

CICATRIZAÇÃO DE FERIMENTOS INCISIONAIS EM RATOS SUBMETIDOS A ALIMENTAÇÃO COM CARNE SUÍNA¹

INCISIONAL WOUND HEALING IN RATS SUBMITTED TO SWINE MEET FEED

João Henrique Aguayo MUSSY², Antonio Carlos de Souza CORRÊA², Leandro Tsuyoshi YOKOYAMA², Edvaldo Lima SILVEIRA³, Kátia Simone KIETZER⁴ e Robson José de Souza DOMINGUES⁵

RESUMO

Introdução: na cultura popular, acredita-se que alguns alimentos possam interferir diretamente nos processos cicatriciais, sendo conhecidos como remeros. A utilização é contra indicada em situações de ferimentos e no período pós-operatório; dentre esses alimentos consta a carne de animais com alto teor de tecido gorduroso ou de dieta detritiva, como o porco. Por outro lado, muitos desses animais são fonte de macroelementos essenciais ao reparo cutâneo. **Objetivo:** avaliar a influência do consumo da carne suína no processo cicatricial de feridas cirúrgicas cutâneas. **Método:** foram utilizados 30 ratos da linhagem Wistar, submetidos a um procedimento de excisão cutânea com dimensões de 2x2 cm e divididos em dois grupos com alimentação diferenciada: grupo controle, dieta *ad libitum* convencional, e grupo de dieta suplementada, composta por 50% de ração padrão e 50% de carne de suína. Os animais sofreram eutanásia escalonada ao 7º, 14º e 21º dia de pós-operatório para captação do tecido cicatricial e avaliação. Foram analisadas contração cicatricial, alterações histopatológicas e deposição de fibras colágenas. **Resultados:** a dieta suplementada promoveu contagem menor de macrófagos ao 7º e ao 21º dia, redução de focos de necrose ao 21º e aceleração da epitelização. Foi evidente também a deposição precoce de colágeno tipo I sobre a matriz de colágeno tipo III, alteração que oferece maior resistência mecânica à ferida. **Conclusão:** a suplementação com carne suína mostrou-se benéfica ao tecido cicatricial, provavelmente consequente à presença de maiores teores de proteínas e gordura saturada.

DESCRITORES: Cicatrização; Processos Nutricionais; Ratos Wistar; Suplementação Alimentar; Colágeno.

INTRODUÇÃO

O cuidado com feridas é preocupação que toma milhares de anos da humanidade. Para a sociedade contemporânea, apresenta elevada carga econômica, além de estigmas sociais e impactos negativos sobre cada indivíduo. Por essas razões, tem representativa importância no meio científico.¹

A cicatrização de feridas é um processo complexo que envolve diversos eventos imunológicos e celulares. Estes transcorrem de forma não linear, levando meses a anos desde a injúria tecidual até a resolução do processo. Todas as fases são extremamente dependentes de energia, sendo necessária grande quantidade de aminoácidos, carboidratos e lipídeos.²

¹ Estudo realizado no Laboratório de Morfofisiologia Aplicada à Saúde da Universidade do Estado do Pará, Brasil. Bolsa de iniciação científica UEPA/CNPQ. Sem conflito de interesse

² Graduando do Curso de Medicina da Universidade do Estado do Pará, Brasil.

³ Docente, Médico Patologista da Universidade do Estado do Pará, Brasil.

⁴ Docente Doutora do curso de Medicina da Universidade do Estado do Pará

⁵ Docente-Doutor Titular do Curso de Medicina da Universidade do Estado do Pará, Brasil.

Diversos fatores intrínsecos ou extrínsecos, sistêmicos ou locais podem estar envolvidos na evolução do tecido cicatricial, resultando em atraso nos processos, úlceras crônicas, cicatrizes insuficientes, entre outros desfechos desfavoráveis.²

A cultura popular reconhece que alguns alimentos podem interferir diretamente nos processos cicatriciais, conhecidos como remosos, termo amplamente difundido no vocabulário dos povos amazônidas,³ representando uma das proibições relativas presentes na Amazônia e América do Sul que visa classificar o grau de segurança da ingestão de animais selvagens e domésticos em determinadas situações.⁴

A difusão do saber popular sobre alimentação remosa apresenta ampla divergência dependendo da região estudada. Entretanto, uma constante desse saber é a necessidade da redução ou suspensão total do consumo de tais alimentos em determinados estados fisiológicos ou patológicos do organismo. Como exemplo, o período de enfermidades agudas⁵ e crônicas, ferimentos, gravidez e lactação.^{5,6}

Não há consenso sobre quais alimentos são considerados remosos. Existe correlação com a carne de animais carnívoros no topo da cadeia alimentar, visto que acumulariam grande quantidade de toxinas e poluentes; ou com a carne de animais herbívoros, que apresenta grande quantidade de tecido gorduroso com idêntica suscetibilidade de acúmulo de toxinas.⁷

Uma revisão de autoria de Brito Júnior e Estácio (2013)⁸ aponta as principais fontes de dieta remosa para a população amazônica. Os autores também associam o termo à carne de animais de dieta carnívora, como peixes de pele, ou de dieta restritiva, como peixes cascudos, caranguejos e camarões. Do mesmo modo, ressaltam que animais de dieta mista que habitam áreas lamacentas como o caititu (porco selvagem), que se assemelha ao porco doméstico; aves, como pato e marreco; quelônios e pacas são classificados como remosos.

Brito Júnior e Estácio (2013)⁸ também propuseram hipótese para a fisiopatologia do processo: devido à elevada presença nos tecidos desses animais de micro-organismos decompositores, produtos tóxicos e componentes celulares (endotoxinas), resistentes ao cozimento, ocorreria alterações da imunidade inata ou hipersensibilidade imediata.

Em razão da carência de dados a respeito da ação imunomoduladora da dieta remosa e de trabalhos que demonstrem a influência dos alimentos considerados remosos no processo saúde-doença, o presente estudo objetiva contribuir com o conhecimento científico avaliando a

influência da suplementação com carne de *Sus domesticus* (porco doméstico) no processo de cicatrização de feridas cutâneas, citada como alimento remoso, por Brito Júnior e Estácio (2013)⁸ e Alcoforado (2010)⁶.

OBJETIVO

Avaliar a influência do consumo da carne suína no processo cicatricial de feridas cirúrgicas cutâneas em ratos.

MÉTODO

Os animais utilizados foram cuidados segundo a legislação nacional em vigor, que estabelece procedimentos para uso científico de animais e criação de animal (Lei Auroca, nº 11.794) e os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O estudo iniciou-se após aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade do Estado do Pará (UEPA), sob o Protocolo nº 02/13.

O estudo caracteriza-se como experimental, longitudinal, do tipo ensaio clínico, em que foram utilizados 30 ratos machos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar. Os animais foram inicialmente alojados em gaiolas contendo 3 animais cada uma, mantidas em ciclo 12-horas-luz/12-horas-escuridão à temperatura de 22°C e submetidos a um período de adaptação de 30 dias ao biotério, no qual receberam dieta líquida e dieta sólida *ad libitum*, tendo o respectivo peso monitorado.

Após o período de adaptação, os animais foram submetidos a um ato operatório para a confecção da ferida cirúrgica. O procedimento foi iniciado com indução anestésica com cloridrato de ketamina (87mg/kg) e cloridrato de xilazina (13mg/kg) por via intraperitoneal. Em seguida, foi realizada a epilação da região dorsal e antisepsia com polivinilpirrolidona-iodo – PVPI (Povidine®). Sem realizar a distensão da pele, foi feita a marcação da área a ser excisionada³ centímetros abaixo da linha interauricular com caneta porosa e molde de plástico flexível de 2x2 cm. Sucedeu-se incisão da região dorsal do animal com bisturi frio, continuada até a fáscia muscular dorsal por meio de divulsão romba com tesoura de Metzembbaum. Dessa forma, foi produzida uma lesão com dimensões de 2x2cm (Figura 1), sendo removida e desprezada pele e tecido celular subcutâneo. Os ferimentos foram lavados com solução salina a 0,9% e deixados para cicatrizar por segunda intenção.



Figura 1 – Aspecto da região dorsal no pós-operatório imediato
Fonte: Planimetria digital (2013)

No pós-operatório imediato, os animais foram colocados em gaiolas individuais e distribuídos aleatoriamente em dois grupos de 15 animais cada um, de acordo com a dieta administrada. Cada grupo foi subdividido em três subgrupos de cinco animais para avaliação do processo cicatricial; a eutanásia aconteceu de forma escalonada em 7, 14 e 21 dias.

Grupo Controle (GC):

Composto por 15 animais, distribuídos em três subgrupos contendo cinco ratos cada um, que receberam no pós-operatório a dieta convencional com ração da marca Labina® (Purina – Paulínia, Brasil), *ad libitum*, sem nenhuma adição. Os subgrupos sofreram nova intervenção no 7º, 14º e 21º dia de pós-operatório e captação do tecido cicatricial para controle do estudo. Não houve restrição hídrica.

Grupo Carne Suína (GS) – dieta remosa:

Grupo contendo 15 animais (cinco em cada subgrupo, distribuídos para nova intervenção no 7º, 14º e 21º dia assim como o GC), submetidos à dieta suplementada com carne suína por meio de processamento, suplementação e manipulação da ração Labina® (Purina, Paulínia – Brasil). A suplementação se deu por adição de carne proveniente da região do lombo de *Sus Domesticus*.

O preparo da ração obedeceu à titulação de 200 gramas de farelo de ração Labina® para cada 200 gramas de carne suína. A carne, aquecida em água com temperatura em torno de 65°C, durante exatos 20 minutos, foi mantida em resfriamento gradual até atingir a temperatura de 30°C para posterior adição ao farelo da ração Labina® em misturador, sendo pesados os conteúdos dispensados sem adição de sais ou outros complementos alimentares e armazenados à temperatura de 4°C. A preparação seguiu

de modo semelhante ao descrito por Pinotti et al (2007)⁹. A confecção de pelotas (pellets) foi realizada com aparelho de prensão artesanal automatizado (Figura 2) para a formação de extrusados em forma cilíndrica com diâmetro de 14 mm.



Figura 2 – Foto de prensa artesanal desenvolvida para a produção de pellets de ração suplementada, a fim de assemelhar-se em forma e textura à ração comum.

Fonte: protocolo de pesquisa

A composição nutricional da ração comercial Labina® apresentou 2,30% de lipídeos (58,52% de ácidos graxos insaturados e 41,38% de ácidos graxos saturados), 11% além de 23,0% de proteína bruta, 4,0% de extrato etéreo, 5,0% de matéria fibrosa, 10,0% de matéria mineral (máx.), 1,3% de cálcio (máx.) e 0,85% de fósforo (mín.).

As características apontadas para a composição lipídica da carne de lombo do *Sus domesticus* seguiram de acordo com Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (2002)¹⁰. O material utilizado pelo estudo incluía, além de carne da região do lombo, tecido adiposo perimuscular, que, após a exposição ao cozimento, era novamente inserido à mistura por meio da dispensação em misturador na forma líquida.

O perfil lipídico da carne de porco utilizada apresentou porcentagem de ácidos graxos saturados de 41mg/100g, 48mg/100g de monoinsaturados, 11mg/100g de poli-insaturados, uma relação ω -6/ ω -3 de 25 e relação poli-insaturado/saturado de 0,3. A ração modificada foi oferecida a este grupo (GS) *ad libitum*. Não houve restrição hídrica durante o estudo.

Após 7, 14 e 21 dias de alimentação diferenciada e cicatrização, os animais (dentro do período correspondente para cada subgrupo) foram submetidos a nova anestesia com cloridrato de ketamina (87mg/kg) e cloridrato de xilazina (13mg/kg) via intraperitoneal, para a retirada do tecido cicatricial recém-formado, com margens de tecido de 1 a 1,5cm e, depois, submetidos a eutanásia com 1ml de solução de cloreto de potássio (KCl) a 10% por meio endovenoso pela veia caudal dorsal.

As amostras de tecido foram processadas para estudo

histológico pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE) e picrosirius red-hematoxilina.

Os resultados microscópicos foram avaliados por um patologista através de estudo cego à natureza das lâminas, que classificou os achados em pontos conforme o protocolo adaptado de Garros et al (2006)^{11,13}. Avaliaram-se os seguintes parâmetros: proliferação vascular, células mononucleadas, células polimorfonucleares, proliferação fibroblástica, deposição de colágeno, reepitelização e necrose epitelial. A pontuação dada variou de Ausente (0), Leve (1), Moderada (2) a Intensa (3) em cada critério.

A morfometria foi realizada por meio de fotomicroscópio, modelo Zeiss Axio Scope A1, acoplado a um computador, com o software ImageJ®. Analisou-se a proporção de fibras colágenas do tipo I e III por meio da técnica de picrosirius red-hematoxilina, analisadas através de luz polarizada, conforme descrito por Junqueira et al (1991)¹².

A ferida cirúrgica foi avaliada macroscopicamente em ambos os grupos e registrada com câmera digital, tripé fixo e paquímetro para medição indireta da área imediatamente após o procedimento cirúrgico e, novamente, imediatamente após a indução anestésica para eutanásia. A avaliação planimétrica da área lesional foi realizada com o software ImageJ®.

Os achados histopatológicos foram comparados pelo teste não paramétrico Mann-Whitney. A análise morfométrica bem como os valores da variação da área da cicatriz à planimetria digital foram avaliados estatisticamente pelo teste de T-Student, sendo considerados significativos resultados cujo p-valor fosse inferior a 0,05. Os dados foram processados no programa BioEstat® 5.0, e as tabelas construídas no software Microsoft® Excel 2007.

RESULTADOS

Estudo macroscópico da cicatrização:

Tabela I – Percentual remanescente da área da ferida analisada pela planimetria digital

Grupos	7 dias	14 dias	21 dias
Controle (GC)	72,644 ± 16,39	16,4725 ± 7,46	15,594 ± 11,94
Dieta Suplementada (GS)	69,312 ± 21,25	26,186 ± 8,87	11,664 ± 13,20
Intervalo de confiança	-24,347 a 31,011	-22,025 a 94,507	-14,432 a 22,292
p-valor	0,3942	0,0336	0,3174

Fonte: Protocolo de pesquisa (Teste T)

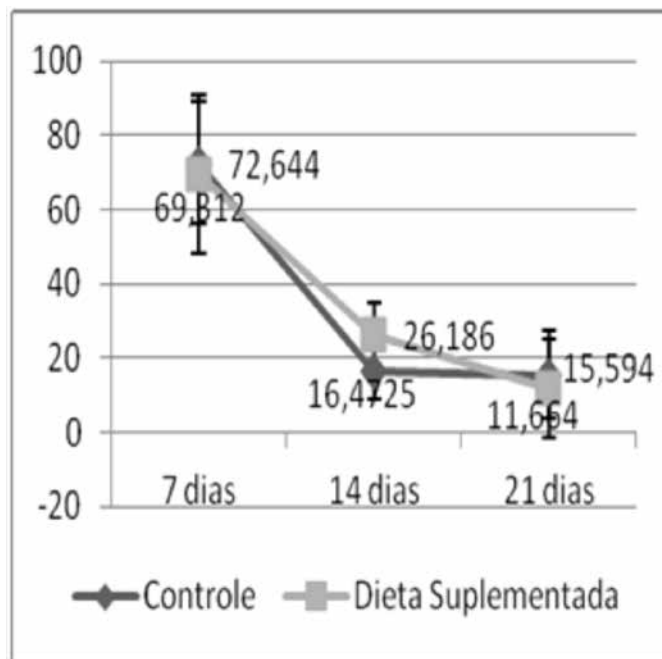


Figura 3 – Evolução percentual área remanescente da ferida operatória inicial com intervalo de confiança.

Fonte: Planimetria digital

Estudo histopatológico:

Durante a evolução do tecido cicatricial não houve diferença na proliferação vascular, que na primeira semana de evolução apresentou-se acentuada e nas semanas seguintes com moderada intensidade (p-valor igual a 0,5; 0,1421 e 0,3381 no 7º, 14º e 21º respectivamente, teste de Mann-Whitney).

Tabela II – Concentração de células mononucleares de acordo com o grupo e o período da cicatrização

Alteração histológica	7		14		21	
	C	S	C	S	C	S
Ausente	0	0	0	0	0	0
Discreto	0	0	1	1	0	2
Moderado	1	5	4	2	3	3
Acentuado	4	0	0	2	2	0
p-valor	0,0081		0,2017		0,0473	
Total	5	5	5	5	5	5

Fonte: Protocolo de pesquisa (teste de Mann-Whitney)

Tabela III – Concentração de células polimorfonucleares de acordo com o grupo e o período da cicatrização

Alteração histológica	7		14		21	
	C	S	C	S	C	S
Ausente	0	0	0	0	0	2
Discreto	0	0	2	1	1	1
Moderado	0	0	1	3	2	2
Acentuado	5	5	2	1	2	0
P-Valor	0,5		0,5		0,0473	
Total	5	5	5	5	5	5

Fonte: Protocolo de pesquisa (teste de Mann-Whitney)

A avaliação histopatológica, em amostras coradas por hematoxilina e eosina, evidenciou moderada proliferação de colágeno na primeira semana de pós-operatório e elevada intensidade nas duas semanas subsequentes, demonstrando igualdade entre dois grupos (p-valor igual a 0,3008; 0,5 e 0,5 no 7º, 14º e 21º dia de pós-operatório respectivamente; teste de Mann-Whitney). De modo semelhante, a concentração de fibroblastos não foi diferente entre os dois grupos (p-valor igual a 0,5; 0,5 e 0,3008 no 7º, 14º e 21º dia de pós-operatório; teste de Mann-Whitney).

Tabela IV – Presença de reepitelização de acordo com grupo e período da cicatrização

Alteração histológica	7		14		21	
	C	S	C	S	C	S
Ausente	5	0	0	0	0	0
Discreto	0	5	4	4	1	0
Moderado	0	0	1	1	2	1
Acentuado	0	0	0	0	2	4
p-valor	0,0045		0,5		0,1253	
Total	5	5	5	5	5	5

Fonte: Protocolo de Pesquisa (teste de Mann-Whitney)

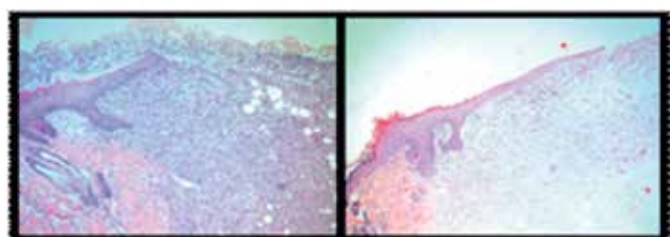


Figura 4 – Microfotografia digital evidenciando a diferença na reepitelização no 7º dia entre o GC (esq.) e o GS (dir.)

Fonte: Protocolo de pesquisa

Tabela V – Presença de necrose epitelial de acordo com o grupo e o período da cicatrização

Alteração histológica	7		14		21	
	C	S	C	S	C	S
Ausente	0	0	0	0	0	2
Discreto	0	0	1	0	1	3
Moderado	1	0	4	5	4	0
Acentuado	4	5	0	0	0	0
p-valor	0,3008		0,3008		0,0108	
Total	5	5	5	5	5	5

Fonte: Protocolo da pesquisa (teste de Mann-Whitney)

Estudo morfométrico de fibras colágenas:

Tabela VI – Proporção de tipos de colágeno I e III distribuídos por grupo e dia de avaliação

Dias	7 dias	14 dias	21 dias
Colágeno (TIPO)	I / III	I / III	I / III
GC	11,0% / 88,9%	16,4% / 83,5%	40,3% / 59,6%
GS	35,0% / 64,9%	31,6% / 68,3%	49,4% / 50,5%
Varição:	24,0%	15,2%	9,1%
Intervalo de confiança	-34,9% a 13,0%	-75,3% a 44,7%	-14,7% a -3,5%
p-valor	< 0.0001	0.1619	0.0012

Fonte: Protocolo da pesquisa (teste de T-Student)

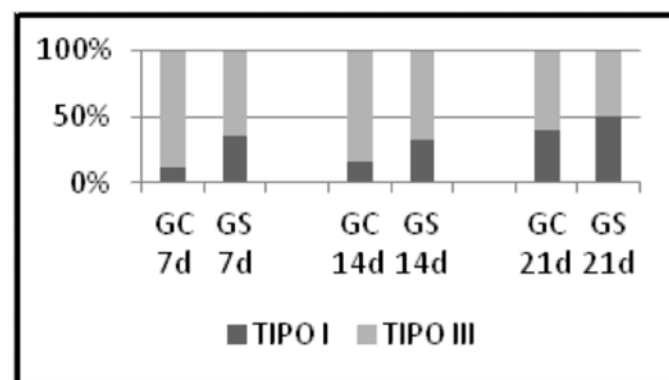


Figura 5 – Evolução da proporção entre os tipos I e III de colágeno nos grupos estudados

Fonte: Planimetria digital (2013)

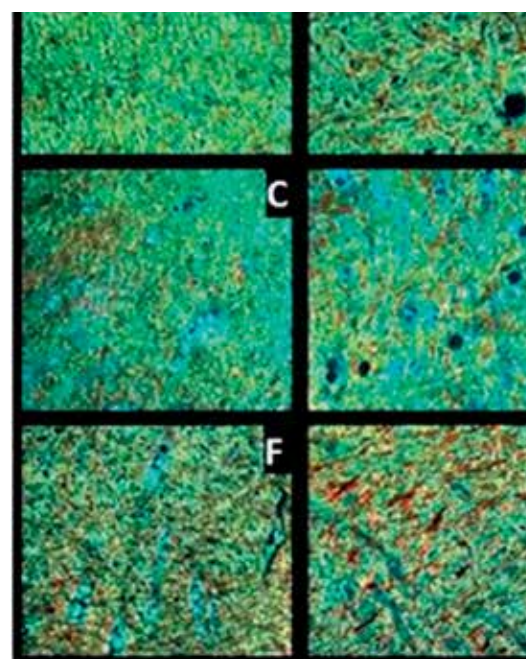


Figura 6 – Microscopia óptica digitalizada com luz polarizada em lâminas com coloração em picosiriusred-hematoxilina

Fonte: Protocolo de pesquisa

Legenda: fibras vermelhas e amarelas de forte birrefringência: colágeno tipo I; fibras verdes com birrefringência fraca: colágeno tipo III; granulações azuis: vasos sanguíneos com hemácias. A – GC após 7 dias de cicatrização; B – GS após 7 dias de cicatrização; C – GC após 14 dias de cicatrização; D – GS no 14º dia; E – GC no 21º dia; F – GS no 21º dia

DISCUSSÃO

A expressão alimento remoso, segundo a medicina popular, consiste em um grupo de contraindicações alimentares para condições que envolvem o processo saúde-doença.^{5,6}

Dentro desse processo estão inclusos momentos críticos como a cicatrização de feridas. Entretanto, é conhecido que a suplementação alimentar contribui de modo significativo e imprescindível para o adequado reparo tecidual.¹³

O presente estudo avaliou a exposição aguda à suplementação com um alimento considerado remoso por vários levantamentos.^{6,8} Isso representaria o contrassenso à forma de restrição abordada pela medicina popular, em um processo de liminaridade envolvendo tanto a presença de ferimentos, quanto o período pós-operatório.^{5,6}

Avaliação histológica e contração cicatricial:

A avaliação histológica da infiltração neutrofílica não evidenciou diferença entre os dois grupos estudados, exceto pela redução da quantidade de polimorfonucleares na 21ª semana para o GS. Do mesmo modo, a proliferação vascular e os achados neutrofílicos ocorreram de forma semelhante entre os dois grupos, apresentando pico máximo próximo ao 7º dia de evolução, conforme resultados semelhantes na literatura.¹⁴

A presença de leucócitos no sítio de reparo possui papel cada vez mais sedimentado no processo de proliferação vascular. Estudos têm evidenciado a importante função dos neutrófilos na secreção de fatores pró-angiogênicos, incluindo o VEGF-A (*vascular endothelial growth factor*) e a interleucina-20^{8,15} além da função de fagocitose e de debridamento dos tecidos desvitalizados através da secreção de espécies reativas de oxigênio e proteases.¹⁴ Assim, evidencia-se possível correlação entre a presença deste tipo celular e a intensidade da proliferação vascular nos diferentes estágios de reparo tecidual.

A contração cicatricial é fenômeno consequente à ação centrípeta de fibras elásticas da pele em resposta à ação de miofibroblastos originados de fibroblastos locais. O movimento das bordas reduz progressivamente a área de reparo cutâneo em concomitância à restituição da epiderme na região central da ferida.¹⁶

A suplementação com carne suína promoveu início de reepitelização ainda na 1ª semana. O contrário do ocorrido com o GC, no qual se mostrou presente apenas na 2ª semana de avaliação, tendo se iniciado durante esse intervalo.

Apesar da diferença apresentada na proliferação do epitélio, destaca-se a semelhança à macroscopia na contração da ferida operatória entre os grupos. Uma possível explicação para este achado seria a semelhança quanto à quantidade de fibroblastos no tecido durante os três períodos avaliados, permanecendo a proliferação fibroblástica acentuada do 7º ao 21º dia de pós-operatório em ambos os grupos.

Em relação à proliferação macrofágica, ainda que todos os papéis destas células no processo cicatricial não sejam completamente esclarecidos, a importância de sua presença no sítio lesional é inequívoca. Goren et al (2009)¹⁷ e Mirza et al (2009)¹⁸ realizaram estudos com linhagens murinas de animais com depleção severa de monócitos. Os resultados da análise da cicatrização em ratos foram: atraso do fechamento da ferida, redução da produção de tecido de granulação, redução da angiogênese, menor produção de colágeno e decréscimo nos fatores de crescimento VEGF e TGF-beta.

No presente estudo, a exposição à dieta suplementada com carne suína reduziu o grau de proliferação macrofágica em um ponto em relação ao GC, que apresentou infiltração monocitária intensa na 1ª semana de avaliação; enquanto o GS obteve moderada resposta. No entanto, correlacionou-se a redução com outras alterações que representassem atraso da cicatrização ou degeneração patológica.

Para isso, é fundamental destacar que os achados descritos pelos autores supracitados^{17,18} se relacionam à total depleção da linhagem de macrófagos.

O desenrolar de eventos bioquímicos que envolvem a síntese de colágeno no sítio lesional culmina em uma produção do subtipo III como um evento precoce em humanos, repetindo-se em modelos animais.

As fibras de colágenos são derivadas de fibroblastos locais, ativados por mediadores químicos produzidos durante o processo de cicatrização. Fibras do tipo I não são detectadas até 72 horas e representam o desenrolar do processo cicatricial aumentando seu depósito gradativamente. Acreditava-se que a forma reticular do colágeno tipo III era importante na formação da matriz que guiaria os eventos subsequentes, como depósito de colágeno de outros tipos, fibroblastos, entre outros.¹⁹

Diferente do GC, no qual a deposição do colágeno seguiu de modo semelhante a outro estudo²⁰, os resultados obtidos com a suplementação de carne suína na dieta

demonstraram incremento na deposição precoce (7 dias) e tardia (21 dias) de fibras colágenas tipo I, em consequência à substituição das fibras tipo III. Tal resultado fala a favor de maturação do tecido de reparo.

A resistência mecânica da cicatriz aumenta com a maturação e é determinada pela interação de células locais, matriz extracelular e citocinas. O marco da organização definitiva do tecido conectivo é a conversão dos fibroblastos em miofibroblastos durante a 2ª semana de cicatrização. Estudos demonstraram que o aumento da proporção de colágeno tipo III em detrimento ao tipo I no final da 2ª semana correlaciona-se com a diminuição da resistência cicatricial. Biondo-Simões et al (2010)²¹ associam esse fato à espessura e configuração espacial delicada desse tipo em relação ao colágeno tipo I, impondo menor resistência.

Fachinelli (2005)²² demonstrou em cadáveres que a linha alba daqueles portadores de hérnia abdominal anterior possui teor de 20,50% menor de colágeno tipo I do que indivíduos sãos, bem como apresenta redução de 18,05% de colágeno total, porém, sem alterações estatisticamente significativas para o tipo III.

Assim, a dieta remosa pode estar relacionada com aumento da resistência mecânica cicatricial.

A cultura da alimentação remosa e a importância da nutrição no processo cicatricial

A suplementação dietética no período pós-cirúrgico é fator que contribui significativamente para a reparação tecidual, especialmente nas fases precoces, quando micro e macroelementos são imprescindíveis.¹³

O benefício da suplementação é inquestionável em situações como a cicatrização de úlceras de pressão, assim como em situações de estresse metabólico.²³

Estudo realizado por Blassat al (2013)²⁴ indica que pacientes politraumatizados que desenvolveram atraso de cicatrização frequentemente apresentam desnutrição proteica de base, além de deficiências bioquímicas em vários micronutrientes, provavelmente devido à inflamação, aumento da demanda metabólica e estresse oxidativo.

Esse benefício também é demonstrado em outros trabalhos, como de Hunt et al (2012),²⁵ no qual foram comparadas as cicatrizações de ratos de 3 grupos: subnutridos (dieta com 40% da demanda calórica diária por 7 meses), desnutridos realimentados *ad libitum* após procedimento cirúrgico; e o grupo de animais eutróficos (controle). Como resultado, foi evidente que a realimentação *ad libitum* após a injúria tecidual em ratos inicialmente desnutridos proporcionou cicatrização sem diferenças em relação ao controle e superior aos animais mantidos em restrição calórica.

Mesmo em doenças crônicas, conhecidas pelo retardo e insuficiente reparo cicatricial, como diabetes, a suplementação de proteínas se mostrou benéfica no fechamento de feridas cutâneas em ratos. Evidenciou-se aumento da deposição de colágeno, limitação do estímulo inflamatório, além do resgate funcional de macrófagos na área de cicatrização.²⁶

No que tange à aplicação nas diversas funções orgânicas, os lipídeos apresentam propriedades intrincadas com a imunomodulação e o controle de distúrbios metabólicos por meio da modulação da transcrição de fatores de sinalizadores intracelulares que culminam no controle dos receptores moduladores da proliferação de peroxissomos.²⁷

Apesar do conhecimento da contribuição significativa da nutrição no reparo tecidual,¹³ a cultura dos alimentos remosos recomenda a restrição alimentar em momentos críticos de cicatrização.⁸

O presente estudo avaliou a exposição aguda à suplementação com um alimento considerado remoso por inquéritos populacionais.^{6,8} Isso representaria o contrassenso à forma de restrição abordada pela medicina popular, em um processo de liminaridade envolvendo tanto a presença de ferimentos, quanto o período pós-operatório.^{5,6}

A despeito da variação regional e intercomunitária, o perfil da alimentação remosa, em maioria, é composta de alguns tipos de peixe (como de esporão), carne gordurosa bovina, suína, de caça e frutos do mar, como caranguejos e camarões.⁸

A característica comum entre esses animais é o consumo final de outros animais em estado de decomposição ou a presença de alto teor gorduroso.

Brito Júnior e Estácio (2013)⁸ postulam que são possíveis, dadas as características de alguns alimentos considerados remosos, alterações ao nível de imunidade celular inata, causando o prolongamento da fase celular e vascular.

Dessa forma, graças a esse prolongamento e consequente maior conteúdo de neutrófilos no sítio cicatricial por um período extenso, poderia ocorrer incremento da degeneração fibrinoide da matriz cicatricial com piócitos e pustulização. O processo todo se daria pela persistência de níveis elevados de lipopolissacarídeos (LPS), resíduos de manose e ácidos teicoicos presentes em micro-organismos contidos na carne ingerida que não seriam neutralizados durante o cozimento.

Em contraste às hipóteses formuladas por outros autores, no presente estudo, na fase celular e vascular, não foram observadas diferenças de intensidade e duração em relação ao grupo controle. As fases apresentaram curso

idêntico durante todo o acompanhamento pós-operatório, sem evidência histológica de outras alterações negativas, o que afasta a tese do prolongamento das fases gerando pustulização da ferida operatória.

Destaca-se que a suplementação de carne suína foi igual a 50% do peso ingerido pelos animais.

No grupo submetido à alimentação com carne suína houve, ao contrário do saber popular, redução em longo prazo (21 dias) de focos de necrose no tecido, demonstrando discreto efeito protetor da suplementação sobre o GC.

Em relação a outros critérios como epitelização, focos de mononucleares e deposição de fibras colágenas, a suplementação, provavelmente pela maior disponibilidade de macroelementos críticos para o processo de cicatrização promoveu aceleração efetiva da maturação da ferida operatória com menores índices de inflamação demonstrados estatisticamente.

A resposta à exposição de lesões cutâneas à gordura saturada também já foi alvo de avaliação por outros autores. A utilização de formulações tópicas de Cocos nucifera, contendo até 90% de gordura saturada, foi capaz de reduzir o tempo de epitelização de ferimentos decorrentes de queimaduras. Do mesmo modo, também se evidenciou melhor contração da área de lesão.²⁸O presente estudo, mesmo tratando de suplementação oral, obteve resultados semelhantes na aceleração da epitelização no grupo de dieta suplementada desde a avaliação do 7º dia, diferente do GC, que obteve o início apenas na 2ª semana de avaliação.

Ao contrário da suplementação aguda pós-operatória, a exposição crônica a dietas com alto teor de ácidos graxos saturados apresenta efeitos deletérios à cicatrização. Nascimento (2011)²⁹realizou suplementação dietética crônica à base de ácidos graxos saturados durante 19 semanas em ratos propensos à obesidade, com posterior confecção de ferida cirúrgica. Os animais apresentaram contração cicatricial e epitelização deficiente. Seitz et al (2010)³⁰ evidenciaram após exposição crônica a dieta com altas taxas de gordura saturada, além de atraso na contração, importante redução na produção de VEGF. Pela exposição crônica, também se observou irregularidade em margens cicatriciais e prolongamento do processo inflamatório, exatamente o que se esperaria para a dieta remosa.

O ponto paradoxal sobre a alimentação remosa é que a suplementação avaliada, fonte de importantes macronutrientes, mostrou-se benéfica ao processo cicatricial. Por outro lado, a exposição crônica aos ácidos graxos saturados, cientificamente associados ao prejuízo do processo cicatricial,^{29,30}ocorre usualmente pela população que preserva acultura do alimento remoso.

CONCLUSÃO

O grupo submetido à dieta suplementada mostrou evolução favorável do processo cicatricial associado a menores índices de inflamação mediada por macrófagos e à reduzida presença de necrose epitelial no 21º dia, provavelmente pela reduzida quantidade de neutrófilos neste mesmo período decorrentes da dieta à qual foi submetido o GS.

Também foram evidentes efeitos benéficos como o incremento da deposição precoce de colágeno tipo I ao 7º dia e ao 21º dia e a aceleração da epitelização, iniciada ainda na 1ª semana no GS.

Provavelmente, os achados positivos estão associados ao aumento da oferta calórica e de macronutrientes presentes na nova ração e inequivocamente necessários para o fomento do processo.

A ausência de diferença na proliferação colágena à microscopia ótica reforça que resultados obtidos se devem às alterações estruturais das fibras e não à simples hiperproliferação fibrótica.

Desse modo, os resultados são contrários às orientações culturais sobre a fonte alimentar remosa. As evidências atuais apenas indicam que dietas hipercalóricas e ricas em gordura saturada seriam desfavoráveis ao processo inflamatório cicatricial se usadas de forma crônica.

AGRADECIMENTOS

Ao técnico do Laboratório de Anatomia da UEPA, Márcio Amorim, pelas contribuições no processamento do material biológico.

APOIO FINANCEIRO

Ao CNPq pela concessão das Bolsas PIBIC/2013.

SUMMARY

INCISIONAL WOUND HEALING IN RATS SUBMITTED TO FEED WITH SWINE MEAT

João Henrique Aguayo MUSSY, Antonio Carlos de Souza CORRÊA, Leandro Tsuyoshi YOKOYAMA, Edvaldo Lima SILVEIRA, Kátia Simone KIETZER e Robson José de Souza DOMINGUES

Introduction: In the popular knowledge of amazonian people, some foods may directly interfere with the healing process, and are also known as harmful food. This kind of food is contraindicated in situations of injury and postoperative period. These foods contain meat from detritivorous animals or meat with high levels of saturated fat, as pork. **Objective:** To evaluate the influence of the consumption of pork in the wound healing process. **Methods:** 30 Wistar rats were submitted to a procedure for skin excision with 4 cm² and divided into two groups with differentiated feeding: the control group, with a conventional *ad libitum* diet and the supplemented group comprised 50% of standard ration and 50% of pork meat. The animals were submitted to staggered euthanasia on day 7, 14 and 21 to capture the scar tissue and evaluation. The cicatricial contraction, histopathological changes and collagen deposition were examined. **Results:** The supplemented diet promoted a lower count of macrophages after 7 and 21 days, reduction of necrotic foci after 21 and acceleration of epithelialization. It was also evident early deposition of type I collagen over the type III collagen matrix, providing greater mechanical strength to the wound. **Conclusion:** The supplementation with pork was beneficial to scar tissue, probably due to the presence of higher levels of saturated fat and protein.

KEYWORDS: Wound healing; Nutrition Processes; Wistar Rats; Supplementary Feeding; Collagen.

REFERÊNCIAS

1. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Best practice recommendations for wound and lymphedema management. Association for the advancement of wound care leads World Health Organization initiative to establish guidelines for wound and lymphedema care. 2010 [acesso em 13 mai 2014]. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599139_eng.pdf.
2. Wild T, Rahbarnia A, Kellner M, Sobotka L, Eberlein T. Basics in nutrition and wound healing. *Nutrition*, 2010;2:862-6.
3. Silva, AL. Comida de gente: preferências e tabus alimentares entre os ribeirinhos do Médio Rio Negro (Amazonas, Brasil). *Rev. Antropol.* 2007; 50(1):125-79.
4. Moran EF. "The Adaptive System of the Amazonian Caboclos". In WAGLEY C. *Man in the Amazon*. Gainesville: University of Florida Press. 1974.
5. Braga HO, Schiavetti A. Attitudes and local ecological knowledge of experts fishermen in relation to conservation and bycatch of sea turtles (reptilia: testudines), Southern Bahia, Brazil. *J of Ethnobiol and Ethnomed* 2013;9:15.
6. Alcoforado CLGC. Entre o científico e o popular: saberes e práticas da equipe de enfermagem e clientes com feridas. Dissertação [Mestrado] 2010 [acesso em 14 abr 2014]. Disponível em: http://www.btd.ndc.uff.br/tde_arquivos/32/TDE-2011-02-04T112952Z2743/Publico/Carla%20Alcoforado-Dissert.pdf.
7. Rai MK, Cordell GA, Martinez JL, Marinoff M, Rastrelli L. *Medicinal plants: biodiversity and drugs*. CRC Press. 2012.
8. Brito Júnior LC, Estácio AG. Tabus alimentares em medicina: uma hipótese para fisiopatologia referente aos alimentos remeros. *Rev Assoc Med Bras*. 2013; 59(3):213-6.
9. Pinotti MF, Silva MD, Sugizaki MM, Novelli YSD, Sant'ana LS, Aragon FFET et al. Influências de dietas ricas em ácidos graxos saturados e insaturados sobre o miocárdio de ratos. *Arq. Bras. Cardiol*. 2007; 88(3):346-53.
10. Bragagnolo N, Rodriguez-Amaya DB. Teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em cortes de carne suína. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. 2002; 22(1):98-104.
11. Garros IC, Campos ACL, Tâmbara EM, Tenório SB, Torres OJ, Agulha MMA et al. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. *Acta Cir. Bras*. 2006; 21(3): 55-65.
12. Montes GS, Junqueira LC. The use of the Picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 1991;86 (3):1-11.

13. Lau BY, Johnston BD, Fritz PC, Ward WE. Dietary strategies to optimize wound healing after periodontal and dental implant surgery: an evidence-based review. *Open Dent J.* 2013; 5(7): 36-46.
14. Robbins SL. Robbins e Cotran: base patológica das doenças. 8ª ed. Rio de Janeiro (RJ): SaundersElsevier; 2010.
15. Eming SA, Brachvogel B, Odorisio T, Koch M. Regulation of angiogenesis: wound healing as a model. *ProgHistochemCytochem.*2007; 42(3):115-70.
16. Mcgrath MH, Simon RH. Wound geometry and the kinetics of wound contraction. *PlastReonstr Surg.* 1983; 72(1):66-73.
17. Goren I, Allmann N, Yogev N, Schürmann C, Linke A, Holdener M, et al. A transgenic mouse model of inducible macrophage depletion: effects of diphtheria toxin-driven lysozyme M-specific cell lineage ablation on wound inflammatory, angiogenic, and contractive processes. *Am J Pathol.*2009; 175:132–147.
18. Mirza R, Dipietro LA, Koh TJ. Selective and specific macrophage ablation is detrimental to wound healing in mice. *Am J Pathol.*2009; 175: 2454–62.
19. Clore JN, Cohen IK, Diegelmann RF. Quantitation of collagen types I and III during wound healing in rat skin. *ProcSocExpBiol Med.*1979;161(3):337-40.
20. Costa FL, Tiussi LD, Nascimento MS, Corrêa AC, Yasojima EY, Pires CA. Diclofenac topical gel in excisional wounds maintain heal quality and reduce phlogistic signals. *Acta Cir Bras.* 2014;29(5):328-33.
21. Biondo-Simões MLP, Zammar GR, Fernandes RS, Biondo-Simões R, Mello FRS, Noronha L. Obesity and abdominal wound healing in rats. *Acta Cir Bras.* 2010; 25(1):86-92.
22. Fachinelli A. Avaliação qualitativa e quantitativa do colágeno total, tipo I e III da linha Alba em pacientes portadores de hérnia da parede abdominal anterior. Dissertação [Mestrado]. 2005 [acesso em 10 mar. 2014]. Disponível em <http://hdl.handle.net/10183/5080>.
23. Choo Ts, Hayter M, Watson R. The effectiveness of nutritional intervention(s) and the treatment of pressure ulcers — A systematic literature review. *Int J NursPract.* 2013; 19(1): 19–27.
24. 24.Blass Sc, Goost H, Burger C, Tolba RH, Stoffel-Wagner B, Stehle P et al. Extracellular micronutrient levels and pro-/antioxidant status in trauma patients with wound healing disorders: results of a cross-sectional study. *Nutr J.* 2013, 12(1):157.
25. Nicole DH, Li GD, Zhu M, Levette A, Cbachi ME, Spangler EL et al. Effect of calorie restriction and refeeding on skin wound. *AGE.* 2012; 34(6):1453–8.
26. Badr G. Supplementation with undenatured whey protein during diabetes mellitus improves the healing and closure of diabetic wounds through the rescue of functional long-lived wound macrophages. *Cell PhysiolBiochem.* 2012;29(3):571-82.
27. Afman LA, Müller M. Human nutrigenomics of gene regulation by dietary fatty acids. *Prog Lipid Res.*2012;51(1):63-70.
28. Srivastava P, Durgaprasad S. Burn wound healing property of *Cocosnucifera*: An appraisal. *Indian J Pharmacol.* 2008; 40(4):144-6.
29. Nascimento AP. Efeitos de uma dieta hiperlipídica e de uma droga anti-inflamatória não-esteróide inibidora seletiva da ciclo-oxigenase-2 sobre a cicatrização cutânea de ratos *Wistar* propensos e resistentes a obesidade. Tese [Doutorado] – Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, 2011.
30. Seitz O, Schürmann C, Hermes N, Müller E, Pfeilschifter J, Frank S et al. Wound healing in mice with high-fat diet- or ob gene-induced diabetes-obesity syndromes: a comparative study. *Exp Diabetes Res.* 2010;2010:476969.

Correspondência:

ROBSON JOSÉ DE SOUZA DOMINGUES
 Travessa Perebebuí, 2623
 Bairro: Marco
 CEP: 66033-773
 Belém- Pará
 Email: domingues100@yahoo.com.br

ANTONIO CARLOS DE SOUZA CORRÊA
 Travessa WE 81, 532/Conjunto Cidade Nova VI
 Bairro: Coqueiro /ANANINDEUA-PA CEP: 67140-220
 Telefone: (091) 8222-8470
 E-mail: antoniocarlos.md@hotmail.com

Recebido em 18.09.2014 – Aprovado em 24.09.2014