL & KRISHNAMURTHY, 2023).

As lesões na pele podem acontecer de forma traumática, cirúrgica ou patológica, e o modo de reparo é determinado de acordo com o tecido envolvido na lesão, tanto em profundidade quanto em perda tecidual. O reparo de segunda intenção ocorre quando a lesão é impossibilitada de aproximação das bordas (BELDON, 2010).



O reparo de lesões na pele é complexo e requer a sincronização complexa de vários diferentes tipos celulares e envolve mecanismos inter-relacionados e sobrepostos de migração e proliferação celular, síntese de matriz extracelular (MEC), fatores de crescimento e citocinas que coordenam o processo. Esse processo pode ser dividido em três fases: inflamatória, proliferativa e de remodelação, as mesmas ocorrem em uma sequência temporal, e se sobrepõem (SINGER & CLARK, 1999; PROKSCH et al, 2008; RODRIGUES et al, 2019; GUSHIKEN et al, 2021).

A fase inflamatória se inicia logo após a lesão, forma-se um coágulo de fibrina promovendo a hemostasia local. Citocinas e fatores de crescimento são responsáveis pelo recrutamento de células do sistema imune, e proliferação de fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais no local (ISAAC, et al, 2010; GUSHIKEN et al, 2021; FLYNN et al, 2023).

A fase proliferativa é caracterizada por fibroplasia, angiogênese e reepitelização. Fatores de crescimento de fibroblasto (FGF), endotelial vascular (VEGF), epidermal (EGF) e transformador beta (TGF- β 1) são responsáveis por esses eventos. Os fibroblastos sintetizam compostos da matriz extracelular provisória e se diferenciam em miofibroblastos com capacidade contrátil e de movimentação pela área lesada. A proliferação de células endoteliais promove a angiogênese, reestruturando o sistema vascular local. Os queratinócitos migram através da matriz extracelular em direção ao centro da lesão, promovendo reepitelização e reestruturando assim a função de barreira (ISAAC et al., 2010; QING, 2017; GUSHIKEN et al., 2021; FLYNN et al, 2023).

Na fase de remodelação há a diminuição do tecido de granulação, substituição da matriz extracelular provisória e apoptose das células provisórias que migraram para área lesada (ISAAC et al, 2010; GUSHIKEN et al, 2021; FLYNN et al, 2023).

A prevalência de lesões na pele ainda é muito alta, o que ressalta a necessidade de mais estudos em busca de novas terapias para esse fim. A fitoterapia pode ser explorada para essa finalidade, visto que a biodiversidade é grande (JUVINO et al, 2021).

Neste cenário está inserida a própolis, uma substância produzida pelas abelhas, com propriedades antibacterianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, cicatrizantes etc. Os efeitos biológicos no organismo com seu uso estão relacionados com o perfil químico e composição de cada tipo de própolis. A própolis Faveleira provém da planta *Cnidocolus Quercifolius*, encontrada em abundância no nordeste brasileiro, conhecida popularmente por suas propriedades anti-inflamatórias, antissépticas etc., (LUSTOSA et al, 2008; COTTICA et al, 2011; CARDINAULT et al, 2012; ALVES & KUBOTA, 2013; MARCUCCI & ANGELA, 2018; MOURA et al, 2019; SANTOS et al, 2020). Portanto o objetivo deste trabalho é investigar as propriedades biológicas, químicas e microbiológicas da própolis faveleira e sua ação no reparo de pele em modelo de segunda intenção em lesão experimental.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Ratos *Wistar* machos foram mantidos para o experimento por dois períodos (3 e 7 dias), separados em grupos: Fisiológico (SHAM), Controle Negativo (ferida sem tratamento), Controles Positivos tratados com os fármacos: 1- Sulfato de neomicina 5 mg/g + bacitracina zínica 250 UI/g; 2- Dexpantenol 50 mg/g e 3- Colagenase 0,6 UI/g, e Testes, nos quais os animais foram tratados com soluções hidroalcoólicas da própolis Faveleira proveniente da Bahia, Brasil, nos percentuais de 0,5%, 1% e 2%. Os animais foram submetidos a ferida dorsal de segunda intenção e tratados de acordo com seus respectivos grupos experimentais. Todas as práticas laboratoriais foram realizadas de acordo com o comitê de ética no uso de animais (CEUA IBB- 5550250222).

O trabalho contemplou a análise dos parâmetros clínicos, incluindo presença de crosta, exsudato, hemorragia, coágulo, tecido de granulação e epitelização, considerando um escore de 0 a 3, sendo 0 ausência e 3 muita presença do parâmetro (MARTINS, P.S. et al., 2003), além de análises histopatológicas com colorações em hematoxilina e eosina, para a quantificação da celularidade total, e tricômico de Masson para a deposição de fibras colágenas na derme.

As análises dos parâmetros clínicos e da retração da lesão foram realizadas a partir das imagens coletadas no decorrer do experimento. As análises histopatológicas foram realizadas a partir das amostras de pele da região da lesão coletadas após a eutanásia dos animais. As análises estatísticas com dados paramétricos foram expressas como média \pm erro padrão da média e a comparação entre os grupos foi realizada por ANOVA seguida do teste de Tukey. As análises com dados não paramétricos foram expressas em mediana (máximo e mínimo) e realizados pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn. Valores de $p > 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

3 RESULTADOS

Este trabalho gerou dados relevantes sobre o uso da própolis faveleira no processo de cicatrização. Por meio da caracterização morfológica macroscópica e microscópica realizadas em períodos de tratamentos de 3 e 7 dias, foi possível analisar algumas modificações ao longo das fases da cicatrização.

A escolha das drogas tópicas usadas como controles positivos se deu por sua ação em cada uma das fases de cicatrização. As drogas contendo neomicina e bacitracina são utilizadas na fase inicial por suas propriedades de prevenir e conter infecções (WARD & SAFFLE, 1995). Dexpantenol e Colagenase indicam efetividade no processo de diminuição das distâncias das bordas em lesão de segunda intenção, por sua importante atuação na derme. em especial em células contráteis (BERRY et al., 1998; EBNER et al., 2002; McCALLON et al., 2015).

A análise clínica e a observação da retração da lesão são importantes para a verificação macroscópica da evolução da lesão, proporcionando uma análise clínica detalhada e verificando os aspectos de reparação



da interrupção da pele. Além disso, as análises histopatológicas microscópicas também são importantes, pois possibilitam uma visão panorâmica em relação aos componentes da derme nos períodos determinados.

3.1 FASE INFLAMATÓRIA INICIAL (3 DIAS)

Os parâmetros clínicos analisados não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos. A retração da ferida pode ocorrer devido à ação de células contráteis, como os miofibroblastos, que se ligam às fibras colágenas, puxando-as em direção a si mesmos e contraindo a lesão (ISAAC et al., 2010). Os grupos tratados com própolis faveleira apresentaram retração de 5% a 20%, ao contrário dos grupos controles farmacológicos, que demonstraram edemaciamento na borda da área da lesão. Este resultado sugere que a própolis faveleira pode exercer uma atividade importante nessa fase, influenciando na agilidade do fechamento da lesão. A análise microscópica histopatológica de quantificação de células e fibras colágenas apresentou resultados favoráveis, com valores maiores nos grupos tratados com a própolis faveleira, na região marginal da lesão, em concordância com o resultado apresentado pela retração.

3.2 FASE PROLIFERATIVA (7 DIAS)

Nesta fase, ocorre o aumento de fatores de crescimento que influenciam na proliferação e diferenciação de células, resultando, entre vários eventos, na deposição de fibras colágenas na derme (para revisão, veja RODRIGUES et al., 2019; GUSHIKEN et al., 2021).

Neste momento do experimento, mantém-se uma qualidade clínica semelhante entre os grupos de teste e os grupos farmacológicos. Nas nossas amostras, por meio das análises microscópicas de quantificação de células e deposição de fibras colágenas, observamos uma reorganização da derme com aumento de colágeno na pele lesionada, decorrente do aumento da relação de fibroblastos na região. Desta forma, o tratamento demonstra ser um interessante ativador da reparação da derme lesionada. As análises macroscópicas dos parâmetros clínicos de granulação e epitelização apresentaram melhores resultados no grupo controle com Sulfato de neomicina 5mg/g + bacitracina zíncica 250 UI/g. Observamos também que esses mesmos parâmetros clínicos e de retração apresentados nos grupos de tratamento com a própolis faveleira são muito semelhantes aos grupos tratados com os fármacos controle Dexpantenol 50 mg/g e Colagenase 0,6 UI/g, o que sugere que a própolis faveleira pode ter uma via de atuação importante em dois momentos de reparação tecidual após a lesão de segunda intenção.



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos dados indicam que a própolis faveleira tem ação semelhante aos fármacos sulfato de neomicina 5mg/bacitracina zíncica 250 UI/g, dexpantenol 50 mg/g e colagenase 0,6 UI/g em lesões de pele de segunda intenção, principalmente no controle da inflamação e na retração da ferida na fase inicial. Isso é importante para esse tipo de lesão, que necessita de redução de tamanho e reorganização tecidual de maneira significativa.

Palavras-chave: Reparo de lesões, Lesões de pele, Própolis Faveleira.



REFERÊNCIAS

AGARWAL, Sanjay. and KRISHNAMURTHY, Karthik. “Histology, Skin.” StatPearls, StatPearls Publishing, 1 May 2023.PMID: 30726010.

ALVES, Elizangela & KUBOTA, Ernesto Hashime. Conteúdo de fenólicos, flavonóides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*34(1):37- 41, 2013.

BELDON, Pauline. Basic science of wound healing, *Surgery*. Oxford, Volume 28, Issue 9, Pages 409-412, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2010.05.007>.

BERRY, D P *et al.* Human wound contraction: collagen organization, fibroblasts, and myofibroblasts. *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 102,1, 124-31; discussion 132-4, 1998. <https://doi:10.1097/00006534-199807000-00019>

CARDINAULT, Nicolas *et al.* La propolis: origine, composition et propriétés. *Phytothérapie*,10, 2012, p. 298–304. <https://doi.org/10.1007/s10298-012-0733-y>

COTTICA, Solange M. *et al.* Antioxidant Activity and Composition of Propolis Obtained by Different Methods of Extraction. *J Braz Chem Soc*, 22(5), 2011, p. 929-935.

EBNER, F. *et al.* Topical use of dexpanthenol in skin disorders. *Am J Clin Dermatol*, 3(6), 2002, p.427-433. <https://doi:10.2165/00128071-200203060-00005>

FLYNN, Kiley *et al.* Chronic Wound Healing Models. *ACS Pharmacology & Translational Science* 6 (5), 2023, p. 783-801. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acspsci.3c00030>

GUSHIKEN, Lucas Fernando Sérgio *et al.* Cutaneous Wound Healing: An Update from Physiopathology to Current Therapies. *Life*, 11(7), 665, 2021. <https://doi.org/10.3390/life11070665>

ISAAC, Cesar *et al.* Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. *Revista de Medicina*, [S. l.], v. 89, n. 3-4, p. 125-131, 2010. <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v89i3/4p125-131>. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/revistadc/article/view/46294>. Acesso em: 7 maio. 2023.

JUVINO, Elen Rodrigues *et al.* Os Produtos Naturais na Cicatrização de Feridas Cutâneas em Ambiente Hospitalar: Práticas e Saberes dos Profissionais De Enfermagem. *Revista Enfermagem Atual In Derme*, vol. 95, nº 34, p. e-021049, 2021. <https://doi.org/10.31011/reaid-2021-v.95-n.34-art.791>

KOLIMI, Praveen et al. Innovative Treatment Strategies to Accelerate Wound Healing: Trajectory and Recent Advancements. *Cells*, vol.11,15, 2022, 11, 2439. <https://doi.org/10.3390/cells11152439>

LUSTOSA, Sara R. *et al.* Própolis: atualizações sobre a química e farmacologia. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18(3), 2008, p. 447-454. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000300020>

MARCUCCI, M. C.; CUSTÓDIO, Ângela R. Própolis: correlação química e biológica. *Revista Chemkeys*, Campinas, SP, n. 10, 2018, p. 1–23. <https://doi.org/10.20396/chemkeys.v0i10.9640>. Disponível em: <https://econtents.bc.unicamp.br/inpec/index.php/chemkeys/article/view/9640>. Acesso em: 6 mar. 2024.



MARTINS, P.S. *et al.* Comparação Entre Fitoterápicos de Uso Tópico na Cicatrização de Pele em Equinos. Archives of Veterinary Science, [S.l.], ISSN 2317-6822, 2003. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/4026>>. Acesso em: 10 de junho de 2023. <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v8i2.4026>.

Mc CALLON, S.K. *et al.* Optimizing Wound Bed Preparation With Collagenase Enzymatic Debridement. J Am Coll Clin Wound Spec, 6(1-2), 2015 p.14-23. <https://doi.org/10.1016/j.jccw.2015.08.003>

MOURA, Luiz Francisco Wemmerson Gonçalves *et al.* Ethnobotanic, phytochemical uses and ethnopharmacological profile of genus *Cnidocolus* spp. (Euphorbiaceae): A comprehensive overview. Biomedicine & pharmacotherapy, 109, 2019, p.1670–1679. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.015>

PROKSCH, Ehrhardt *et al.* The skin: an indispensable barrier. Experimental dermatology, 17(12), 2008, p. 1063–1072. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2008.00786.x>

QING, Chun. The molecular biology in wound healing & non-healing wound, Chinese Journal of Traumatology, Volume 20, Issue 4, 2017, p.189-193, ISSN 1008-1275. <https://doi.org/10.1016/j.cjte.2017.06.001>. Disponível em <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1008127517301591>> Acesso em 06 de março de 2024.

RODRIGUES, Melanie *et al.* Wound Healing: A Cellular Perspective. Physiological reviews, 99(1), 2019, p. 665–706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>

SANTOS, Laerte M. *et al.* Propolis: types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting. J. Sci. Food Agric., 100, 2020, p.1369-1382. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10024>

SINGER, Adam, J., & CLARK, Richard, A. Cutaneous wound healing. The New England journal of medicine, 341(10), 1999, p. 738–746. <https://doi.org/10.1056/NEJM199909023411006>

WARD, R.S. & SAFFLE, J.R. Topical agents in burn and wound care. Phys Ther. 75(6), 1995, p. 26-538. <https://doi.org/10.1093/ptj/75.6.526>