



**Universidade de Brasília  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Departamento de Enfermagem**

**ROCHELE NATASHA COTTA**

**AVALIAÇÃO DO TECIDO DE GRANULAÇÃO, NEOVASCULARIZAÇÃO E RE-  
EPITELIZAÇÃO DE LESÕES CUTÂNEAS CRÔNICAS TRATADAS COM A  
FIBRINA LEUCOPLAQUETÁRIA AUTÓLOGA**

Brasília-DF  
2020

ROCHELE NATASHA COTTA

**AVALIAÇÃO DO TECIDO DE GRANULAÇÃO, NEOVASCULARIZAÇÃO E RE-  
EPITELIZAÇÃO DE LESÕES CUTÂNEAS CRÔNICAS TRATADAS COM A  
FIBRINA LEUCOPLAQUETÁRIA AUTÓLOGA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Enfermagem da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Enfermagem.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Lúcia da Silva  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Selma Aparecida Souza Kückelhaus

Brasília - DF  
2020

## RESUMO

**Introdução:** Vários são os fatores que dificultam a reparação tecidual, dentre esses destacam-se as infecções, hipóxia tecidual, persistência do trauma e do tecido necrótico, nessas condições tem-se as lesões de difícil cicatrização e de longa duração. Essas lesões ocasionam mudanças na rotina pessoal e familiar e gera desgaste físico, financeiro e emocional. Assim, o projeto justificou-se pelo fato de buscar mecanismos não-convencionais de curativo, que promovam melhor resposta de cicatrização em pacientes com lesões cutâneas crônicas de difícil cicatrização. **Metodologia:** Trata-se de estudo clínico aberto, controlado, randomizado, qualitativo em paralelo para determinar o efeito da aplicação tópica da Fibrina Leucoplaquetária Autóloga (FLA) em lesões crônicas de difícil cicatrização. **Resultados:** Os resultados mostraram similaridade entre os grupos controle e FLA no primeiro mês ( $p > 0,05$ ), mas o teste Wilcoxon mostrou que, após 3 meses de tratamento, o grupo FLA apresentou maior quantidade de anexos em comparação ao primeiro mês ( $p = 0,035$ ), apresentou também maior quantidade de fibroblastos, fibras colágenas e novos vasos ( $p = 0,040$ ), ( $p = 0,031$ ), ( $p = 0,031$ ), respectivamente. O Teste t pareado evidenciou, após 3 meses, menor quantidade de microabcesso epitelial no grupo FLA do que no grupo controle ( $p = 0,010$ ) e menor elevação da lesão no grupo controle no terceiro mês quando comparado ao primeiro mês ( $p = 0,048$ ). Os demais parâmetros nas análises independentes ou pareada não foram afetados ( $p > 0,05$ ). **Conclusão:** A partir da análise histológica das lesões dos dois grupos, é possível observar a melhora significativa do grupo tratado com a FLA, demonstrando progresso superior em comparação ao grupo tratado com a terapia convencional em apenas três meses de tratamento. Apesar disso, se faz necessário refazer esta análise com maior tempo de tratamento para identificar mais a fundo o possível benefício do tratamento com a FLA e sua correlação com o processo de reparação e cicatrização de lesões cutâneas crônicas.

**Palavras-chave:** Lesões cutâneas crônicas; cicatrização; tratamento.

## Sumário

<b>1. Introdução.....</b>	<b>4</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>5</b>
2.1. <i>Objetivo geral</i> .....	5
2.2. <i>Objetivo específico</i> .....	5
<b>3. Materiais e métodos .....</b>	<b>5</b>
3.1. <i>Local de estudo</i> .....	6
3.2. <i>Indivíduos e grupos de estudo</i> .....	6
3.3. <i>Aspectos éticos</i> .....	6
3.4. <i>Critérios de seleção</i> .....	6
3.5. <i>Obtenção e aplicação da fibrina leucoplaquetária autóloga (FLA)</i> .....	7
3.6. <i>Obtenção dos espécimes histológicos e coleta de dados</i> .....	7
3.7. <i>Análise estatística</i> .....	7
<b>4. Resultados .....</b>	<b>7</b>
4.1. <i>Avaliação dos parâmetros referentes ao tecido epitelial</i> .....	7
4.2. <i>Avaliação dos parâmetros do tecido conjuntivo</i> .....	9
<b>5. Discussão .....</b>	<b>11</b>
<b>6. Conclusão.....</b>	<b>12</b>
<b>7. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>12</b>

## 1. Introdução

As dificuldades terapêuticas associadas à cicatrização/reparação de lesões cutâneas apontam para a busca de tratamentos que atuem de forma a promover a reparação tecidual rápida com a reconstituição dos tecidos lesados. A rapidez do processo de cicatrização/reparação tecidual é fundamental para impedir a colonização do sítio lesado e promover a recuperação da fisiologia da lesão. Assim, a otimização do tratamento para melhorar a qualidade de vida dos indivíduos afetados por lesões crônicas de difícil reparação impulsiona estudos que viabilizem alternativas eficazes. Os dados disponíveis mostram que o tratamento de lesões crônicas acarreta elevados custos aos sistemas de saúde, sobretudo pelo retardo na resolução das lesões e pela morbidade causada aos indivíduos afetados (SANTOS et al., 2014; YOTSU et al., 2015).

Sabe-se que o tratamento de lesões crônicas por vezes demanda hospitalização prolongada, antibióticos e cirurgias, bem como acarreta a perda de produtividade, incapacidade e mortalidade prematura, que no conjunto, eleva os custos do tratamento (YOTSU et al., 2015) e torna esse tipo de afecção um grande problema de saúde pública no Brasil e no mundo (SANTOS et al., 2014).

Nos processos de reparação tecidual há uma complexa sequência de eventos que culminam ou não com remodelação dos tecidos e que dependem da resposta imunitária individual à lesão, a presença ou não de microrganismos e o uso de substâncias que favoreçam o processo de resolução da lesão. Dentre os fatores individuais, o processo inflamatório é fundamental para aportar no sítio lesionado um conjunto de células de defesa que atuam na proteção contra agentes infecciosos e na sinalização celular, em seguida, com o aumento no número de macrófagos e fibroblastos tem-se a síntese da matriz extracelular (colágeno, elastina e fibras reticulares) e novos vasos sanguíneos; essa sequência de eventos é observada em diferentes tipos de lesão. Nesse contexto, os leucócitos e as plaquetas são fundamentais no processo de reparação tecidual por um conjunto de sinalizadores celulares como as glicoproteínas, imunoglobulinas, citocinas, fatores de crescimento e micropartículas circulantes que atuam na modulação da resposta angiogênica e reparadora em leitos lesados (NIEWLAND, 2007; DULMOVITS; HERMAN, 2012; WITTE; BARBUL, 1997).

Dentre esses fatores de crescimento plaquetário destacam-se os denominados platelet-derived growth factor (PDGF) do tipo PDGF $\alpha\alpha$ , PDGF $\beta\beta$  e PDGF $\alpha\beta$ , que promovem a quimiotaxia para macrófagos e fibroblastos, os fatores de crescimento transformadores (transforming growth factor/TGF) TGF $\beta$ 1 e TGF $\beta$ 2, fatores de crescimento endotelial vascular

(vascular endotelial growth fator/VEGF) e o fator de crescimento epitelial (epidermal growth fator/EGF) (CARDOSO; LOPES, 2015; FIORAVANTI et al., 2015).

Vários são os fatores que dificultam a reparação tecidual, dentre esses destacam-se as infecções, hipóxia tecidual, persistência do trauma e do tecido necrótico ou mesmo na presença de desequilíbrio da resposta imunitária, alterações vasculares, nutricionais e metabólicas, diabetes e até mesmo pelo uso de medicamentos (COSTAN et al., 2013); nessas condições tem-se as lesões de difícil cicatrização e de longa duração.

As lesões cutâneas crônicas ocasionam mudanças na rotina pessoal e familiar e gera desgaste físico, financeiro e emocional. Assim, o projeto justificou-se pelo fato de buscar mecanismos não-convencionais de curativo, que promovam melhor resposta de cicatrização em pacientes com lesões cutâneas crônicas de difícil cicatrização em tratamento no Serviço Ambulatorial de Enfermagem em Estomaterapia (SAEE), localizado no Hospital Universitário de Brasília (HUB).

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar o efeito da aplicação tópica da Fibrina Leucoplaquetária Autóloga na cicatrização/reparação de lesões cutâneas vasculares crônicas.

### **2.2. Objetivo específico**

- Avaliar o tecido epitelial para identificar a re-epitelização, microabcessos epiteliais e elevação da lesão;
- Avaliar a formação do tecido de granulação para identificar a quantidade de fibroblastos, fibras colágenas, hemorragia/congestão e neovasos.

## **3. Materiais e métodos**

Trata-se de estudo clínico aberto, controlado, randomizado, qualitativo em paralelo para determinar o efeito da aplicação tópica da Fibrina Leucoplaquetária Autóloga (FLA) em lesões crônicas de difícil cicatrização. Este estudo está vinculado ao projeto “Aplicação tópica da fibrina leucoplaquetária autóloga: perspectivas na reparação de lesões cutâneas crônicas de difícil cicatrização”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o número 3.611.291/2019, de acordo com a Resolução nº 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde.

### ***3.1. Local de estudo***

O estudo foi desenvolvido no Serviço Ambulatorial de Enfermagem em Estomaterapia (SAEE) do Hospital Universitário de Brasília (HUB) e no Laboratório de Técnicas Histológicas da Universidade de Brasília.

### ***3.2. Indivíduos e grupos de estudo***

Os indivíduos foram pacientes acompanhados no SAEE para o tratamento de lesões cutâneas vasculares crônicas de origem idiopática, hipertensiva e diabética. Após o recrutamento, os pacientes foram randomizados em blocos de 4 indivíduos pela ferramenta SealedEnvelope™. Os grupos controle e intervenção foram formados pelos pacientes que concordaram em participar do estudo e assinaram, em duas vias, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

**Grupo Controle** – indivíduos tratados com o protocolo padrão do SAEE, em que havia a troca do curativo uma vez/semana por três meses;

**Grupo Intervenção** – indivíduos tratados com a FLA sobre a lesão uma vez/semana por três meses.

### ***3.3. Aspectos éticos***

As normas éticas que regulamentam os estudos com seres humanos foram cumpridas em conforme as leis brasileiras vigentes e a Declaração de Helsinki (WMA, 2008). O início da pesquisa se deu após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília e após registro do estudo no portal: Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos.

### ***3.4. Critérios de seleção***

Os critérios para a composição da amostra foram: aceitar participar do estudo após receber o convite das pesquisadoras; ter idade igual ou superior a 18 anos; ter lesões crônicas vasculares de origem idiopática, hipertensiva e diabética por um período mínimo de 6 meses; ser paciente usuário do serviço de Estomaterapia do HUB. Foram excluídos da pesquisa os pacientes que não atenderam os critérios de inclusão e aqueles que foram submetidos à oxigenoterapia hiperbárica; indivíduos pertencentes a populações especiais como gestantes, menores de idade e pacientes com problemas psiquiátricos que impeçam livre consentimento.

### ***3.5. Obtenção e aplicação da Fibrina Leucoplaquetária Autóloga (FLA)***

Depois de coletado o sangue venoso dos indivíduos, os tubos tipo Vacutainer foram imediatamente acondicionados e centrifugados numa centrífuga de rotor fixo com ângulo de 25° (Montserrat®, China) por 10 minutos a 200 x g. Depois, a fração gelatinosa sobrenadante foi depositada sobre um suporte metálico perfurado estéril para a drenagem do soro e obtenção das membranas de fibrina. Em seguida, as FLAs foram distendidas sobre a lesão de forma a cobri-la integralmente. Em seguida a lesão foi protegida com uma cobertura estéril de poliuretano ou silicone, em conformidade com a rotina do SAEE.

### ***3.6. Obtenção dos espécimes histológicos e coleta de dados***

Para a caracterização do tecido de granulação, epitelização e neovascularização foram obtidos fragmentos dos bordos das lesões dos indivíduos dos dois grupos no início e com três meses de tratamento. Depois de processados com protocolo padrão para as técnicas de coloração de rotina (Hematoxilina & Eosina), as imagens foram digitalizadas e analisadas de forma cega e por um único observador para a coleta dos dados utilizando-se os seguintes parâmetros qualitativos: 0 (zero) quando ausente; 1 (um) quando escasso; 2 (dois) quando moderado; 3 (três) quando intenso.

### ***3.7. Análise estatística***

Para a aplicação dos testes estatísticos foram avaliadas a normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e a variabilidade das variáveis pelo teste de Bartlett. Para comparar duas amostras independentes foram usados o teste t-Student ou Mann-Whitney para os dados paramétricos ou não paramétricos, respectivamente. Para comparar duas amostras dependentes foram utilizados os testes t-pareado ou Wilcoxon, para dados com distribuição paramétrica ou não paramétrica, respectivamente. As diferenças entre as variáveis foram consideradas significativas quando a probabilidade bi-caudal da sua ocorrência devida ao acaso (erro tipo I) for menor que 5% ( $p < 0,05$ ). O programa Prism 5® software package (GraphPad, USA) foi utilizado para as análises e para a representação gráfica dos resultados.

## **4. Resultados**

### ***4.1. Avaliação dos parâmetros referentes ao tecido epitelial***

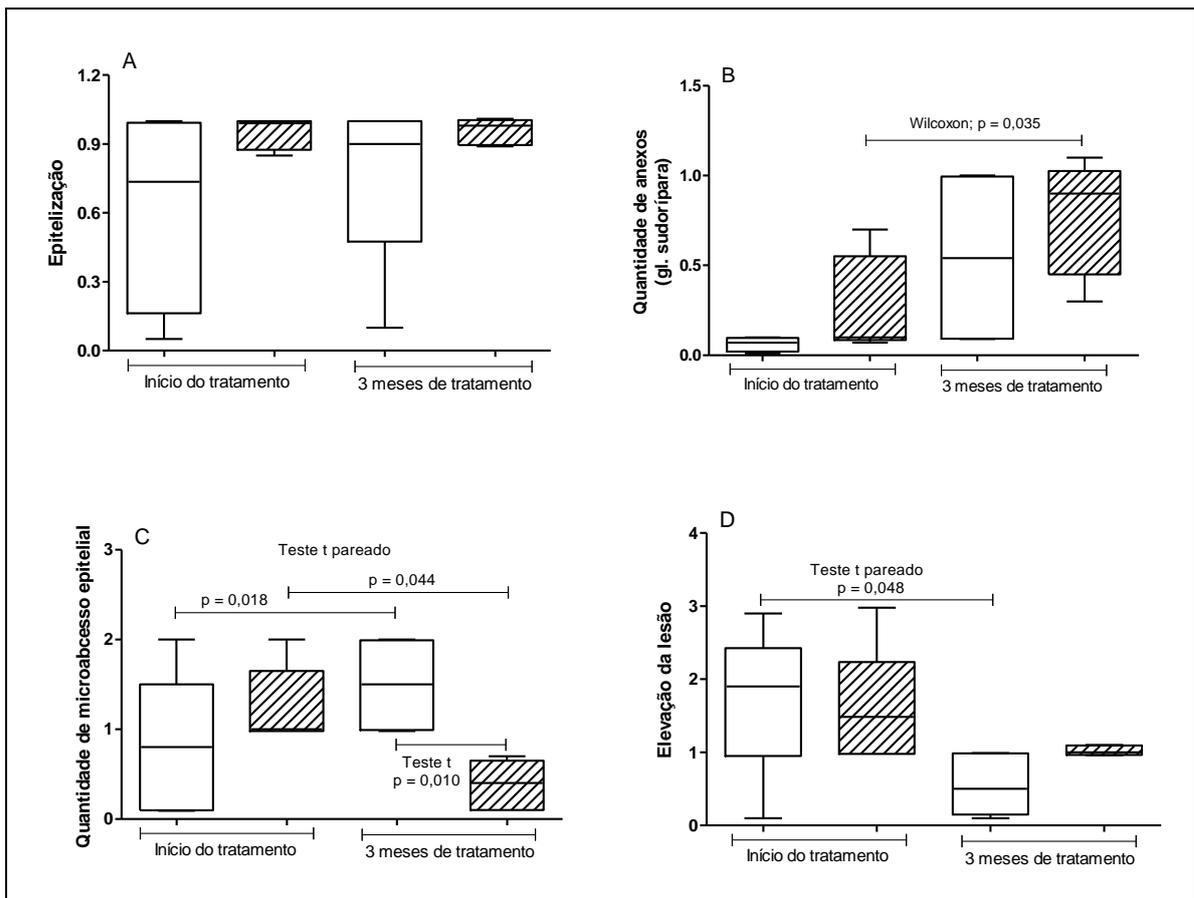
Os resultados mostraram que ambos os grupos (controle e intervenção) não apresentaram diferenças para todos os parâmetros referentes ao tecido epitelial analisados no início do tratamento (Teste t ou Mann-Whitney,  $p > 0,05$ ) (Figura 1 A, B, C, D).

Com 3 meses, o grupo tratado com a FLA apresentou maior quantidade de anexos (0,9) quando comparado ao primeiro mês de tratamento (0,1) (Wilcoxon;  $p = 0,035$ ) (Figura 1 B).

O Teste t pareado evidenciou menor quantidade de microabcesso epitelial no grupo FLA (0,4) do que no grupo controle (1,5) (C;  $p = 0,010$ ) após 3 meses de tratamento. Neste mesmo período, o grupo FLA apresentou menor quantidade (0,4) quando comparado ao primeiro mês (0,9) (C;  $p = 0,044$ ), enquanto o grupo controle apresentou maior quantidade (1,5) ao compará-lo ao início do tratamento (0,8) (Figura 1 C;  $p = 0,018$ ).

Quanto à elevação da lesão, o Teste t pareado mostrou que o grupo controle reduziu no terceiro mês (0,5) em comparação com o primeiro mês (1,9) (Figura 1 D;  $p = 0,048$ ).

Os demais parâmetros não sofreram alterações decorridos os 3 meses de tratamento (Teste t pareado ou Wilcoxon,  $p > 0,05$ ).



**Figura 1.** Parâmetros referentes ao tecido epitelial dos indivíduos com lesões cutâneas crônicas tratados ou não com a fibrina leucoplaquetária autóloga com 1 ou 3 meses. Os resultados mostraram similaridade entre os grupos controle e FLA no mês 1 ( $p > 0,05$ ), mas o teste Wilcoxon mostrou que, após 3 meses de tratamento, o grupo FLA apresentou maior quantidade de anexos em comparação ao primeiro mês (B;  $p = 0,035$ ). O Teste t pareado evidenciou, após 3 meses, menor quantidade de microabcesso epitelial no grupo FLA do que no grupo controle (C;  $p = 0,010$ ) e menor elevação da lesão no grupo controle no terceiro mês quando comparado ao primeiro mês

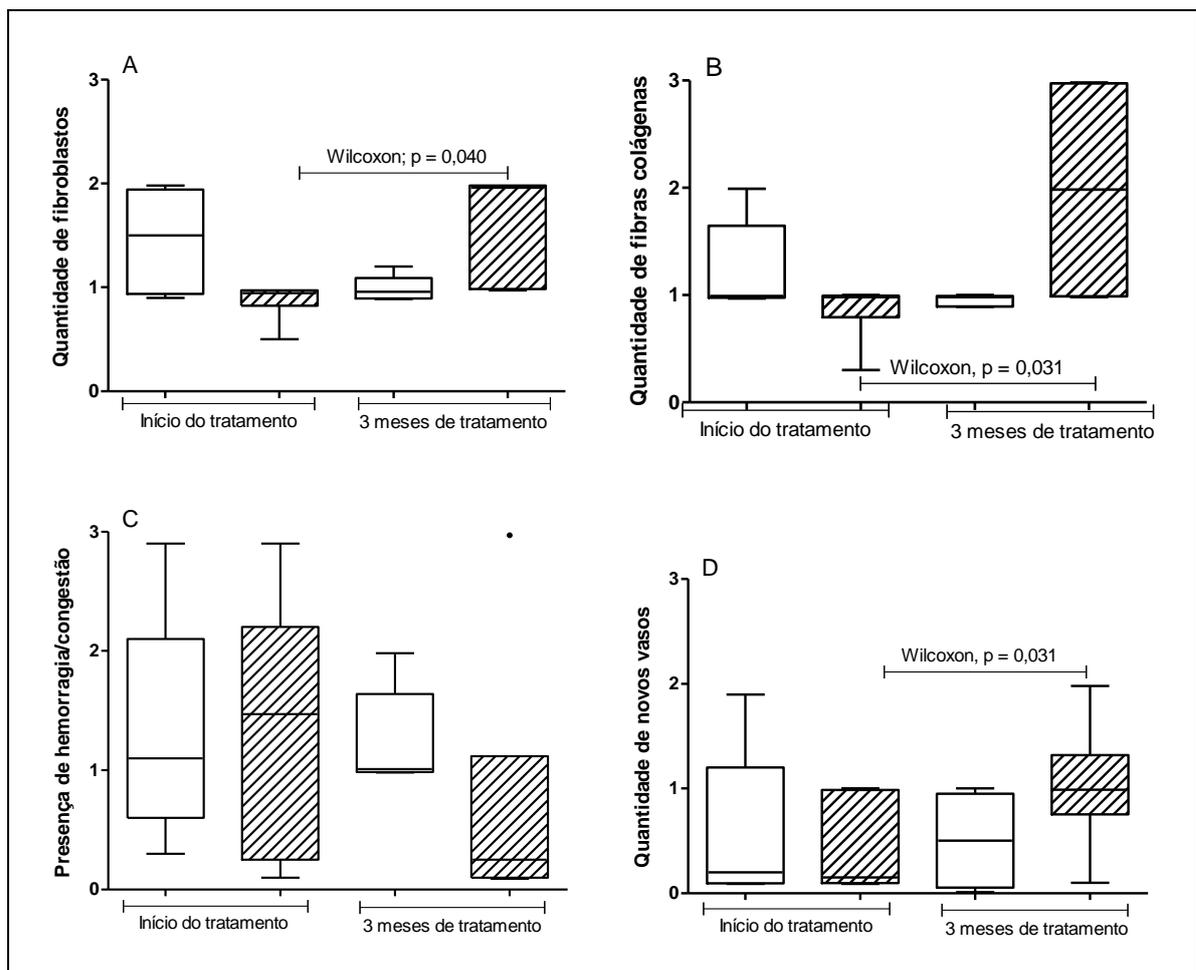
(D;  $p = 0,048$ ). Os demais parâmetros nas análises independentes ou pareada não foram afetados ( $p > 0,05$ ). Estão mostradas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

#### 4.2. Avaliação dos parâmetros do tecido conjuntivo

Os resultados mostraram que ambos os grupos (controle e intervenção) eram similares e não apresentaram diferenças para os parâmetros do tecido conjuntivo no início do tratamento (Teste t ou Mann-Whitney,  $p > 0,05$ ) (Figura 2 A, B, C, D).

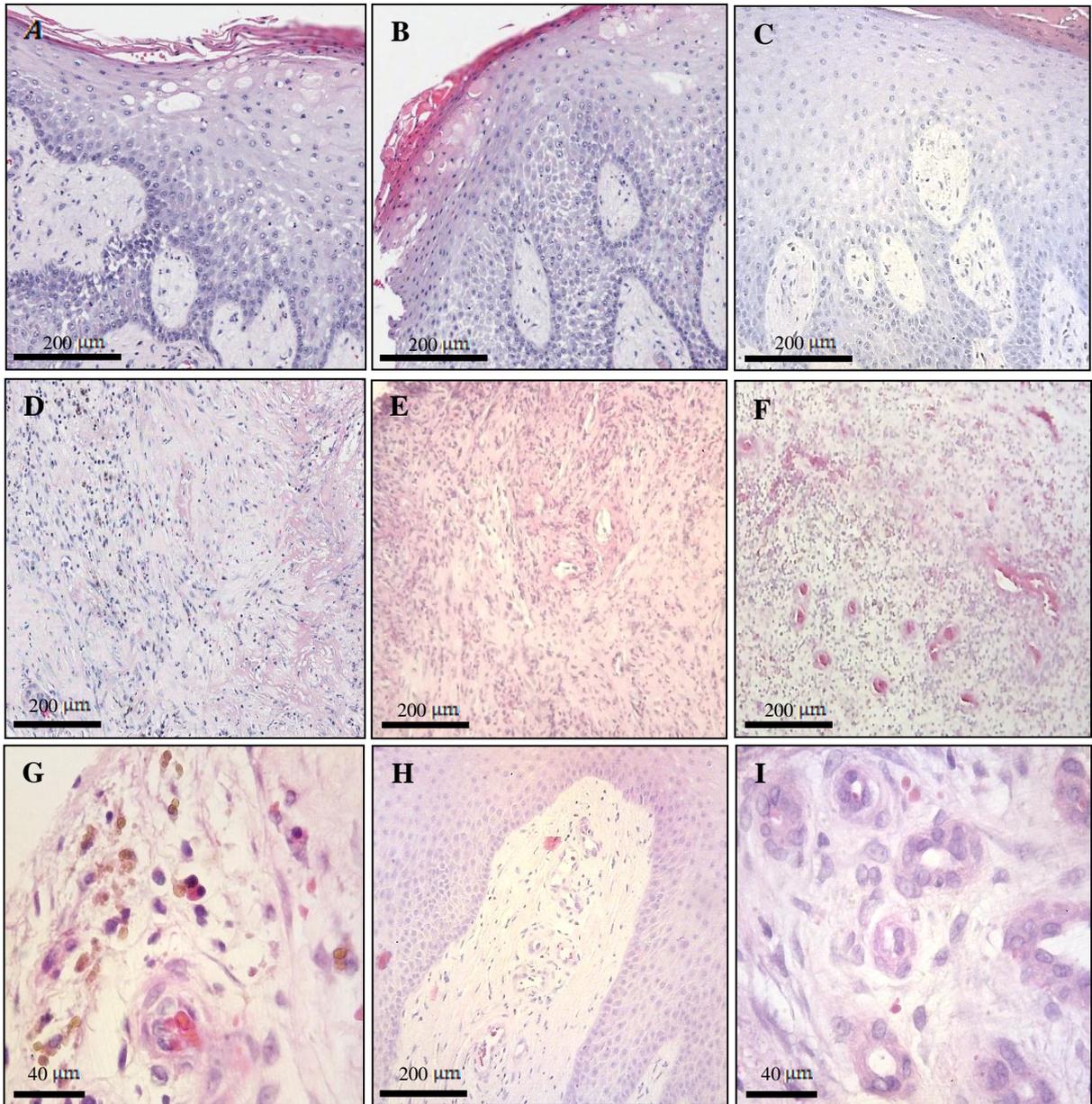
Ao comparar o grupo FLA no início (1,0) e após 3 meses de tratamento (1,9) foi possível observar um aumento significativo na quantidade de fibroblastos (Wilcoxon;  $p = 0,040$ ) (Figura 2 A). Após 3 meses de tratamento, a quantidade de fibras colágenas do grupo FLA aumentou de 0,9 para 1,9 (Wilcoxon,  $p = 0,031$ ) (Figura 2 B).

O teste de Wilcoxon evidenciou aumento na quantidade de novos vasos do grupo FLA após 3 meses de tratamento (0,9) em comparação com a quantidade do início (0,1) (D;  $p = 0,031$ ) (Figura 2 D). Os demais parâmetros não sofreram alterações decorridos os 3 meses de tratamento (Teste t pareado ou Wilcoxon,  $p > 0,05$ ).



**Figura 2.** Parâmetros referentes ao tecido conjuntivo dos indivíduos com lesões cutâneas crônicas tratados ou não com a fibrina leucoplaquetária autóloga com 1 ou 3 meses. Os resultados mostraram similaridade entre os

grupos controle e FLA no primeiro mês ( $p > 0,05$ ), mas o teste Wilcoxon mostrou que, após 3 meses de tratamento, o grupo FLA apresentou maior quantidade de fibroblastos, maior quantidade de fibras colágenas e maior quantidade de novos vasos em comparação ao primeiro mês (A;  $p = 0,040$ ), (B;  $p = 0,031$ ), (D;  $p = 0,031$ ). Os demais parâmetros nas análises independentes ou pareada não foram afetados ( $p > 0,05$ ). Estão mostradas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.



**Figura 3.** Fotomicrografias de fragmentos da pele removida nos bordos das lesões dos indivíduos portadores de lesões crônicas vasculares no início do estudo (A, D, G) do grupo controle (A, B, D, G) ou tratados com a FLA (C, F, I). Não houve diferenças histológicas entre os grupos no início do tratamento, mas depois de 3 meses o grupo FLA aumentou o total de glândulas sudoríparas (I) e reduziu os microabscessos epiteliais (C), aumentou a concentração de fibroblastos (E, F) e neovasos (F). Coloração: Hematoxilina & Eosina.

## 5. Discussão

A presença de epitelização teve aumento no terceiro mês quando comparado com o primeiro mês, principalmente no grupo controle, mas não apresentou diferença significativa entre os grupos.

Quando analisado a quantidade de anexos da pele, o grupo intervenção demonstrou um aumento significativo três meses após o início do tratamento.

Os pacientes pertencentes ao grupo tratado com a fibrina leucoplaquetária autóloga (FLA) apresentaram diminuição de microabcessos epiteliais no terceiro mês de tratamento, enquanto o grupo controle obteve um importante aumento.

Quanto à elevação da lesão, os dois grupos apresentaram diminuição nos dois tempos observados.

Os fibroblastos são as células predominantes na fase proliferativa e na formação do tecido de granulação, estas, além de produzirem o colágeno, produzem diversas substâncias da matriz extracelular como proteoglicanos, glicosaminoglicanos, ácido hialurônico (GARTNER, 2017). Ao analisar a quantidade de fibroblastos, o grupo tratado com a FLA apresentou aumento, demonstrando a evolução das lesões no processo cicatricial, enquanto o grupo controle apresentou diminuição neste componente. Os fibroblastos configuram o componente precursor da matriz da ferida provisória, onde irá ocorrer a migração e organização das células (REINKE; SORG, 2012).

A quantidade de fibras colágenas no grupo controle não apresentou alteração em três meses de tratamento, enquanto no grupo tratado teve um importante aumento, evidenciando novamente a melhora no processo de cicatrização das lesões. Já que, as fibras colágenas produzidas pelos fibroblastos formam uma matriz, e uma vez densamente compactadas, estas fibras vão preenchendo o local da lesão (SORG et al., 2017).

Na análise da presença de hemorragia/congestão, o grupo tratado obteve uma diminuição quase em totalidade, enquanto no grupo com tratamento convencional, não demonstrou alteração relevante.

Os neovasos, presentes no processo cicatricial de lesões (SILVERTHORN, 2010), apresentaram aumento nos dois grupos, sendo mais importante no grupo tratado com a FLA. A neoangiogênese é imprescindível para a evolução no processo de cicatrização, levando em consideração que o tecido recém-formado é acometido por carência de nutrientes e hipóxia (KARPPINEN et al., 2019).

Dentre as limitações do estudo compreende-se que, a pandemia impediu a coleta de dados. O que ocasionou a redução do número de participantes. Entretanto, a partir dos

resultados tem-se um panorama dos benefícios do tratamento das feridas crônicas com a utilização da FLA.

## 6. Conclusão

A partir da análise histológica das lesões dos dois grupos, é possível observar a melhora significativa do grupo tratado com a Fibrina Leucoplaquetária Autóloga, demonstrando progresso superior em comparação ao grupo tratado com a terapia convencional em apenas três meses de tratamento.

Apesar disso, se faz necessário refazer esta análise com maior tempo de tratamento para identificar mais a fundo o possível benefício do tratamento com a FLA e sua correlação com o processo de reparação e cicatrização de lesões cutâneas crônicas.

## 7. Referências Bibliográficas

CARDOSO, M.; LOPES, S. Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF). Diminuindo a morbidade em procedimentos de reconstruções teciduais orais. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Repositório da Universidade Federal Fluminense, Campus Nova Friburgo, 2015.

COSTAN, V.V. et al. The value of PRP/PRF in oral and maxillo-facial surgery. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 42(10), p.1186, 2013.

DULMOVITS, B.M. & HERMAN, I.M. Microvascular remodeling and wound healing: A role for pericytes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 44: 1800-1812, 2012.

FIOVARANTI, C. et al. Autologous blood preparations rich in platelets, fibrin and growth factors. *Oral Implantol (Rome)*, 4:96-113, 2015.

GARTNER, Leslie P. *Tratado de histologia*. 4 ed. Elsevier Brasil, 2017.

KARPPINEN, Sanna-Maria et al. Toward understanding scarless skin wound healing and pathological scarring. *F1000Research*, v. 8, 2019.

NIEWLAND, R.S.A. Platelet-Derived Microparticles. In A. D. Michelson, ed. *Platelets*. Burlington: Elsevier, pp. 403-14, 2007.

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. *European surgical research*, v. 49, n. 1, p. 35-43, 2012.

SANTOS, I.R.C.V. et al. Caracterização do atendimento de pacientes com feridas na Atenção Primária. *Rev. Rene*, 4: 613-620, 2014.

SILVERTHORN, DeeUnghaub. *Fisiologia humana: uma abordagem integrada*. Artmededitora, 2010.

SORG, Heiko et al. Skin wound healing: an update on the current knowledge and concepts. *European Surgical Research*, v. 58, n. 1-2, p. 81-94, 2017.

WITTE, M.B & BARBUL, A. General Principles of Wound Healing. *Surgical Clinics of North America*, 77(3), pp. 509-28, 1997.

YOTSU, R.R. et al. Case series of patients with chronic foot ulcers treated with autologous platelet-rich plasma. *J. Dermatol.* 3: 288-95, 2015.