

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE PROBIÓTICOS NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS

Effect of probiotic oral administration on skin wound healing in rats

Eliane TAGLIARI¹, Leticia Fuganti CAMPOS¹, Antonio Carlos CAMPOS²,
Thaís Andrade COSTA-CASAGRANDE³, Lúcia de NORONHA⁴

Como citar este artigo: Tagliari E, Campos LF, Campos AC, Costa-Casagrande TA, Noronha L. Efeito da administração oral de probióticos na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2019;32(3):e1457. DOI: /10.1590/0102-672020190001e1457

Trabalho realizado no ¹Programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná; ²Departamento de Cirurgia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná; ³Mestrado Profissional em Biotecnologia Industrial, Universidade Positivo; ⁴Laboratório de Patologia Experimental, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil

DESCRITORES - Cicatrização. Administração oral. Probióticos. Ratos.

Correspondência:

Eliane Tagliari
E-mail: elianetagliari@yahoo.com.br

Fonte de financiamento: Este estudo foi financiado em parte pelo FQM-FARMA, e em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES) - Código Financiamento 001
Conflito de interesse: não há

Recebido para publicação: 10/06/2019
Aceito para publicação: 22/07/2019

HEADINGS - Probiotics. Wound healing. Rats. Administration, oral.

RESUMO - Racional: Manipular a microbiota intestinal parece auxiliar na resposta cutânea. Entender todas as etapas do processo de cicatrização, bem como a resposta intestino-pele-cicatrização, pode ser ferramenta complementar no reparo cutâneo. **Objetivo:** Avaliar o efeito de suplementação perioperatória de probióticos via oral na cicatrização de feridas cutâneas excisionais em ratos. **Métodos:** Setenta e dois ratos adultos, machos Wistar, foram divididos em dois grupos de 36, sendo um de controle (suplementado com maltodextrina 250 mg/dia) e outro probiótico (suplementado com *Lactobacillus paracasei* LPC-37, *Bifidobacterium lactis* HN0019, *Lactobacillus Rhamnosus* HN001, *Lactobacillus Acidophilus* NCFM®, 250 mg/dia). **Resultados:** Não houve modificação significativa de peso em ambos os grupos. A contração da ferida foi mais rápida no grupo probiótico, quando comparada ao controle, resultando em menor área cruenta no sétimo dia do pós-operatório. Quanto aos aspectos histológicos, o escore geral do HE foi menor no grupo probiótico. O grupo probiótico apresentou maior fibrose do terceiro ao sétimo dias pós-operatórios. A produção de colágeno tipo I foi maior no grupo probiótico no décimo dia pós-operatório, e do tipo III maior no sétimo. **Conclusão:** O uso perioperatório do probiótico via oral foi associado à redução mais rápida da área cruenta da ferida cutânea em ratos, possivelmente por reduzir a fase inflamatória, acelerando a fibrose e o processo de deposição de colágeno.

ABSTRACT - Background: Manipulating intestinal microbiota with probiotics might stimulate skin response. Understanding all stages of the healing process, as well as the gut-skin-healing response can improve the skin healing process. **Aim:** To evaluate the effect of perioperative oral administration of probiotics on the healing of skin wounds in rats. **Methods:** Seventy-two Wistar male adult rats were weighed and divided into two groups with 36 each, one control group (supplemented with oral maltodextrin 250 mg/day) and one probiotic group (supplemented with *Lactobacillus paracasei* LPC-37, *Bifidobacterium lactis* HN0019, *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus acidophilus* NCFM® at a dose of 250 mg/day), both given orally daily for 15 days. The two groups were subsequently divided into three subgroups according to the moment of euthanasia: in the 3rd, 7th and 10th postoperative days. **Results:** There were no significant changes in weight in both groups. Wound contraction was faster in probiotic group when compared to the controls, resulting in smaller wound area in the 7th postoperative day. As for histological aspects, the overall H&E score was lower in the probiotic group. The probiotic group showed increased fibrosis from 3rd to the 7th postoperative day. The type I collagen production was higher in the probiotic group at the 10th postoperative day, and the type III collagen increased in the 7th. **Conclusion:** The perioperative use of orally administrated probiotic was associated with a faster reduction of the wound area in rats probably by reducing the inflammatory phase, accelerating the fibrosis process and the deposition of collagen.

INTRODUÇÃO

A pele é um ecossistema variado composto por 1,8 m² de tecido que recobre todo o corpo, rica em dobras, anexos cutâneos e contém microbiota diversificada¹. Recentemente, análises moleculares avançadas da microbiota cutânea revelaram grande diversidade e estas variam de acordo com localização topográfica sobre o corpo⁷. A cicatrização é processo celular dinâmico que envolve eventos moleculares e bioquímicos visando a reconstituição tecidual^{3,4}. A cicatrização pode ser avaliada com parâmetros clínicos, mecânicos, bioquímicos e histológicos^{3,4}. A microbiota da pele também exerce papel fundamental na resposta imune cujas alterações na imunidade inata dela podem interferir na cicatrização de feridas²⁰. A percepção da pele como um ecossistema rico em componentes biológicos vivos e presentes em diferentes locais, explica o delicado equilíbrio entre hospedeiro e micro-organismos. A

microbiota cutânea sofre influência da microbiota intestinal e esta também tem demonstrado interagir com o hospedeiro de forma simbiótica, modulando a inflamação e o sistema imunológico, agindo na biotransformação de xenobióticos e na absorção de micronutrientes, sintetizando vitaminas, enzimas e proteínas usadas pelo hospedeiro, fermentando substratos energéticos, fornecendo resistência a patógenos e mudando a quantidade de energia disponível na dieta²⁶. A manipulação da cicatrização com o uso de probióticos tem sido estudada tanto para uso tópico quanto sistêmico. Os probióticos são colocados pela Organização Mundial de Saúde como "microrganismos vivos, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro"^{8,24,26,29}. Probióticos têm sido associados com melhora da cicatrização de úlceras intestinais e cicatrização de feridas cutâneas entre outras ações já descrita na literatura²⁰.

O objetivo do estudo foi analisar o efeito da administração oral de probióticos na cicatrização cutânea em ratos, mediante aspectos macroscópicos, histológicos e deposição do colágeno da ferida.

MÉTODOS

O estudo fez parte da linha de pesquisa em Cicatrização de Tecidos do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná - UFPR. Os experimentos com animais foram realizadas de acordo com as normas previstas na Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, normas previstas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) após aprovação da Comissão de Ética do uso de Animais (CEUA) da Universidade Positivo (Parecer de número 294).

Animais e administração do probiótico

Durante todo o experimento os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno apropriadas, com cama de cepilho, recebendo água e ração Presence®-Purina ad libitum. Foram alojados dois animais por caixa, mantidos em sala climatizada a temperatura de 21° C, com controle de umidade e expostas à luminosidade de 12 h de luz por dia, controlada automaticamente. Foram utilizados 72 ratos adultos, machos Wistar, pesando \pm 250 g, procedentes do biotério da Universidade Positivo. Os ratos foram pesados e divididos em dois grupos com 36 animais cada, sendo um grupo controle (suplementado com maltodextrina 250 mg/dia) e um grupo probiótico (suplementados com probiótico Probiatop® da FQM-FARMA composto com cepas *Lactobacillus paracasei* LPC-37, *Bifidobacterium lactis* HN0019, *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus acidophilus* NCFM®, na dose de 250 mg/dia, o que corresponde a dose aproximada de 200.000 a 210.000 UFC (unidades formadoras de colônias), administrado via oral, 1 vez ao dia com auxílio de uma espátula²⁴ misturado com requeijão cremoso. Os dois grupos foi subdivididos em três sub grupos de acordo com o momento da eutanásia em 3º pós-operatório (3PO), 7º pós-operatório (7PO) e 10º pós-operatório (10PO), com 12 ratos cada.

Procedimento cirúrgico

Após cinco dias de administração oral pré-operatória do probiótico ou maltodextrina, os ratos foram anestesiados e submetidos a uma ferida dorsal excisional quadrada, padronizada por molde medindo 2x2 cm. A anestesia foi via inalatória (isoflurano) e mantidos com associação de cloridrato de ketamina 80 mg/kg e cloridrato de xilasina 10 mg/kg por via intramuscular, sendo mantidos sob o efeito inalatório do anestésico durante todo procedimento. Após recuperação, retornaram às suas gaiolas de origem recebendo água e alimentação ad libitum. Para analgesia foi utilizado acetaminofeno líquido em dose diária de 200 mg/kg/dia por via oral, até o 4º dia de pós-operatório. Foram avaliados nos dias 3PO, 7PO e 10PO (Figura 1).

Início da administração do Probiótico ou Maltodextrina	Procedimento cirúrgico, foto e pesagem	Foto e pesagem	Foto e pesagem	Foto e pesagem
Dia -5	Dia 0	3PO dia	7PO Dia	10PO dia
		Eutanásia e excisão das lesões dos sub-grupos C ₃ e P ₃	Eutanásia e excisão das lesões dos sub-grupos C ₇ e P ₇	Eutanásia e excisão das lesões dos sub-grupos C ₁₀ e P ₁₀

FIGURA 1 - Desenho do estudo

As feridas foram fotografadas a uma distância padronizada, apoiando-se a câmera fotográfica sobre régua de 15 cm. A análise e o cálculo das áreas, em milímetros quadrados, foram realizados pelo programa Image-Pro® Plus (versão 4.5. Media Cybernetics, Rockville, Maryland, USA).

Eutanásia e coleta de materiais

No 3ºPO (C3 e P3), 7ºPO (C7 e P7) e 10ºPO (C10 e P10) dia pós-operatório, os ratos foram submetidos à eutanásia também em sistema fechado com isoflurano. Imediatamente após morte, as lesões foram excisadas e incluíram toda a extensão da ferida com margem de 1 cm de pele íntegra e armazenadas em frascos, com formol a 10%, a fim de preservar suas estruturas morfológicas para posterior estudo histológico e densitometria do colágeno.

Análise histológica

As peças foram cortadas em blocos em micrótomo rotativo, com cortes de 5 micrômetros de espessura. Para cada ferida, foi confeccionada uma lâmina histológica com 3-6 cortes. Os cortes foram executados em plano perpendicular à superfície da derme, na região central e nas bordas da ferida cirúrgica e submetidas aos processos de desidratação e diafanização em xilol, e coradas com H&E. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico Olympus BX40 (Tóquio, Japão), com ampliações de 20x. Na leitura, foram avaliados tipos e quantidade das células predominantes na reação inflamatória (neutrófilos), presença de edema intersticial e congestão vascular e o grau de formação de tecido de fibroblastos, neovasos e macrófagos. Os dados foram classificados em acentuado (3), moderado (2) e discreto (1), de acordo com a intensidade em que foram encontrados, e transformados em variáveis quantitativas por meio da atribuição de índice aos achados histológicos. A presença de edema, congestão e polimorfonucleares, foram indicativos de processo inflamatório agudo, pontuando negativamente, e a formação de fibroblastos, neovasos e monócitos foram achados indicativos de processo inflamatório crônico, pontuando positivamente. Após a atribuição dos índices, eles foram somados para totalizar escore final para posterior avaliação estatística entre os grupos estudados²⁵.

Densitometria do colágeno

Lâminas histológicas foram coradas com Picosirius-red F3BA e fotografadas sendo que cada imagem foi capturada com luz normal e polarizada. Foram selecionados quatro campos por ferida, de forma padronizada, sendo dois da borda e dois da área central da ferida, sempre de cima para baixo. Foi realizada transmissão da imagem do microscópio ScopeA1® (Zeiss, Alemanha) conectado à câmera digital AxioCam MRc (Zeiss, Alemanha) para um monitor colorido HP ZR2440W. As imagens foram registradas pelo Software AxioVision 4.9 (Zeiss, Alemanha) Image Pro-plus e analisadas pelo software Image-Pro Plus® 4.5; (Media Cybernetics, Rockville, Maryland, Estados Unidos). No sistema RGB (Red, Green, Blue) as fibras colágenas mais espessas e fortemente birrefringentes apresentam-se

coradas em vermelho-laranja (colágeno tipo I, maduro), e as fibras mais finas, dispersas, fracamente birrefringentes, coram-se de tons verdes (colágeno tipo III, imaturo).

Análise estatística

Os resultados foram descritos por médias, medianas, valores mínimos, valores máximos e desvios-padrão. Para a comparação entre os grupos, em cada dia de avaliação, foi usado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. As comparações entre os dias de avaliação, dentro dos grupos controle e probiótico, foram feitas usando-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os dados foram organizados em planilha Excel e analisados com o programa computacional IBM SPSS Statistics®, v.20.

RESULTADOS

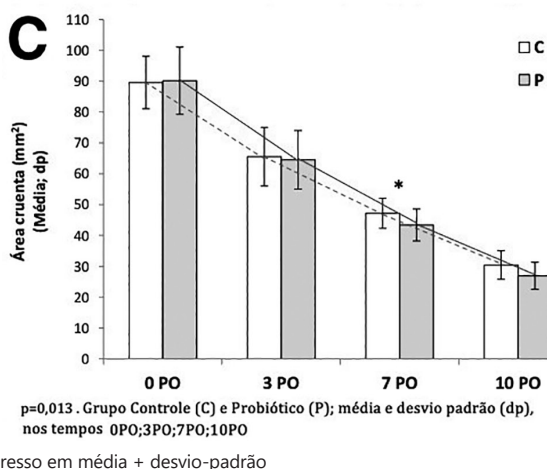
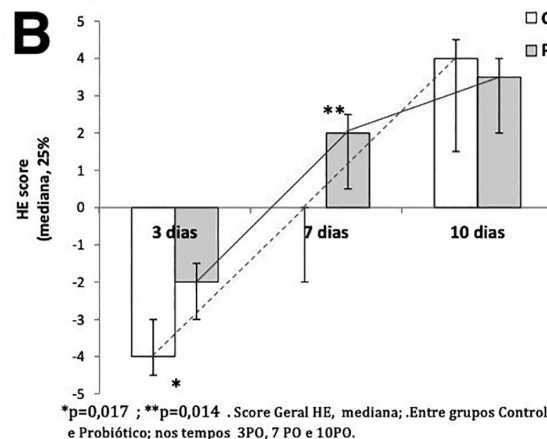
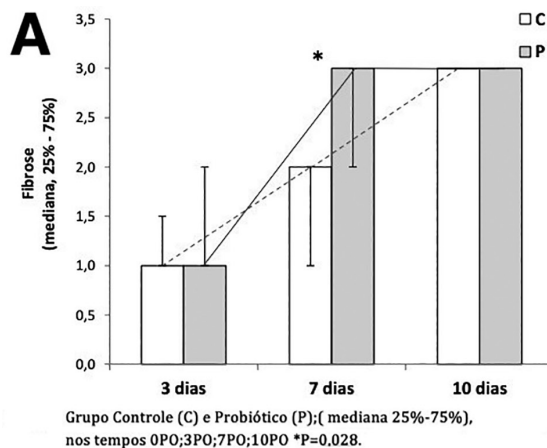
Durante todo o experimento, não houveram óbitos. O peso corporal não apresentou alterações significativas em nenhum grupo durante todo o experimento dia -5 (3PO $p=0.150$; 7PO $p=0.410$; 10PO $p=0.107$), dia 0 (3PO $p=0.867$; 7PO $p=0.851$; 10PO $p=0.185$), dia 3PO (3PO $p=0.741$; 7PO $p=0.599$; 10PO $p=0.629$), dia 7PO (7PO $p=0.730$; 10PO $p=0.549$) e dia 10PO (10PO $p=0.937$).

Análise histológica

Na Figura 2A são mostrados os resultados para os indicadores histológicos da reação inflamatória. Para as variáveis edema, congestão e polimorfonucleares, não houve diferença quando comparados os grupos controle e probiótico em todos os tempos analisados. A fibrose no 7PO foi significativamente maior no grupo probiótico quando comparado com o controle ($p=0.028$). Para as variáveis neovasos e monócitos, não houve diferença significativa entre os grupos. Ainda na Figura 2B pode-se ver que o score geral do H&E foi melhor no grupo probiótico quando comparado com o controle no 3PO ($p=0.017$) e no 7PO ($p=0.014$). Figura 3 demonstra exemplos da evolução histológica (edema, congestão, polimorfosnucleares, fibrose, neovasos e monócitos) entre controle e probiótico, nos dias 3PO, 7PO e 10 PO. Observou-se que o grupo probiótico apresentou menos edema, congestão e polimorfosnucleares e a contagem dos monócitos foi equivalente.

Análise do colágeno

Tabela 1 mostra os resultados da avaliação da deposição dos colágenos tipo I e tipo III, na ferida. O tipo I foi maior no grupo probiótico no 10PO ($p=0.007$), quando comparado com o controle. Houve aumento do colágeno tipo III no 7PO ($p=0.014$) no grupo probiótico quando comparado com o grupo controle. Na Figura 4 a distribuição dos colágenos tipo I e tipo III é mostrada nos tempos 3PO, 7PO e 10PO, para os grupos controle e probiótico.

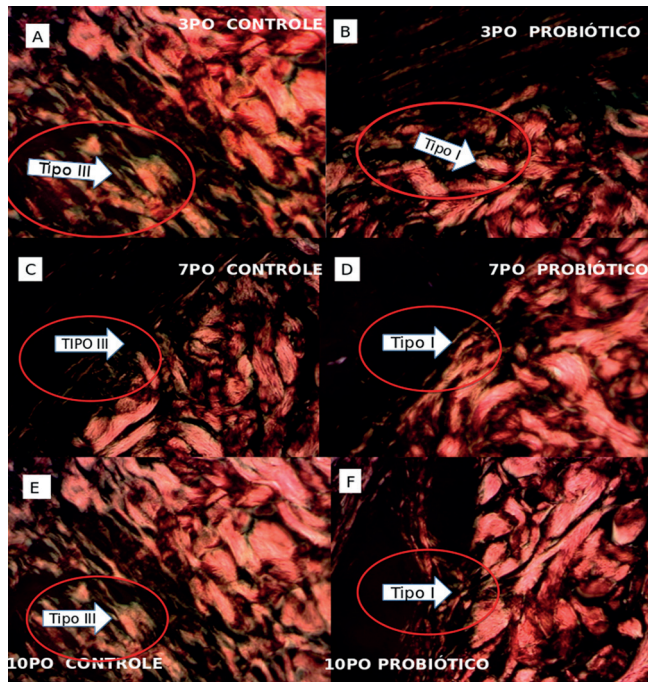


Expresso em média + desvio-padrão

FIGURA 2 – Nos tempos 3PO, 7PO e 10PO entre os grupos controle (C) e probiótico (P): A) gráfico mostrando a quantidade de fibrose; B) gráfico mostrando evolução histológica celular; C) gráfico mostrando a área do tecido da ferida (mm²), nos tempos 3PO, 7PO e 10PO.

TABELA 1 – Avaliação de colágeno I e colágeno III (na área total), expressos em mm², nos grupos controle e probiótico, nos tempos 3PO, 7PO e 10PO

Variável	Grupo	n	Média ± desvio-padrão			p*(30 x 70 x 100)
			Dia 3PO	Dia 7PO	Dia 10PO	
Colágeno I	Controle	12	1,33 ± 0,88	0,96 ± 0,85	0,62 ± 0,61	0,313
	Probiótico	12	1,75 ± 0,66	0,30 ± 0,23	1,38 ± 0,73	<0,001
	p** (C x P)		0,266	0,028	0,007	
Colágeno III	Controle	12	0,019 ± 0,014	0,018 ± 0,010	0,032 ± 0,027	0,598
	Probiótico	12	0,014 ± 0,013	0,029 ± 0,012	0,029 ± 0,028	0,023
	p** (C x P)		0,178	0,014	0,932	



Colágeno tipo I (corado em vermelho) e colágeno tipo III (corado em verde); Picosirius-Red F3BA (PSR), 20x

FIGURA 3—Evolução histológica (edema, congestão, polimorfonucleares, fibrose, neovascularização e monócitos) entre controle e probiótico: A e B) 3PO A=controle, B=probiótico; C e D) 7PO C=controle; D=probiótico); E e F) 10PO E=controle e F=probiótico

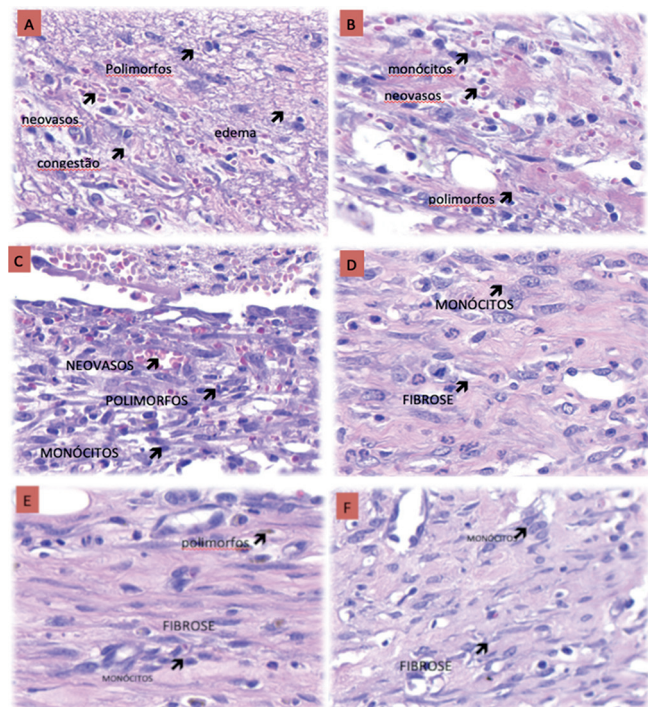


FIGURA 4—Exemplo de evolução histológica (edema, congestão, polimorfonucleares, fibrose, neovascularização e monócitos) em ambos os grupos controle e probiótico nos dias 3PO (A e B), 7PO (C e D) e 10PO (E e F)

Área cruenta da ferida

Conforme descrito na Figura 2C, a contração da ferida foi maior no grupo probiótico no 7PO quando comparado com o controle, resultando em menor área cruenta ($43,4 \pm 5,2$ vs. $47,2 \pm 4,9$ mm²; $p=0.013$). Como mostrado na Figura 4, a evolução da contração da ferida foi mais rápida no grupo probiótico em comparação aos controle.

Probióticos e seus metabólitos são consideradas reguladores de várias funções biológicas, e seus efeitos estão sendo estudados no eixo intestino-pele, controlando a cicatrização de feridas⁷. Probióticos podem ser usados via tópica ou sistêmica. Muitos estudos relacionam os benefícios dos probióticos topicamente, demonstrando melhora na cicatrização de feridas através da redução da carga bacteriana e aumento da reparação tecidual em modelos de ferida de roedores¹⁶. Os efeitos sistêmicos dos probióticos promovem a ligação entre a microbiota intestinal e a cutânea, diminuem a inflamação, alteram a composição da microbiota em ambos os locais e regulam o sistema imune inato²⁸. Ainda o uso oral melhora a microbiota intestinal e absorção de nutrientes essenciais na cicatrização de feridas, como vitaminas, minerais e cofatores para enzimas chaves na regulação da cicatrização cutânea^{16,28}.

Scotti et al²³. mostrou em sua revisão que as diferenças na composição microbiana do intestino podem afetar a homeostase da extração de energia, o que pode implicar no ganho ou perda de peso no hospedeiro quando suplementado com probiótico. Neste estudo, não houve diferença de peso nos dias avaliados em todos os grupos.

A cicatrização de feridas é processo altamente dinâmico que envolve sequência complexa de eventos celulares e bioquímicos que variam desde uma resposta imediata ao dano celular da pele e sinais microbianos invasivos até respostas inflamatórias, angiogênicas e, finalmente, fibroplasia e formação de cicatriz^{3,4,21,28}. Os fenômenos acontecem simultaneamente, se autorregulam e interferem um no outro envolvendo três fases dinâmicas: fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelamento^{4,5,29}. A interação entre inflamação, respostas celulares e humorais com intensa produção e liberação de citocinas é fundamental para o próprio processo de cicatrização^{3,4,21}. O presente estudo descreve um modelo de cicatrização cutânea excisional em ratos, com o objetivo de avaliar o efeito da administração oral de probiótico na cicatrização de feridas cutâneas. Avaliações macroscópicas e microscópicas das feridas cutâneas em ratos foram realizadas em três momentos distintos: 3PO, 7PO e 10PO.

Neutrófilos são as primeiras células recrutadas para o local da lesão. A principal função delas é proteger o hospedeiro de infecção combatendo micro-organismos invasores e/ou removendo detritos celulares, bem como a apresentação de antígenos. No entanto, neutrófilos ativados secretam substâncias bioativas, como proteases e radicais livres, que em excesso, podem levar a danos teciduais^{5,28}. A seguir os queratinócitos migram para a derme ferida e proliferam formando o tecido de granulação que tem por finalidade restaurar a função de barreira da pele. Fibroblastos invadem o coágulo e ocorre angiogênese seguida da remodelação de tecidos, controlada pelos fibroblastos que produz colágeno e forma a cicatriz^{5,17}.

Muitas funções de monócitos e macrófagos foram ligados à ativação de receptores Toll-like (TLRs)^{12,13,15,18}. A resposta à lesão da pele em animais é desencadeada por padrões moleculares associados ao dano derivado do hospedeiro e à ativação de células inflamatórias¹³. Os achados do processo inflamatório agudo como edema intersticial e congestão vascular, têm ligação menos estreita com o processo de proliferação celular, enquanto que o processo inflamatório crônico está histologicamente relacionado ao infiltrado polimorfonucleares, tecido de granulação e fibrose²⁵. Fibrose é definida como o depósito de fibra intersticial que marca o início da cicatriz.

A fase proliferativa, marcada pela presença de fibrose foi maior grupo probiótico no dia 7PO, quando comparado com o controle, resultando em menor área cruenta naquele momento. Provavelmente, o uso de probiótico estimulou a deposição de colágeno e facilitou a fibrose, melhorando o processo de cicatrização. A quantidade de colágeno no dia 7PO no grupo probiótico foi equivalente àquela observada nos controles no

dia 10PO. Ao analisar o escore geral do H&E, espera-se que na fase inicial (3PO) as pontuações sejam negativas, mas no grupo probiótico estas foram menos negativas. Aos sete dias (7PO), quando a fase subaguda se inicia, o escore do grupo probiótico já era positivo, mostrando uma resolução mais rápida do processo de cicatrização no grupo probiótico quando comparado ao grupo controle. No 10PO o grupo probiótico mostrou sinais de estabilização da fase de cicatrização crônica e sinais de remodelação da matriz.

A redução da área da ferida foi mais rápida no grupo probiótico. Ao comparar a contração da área da ferida, proliferação de fibroblastos e evolução histológica, fica claro que o grupo suplementado com probiótico teve uma melhor resolução do processo de cicatrização.

O mecanismo possivelmente envolvido neste processo está relacionado com o papel dos receptores Toll-like (TLRs)^{12,13,15,18,22}. Os tecidos epiteliais de revestimento externo e interno expressam TLRs, como a pele e o intestino. A microbiota comensal deles expressa peptídeos antimicrobianos (AMPs)^{13,15}. Os AMPs também estimulam e aumentam as vias de TLRs, induzem a produção de quimiocinas com atividade quimiotática e ainda modulam a função de células dendríticas e linfócitos T para promover a cicatrização de feridas e manter a homeostase da barreira da pele^{12,13,15,18}. A expressão de TLR em neutrófilos, fibroblastos, monócitos e macrófagos é primordial para a resposta cicatricial^{18,22}. O aparecimento de ligantes de TLR_s indica alteração na integridade do tecido, o que requer contenção e reparo. Animais deficientes em TLRs apresentaram atraso na cicatrização de feridas, sobretudo no tocante ao processo de neovascularização, re-epitelização e fibrose¹⁸. O papel dos TLRs na cicatrização cutânea vem sendo fortemente explorado nos estudos científicos sobretudo no tocante à fibrose cicatricial^{12,13,15,18,19,22}. Conforme resultados encontrados nos marcadores histológicos aqui avaliados, acredita-se que eles podem estar relacionados com a ação dos probióticos, via TLRs, na cicatrização cutânea em ratos.

Os achados ainda foram confirmados pela análise da deposição do colágeno. O colágeno tipo III é rico em água, pouco polimerizado e tem função de preenchimento. O tipo I é pobre em água e muito polarizado, cuja função é de tração. A resistência de uma cicatriz é dada pela quantidade de colágeno depositada e pela forma com que as fibras estão depositadas^{10,22}. No início do processo a cicatrização começa da periferia para o centro, impulsionando a organização das fibras para remodelar o colágeno. O preenchimento dado pelo colágeno tipo III à área da cicatriz foi maior e ocorreu no 7PO no grupo probiótico, mas não no grupo controle, resultando em maior produção de colágeno tipo I, que foi maior no grupo probiótico no 10PO.

Poutahidis et al.¹⁹, avaliaram o uso oral de bebida probiótica (*L. reuteri*) em camundongos, onde o fechamento da ferida marcado pela maturação acelerada do tecido de granulação e a deposição de colágeno, ocorreu a partir do sexto dia de pós-operatório no grupo suplementado com *L. reuteri*, quando comparados com o controle suplementados com água, semelhante aos nossos achados.

Modular a microbiota utilizando probióticos de diferentes espécies envolve diferentes mecanismos incluindo: a) competição com bactérias patogênicas por nutrientes e sítios de ligação na célula hospedeira; b) inativação de toxinas e metabólitos; c) produção de substâncias antimicrobianas que inibem o crescimento de microrganismos patológicos; d) estimulação/modulação da resposta imune do hospedeiro, envolvendo células epiteliais, células dendríticas e linfócitos T reguladores, tanto no trato gastrointestinal como na pele^{6,19}.

Estudos avançados feitos com modelos animais e com humanos mostrou os efeitos benéficos entre as bactérias do intestino e a aparência da pele. Um deles realizado por Levkovich et al.²⁴ trouxeram resultados positivos com a suplementação de *Lactobacillus reuteri* no aumento da espessura dérmica e

da foliculogênese, além de potencializar a produção de sebo e melhorar o brilho da pele²⁵.

Heydari et al.⁹ estudaram o efeito de probiótico (*L. plantarum*) em feridas cutâneas de ratos nos dias 1, 3, 7, 14 e 21 do pós-operatório, onde os resultados encontrados foram fase aguda mais precoce com menor número total de neutrófilos no 3PO e redução da área da ferida; portanto, esta redução pode acelerar o processo de cicatrização, reduzir a inflamação, e fatores de crescimento liberados ajudaram a ter re-epitelização mais precoce. Estes achados corroboram com os aqui apresentados.

Probióticos ainda participam na melhora do processo de diferenciação e queratinização da pele, na modulação da resposta imune cutânea e no processo de cicatrização cutânea¹⁹. Probióticos administrados oralmente resultam em aumento de células Treg Foxp3+ nos linfonodos da pele, regulando positivamente a expressão de IL10, diminuindo o dano tecidual na borda da ferida e reduzindo a inflamação em modelo murino¹.

CONCLUSÃO

O uso perioperatório de probiótico administrado por via oral foi associado com redução mais rápida da área da ferida em ratos, provavelmente pela redução da fase inflamatória, acelerando o processo de fibrose e a deposição de colágeno.

ORCID

Eliane Tagliari - 0000-0002-0263-6147

Antonio Carlos Ligocki Campos - 0000-0001-5080-8380

Lucia de Noronha - 0000-0003-0310-7164

REFERÊNCIAS

1. Belkaid Y, Tamoutounour S. The influence of skin microorganisms on cutaneous immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2016;16(6):353-366.
2. Borkowski A, Gallo R. UVB Radiation Illuminates the Role of TLR3 in the Epidermis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2014;134(9):2315-2320.
3. Campos A, Borges-Branco A, Groth A. Cicatrização de feridas. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2007;20(1):51-58.
4. Campos A, Groth A, Branco A. Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2008;11(3):281-288.
5. Castilho T, Campos A, Mello E. Effect of Omega-3 Fatty Acid in the Healing Process of Colonic Anastomosis in Rats. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2015;28(4):258-261.
6. Chen L, Guo S, Ranzer M, DiPietro L. Toll-Like Receptor 4 Has an Essential Role in Early Skin Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology*. 2013;133(1):258-267.
7. Dethlefsen L, McFall-Ngai M, Relman D. An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease. *Nature*. 2007;449(7164):811-818.
8. Flesch A, Poziomyck A, Damin D. The therapeutic use of symbiotics. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2014;27(3):206-209.
9. Heydari Nasrabadi. Study of cutaneous wound healing in rats treated with *Lactobacillus plantarum* on days 1, 3, 7, 14 and 21. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011;5(21).
10. Houdek M, Wyles C, Stalboerger P, Terzic A, Behfar A, Moran S. Collagen and Fractionated Platelet-Rich Plasma Scaffold for Dermal Regeneration. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2016;137(5):1498-1506.
11. Komatsu N, Saijoh K, Sidiropoulos M, Tsai B, Levesque M, Elliott M et al. Quantification of Human Tissue Kallikreins in the Stratum Corneum: Dependence on Age and Gender. *Journal of Investigative Dermatology*. 2005;125(6):1182-1189.
12. Lai Y, Di Nardo A, Nakatsuji T, Leichtle A, Yang Y, Cogen A et al. Commensal bacteria regulate Toll-like receptor 3-dependent inflammation after skin injury. *Nature Medicine*. 2009;15(12):1377-1382.
13. Lai Y, Gallo R. Toll-Like Receptors in Skin Infections and Inflammatory Diseases. *Infectious Disorders - Drug Targets*. 2008;8(3):144-155.
14. Levkovich T, Poutahidis T, Smillie C, Varian B, Ibrahim Y, Lakritz J et al. Probiotic Bacteria Induce a 'Glow of Health'. *PLoS ONE*. 2013;8(1):e53867.

15. Lin Q, Wang L, Lin Y, Liu X, Ren X, Wen S et al. Toll-Like Receptor 3 Ligand Polyinosinic: Polycytidylic Acid Promotes Wound Healing in Human and Murine Skin. *Journal of Investigative Dermatology*. 2012;132(8):2085-2092.
16. Lukic J, Chen V, Strahinic I, Begovic J, Lev-Tov H, Davis S et al. Probiotics or pro-healers: the role of beneficial bacteria in tissue repair. *Wound Repair and Regeneration*. 2017;25(6):912-922.
17. Nery R, Kahlow B, Skare T, Tabushi F, Castro A. Uric Acid and Tissue Repair. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2015;28(4):290-292.
18. Pasare C, Medzhitov R. Toll-like receptors: linking innate and adaptive immunity. *Microbes and Infection*. 2004;6(15):1382-1387.
19. Poutahidis T, Kearney S, Levkovich T, Qi P, Varian B, Lakritz J et al. Microbial Symbionts Accelerate Wound Healing via the Neuropeptide Hormone Oxytocin. *PLoS ONE*. 2013;8(10):e78898.
20. Radek K, Gallo R. (2010). Amplifying Healing: The Role of Antimicrobial Peptides in Wound Repair. *Advances in Wound Care*, 1, pp.223-229.
21. Salgado F, Artigiani-neto R, Lopes-filho G. Growth Factors and Cox2 in Wound Healing: an Experimental Study with Ehrlich Tumors. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2016;29(4):223-226.
22. Sato T, Yamamoto M, Shimosato T, Klinman D. Accelerated wound healing mediated by activation of Toll-like receptor 9. *Wound Repair and Regeneration*. 2010;18(6):586-593.
23. Scotti E, Boué S, Sasso G, Zanetti F, Belcastro V, Poussin C et al. Exploring the microbiome in health and disease. *Toxicology Research and Application*. 2017;1:239784731774188.
24. Tagliari E, Campos A, Costa-Casagrande T, Salvalaggio P. The Impact of the Use of Symbiotics in the Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a Rat Model. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2017;30(3):211-215.
25. Vizzotto Junior A, Noronha L, Scheffel D, Campos A. Influência da cisplatina administrada no pré e no pós-operatório sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2003;39(2):143-149.
26. Wagner N, Zapparoli M, Cruz M, Schieferdecker M, Campos A. Postoperative Changes in Intestinal Microbiota and use of Probiotics in Roux-en-y Gastric Bypass and Sleeve Vertical Gastrectomy: an Integrative Review. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2018;31(4).
27. Wang J, Hori K, Ding J, Huang Y, Kwan P, Ladak A et al. Toll-like receptors expressed by dermal fibroblasts contribute to hypertrophic scarring. *Journal of Cellular Physiology*. 2011;226(5):1265-1273.
28. WILGUS T. Immune cells in the healing skin wound: Influential players at each stage of repair. *Pharmacological Research*. 2008;58(2):112-116.
29. World Gastroenterology Organization (WGO), Probiotics and prebiotics. 2017. Available from: <http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english> [Accessed 16th July 2019]