

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

GEOVANNA PETER CORRÊA¹; CAINÁ CORRÊA DO AMARAL²; ROBERTA GIORGI³; FERNANDA NEDEL⁴; RAFAEL GUERRA LUND⁵.

¹Universidade Federal de Pelotas – geovannapeter_@live.com

²Universidade Católica de Pelotas – caina.ca@gmail.com

³Universidade Católica de Pelotas – robertagiorgi@hotmail.com

⁴Universidade Católica de Pelotas – fernanda.nedel@gmail.com

⁵Universidade 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, biodesão 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 - Virgínia/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 hematoxilina 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

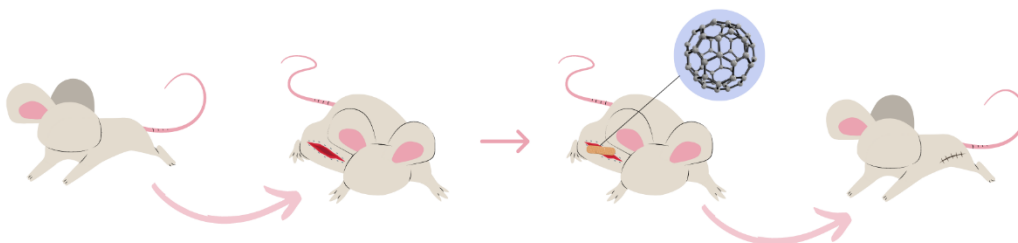


Figura 1: Aplicação *in vivo* do óxido de grafeno na cicatrização da pele (Autoria própria).

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.* Eletic 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.