

## UMA REVISÃO SISTEMÁTICA ACERCA DAS APLICAÇÕES *IN VIVO* DO ÓXIDO DE GRAFENO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO.

**GEOVANNA PETER CORRÊA<sup>1</sup>; CAINÁ CORRÊA DO AMARAL<sup>2</sup>; ROBERTA GIORGI<sup>3</sup>; FERNANDA NEDEL<sup>4</sup>; RAFAEL GUERRA LUND<sup>5</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – geovannapeter\_@live.com

<sup>2</sup>Universidade Católica de Pelotas – caina.ca@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Católica de Pelotas – robertagiorgi@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Católica de Pelotas – fernanda.nedel@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – rafael.lund@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O maior órgão do corpo humano é a pele, parte do sistema tegumentar, a qual é dividida em epiderme, derme e hipoderme, em ordem de camada mais externa a mais interna. Quando ocorre uma lesão, criada por estímulos que quebram a continuidade dos tecidos funcionais, como por exemplo cortes ou queimaduras, é iniciado o mecanismo fisiológico de cicatrização, que objetiva a regeneração ou o reparo tecidual. O processo de cicatrização é dinâmico e regulado por mecanismos celulares, hormonais e moleculares que iniciam logo após a lesão e podem durar por vários anos, podendo ser dividido em quatro estágios: homeostase, inflamação, proliferação e reparo, e remodelação (LEVER, 2011; BROWN, 2021; AGARWALL; KRISHNAMURTHY, 2021).

No entanto, alguns impasses podem ocorrer durante o processo de cicatrização que acabam por prejudicar o processo fisiológico, como por exemplo contaminações, tendo em vista que a nossa pele apresenta uma colonização de  $10^5$  polimicrobianos, dentre esses, alguns apresentam alto potencial de patogenicidade, como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) (GUO; DIPIETRO, 2010). A infecção da lesão ocorre quando a virulência expressa por microrganismos supera o sistema imunológico do hospedeiro (GUO; DIPIETRO, 2010; SEM et al., 2009). O ambiente da lesão proporciona um local úmido, quente e bastante nutritivo, favorecendo o crescimento e proliferação de microrganismos (SEN et al., 2009; RYAN, 2007). As células bacterianas consomem nutrientes e oxigênio do local, além de produzirem endotoxinas, retardando o processo de cicatrização (EDWARDS; HARDING, 2004).

Em consequência ao uso indevido dos antibióticos e seu efeito retardatório no processo de cicatrização e promoção da resistência das bactérias (ALTOÉ et al., 2019), novas terapias utilizando materiais nanoparticulados de carbono como o GO (do inglês *graphene oxide*) estão ganhando espaço. O GO é um material nano estruturado formado por folhas de grafite, onde algumas das ligações duplas de carbono são oxidadas (TAHRIRI et al., 2019; NOVOSELOV et al., 2004). Trata-se de um nanomaterial, com muitas aplicações na área de biomateriais devido a sua alta condutividade, estabilidade mecânica, condução térmica e elétrica, biocompatibilidade, bioadesão e alta área de superfície (MAHMOUDI et al., 2017; GUAZZO et al., 2018; LIU et al., 2017). Ademais, a estrutura plana do GO tem capacidade de mobilizar diversas substâncias, incluindo fármacos, biomoléculas e células. Dessa forma, o GO pode estabelecer um ambiente propício à regeneração do tecido da pele (MAHMOUDI et al., 2017; GUAZZO et al., 2018; LIU et al., 2017).

De acordo com a literatura o GO apresenta biocompatibilidade com queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais vasculares, e mostrou-se capaz de estimular a diferenciação e proliferação dessas células, além do aumento na expressão do VEGF

(Fator de crescimento endotelial vascular), e capacidade de estimular a vascularização e regeneração das fibras de colágeno (LIANG et al., 2020; ZHONG et al., 2017; NYAMBAT et al., 2018).

Frente ao potencial previamente descrito do GO na regeneração de pele torna-se importante consolidar e agregar este conhecimento, sendo assim o objetivo do estudo foi revisar sistematicamente a literatura para identificar os efeitos do GO na cicatrização de pele, em modelos *in vivo*.

## **2. METODOLOGIA**

A pergunta definida para esta revisão sistemática foi: “*Quais as aplicações, in vivo, do óxido de grafeno na regeneração de pele?*”. Foi realizada uma busca eletrônica sem restrição de data inicial em junho de 2022 nas bases de dados PubMed, Scopus, Scielo, ISI Web of Science, Cochrane e ScienceDirect. A pesquisa inicial foi realizada usando os termos “graphite” and “skin”.

Todas as referências foram gerenciadas no software Zotero 5.0 (George Mason University - Virginia/USA). Inicialmente, as referências duplicadas foram excluídas por dois revisores independentes (GPC e CCdoA). Títulos, resumos e metodologias de estudo foram selecionados com base nos critérios de inclusão e exclusão por três revisores de forma independente (GPC, CCdoA e ALA). Esta revisão sistemática seguiu as afirmações do PRISMA. Os dados foram extraídos e tabelados de forma independente por três revisores (GPC, CCdoA e IFM) e corrigidos por um quarto revisor (RSG), para serem submetidos à análise descritiva (PAGE et al., 2021).

Os dados como: autor, ano de publicação do artigo, objetivo do estudo, grupos estudados, tipo, gênero, peso e condição de saúde do animal estudado, mecanismo de indução de lesão, local e tamanho da lesão, apresentação e composição do biomaterial, tipo de análise biológica e os principais resultados, foram extraídos dos artigos incluídos.

O software Review Manager 5.3 foi utilizado por dois revisores independentes (GPC e CCdoA) para análise da qualidade dos estudos incluídos na revisão sistemática, no caso de desacordo um terceiro revisor foi solicitado a participar (FN). As variáveis analisadas foram: descrição do animal e da lesão, apresentação e composição do biomaterial e comparação de resultados com o grupo do óxido de grafeno.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A busca inicial resultou em 2.375 artigos incluídos, foram extraídos 918 artigos duplicados e 1.383 artigos excluídos por título e resumo. Dos 74 artigos incluídos para leitura completa, 27 estudos foram excluídos por realizarem somente análises *in vitro* e 22 excluídos após a leitura completa por não contemplarem os critérios de inclusão, resultando em 25 artigos incluídos nesta revisão sistemática.

Acerca das metodologias utilizadas pelos artigos incluídos, o animal mais utilizado foi o Sprangle-Dawley (9 estudos, 36%), sendo o gênero masculino o mais prevalente nos estudos (14 estudos, 56%), tendo em vista que os ratos configuram um modelo de fácil manejo e menor despesa em comparação com modelos animais maiores como a pele de porco, no entanto, os ratos têm tendência a cicatrizar pelo método de contração e epitelização da lesão ou por áreas de alta tensão, o que difere dos porcos e humanos. A maioria dos estudos utilizou animais na condição fisiológica (22 estudos, 88%) e 3 estudos utilizaram ratos diabéticos (12%). No que tange o mecanismo de lesão, o mais descrito pelos artigos incluídos foram lesões circulares (5 es-



tudos, 20%), porém 9 artigos não detalharam os mecanismos de lesões (36%). A maioria dos artigos realizou a lesão na região do dorso do animal (13 estudos, 52%) e nas costas (8 estudos, 32%).

Dentre as análises realizadas nos estudos incluídos, a análise histológica por hematoxicilina e eosina foi a mais frequentemente utilizada (22 estudos, 88%) e a análise de fechamento de lesão (19 estudos, 76%). A análise histológica nos grupos com GO, mostrou estímulo ao processo de cicatrização, presença de deposição de colágeno na lesão, formação epitelial mais rápida, maior presença de fibroblastos, folículos e glândulas e diminuição do tecido inflamatório e formação de tecido de granulação. Frente a análise de fechamento de lesão, os grupos com GO quando comparados aos grupos controles apresentaram uma maior taxa e porcentagem de fechamento da lesão. Os resultados dos artigos incluídos nesta revisão sistemática identificamos que o GO pode influenciar e/ou modular diversos aspectos envolvidos nas 4 principais fases fisiológicas do processo cicatricial: hemostasia, inflamação, proliferação e reparo e remodelação (VERNAR et al., 2009; WILGUS, 2019; AGARWAL, 2021).

No que tange a capacidade antibacteriana do GO, as análises de viabilidade celular nas lesões contaminadas por *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *Escherichia coli*, demonstraram diminuição da viabilidade bacteriana e diminuição dos números de colônias bacterianas. É necessário para que ocorra um processo de cicatrização ordenado e efetivo que a lesão esteja livre de qualquer contaminação, tendo em vista que a presença de bactérias culmina para o atraso do processo de cicatrização e pode levar o indivíduo a alterações sistêmicas graves (JIAN et al., 2020; EISENBEIS et al., 2017).

#### Aplicações do óxido de grafeno no processo de cicatrização

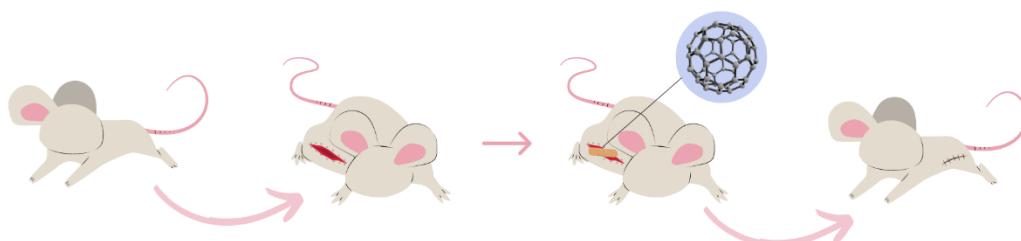


Figura 1: Aplicação *in vivo* do óxido de grafeno na cicatrização da pele (Autoria própria).

#### 4. CONCLUSÕES

Com esta revisão sistemática dos estudos *in vivo*, foi possível concluir que o óxido de grafeno é um potencial estimulante em diferentes fases do processo de cicatrização, de uma forma ordenada e controlada. Além disso, foi possível afirmar que o uso do GO para a regeneração de pele é viável. No entanto, mais estudos são necessários para compreender os mecanismos biológicos que sofrem alterações devido ao seu uso.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL S., KRISHNAMURTHY K. Histology, Skin. In: StatPearls. 2021. Acesso em agosto 2021]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30726010/>  
ALTOÉ, L. S. et al. Does antibiotic use accelerate or retard cutaneous repair? A systematic review in animal models. **Plos One**, California, v. 14, n. 10, p. 1-22, 2019.

- BROWN, T. M., KRISHNAMURTHY K. Histology, Dermis. In: StatPearls. 2021. Acesso em agosto 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30570967/>
- EDWARDS, R., HARDING, K. G. Bacteria and wound healing. **Current Opinion in Infectious Diseases**, Londres, v. 17, n. 2, p. 91-96, 2004.
- EISENBEIS, J. et al. The extracellular adherence protein (Eap) of *Staphylococcus aureus* acts as a proliferation and migration repressing factor that alters the cell morphology of keratinocytes. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 307, p. 116-125, 2017.
- GUAZZO, R. et al. Graphene-based nanomaterials for tissue engineering in the dental field. **Nanomaterials**, v. 8, n. 5, p. 1-31, 2018.
- GUO, S., DIPIETRO, L. A. Factors affecting wound healing. **Journal of Dental Research**, Chicago, v. 89, n. 3, p. 219-229, 2010.
- LEVER, E. D. Histopatologia da pele. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2011.
- LIANG, Y. et al. Injectable antimicrobial conductive hydrogels for wound disinfection and infectious wound healing. **Biomacromolecules**, v. 21, n. 5, p. 1841-1852, 2020.
- LIU, T. et al. A novel Graphene oxide modified collagen-chitosan bio-film for controlled growth factor release in wound healing applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 1, n. 77, p. 202-211, 2017.
- MAHMOUDI, N. et al. Temporary skin grafts based on hybrid graphene oxide-natural biopolymer nanofibers as effective wound healing substitutes: pre-clinical and pathological studies in animal models. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 28, n. 5, p. 1-13, 2017.
- NOVOSELOV, K. S. et al. Eletric field effect in atomically thin carbon films. **Science**, v. 306, n. 5696, p. 666-669, 2004.
- NYAMBAT, B. et al. Genipin-Crosslinked Adipose Stem Cell Derived Extracellular Matrix-Nano Graphene Oxide Composite Sponge for Skin Tissue Engineering. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 6, p. 1-11, 2018.
- PAGE, M. J. et al. PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews. **Research methods and reporting**, p. 1-33, 2021.
- RYAN, T.J. Infection following soft tissue injury: its role in wound healing. **Current Opinion in Infectious Diseases**, Londres, v. 20, n. 2, p. 124-128, 2007.
- SEN, C. K. et al. Human Skin Wounds: A major and snowballing threat to public health and the economy. **Wound Repair Regeneration**, v. 17, n. 6, p. 763-771, 2009.
- TAHRIRI, M. et al. Graphene and its derivatives: Opportunities and challenges in dentistry. **Materials Science & Engineering C**, v. 102, p. 171-181, 2019.
- VERNAR, T., BAILEY, T., SMRKOLJ, V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. **The journal of international medical research**, v. 37, n. 5, p. 1528-1542, 2009.
- WILGUS, T.A. Vascular endothelial growth factor and cutaneous scarring. **Advances in wound care**, v. 8, n. 12, p. 671-678, 2019.
- ZHONG, C. et al. Successive Release of Tissue Inhibitors of Metalloproteinase-1 Through Graphene Oxide-Based Delivery System Can Promote Skin Regeneration. **Nanoscale Research Letters**, v. 12, n. 533, 2017.