

### CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

André Laureano<sup>1</sup>, Ana Maria Rodrigues<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Interno do Internato Complementar de Dermatologia e Venereologia / Resident, Dermatology and Venereology

<sup>2</sup>Assistente Hospitalar Graduada de Dermatologia e Venereologia / Graduated Consultant, Dermatology and Venereology  
Consulta de Úlcera de Perna, Serviço de Dermatologia e Venereologia, Hospital de Curry Cabral, Lisboa, Portugal

**RESUMO** – A cicatrização de feridas constitui um processo complexo e coordenado, envolvendo a interacção entre células e vários sistemas mensageiros. Este processo pode dividir-se em 3 fases: inflamatória, proliferativa e de remodelação. O mecanismo exacto das feridas crónicas permanece ainda por esclarecer. Os avanços recentes da biologia molecular permitiram identificar moléculas que evidenciaram novos mecanismos fisiopatológicos das feridas crónicas, assim como possíveis alvos terapêuticos. Este artigo tem como objectivo uma revisão dos mecanismos envolvidos na cicatrização, pilar fundamental para a compreensão e abordagem de doentes com feridas crónicas, prática corrente em Dermatologia.

**PALAVRAS-CHAVE** – Cicatrização; Factores de Crescimento; Matriz Extra-celular; Integrinas; Feridas Crónicas.

### WOUND HEALING

**ABSTRACT** – Wound healing is a complex and coordinated process which involves the interaction between cells and many signaling systems. This process is basically divided into 3 phases: inflammation, proliferation and tissue remodeling. The exact mechanism of chronic wounds remains unclear. Recent developments in molecular biology allowed the identification of many new molecules that provided new insights in chronic wound pathology and treatment. We discuss the mechanisms involved in wound healing, as well as recent developments in the field, providing a comprehensive overview on wound healing.

**KEY-WORDS** – Wound Healing; Fibroblast Growth Factors; Extracellular Matrix; Integrins; Chronic Disease.

**Conflitos de interesse:** Os autores declaram não possuir conflitos de interesse.  
*No conflicts of interest.*

#### Correspondência:

Dr. André Laureano

Serviço de Dermatologia e Venereologia

Hospital de Curry Cabral

Rua da Beneficência, n.º8

1069-166 Lisboa, Portugal

E-mail: andre.oliveira@sapo.pt

# Educação Médica Contínua

## INTRODUÇÃO

As feridas resultam de uma disrupção da integridade cutânea. A cicatrização de feridas é um processo dinâmico que inclui vários níveis de organização temporal ou sequencial e funcional, envolvendo a interação entre células e sistemas mensageiros (Fig. 1). Compreende três fases sobrepostas: inflamatória, proliferativa e de remodelação<sup>1</sup>.

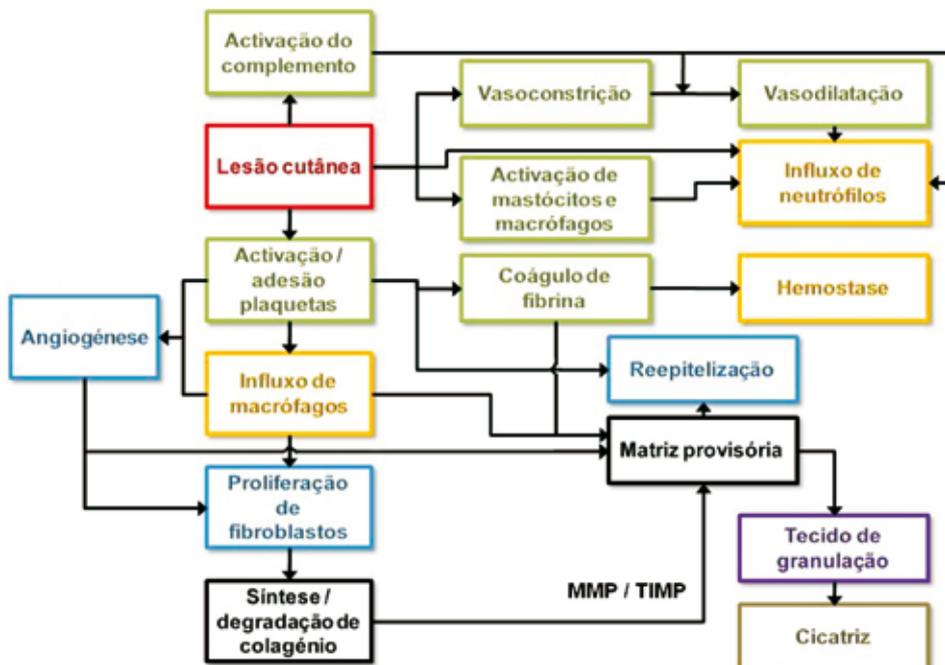
O objectivo final destes fenómenos complexos e coordenados será a formação de um tecido de estrutura e função semelhantes às da pele íntegra, embora a sua regeneração seja infrequente.

A evolução temporal, organizada e sobreposta destas fases constitui o protótipo da cicatrização fisiológica de uma ferida aguda (Fig. 2).

A prevalência das feridas crónicas na Europa estima-se em 1%, verificando-se que 85% das mesmas



**Fig. 1** - Complexidade da cicatrização: interação entre células e sistemas mensageiros e a influência de factores locais, sistêmicos e genómicos.



**Fig. 2** - Fases da cicatrização.

# Educação Médica Contínua

ocorrem em doentes com mais de 65 anos, implicando importantes limitações funcionais, diminuição da qualidade de vida, dor crónica e complicações associadas, destacando-se as infecções locais. Tudo isto com repercussão psicossocial nos doentes e suas famílias, assim como significativos custos acrescidos nos cuidados de saúde<sup>2</sup>.

## I – CICATRIZAÇÃO

### 1. Fase inflamatória

A primeira fase do processo de cicatrização inclui uma etapa precoce caracterizada por fenómenos vasculares, hemostase e coagulação, e outra por mecanismos predominantemente celulares. A hemostase pode ser considerada como uma fase distinta.

A lesão inicial dos tecidos induz dano vascular com hemorragia local. A resposta inflamatória hiperaguda, traduzida clinicamente pelos sinais cardinais de inflamação, pode durar geralmente 24 a 48 horas, podendo persistir até 2 semanas. Esta lesão expõe o colagénio da matriz extra-celular (MEC) permitindo a activação das plaquetas, a sua adesão, agregação e secreção de vários mediadores facilitadores da coagulação, permitindo a hemostase. As plaquetas são também responsáveis pela secreção de quimiocinas (Tabela 1) e de factores de crescimento (Tabela 2) que permitem a infiltração celular de leucócitos no local da ferida, incluindo neutrófilos e macrófagos<sup>3</sup>.

Deste modo, distinguem-se duas etapas caracterizadas por mecanismos distintos, vasculares e celulares, cada uma deles com células efectoras predominantes e influência de vários mediadores químicos.

#### 1.1. Mecanismos vasculares

A hemostase inclui a formação de um coágulo de fibrina e a coagulação. Tal como referido, as plaquetas são a primeira célula envolvida no processo de cicatrização. Após exposição à MEC, são activadas pelos componentes desta, presentes na parede vascular, o colagénio fibrilhar e a fibronectina. Após activação, segue-se a adesão, agregação, libertação de mediadores vasoactivos (serotonina, ADP, tromboxano A<sub>2</sub>) ou de proteínas de adesão (fibrinogénio, fibronectina, trombospondina e factor de Von Willebrand) e activação de enzimas (factor de Hageman). Estes mediadores perpetuam a activação e secreção plaquetárias, assim como a transformação, por parte da trombina produzida localmente, do fibrinogénio em fibrina<sup>4</sup>.

**Tabela 1 - Influência de mediadores químicos na cicatrização**

Mediadores químicos				
Moléculas	Quimiotaxia	Acção Vascular		
		Constricção	Dilatação	Permeabilidade
<b>Aminas Vasoactivas</b>				
Histamina			+	+
Serotonina	+			
<b>Proteases plasmáticas</b>				
Bradicinina			+	+
Sistema complemento	+		+	+
<b>Sistema de coagulação</b>				
Factor de Hageman (XII)				+
Factor XIIIa				+
Heparina				
FAP	+		+	+
Mediadores plaquetários	+	+		
<b>Derivados do ácido araquidónico</b>				
PGs	+		+	
LTs	+	+		+
<b>Citocinas / Factores de crescimento</b>				
ILs, TNF	+			
PDGF, TGF	+			
<b>Radicais livres</b>				
Espécies reactivas de O		+		+
NO			+	

FAP – factor activador de plaquetas; PGs – prostaglandinas; LTs – leucotrienos; NO – óxido de azoto; ILs – interleucinas; TNF – factor de necrose tumoral; PDGF – factor de crescimento derivado das plaquetas; TGF – factor de crescimento de transformação

Um segundo componente da hemostase é a cascata da coagulação, pelas vias intrínseca e extrínseca. A primeira inicia-se pela activação do factor XII e, a última, pela libertação do factor tecidual pelos tecidos lesados.

As plaquetas também contribuem para os mecanismos celulares da fase inflamatória e para as etapas da fase proliferativa, porque o coágulo de fibrina

## Educação Médica Contínua

**Tabela 2 - Importância dos factores de crescimento na cicatrização**

Factor de Crescimento	Origem	Função
EGF	Plaquetas Macrófagos Queratinócitos	Proliferação e migração de queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais
FGF	Macrófagos Células endoteliais Fibroblastos	Angiogénese Proliferação dos fibroblastos Contração da ferida
KGF	Fibroblastos	Proliferação e migração dos queratinócitos
PDGF	Plaquetas Macrófagos Células endoteliais Fibroblastos	Activação de macrófagos, neutrófilos e fibroblastos Proliferação de fibroblastos, células endoteliais e músculo liso vascular
TGF- $\alpha$	Células epidérmicas Macrófagos Plaquetas	Angiogénese Proliferação de fibroblastos e queratinócitos
TGF- $\beta$	Plaquetas Macrófagos Fibroblastos Queratinócitos Neutrófilos	Metabolismo do colagénio Aumento da força de tensão da ferida Angiogénese Quimiotaxia dos macrófagos Proliferação dos fibroblastos
TNF- $\alpha$	Neutrófilos Macrófagos	Estímulo de outros factores de crescimento Activação de neutrófilos e macrófagos Proliferação de fibroblastos
VEGF	Células epidérmicas Macrófagos Neutrófilos	Proliferação e migração de células endoteliais Aumento da permeabilidade vascular

EGF – factor de crescimento epidérmico; FGF – factor de crescimento dos fibroblastos; KGF – factor de crescimento dos queratinócitos; PDGF – factor de crescimento derivado das plaquetas; TGF- $\alpha$  – factor de crescimento de transformação- $\alpha$ ; TGF- $\beta$  – factor de crescimento de transformação- $\beta$ ; TNF- $\alpha$  – factor de necrose tumoral- $\alpha$ ; VEGF – factor de crescimento do endotélio vascular

constitui uma matriz provisória para a migração de várias células (leucócitos, queratinócitos, células endoteliais, fibroblastos) e é reservatório de factores de crescimento. As células plaquetárias também secretam vários factores de crescimento (factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), factor de crescimento de transformação- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), factor de crescimento de transformação- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) e factor de crescimento epidérmico (EGF) igualmente importantes na progressão normal da cicatrização<sup>5</sup>.

### 1.2. Mecanismos celulares

Esta etapa é dominada pelo influxo local de leucócitos, numa fase precoce com predomínio de neutrófilos e monócitos e, posteriormente, com declínio no número de neutrófilos e predomínio de macrófagos<sup>6</sup>. Para além do contributo celular, estes mecanismos são igualmente dependentes de mediadores químicos (Tabela 1).

Os neutrófilos e os monócitos são recrutados ao local da ferida por quimiocinas libertadas durante a fase de hemostase e por mastócitos.

Os neutrófilos desempenham funções de lise e de fagocitose de bactérias e proteínas presentes no leito da ferida<sup>7</sup>. A infiltração por neutrófilos pode durar normalmente alguns dias, podendo prolongar-se nas situações de contaminação da ferida. Estas células são também responsáveis pela libertação de proteases (colagenase e elastase) que permitem a sua passagem pela membrana dos vasos. Os receptores de integrina presentes na superfície destas células vão permitir a sua comunicação com a MEC<sup>8,9</sup>.

Os monócitos são inicialmente recrutados pelas mesmas quimiocinas que os neutrófilos. No entanto, o seu recrutamento é prolongado pela acção de quimiocinas específicas dos monócitos, incluindo a quimiocina dos monócitos-1 e a proteína inflamatória dos macrófagos-1<sup>10</sup>. Os produtos de degradação da MEC, como o colagénio, a fibronectina e a trombina, são também específicos para os monócitos.

Os macrófagos são considerados como a célula reguladora mais importante da fase inflamatória. Permite a lise e a fagocitose, contribuindo para a progressão da cicatrização para a fase proliferativa, através da indução da angiogénese e da formação de tecido de granulação<sup>11</sup>. São também responsáveis pela libertação de vários factores de crescimento (PDGF, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , factor de crescimento dos fibroblastos (FGF) e factor de crescimento do endotélio vascular (VEGF). É importante distinguir que o TGF- $\beta$ 1 e o TGF- $\beta$ 3 têm funções distintas, o primeiro estimulando a cicatrização e o segundo inibindo-a (Tabela 2)<sup>12</sup>. Os macrófagos desempenham funções importantes na migração celular e síntese da MEC, sendo células importantes na transição entre a inflamação e a fase proliferativa.

Tal como na etapa anterior, destaca-se a importância dos mediadores químicos na progressão e regulação dos vários fenómenos envolvidos. Estes mediadores podem ser agrupados em aminas vasoactivas (histamina e serotonina), proteases plasmáticas (cininas e sistema complemento), proteínas da coagulação, derivados do ácido araquidónico (prostaglandinas e leucotrienos), radicais livres, citocinas e factores de crescimento (Tabela 1).

### 2. Fase proliferativa

Nesta fase verifica-se um franco predomínio de mecanismos celulares que permitem a produção de uma nova barreira permeável (reepitelização), neovasos (angiogénese) e reestruturação da integridade da derme (fibroplasia) (Fig. 3)<sup>4</sup>.

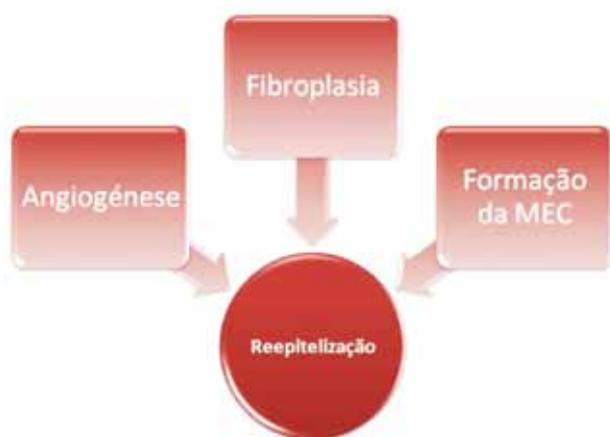


Fig. 3 - Fase proliferativa da cicatrização.

#### 2.1. Reepitelização

Este processo permite reconstituir a integridade da permeabilidade da epiderme após a lesão inicial e resulta de vários mecanismos: migração e diferenciação dos queratinócitos, diferenciação do neo-epitélio e reestruturação da membrana basal.

##### 2.1.1. Migração dos queratinócitos

Ocorre nas primeiras 24 horas após a lesão cutânea inicial. Para a sua compreensão é necessário distinguir entre feridas de espessura total e parcial. As primeiras envolvem a epiderme, toda a espessura da derme e estruturas profundas, enquanto que as segundas envolvem apenas a epiderme e as camadas superficiais da derme. Ou seja, os anexos são poupados podendo constituir uma fonte de queratinócitos, para além do reservatório presente nos bordos da ferida, o que não se verifica nas feridas de espessura total, onde o processo de contracção assume uma importância superior. Deste modo, a migração de queratinócitos inicia-se a partir dos bordos da ferida (feridas de espessura total e parcial) e apêndices cutâneos (feridas de espessura parcial)<sup>13</sup>.

A migração é precedida de algumas alterações estruturais nos queratinócitos, incluindo alongamento, perda dos contactos célula-célula e célula-matriz,

retracção dos tonofilamentos intracelulares e formação de filamentos de actina<sup>14</sup>. Durante a migração dos queratinócitos, o seu potencial proliferativo encontra-se inibido. Encontram-se identificados vários factores que contribuem para a migração:

- Receptores das integrinas presentes na superfície dos queratinócitos: permitem a comunicação com a fibronectina da MEC<sup>8,9</sup>;
- Metaloproteinasas (MMPs): produzidas pelos queratinócitos em migração, nomeadamente a MMP-9, que degrada a ligação ao colagénio tipo IV e laminina da membrana basal, e a MMP-1 que permite a interrupção da ligação às fibrilhas de colagénio<sup>15</sup>;
- MEC provisória formada por fibrina, fibronectina e colagénio tipo V<sup>16</sup>.

##### 2.1.2. Proliferação dos queratinócitos

A proliferação inicia-se geralmente 1 a 2 dias após a lesão inicial e permite o suprimento de células para a migração e formação do novo epitélio. Após a migração, segue-se então a reestruturação da membrana basal, a ligação das células ao substrato subjacente e a diferenciação do neo-epitélio.

O índice proliferativo é superior no centro da ferida, correspondendo à ponta da coluna de migração de queratinócitos que se estende a partir das margens da ferida (de acordo com o mecanismo de *train method* proposto para a migração dos queratinócitos). Pelo contrário, a diferenciação é superior nas margens, o que pode justificar a presença de uma única coluna de queratinócitos no centro e a presença de várias camadas de queratinócitos estratificados na periferia. A proliferação ocorre apenas em todos os queratinócitos quando se verifica uma camada completa destas células a envolver a ferida<sup>17</sup>.

A reestruturação da membrana ocorre cerca de 7 a 9 dias após o início da reepitelização, devolvendo a adesão aos queratinócitos da base e estabilização da derme.

Os factores de crescimento EGF, TGF- $\alpha$  e factor de crescimento dos queratinócitos (KGF) desempenham funções importantes na migração e proliferação dos queratinócitos (Tabela 2).

#### 2.2. Angiogénese

A reconstrução da derme inicia-se 3 a 4 dias após a lesão inicial e caracteriza-se pela formação de tecido de granulação.

A angiogénese representa o crescimento de novos vasos a partir da proliferação de vasos pré-existent adjacentes ao bordo da ferida e inclui: activação e

## Educação Médica Contínua

proliferação das células endoteliais, formação da estrutura tubular do vaso e reconstrução da sua membrana basal, com posterior regressão e involução destes vasos na remodelação<sup>18</sup>.

Os neovasos permitem a síntese do tecido de granulação através do adequado aporte local de oxigénio, nutrientes e recrutamento de células inflamatórias.

Os factores de crescimento são fundamentais para o desenvolvimento deste processo, nomeadamente o VEGF, produzido por macrófagos respeitando um gradiente de angiogénese estabelecido pela baixa pressão parcial de oxigénio nos tecidos lesados e por um pH ácido<sup>19</sup>. É igualmente produzido por macrófagos, queratinócitos e neutrófilos (Tabela 2).

O VEGF é um importante mitogénio para a migração de células endoteliais e contribui para o aumento da expressão de receptores das integrinas. Exerce a sua acção em dois receptores específicos: tipo 1 e tipo 2. Por outro lado, estimula a produção de Bcl2, que pela sua actividade anti-apoptósica permite a manutenção da integridade das células endoteliais<sup>20</sup>.

Destaca-se ainda a importância dos componentes da MEC, pelo suporte que fornecem para a migração das células endoteliais, nomeadamente as lamininas 8 e 10<sup>21</sup>.

### 2.3. Fibroplasia

Esta fase inclui a síntese de colagénio e de outras proteínas da MEC, envolvendo a migração e proliferação dos fibroblastos para o coágulo de fibrina formado precocemente no processo de cicatrização.

A migração de fibroblastos é uma resposta precoce à lesão, enquanto que a sua proliferação ocorre cerca de 4 dias depois, através da MEC provisória<sup>22</sup>. Após a migração, ocorrem alterações estruturais nos fibroblastos que facilitam, por um lado, a síntese de proteínas e, por outro, na sua variante fenotípica de miofibroblasto, a sua participação na contracção da ferida<sup>23</sup>.

A fibroplasia também depende da acção de vários factores de crescimento. O PDGF e o TGF- $\beta$  promovem a proliferação dos fibroblastos e o aumento da expressão dos receptores das integrinas. O EGF e o FGF promovem não só a proliferação, como também a migração dos fibroblastos (Tabela 2)<sup>24</sup>. As enzimas derivadas dos fibroblastos (colagenase, gelatinase, activador do plasminogénio) também permitem a migração<sup>25</sup>.

A proliferação dos fibroblastos é estimulada pela baixa pressão parcial de oxigénio e pH ácido nos tecidos lesados (factores que são atenuados pela progressão da angiogénese) e pelas proteínas da MEC, destacando-se a fibronectina que fornece uma base aderente para a migração.

### 3. Remodelação

Esta fase consiste na deposição de novos elementos da MEC e na sua alteração com o tempo. Ocorre ao longo de todo o processo de cicatrização à medida que o coágulo de fibrina é substituído por tecido de granulação.

Na fase inicial ocorre deposição de fibronectina, colagénio, ácido hialurónico e proteoglicanos. Nesta fase, o tecido de granulação é rico em colagénio tipo III e vasos, sendo progressivamente substituído por uma cicatriz com predomínio de colagénio tipo I<sup>26</sup>. As fibras de colagénio tipo I são dominantes no adulto, cerca de 89% do total. As fibras de colagénio tipo III começam a ser produzidas cerca de 48 a 72 horas após a lesão, com secreção máxima após 5 a 7 dias e um máximo acumulado após 2 a 3 semanas. Ao longo do ano seguinte, ocorre então a substituição progressiva do colagénio tipo III por colagénio tipo I, estável e semelhante ao pré-lesional. Paralelamente, a força de tensão aumenta, após 1 mês correspondendo a cerca de 40% do verificado na pele íntegra e ao fim de 1 ano com um valor máximo de 70%<sup>27</sup>. A degradação do colagénio tipo III ocorre simultaneamente à síntese do novo colagénio tipo I (Fig.4). Este equilíbrio resulta da actividade combinada de MMPs e de inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMPs)<sup>28</sup>.

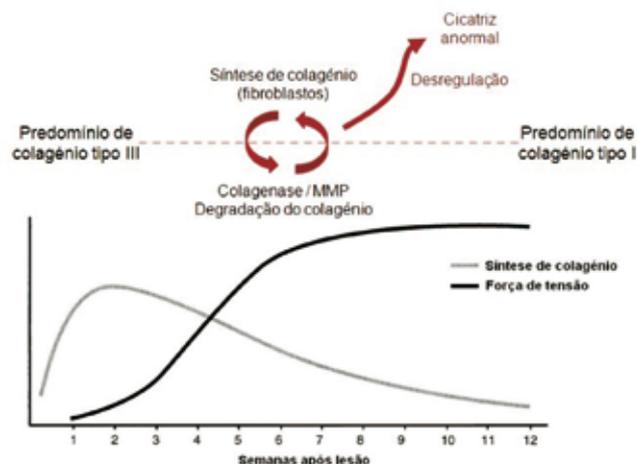


Fig. 4 - Remodelação.

A contracção da ferida inicia-se logo após a lesão e atinge o seu máximo após 2 semanas. Este mecanismo adquire maior importância, como referido anteriormente, nas feridas de espessura total, onde é responsável

pela redução de cerca de 40% da dimensão da ferida. O principal mediador deste processo é o miofibroblasto, resultante de alteração fenotípica do fibroblasto durante a síntese de tecido de granulação. A contração ocorre ao longo da direcção das linhas de tensão cutânea e depende de vários mediadores (serotonina, bradicinina, epinefrina, angiotensina) e da comunicação entre as células e a MEC (fibronectina).

Os miofibroblastos produzem fibronectina, colagénio, ácidos aminoglicanos e trombospondina<sup>4</sup>. A fibronectina é responsável pela ligação dos fibroblastos à MEC<sup>29</sup>.

#### 4. Receptores das integrinas

Os receptores das integrinas estão envolvidos em todas as fases da cicatrização. As integrinas constituem uma família de proteínas heterodiméricas transmembranares, cada uma com uma cadeia  $\alpha$  e uma cadeia  $\beta$ . Funcionam como mediadores das interacções entre células e entre células e proteínas da MEC, o que permite a transdução de sinais entre elas. Muitas vias de sinalização activadas por integrinas são igualmente activadas pelos factores de crescimento envolvidos no processo de cicatrização, o que sugere uma acção sinérgica<sup>8,9</sup>.

## II – FERIDAS CRÓNICAS

As feridas crónicas distinguem-se por não seguirem o processo dinâmico e fisiológico da cicatrização (Fig. 5), resultando numa descoordenação multi-sequencial que perturba a recuperação da integridade anatómica e funcional no intervalo de tempo normal (6 semanas) (Fig. 6)<sup>30</sup>.

O diagnóstico diferencial das feridas crónicas é amplo, destacando-se como principais causas, a insuficiência venosa crónica dos membros inferiores, as alterações vasculares e neuropáticas periféricas associadas à Diabetes mellitus e as úlceras relacionadas com mecanismos de pressão<sup>6</sup>.

A fisiopatologia das feridas crónicas ainda não se encontra totalmente esclarecida, podendo incluir vários factores, como uma menor actividade mitogénica, o envelhecimento precoce dos fibroblastos, uma maior actividade das MMPs, condicionando maior degradação da MEC, e mecanismos inflamatórios persistentes (Fig. 7)<sup>31-35</sup>.

### 1. Fase inflamatória

A inflamação persistente pode explicar-se pela presença de tecido necrótico, corpos estranhos, contaminação

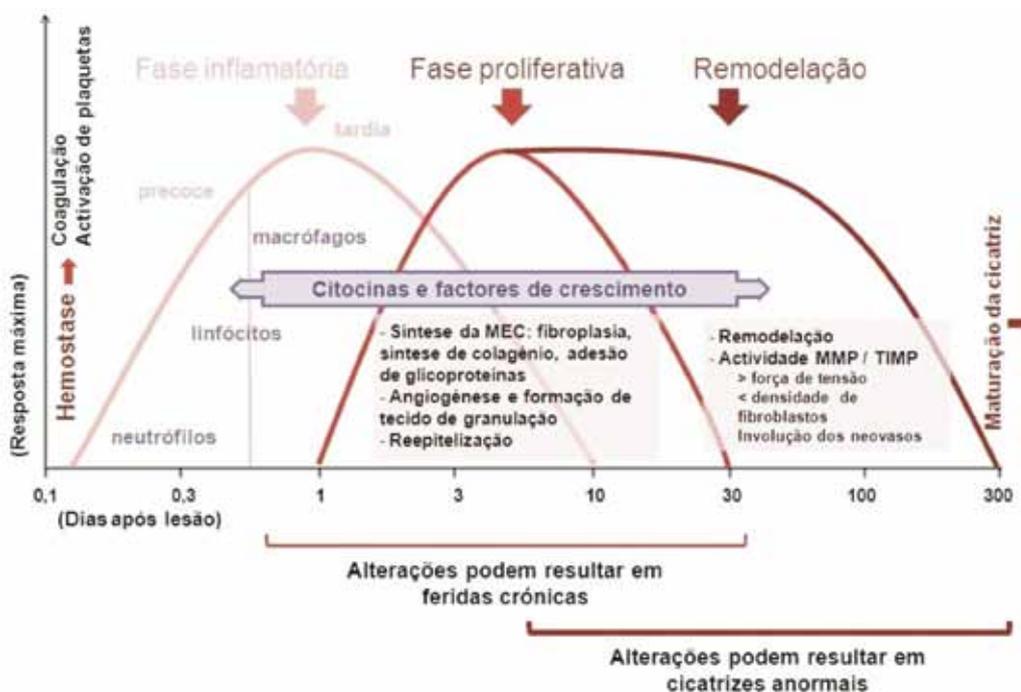
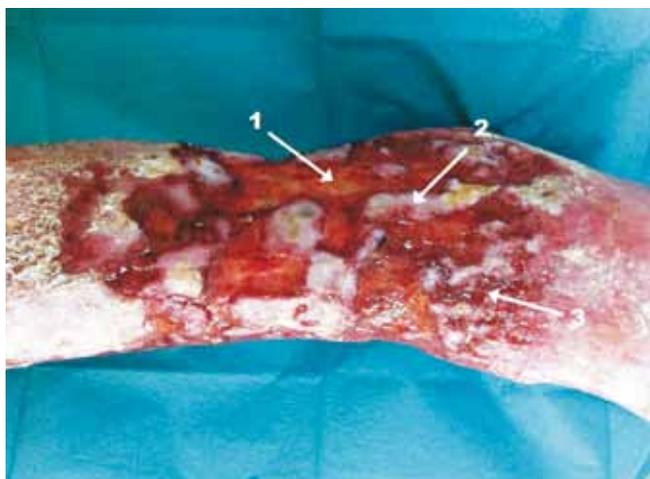
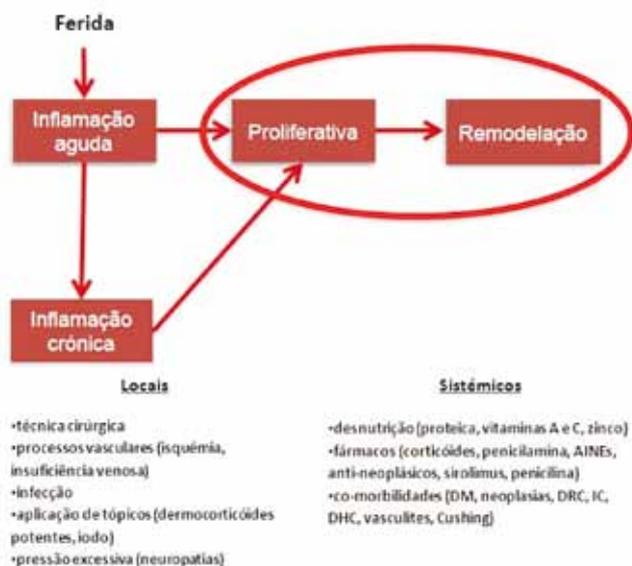


Fig. 5 - Evolução coordenada e sequencial da cicatrização.

# Educação Médica Contínua



**Fig. 6** - Úlcera de perna crónica: persistência e coincidência de várias fases da cicatrização; 1 – persistência de inflamação (fibrina); 2 – fase proliferativa (tecido de granulação); 3 – área de reepitelização.



**Fig. 7** - Feridas crónicas: persistência da fase proliferativa e alteração da remodelação – influência de factores locais e sistémicos; DM – Diabetes mellitus; DRC – doença renal crónica; IC – insuficiência cardíaca; DMC – doença hepática crónica.

bacteriana, com perturbação do equilíbrio entre factores pro-inflamatórios e anti-inflamatórios. A regulação de genes que codificam factores de crescimento, citocinas ou quimiocinas é fundamental na manutenção desse equi-

líbrio, destacando-se nesse sentido o factor relacionado com NF-E2, cujo gene é alvo do KGF<sup>36</sup>.

O bloqueio de genes que codificam factores anti-inflamatórios, como a proteína inibidora-1 da secreção dos leucócitos, prolonga a fase inflamatória<sup>37</sup>. Pelo contrário, o bloqueio da conexina-43, responsável pela migração e proliferação celulares, diminui a reacção inflamatória e, por consequência, o tempo de cicatrização<sup>38</sup>.

A identificação de peptídeos anti-microbianos também contribuiu para a compreensão dos mecanismos das feridas crónicas, nomeadamente a catelicidina LL-37, responsável pela regulação da inibição da síntese de citocinas e de radicais livres de oxigénio, exercendo também actividade anti-microbiana, limitando deste modo o processo inflamatório, a que se acresce a activação do EGF, que facilita a migração e proliferação dos queratinócitos<sup>39</sup>.

O stress oxidativo também contribui para o atraso na cicatrização, pela produção local de espécies reactivas de oxigénio. A peroxirredoxina-6, recentemente identificada, permite a protecção das células endoteliais e dos queratinócitos da acção lesiva dessas espécies reactivas. Deste modo, um défice de peroxirredoxina-6 pode contribuir para a perpetuação dos mecanismos inflamatórios<sup>40</sup>.

## 2. Fase proliferativa

O processo de angiogénese depende da síntese de VEGF pelos macrófagos, cuja alteração funcional é controlada por duas proteínas recentemente identificadas: a cinase associada ao receptor da IL-1 tipo 4 e o factor 6 associado ao receptor do factor de necrose tumoral. Para além do VEGF, foram igualmente identificados outros factores indutores da angiogénese, destacando-se o indutor angiogénico rico em cisteína-61 (Cyr61)<sup>41</sup> e o neuropeptídeo Y<sup>42</sup>. Vários estudos mostraram que o défice desses factores diminui a formação de neovasos, contribuindo para a hipóxia local e atraso na cicatrização. A hipóxia induz a actividade da molécula alvo mamífero da rapamicina (mTOR) cuja função também inclui a estimulação da angiogénese<sup>43</sup>.

A proliferação dos fibroblastos e a síntese de colagénio dependem da expressão do receptor- $\alpha$  da IL-27 e da actividade da arginase, ambos dependentes da IL-4 e da sua acção na promoção da interacção entre macrófagos e fibroblastos.

Durante a fibroplasia foram também identificados níveis elevados de matrilina-2<sup>44</sup>, uma proteína

## Educação Médica Contínua

componente das redes de filamentos extra-celulares, que poderá contribuir para a proliferação dos fibroblastos. Depende também da razão entre activinas e folistatina e da via de sinalização da esfingosina<sup>45</sup>.

A reepitelização depende do EGF, da activação da mTOR pelo factor de crescimento dos hepatócitos (HGF), com a sua activação nos receptores c-met dos queratinócitos, e pela produção de queratina-17<sup>46</sup>. A LL-37, como referido anteriormente, apresenta actividade anti-bacteriana, logo, admitindo-se a colonização bacteriana como possível mecanismo associado às feridas crónicas, a sua deficiência pode contribuir para um atraso na cicatrização, podendo esta molécula constituir um futuro alvo no tratamento de úlceras crónicas, através da sua suplementação.

A leptina estabelece ligação com a MEC através de galectinas presentes nos seus podossomas, permitindo a migração e proliferação dos queratinócitos. Nesse sentido, a galectina-7 assume particular importância, conforme verificado pela evolução favorável da cicatrização em feridas crónicas tratadas com galectina-7 tópica. Deste modo, a deficiência de leptina, associada à obesidade e Diabetes *mellitus*, pode contribuir para um atraso na cicatrização<sup>47</sup>. Nos doentes diabéticos, o atraso da fase proliferativa pode também ser explicado pela acumulação de produtos finais da glicação avançada e pelas alterações microvasculares.

Na fase proliferativa, foi igualmente identificada uma deficiência de c-Met, receptor do HGF, especificamente nos bordos da ferida, o que justifica a diferença na expressão de HGF entre as feridas crónicas e agudas, aumentada nas primeiras, permitindo estabelecer a importância do c-Met no processo de reepitelização<sup>48</sup>.

### 3. Remodelação

Esta fase é regulada por proteases, cuja conformação e actividade coordenada dependem de factores locais, como o pH e a colonização bacteriana do local da ferida. As MMPs são reguladas positivamente pela mTOR e inibidas pelos TIMPs e pela  $\alpha$ 1-quitotripsina. Destaca-se a importância das MMPs na degradação dos componentes da matriz provisória e dos TIMPs no equilíbrio entre degradação e síntese. Uma redução na razão entre a actividade das MMPs e das TIMPs é importante na etiologia da úlcera do pé diabético. Do mesmo modo, a relação entre as várias MMPs é significativa, destacando-se a relação entre a MMP tipo 1 e a tipo 8, com níveis mais elevados da última a comprometer o processo de cicatrização. A utilização de derivados

sintéticos de MMPs e TIMPs pode vir a adquirir importância no tratamento de feridas.

O sindecano-4 nos fibroblastos, um co-receptor recentemente identificado, facilita a interacção entre a MEC, os receptores de integrina  $\beta$ 1 e os receptores dos factores de crescimento. É sintetizado logo após a lesão cutânea e a sua deficiência associa-se a um atraso da cicatrização<sup>49</sup>.

### 4. Biologia molecular e novos alvos terapêuticos

Todas as moléculas referidas poderão constituir novos alvos na abordagem terapêutica das feridas crónicas (Tabela 3). É possível destacar a utilização de peptídeos anti-microbianos, polímeros biodegradáveis de FGF, uso de queratinócitos alogénicos, aumento local da calreticulina (importante em todas as fases da cicatrização)<sup>50</sup> e inibição da mTOR. Esta última foi possível localmente pela aplicação tópica de sirolimus, importante na prevenção de cicatrizes hipertróficas e quelóides. Pelo contrário, a inibição sistémica da mTOR pela terapêutica com imunossuppressores em doentes transplantados pode contribuir para um atraso na cicatrização.

**Tabela 3 - Novos mecanismos moleculares envolvidos na fisiopatologia das feridas crónicas**

Fase inflamatória
<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↓ proteína inibidora-1 da secreção dos leucócitos</li> <li>- ↑ conexina-43</li> <li>- ↓ catelicidina LL-37</li> <li>- ↓ peroxirredodina-6</li> </ul>
Fase proliferativa
<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↓ cinase associada ao receptor de IL-1 tipo 4</li> <li>- ↓ indutor angiogénico rico em cisteína-61</li> <li>- ↓ neuropeptídeo <math>\gamma</math></li> <li>- ↓ mTOR</li> <li>- ↓ leptina</li> <li>- ↓ receptor c-met</li> </ul>
Remodelação
<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↓ sindecano-4</li> </ul>

### CONCLUSÃO

O processo de cicatrização é complexo, envolvendo a interacção entre células e vários sistemas mensageiros inter e intra-celulares, destacando-se as citocinas e os factores de crescimento.

## Educação Médica Contínua

Os avanços da biologia molecular e celular permitiram identificar uma variedade de células, moléculas e cascatas de sinalização envolvidas no processo de cicatrização e que poderão constituir futuros alvos terapêuticos.

### REFERÊNCIAS

1. Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg.* 2005; 31:674-86.
2. Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF. Impaired wound healing. *Clin Dermatology.* 2007;25: 19-25.
3. Ramasastry SS. Acute wounds. *Clin Plast Surg.* 2005;32(2):195-208.
4. Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 1999;341:738-46.
5. Kirsner RS, Eaglstein WH. The wound healing process. *Dermatol Clin.* 1993;11:629-40.
6. Nwomeh BC, Yager DR. Physiology of the chronic wound. *Clin Plast Surg.* 1998;25:341-56.
7. Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leucocyte in wound repair: a study with antineutrophil serum. *J Clin Invest.* 1972;51:2009-23.
8. Giancotti FG, Ruoslahti E. Integrin signaling. *Science.* 1999;285:1028-32.
9. Mercurio AM. Lessons from the alpha 2 integrin knockout mouse. *Am J Pathology.* 2002;161:3-6.
10. Kunkel SL, Standiford T, Kasahara K, Strieter RM. Stimulus specific induction of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene expression. *Adv Exp Med Biol.* 1991;305:65-71.
11. Lewis JS, Lee JA, Underwood JC, Harris AL, Lewis CE. *J Leukoc Biol.* 1999;66(6):889-900.
12. Falanga V. Growth factors and wound healing. *J Dermatol Surg Oncol.* 1993;19:711-4.
13. Krawczyk WS. A pattern of epidermal cell migration during wound healing. *J Cell Biology.* 1971;25:9-18.
14. Paladini RD, Takahashi K, Bravo NS, Coulombe PA. Onset of re-epithelialization after skin injury correlates with a reorganization of keratin filaments in wound edge keratinocytes: defining a potential role for keratin 16. *J Cell Biol.* 1996;132:381-97.
15. Toy LW. Matrix metalloproteinases: their function in tissue repair. *J Wound Care.* 2005;14(1):20-2.
16. Grove GL. Age-related differences in healing of superficial skin wounds in adults. *Arch Dermatol Res.* 1982;272:381-5.
17. Laplante AF, Germain L, Auger FA, Moulin V. Mechanisms of wound reepithelialization: hints from a tissue-engineered reconstructed skin to long-standing questions. *FASEB J.* 2001;15:2377-89.
18. Marx M, Perlmutter RA, Madri JA. Modulation of platelet-derived growth factor receptor expression in microvascular endothelial cells during in vitro angiogenesis. *J Clin Invest.* 1994;93:131-9.
19. Remensnyder JP, Majno G. Oxygen gradients in healing wounds. *Am J Pathol.* 1968;52:301-23.
20. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Reshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature.* 1992;359:843-5.
21. Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microsc Res Tech.* 2003;60:107-14.
22. Kurkinen M, Vaheri A, Roberts PJ, Stenman S. Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. *Lab Invest.* 1980;43:47-51.
23. Clark RA. Basics of cutaneous wound repair. *J Dermatol Surg Oncol.* 1993;19:693-706.
24. Ross R, Bowen-Pope DF, Raines EW. Platelet derived growth factor: its potential roles in wound healing, atherosclerosis, neoplasia and growth and development. *Ciba Found Symp.* 1985;116:98-112.
25. Vaalamo M, Mattila L, Johansson N. Distinct populations of stromal cells express collagenase-3(MMP-13) and collagenase-1(MMP-1) in chronic ulcers but not in normally healing wounds. *J Invest Dermatol.* 1997;109:96-101.
26. Welch MP, Odland GF, Clark RA. Temporal relationships of F-actin bundle formation, collagen and fibronectin matrix assembly, and fibronectin receptor expression in wound contraction. *J Cell Biol.* 1990;110:133-45.
27. Desmouliere A, Redard M, Darby I, Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. *Am J Pathol.* 1995;146-66.
28. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Cir Res.* 2003;92:827-39.
29. Mudera V, Eastwood M, McFarland C, Brown RA. Evidence for sequential utilization of fibronectin, vitronectin, and collagen during fibroblast-mediated collagen contraction. *Wound Repair Regen.* 2002;10:397-408.
30. Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR. Definitions and guidelines for assessment and evaluation of

## Educação Médica Contínua

- healing. *Arch Dermatol.* 1994;130:489-93.
31. Diegelmann RF. Excessive neutrophils characterize chronic pressure ulcers. *Wound Repair Regen.* 2003;11:490-5.
  32. Lobmann R, Schultz G, Lehnert H. Proteases and the diabetic foot syndrome: mechanisms and therapeutic implications. *Diabetes Care.* 2005;28:461-71.
  33. Nwomeh BC, Liang HX, Diegelmann RF. MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and nonhealing ulcers. *J Surg Res.* 1999;81:189-95.
  34. Lobmann R, Ambrosch A, Schultz G. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients. *Diabetologia.* 2002;45:1011-6.
  35. Bullen EC, Longaker MT, Updike DL. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 is decreased and activated gelatinases are increased in chronic wounds. *J Invest Dermatol.* 1995;104:236-40.
  36. Beyer T, Auf Dem Keller U, Braun S, Shafer M, Werner S. Roles and mechanisms of action of the Nrfs transcription factor in skin morphogenesis, wound repair and skin cancer. *Cell Death Differ.* 2007;14:1250-4.
  37. Thuraisingam T, Sam H, Moisan J, Zhang Y, Ding A, Radzioch D. Delayed cutaneous wound healing in mice lacking solute carrier 11 a 1 (formerly Nramp1): correlation with decreased expression of secretory leucocyte protease inhibitor. *J Invest Dermatol.* 2006;126:890-901.
  38. Qiu C, Coutinho P, Frank S, Franke S, Law L. Targeting connexin43 expression accelerates the rate of wound repair. *Curr Biol.* 2003;13:1697-703.
  39. Carretero M, Escámez M, Garcia M, Duarte B, Holguin A, Retamosa L, et al. In vitro and in vivo wound healing-promoting activities of human cathelicidin-37. *J Invest Dermatol.* 2008;128:223-36.
  40. Schafer M, Werner S. Oxidative Stress in normal and impaired wound repair. *Pharmacol Res.* 2008;58:165-71.
  41. Chen C. The angiogenic factor Cyr61 activates a genetic program for wound healing in human skin fibroblasts. *J Biol Chem.* 2001;276:47329-37.
  42. Ekstrand A, Cao R, Bjorndahl M, Nystrom S. Deletion of neuropeptide Y (NPY) 2 receptor in mice results in blockage of NPY-induced angiogenesis and delayed wound healing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:6033-8.
  43. Wullschlegel S, Loewith R, Hall M. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell.* 2006;124:471-84.
  44. Ichikawa T, Suenaga Y, Koda T, Pzaki T, Nakagawara A. Np63/BMP-7 dependent expression of matrilin-2 is involved in keratinocyte migration in response to wounding. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;369:994-1000.
  45. Wankell M, Kaesler S, Zhang YQ, Florence C. The activin binding proteins follistatin and follistatin-related protein are differentially regulated in vitro and during cutaneous wound repair. *J Endocrinol.* 2001;171:385-95.
  46. Chmielowiec J, Borowiak M, Morkel M, Stradal T, Munz B, Werner S, et al. C-Met is essential for wound healing in the skin. *J Cell Biol.* 2007;177:151-62.
  47. Frank S, Stallmeyer B, Kampfer H, Holb N. Leptin enhances wound re-epithelialization and constitutes a direct function of leptin in skin repair. *J Clin Invest.* 2000;106:501-9.
  48. Conway K, Ruge F, Price P, Harding J, Jiang W. Hepatocyte growth factor regulation: an integral part of why wounds become chronic. *Wound Repair Regen.* 2007;177:151-62.
  49. Echtermeyer F, Streit M, Wilcox-Adelman S. Delayed wound repair and angiogenesis in mice lacking syndecan-4. *J Clin Invest.* 2001;107:R9-14.
  50. Nanney L, Woodrell C, Greives M, Cardwell N, Pollins A, Bancroft T, et al. Calreticulin enhances porcine wound repair by diverse biological effects. *Am J Pathol.* 2008;173:610-30.

# Educação Médica Contínua

## VERIFIQUE O QUE APRENDEU

- 1. Considerando os possíveis mecanismos fisiopatológicos das feridas crónicas, assinale a afirmação verdadeira:
  - a) aumento da actividade mitogénica
  - b) senescência tardia dos fibroblastos
  - c) o aumento da relação entre MMPs e TIMPs é sempre responsável por um atraso da cicatrização
  - d) redução da relação entre MMP1 e TIMP nas úlceras do pé diabético
  - e) aumento da actividade da MMP-8
  
- 2. Todos os seguintes factores de crescimento são produzidos pelas plaquetas, excepto:
  - a) EGF
  - b) PDGF
  - c) TGF- $\beta$
  - d) TGF- $\alpha$
  - e) VEGF
  
- 3. A força de tensão de uma cicatriz cerca de 1 ano após a lesão cutânea inicial, em relação à pele íntegra, em condições fisiológicas, é de cerca de:
  - a) 40%
  - b) 100%
  - c) 70%
  - d) 20%
  - e) 50%
  
- 4. Assinale a associação correcta:
  - a) neutrófilos – fase inflamatória da cicatrização
  - b) plaquetas – fase inflamatória da cicatrização
  - c) miofibroblastos – fibroplasia e remodelação
  - d) a + b
  - e) todas as anteriores
  
- 5. Considerando a fase inflamatória da cicatrização, indique a afirmação verdadeira:
  - a) os monócitos predominam precocemente na evolução dos mecanismos celulares
  - b) os neutrófilos exercem exclusivamente funções de lise e fagocitose
  - c) as plaquetas desempenham funções exclusivas à fase inflamatória
  - d) o macrófago é a célula reguladora mais importante da fase inflamatória
  - e) exclui a migração dos queratinócitos enquanto processo distinto, não sobreposto
  
- 6. A fase proliferativa da cicatrização inclui todos os processos seguintes, excepto:
  - a) migração de queratinócitos a partir dos bordos da ferida nas feridas de espessura parcial
  - b) síntese de VEGF de acordo com um gradiente de pressão parcial de oxigénio, diminuindo com a hipoxia local
  - c) alterações fenotípicas dos fibroblastos
  - d) o PDGF promove a proliferação dos fibroblastos, excluindo-se a migração dessas células das suas funções
  - e) os receptores das integrinas são importantes enquanto mediadores de ligações à MEC

## Educação Médica Contínua

- 7. As feridas crônicas implicam a ausência de recuperação da integridade anatômica e funcional da pele no intervalo de tempo normal de:
  - a) 2 semanas
  - b) 6 semanas
  - c) 12 semanas
  - d) 1 ano
  - e) nenhuma das anteriores
  
- 8. Qual dos seguintes não contribui para um atraso no processo de cicatrização:
  - a) deficiência de peptídeos anti-microbianos, como a catelicidina LL-37
  - b) bloqueio da conexina-43
  - c) deficiência de leptina
  - d) aumento da expressão de receptores c-Met nos bordos da ferida
  - e) deficiência de sindecano-4

**Respostas** - 1. d), 2. e), 3. c), 4. d), 5. d), 6. b), 7. b), 8. d)

### BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

1. Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF. Impaired wound healing. *Clin Dermatology*. 2007;25: 19-25.
2. Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999;341:738-46.
3. Fonder MA, Lazarus GS, Cowan DA, Aronson-Cook B, Kohli AR, Mamelak AJ. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *J Am Acad Dermatol*. 2008;58:185-206.
4. Vileikyte L. Stress and wound healing. *Clin Dermatology*. 2007;25:49-55.
5. O'Toole EA, Mellerio JE. Wound healing. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, editors. *Rook's Textbook of Dermatology*. 8<sup>th</sup> ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2010. Chapter 14.