

AVALIAÇÃO DA CONTRAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS TRATADAS COM TERAPIA FOTODINÂMICA (TFD) EM RATOS

Antonio Paulo Felice Rodrigues Leite (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Antonio Marcos Reissureição Galindo, Lediane Pedroso Silva, Henrique Lança Fuzetti, Alexandro Vieira Lena, Vitória Nielsen, Patricia de Souza Bonfim de Mendonça (Coorientador), Luzmarina Hernandes (Orientador). E-mail: lhernandes@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas / Morfologia / Histologia

Palavras-chave: cicatrização; feridas excisionais; histologia; TFD.

RESUMO

Objetivos: Este estudo avaliou a eficácia da Terapia Fotodinâmica (TFD) com o fotossensibilizador Azul de Metileno (AM) na cicatrização de feridas excisionais na pele de ratos. **Metodologia:** Foram realizadas feridas no dorso de ratos Wistar (n=38), divididos nos grupos controles (sem tratamento) e grupo TFD. A cada 48 horas, o grupo TFD recebeu aplicação tópica de AM a 0,5% e irradiação com LED vermelho por 10 minutos. Amostras foram coletadas para análise morfométrica da contração da ferida em lâminas histológica, após 4, 7, 10 e 14 dias. **Resultados e Discussão:** A análise não revelou diferenças estatísticas entre os grupos aos 4, 7 e 10 dias ($p > 0,05$). No 14º dia, o grupo TFD apresentou uma contração da ferida significativamente maior em comparação ao controle ($p = 0,0076$). A eficácia tardia da TFD sugere que sua principal contribuição ocorre na fase inflamatória, possivelmente por sua ação biomoduladora, na estimulação da proliferação de fibroblastos e síntese de colágeno, cruciais para as fases de remodelação das feridas. **Conclusão:** A TFD com AM em feridas agudas, teve sua eficácia evidenciada na fase final da cicatrização (14º dia), sem apresentar resultados significativos nas etapas iniciais. Conclui-se, portanto, que a ação terapêutica da TFD, sob as condições testadas, é mais proeminente nas etapas tardias de remodelação tecidual em feridas agudas.

INTRODUÇÃO

As feridas crônicas representam um desafio clínico caracterizado pela falha em progredir através das fases ordenadas de cicatrização, em um período de três meses. Ao contrário da cicatrização aguda, o leito de uma ferida crônica permanece em uma fase de inflamação sem resolução, com elevada presença de neutrófilos e macrófagos. Esta condição é perpetuada pela liberação contínua de citocinas pró-inflamatórias e pela frequente proliferação bacteriana, fatores que contribuem

diretamente para o atraso no processo de reparo tecidual (Eming; Martin; Tomic-Canic, 2014; MacLeod; Mansbridge, 2016).

Nesse contexto, a Terapia Fotodinâmica (TFD) tem sido sugerida como uma modalidade terapêutica promissora. A TFD é uma fotoquimioterapia que se baseia na interação entre um agente fotossensibilizante, uma fonte de luz em comprimento de onda específico e o oxigênio molecular presente no tecido. Essa interação gera espécies reativas de oxigênio capazes de induzir a morte de células-alvo, como microrganismos, além de não interferir com tecidos normais e flora bacteriana distante à lesão (Monami *et al.*, 2020).

A aplicação da TFD em feridas crônicas é promissora por sua dupla capacidade de ação: erradicar infecções locais e influenciar fatores que perpetuam a cronicidade, como a resposta inflamatória exacerbada. Assim, a TFD pode atuar diretamente sobre os principais obstáculos que impedem a cicatrização, representando uma alternativa viável para o tratamento dessas lesões complexas.

O presente trabalho, portanto, tem como objetivo estudar a eficácia da Terapia Fotodinâmica (TFD) com Azul de Metileno (AM) na cicatrização de feridas em modelo experimental de ratos diabéticos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido com 38 ratos Wistar machos, nos quais foram realizadas duas feridas excisionais, no sentido crânio-caudal, no dorso sob protocolo anestésico (CEUA 3207020524). Os animais foram divididos em dois grupos (A) controle, sem tratamento e (B) grupo tratado com terapia fotodinâmica (TFD). A cada 48 horas, o grupo TFD recebeu aplicação tópica de azul de metileno (AM) a 0,5% seguido de irradiação com LED vermelho por 10 minutos. Após 4, 7, 10 e 14 dias de tratamento, os animais foram eutanasiados e amostras foram coletadas fixadas em paraformaldeído a 4%, processadas para inclusão em parafina e seccionadas com 6 µm de espessura. Os cortes foram corados com HE. A contração da ferida foi avaliada por meio da análise morfométrica da distância entre as margens da ferida, utilizando o software Image-Pro Plus®. Os dados foram analisados no software GraphPad Prism® com o teste t (correção de Welch) e ANOVA de uma via, adotando um nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da contração da ferida foi realizada comparando-se os grupos controle e tratado em cada tempo experimental (Figura 1a). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na medida da ferida entre os grupos nos dias 4, 7 e 10 ($p > 0,05$). No entanto, no 14º dia pós-operatório, o grupo tratado com TFD apresentou uma medida de ferida significativamente menor em comparação ao grupo controle, indicando uma maior contração tecidual ($p = 0,0076$).

A avaliação da progressão temporal da cicatrização, representada na Figura 1b, demonstrou um efeito significativo do tempo sobre a redução da ferida. O teste ANOVA de uma via confirmou que houve uma diminuição progressiva e estatisticamente significativa da lesão ao longo dos 14 dias, tanto no grupo controle

quanto no grupo tratado ($p < 0,05$). O teste de Bartlett, utilizado para avaliar a homogeneidade das variâncias, indicou que estas não foram significativamente diferentes no grupo controle, mas apresentaram diferença estatística no grupo tratado e na análise conjunta dos dados.

Os resultados deste estudo indicam que a TFD com AM acelerou significativamente a contração de feridas no 14º dia de avaliação, embora não tenha apresentado diferença estatística nas fases iniciais. Esta eficácia tardia sugere que a principal contribuição da TFD ocorre após a fase inflamatória aguda.

O sucesso da TFD na fase final da cicatrização pode ser explicado por seus efeitos biomoduladores. A TFD em doses adequadas estimula processos celulares cruciais para a fase proliferativa e de remodelação, como a proliferação de fibroblastos e a consequente síntese de colágeno (NESI-REIS *et al.*, 2018). Essa dupla ação, controle da infecção e estímulo direto ao reparo celular, justifica a melhora acentuada observada aos 14 dias. Tais achados são consistentes com outros estudos em modelos pré-clínicos (Yang *et al.*, 2020), reforçando que o potencial da TFD no tratamento de feridas complexas reside em sua capacidade de atuar sobre os principais obstáculos das fases mais tardias da cicatrização.

CONCLUSÕES

A Terapia Fotodinâmica com Azul de Metileno demonstrou uma eficácia tempo-dependente na cicatrização de feridas neste estudo. O tratamento não acelerou significativamente o reparo tecidual nos períodos iniciais (dias 4, 7 e 10), tendo seu benefício estatístico comprovado exclusivamente no 14º dia pós-operatório. Portanto, conclui-se que a ação terapêutica da TFD, sob as condições testadas, é mais proeminente nas fases tardias de remodelação tecidual, e não durante todo o processo cicatricial.

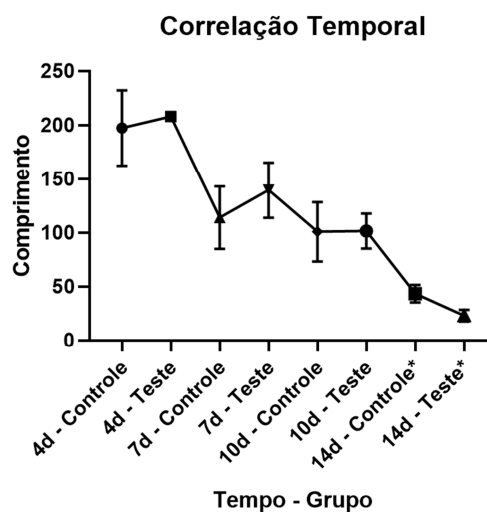
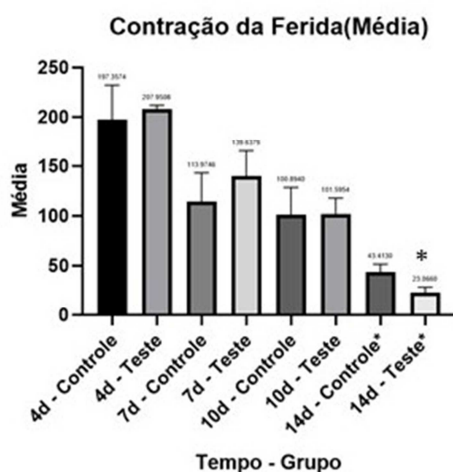


Figura 1a – Gráfico de barras expondo as médias com seu desvio padrão para cada grupo e tempo do experimento. **Figura 1b** – Gráfico de linhas ilustrando a tendência temporal de contração das feridas no experimento.

AGRADECIMENTOS

Fundação Araucária pelo apoio financeiro e ao Laboratório de Histotécnica da UEM pelo apoio técnico.

REFERÊNCIAS

EMING, S. A.; MARTIN, P.; TOMIC-CANIC, M. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. **Science Translational Medicine**, v. 6, n. 265, p. 265sr6–265sr6, 3 dez. 2014.

MACLEOD, A. S.; MANSBRIDGE, J. N. The Innate Immune System in Acute and Chronic Wounds. **Advances in Wound Care**, v. 5, n. 2, p. 65–78, fev. 2016.

MONAMI, M. *et al.* Antimicrobial Photodynamic Therapy in Infected Diabetic Foot Ulcers: A Multicenter Preliminary Experience. **Journal of the American Podiatric Medical Association**, v. 110, n. 1, 1 jan. 2020.

NESI-REIS, V. *et al.* Contribution of photodynamic therapy in wound healing: A systematic review. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 21, p. 294–305, mar. 2018.

YANG, T. *et al.* Effects of ALA-PDT on the Healing of Mouse Skin Wounds Infected With *Pseudomonas aeruginosa* and Its Related Mechanisms. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, 4 dez. 2020.